

Instrucciones de uso (manual de uso) del QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit



Versión 3

IVD

Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



REF

61104



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R1 **MAT**

1127543ES

Contenido

Uso previsto	4
Usuario previsto	4
Descripción y principio.....	5
Lisis de las células sanguíneas	5
Unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini	5
Eliminación de los contaminantes residuales.....	6
Elución de ADN genómico puro.....	6
Rendimiento y calidad del ADN genómico	7
Purificación automatizada en el QIAcube Connect MDx	7
Resumen y explicación	10
Materiales suministrados	11
Contenido del kit.....	11
Componentes del kit	12
Materiales necesarios pero no suministrados	13
Reactivos adicionales.....	13
Consumibles	13
Equipo	13
Para el procedimiento de vacío únicamente.....	13
Para el procedimiento automatizado únicamente	14
Advertencias y precauciones.....	15
Información de seguridad.....	15

Precauciones	16
Eliminación.....	17
Almacenamiento y manipulación de reactivos.....	18
Estabilidad en uso.....	18
Recogida, almacenamiento y manipulación de muestras	19
Notas importantes	21
Cuestiones importantes antes de comenzar un protocolo.....	21
Preparación de reactivos y tampones.....	22
Manipulación de las columnas de centrifugación QIAamp Mini.....	23
Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus	24
Procedimiento	26
Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con una microcentrifugadora/purificación automatizada en el QIAcube Connect MDx	26
Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con un sistema de vacío	31
Control de calidad.....	35
Limitaciones	36
Características del rendimiento	37
Guía de resolución de problemas.....	38
Símbolos	42
Información para pedidos	45
Historial de revisiones del documento	47

Uso previsto

El QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit es un sistema que utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras biológicas.

El QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit se ha diseñado para el uso diagnóstico in vitro.

Usuario previsto

El producto está concebido para que lo utilicen usuarios profesionales, como técnicos y médicos formados en técnicas de biología molecular.

Descripción y principio

Cada procedimiento del QIAamp DSP DNA Blood Mini comprende 4 etapas:

- Lisis de las células presentes en la muestra de sangre
- Unión del ADN genómico del lisado celular a la membrana de una columna de centrifugación QIAamp Mini
- Lavado de la membrana
- Elución del ADN genómico de la membrana

Este manual de uso incluye protocolos de 2 procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini alternativos: el procedimiento de centrifugación, que necesita una centrifugadora o se puede automatizar en el QIAcube® Connect MDx (Figura 1); y el procedimiento de vacío, que requiere una centrifugadora y un sistema de vacío (consulte el diagrama de flujo en la página 9).

Lisis de las células sanguíneas

Las muestras se lisan en condiciones desnaturalizantes a altas temperaturas. La lisis se realiza en presencia de QIAGEN® Protease (QP) y tampón de lisis (AL).

Unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini

Para optimizar la unión del ADN genómico a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini se añade en primer lugar etanol a los lisados. Cada lisado se dispensa entonces en una columna de centrifugación QIAamp Mini y, a medida que el lisado la atraviesa por efecto del vacío o de la fuerza centrífuga, el ADN genómico se adsorbe sobre la membrana de gel de sílice.

Eliminación de los contaminantes residuales

Mientras que el ADN genómico se mantiene unido a la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini, los contaminantes se eliminan de manera eficaz primero con el tampón de lavado 1 (AW1) y seguidamente con el tampón de lavado 2 (AW2).

Elución de ADN genómico puro

El ADN genómico se eluye de la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con 50-200 µl de tampón de elución (AE). El ADN eluido está listo para su uso en distintos ensayos anterógrados, incluidos diversos tipos de ensayos anterógrados de diagnóstico in vitro. Conviene dejar equilibrar el tampón de elución (AE) a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de aplicarlo a la columna.

A causa del tampón de elución restante que permanece en la membrana de la columna de centrifugación tras la centrifugación, el volumen de eluido recuperado puede ser inferior al volumen de tampón de elución (AE) aplicado a la columna. El volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra. El ADN eluido se recoge en tubos de elución (ET) y puede almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 4 semanas. Para el almacenamiento a largo plazo, recomendamos una temperatura de almacenamiento de -20 °C.

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de diferentes factores y se relaciona con la aplicación posterior específica. Se ha evaluado para el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit junto con aplicaciones posteriores ejemplares. El usuario es responsable de consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en su laboratorio o de validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Rendimiento y calidad del ADN genómico

La producción de ADN depende de la muestra y de la calidad del material de partida. Los volúmenes de elución más pequeños aumentan la concentración de ADN final en el eluido, pero reducen ligeramente el rendimiento de ADN general. Recomendamos utilizar un volumen de elución adecuado para la aplicación posterior prevista.

