

Diciembre de 2017

Hoja de protocolo del instrumento QIASymphony SP

Protocolo VirusBlood200_V5_DSP

Este documento es la *hoja de protocolo del instrumento QIASymphony SP* para el protocolo VirusBlood200_V5_DSP, R2, para el kit QIASymphony DSP DNA Mini, versión 1.

Información general

El kit QIASymphony DSP DNA se ha diseñado para uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo está indicado para la purificación de ADN viral a partir de sangre humana fresca utilizando el QIASymphony SP y el kit QIASymphony DSP DNA Mini. El ADN viral de virus liberados y de virus asociados a células es copurificado con el ADN genómico de las células sanguíneas.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n.º de catálogo 937236)
Material de muestras	Sangre humana completa (anticoagulada con EDTA o citrato)
Nombre del protocolo	VirusBlood200_V5_DSP
Juego de controles del ensayo predeterminado	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editable	Volumen de elución: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior

Cajón "Sample" (muestras)

Tipo de muestra	Sangre humana completa (anticoagulada con EDTA o citrato)
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestra utilizado; si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de muestra primarios	Si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de muestra secundarios	Si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Insertos	Depende del tipo de tubo de muestra utilizado; si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Otros	Se requiere una mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE; el uso de un control interno es opcional.

Cajón "Reagents and Consumables" (reactivos y consumibles)

Posición A1 y/o A2	Cartucho de reactivos
Posición B1	n/a
Soporte de gradillas de puntas 1-17	Puntas con filtro desechables, 200 µl o 1.500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o cubiertas para 8 barras

n/a = no aplicable.

Cajón "Waste" (desechos)

Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias vacías
Soporte de la bolsa de desechos	Bolsa de desechos
Soporte para frasco de desechos líquidos	Frasco de desechos líquidos vacío

Cajón "Eluate" (eluidos)

Gradilla de elución (recomendamos utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)	Si desea obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	---

Materiales plásticos necesarios

	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*
Puntas con filtro desechables, 200 µl††	26	50	74	98
Puntas con filtro desechables, 1.500 µl††	98	188	278	368
Cartuchos de preparación de muestras§	21	42	63	84
Cubiertas para 8 barras¶	3	6	9	12

* El uso de más de un control interno por lote y la realización de más de un examen de inventario requieren puntas con filtro desechables adicionales. Si se utilizan menos de 24 muestras por lote se reduce el número de puntas con filtro desechables necesarias por serie analítica.

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

†† El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

§ Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

¶ Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro proporcionados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración. Recomendamos cargar el número máximo posible de puntas.

Volumen de elución seleccionado

Volumen de elución seleccionado (µl)*	Volumen de elución inicial (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. Se trata del volumen accesible mínimo de eluido presente en el tubo de elución final.

† Volumen inicial de solución de elución necesario para garantizar que el volumen real de eluido sea el mismo que el volumen seleccionado.

Preparación de la mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE

El uso del protocolo VirusBlood200_V5_DSP en combinación con sistemas de amplificación que utilizan un control interno puede requerir la introducción de estos controles internos en el procedimiento de purificación para vigilar la eficiencia de la preparación de las muestras y del ensayo posterior.

La cantidad de control interno que se añade depende del sistema de ensayo y del volumen de elución seleccionado en el protocolo VirusBlood200_V5_DSP. El usuario debe realizar el cálculo y la validación. Consulte las instrucciones del fabricante sobre el ensayo posterior para determinar la concentración óptima de control interno.

Los controles internos deben añadirse con la mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE (ATE) en un volumen total de 60 µl. Puede utilizarse una mezcla de controles internos para analizar diferentes parámetros a partir de un único eluido. El usuario debe validar la compatibilidad de diferentes controles internos. Recomendamos preparar mezclas frescas para cada serie analítica justo antes del uso. Aunque no se utilice un control interno, sigue siendo necesario utilizar la solución amortiguadora ATE.

Volumen de elución seleccionado (µl)	Volumen de elución inicial (µl)	Volumen de control interno (µl)*	Volumen de solución amortiguadora ATE (ATE) (µl)	Volumen final por muestra (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* El cálculo de la cantidad de control interno se basa en los volúmenes de elución iniciales. El volumen de vacío adicional depende del tipo de tubo de muestras usado; consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks si desea obtener más información.

Nota: Los valores mostrados en la tabla corresponden a la preparación de la mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE para un ensayo posterior que requiere 0,1 µl de control interno por microlitro de eluido.

Se colocan tubos que contienen mezclas de control interno-solución amortiguadora ATE en un portatubos. El portatubos que contiene la(s) mezcla(s) de control interno-solución amortiguadora ATE debe colocarse en la ranura A del cajón "Sample".

Según el número de muestras que vayan a procesarse, recomendamos utilizar tubos de 2 ml (Sarstedt®, n.º de catálogo 72.693 y 72.694) o tubos de poliestireno de fondo redondeado de

14 ml de 17 x 100 mm (Becton Dickinson [BD™], n.º de catálogo 352051) para diluir el control interno, según se describe en la tabla siguiente. Es posible dividir el volumen en dos o más tubos.

Cálculo del volumen de mezcla de control interno

Tipo de tubo [‡]	Nombre que aparece en la pantalla táctil del QIAAsymphony	Cálculo del volumen de mezcla de control interno por tubo
2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, con base de apoyo (Sarstedt, n.º de catálogo 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, sin base de apoyo (Sarstedt, n.º de catálogo 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm (Becton Dickinson, n.º de catálogo 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno (n = número de muestras; $60 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE; $360 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 12 muestras ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1.080 \mu\text{l}$. No llene el tubo con más de 1,92 ml (es decir, un máximo de 26 muestras por tubo). Si se van a procesar más de 26 muestras, utilice más tubos asegurándose de añadir el volumen de vacío por tubo.

† Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE (n = número de muestras; $60 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-solución amortiguadora ATE; $600 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 96 muestras ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6.360 \mu\text{l}$.

‡ Consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks en relación con los insertos necesarios.

Preparación del material de muestra

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas de protección. Si desea obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (safety data sheets, SDS) correspondientes, que podrá adquirir a través del proveedor del producto.

Sangre humana completa

Para aislar ADN viral, recomendamos usar muestras de sangre completa tratadas con EDTA o citrato. Las muestras deben procesarse en las 24 horas siguientes a su obtención. Conserve o transporte las muestras a 2–25 °C. Para períodos de conservación más largos, recomendamos congelar partes alícuotas a –20 °C o –80 °C.

Utilizando muestras de sangre fresca en tubos primarios, mezcle bien las muestras de sangre (por ejemplo, invirtiendo los tubos varias veces) antes de cargarlas en el QIAAsymphony SP. Para garantizar una transferencia fiable de las muestras, evite que se forme espuma en los tubos de

muestra. Procure evitar la presencia de coágulos de sangre en las muestras y, en caso necesario, transfiera la muestra sin coágulos a un tubo nuevo.

Historial de revisión

Documento de historial de revisión	
R2 12/2017	Actualización de QIASymphony Software, versión 5.0

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía de usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Incluso en aquellos casos en los que no se indica de manera explícita, no debe asumirse que las marcas comerciales, nombres registrados, etc., no están protegidos por la ley.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com