La producción y la calidad del ADN genómico aislado son adecuados para los procedimientos de detección posteriores en el diagnóstico molecular como la PCR. Los ensayos de diagnóstico deberán llevarse a cabo conforme a las instrucciones de los fabricantes.

Purificación automatizada en el QIAcube Connect MDx

El QIAcube Connect MDx realiza el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos de forma automatizada. Puede procesar un máximo de 12 muestras por serie.

La preparación de las muestras con el QIAcube Connect MDx se realiza siguiendo los mismos pasos que en el procedimiento manual (es decir, lisis, unión, lavado y elución), por lo que es posible continuar utilizando el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para la purificación de ADN de alta calidad.

Al automatizar el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en el QIAcube Connect MDx, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivo por el pipeteado automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

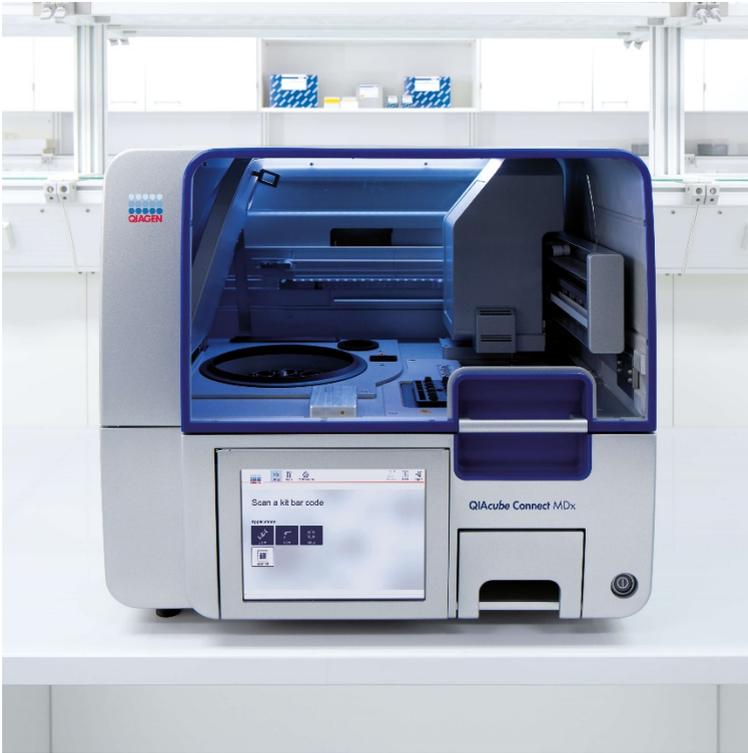
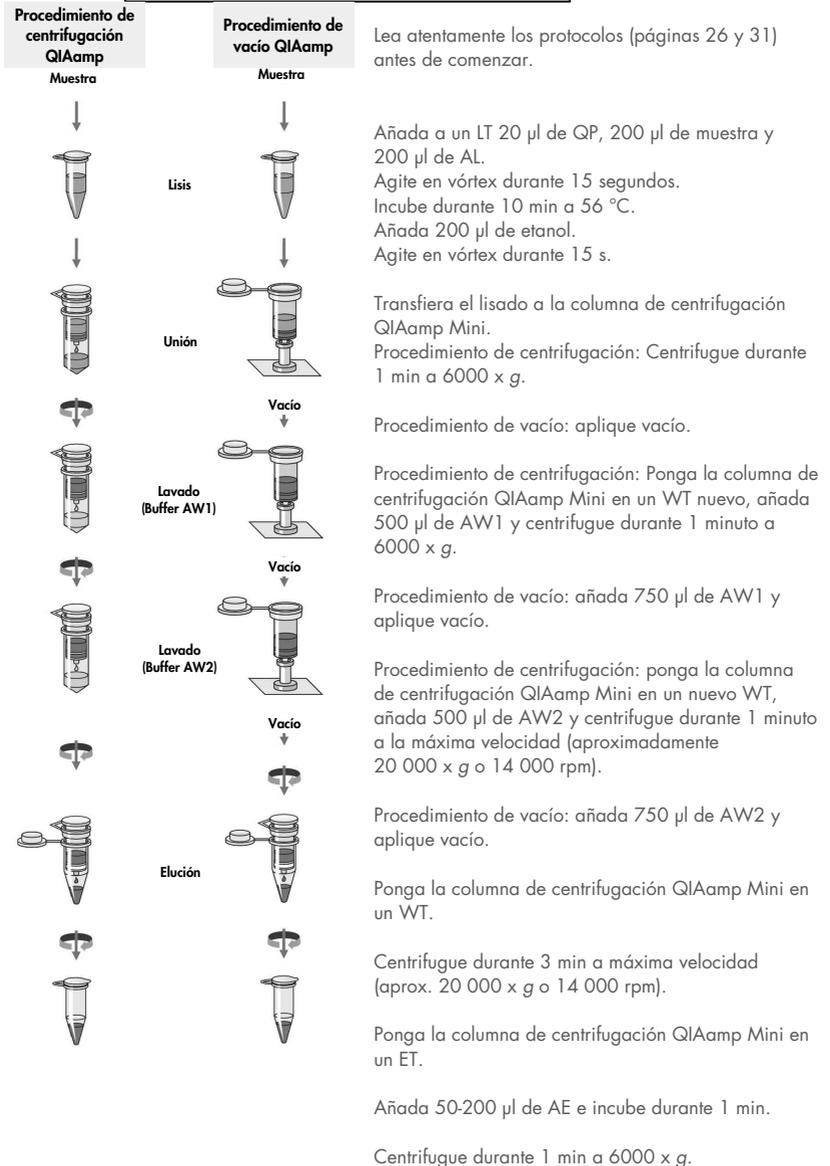


Figura 1. El QIAcube Connect MDx.

Procedimientos de centrifugación y vacío QIAamp DSP DNA Blood Mini



Resumen y explicación

El QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utiliza una tecnología ampliamente consolidada para ofrecer un método simple y rápido de aislamiento y purificación de ADN genómico a partir de muestras de 200 µl de sangre total.

Los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini, diseñados para el procesamiento simultáneo de múltiples muestras de sangre, obtienen ADN purificado listo para su uso. En los procedimientos se puede utilizar sangre total fresca o congelada y sangre tratada con citrato o ácido etilendiaminetetraacético (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA).

No es necesaria la previa separación de los leucocitos. Los procedimientos no requieren ni la extracción con fenol/cloroformo ni la precipitación con alcohol y precisan una intervención mínima por parte del usuario, lo que permite la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. Los procedimientos se han diseñado para reducir al mínimo la contaminación cruzada entre muestras. El ADN purificado está listo para usar en una PCR u otra aplicación, o bien puede guardarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para el almacenamiento a largo plazo.

Los sencillos procedimientos QIAamp DSP de centrifugación y vacío permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. Algunos de los procedimientos de centrifugación QIAamp pueden automatizarse completamente en el QIAcube Connect MDx para tener una mayor estandarización y facilidad de uso (página 7).

En el caso del procedimiento de vacío, se requieren para el protocolo un colector de vacío (p. ej., el QIAvac 24 Plus con el QIAvac Connecting System) y una bomba de vacío capaz de producir un vacío de aproximadamente 800-900 mbar (p. ej., QIAGEN Vacuum Pump). Se debe utilizar un Vacuum Regulator (parte del QIAvac Connecting System) para supervisar fácilmente la presión de vacío y la liberación conveniente de vacío.

Materiales suministrados

Contenido del kit

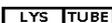
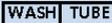
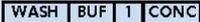
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

N.º de catálogo

61104

Número de preparaciones

50

	Denominación	Símbolos	Cantidad
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns con tubos de lavado [2 ml])		50
ET	Elution Tubes (1.5 ml) (Tubos de elución [1,5 ml])	 	50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Tubos de lisis [1,5 ml])		50
WT	Wash Tubes (Tubos de lavado [2 ml])		3 × 50
AL	Lysis Buffer* (Tampón de lisis)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 [†] (Tampón de lavado 1 [concentrado])		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 [‡] (Tampón de lavado 2 [concentrado])		13 ml
AE	Elution Buffer [‡] (Tampón de elución)		25 ml
PS	Protease Solvent [‡] (Disolvente de proteasa)		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§] (Proteasa QIAGEN)		1 vial
-	Instrucciones de uso (manual de uso)		1

* Al automatizar el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en el instrumento QIAcube Connect MDx, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivo por el pipeteado automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

[†] Contiene clorhidrato de guanidina. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Para obtener más información, consulte Información de seguridad en la página 15.

[‡] Contiene azida sódica como conservante.

[§] Volumen de resuspensión 1,2 ml. Consulte la sección “Preparación de reactivos y tampones” en la página 22.

Componentes del kit

Los componentes principales del kit que contiene principios activos se explican a continuación.

Reactivo	Principios activos	Concentración (p/p) [%]
QIAGEN Protease	Subtilisina	De ≥ 0 a ≤ 100
AL	Clorhidrato de guanidina Ácido maleico	De ≥ 30 a < 50 De $\geq 0,1$ a < 1
AW1	Clorhidrato de guanidina	De ≥ 50 a < 70

Materiales necesarios pero no suministrados

Reactivos adicionales

- Etanol (96-100 %) *

Consumibles

- Pipetas[†] y puntas de pipeta (para prevenir la contaminación cruzada, es muy recomendable usar puntas de pipeta con filtro contra aerosoles)
- Guantes desechables

Equipo

- Bloque calefactor[†] para la lisis de muestras a 56 °C (para tubos de ensayo micro de 1,5 ml)
- Microcentrifugadora[†]
- Probeta graduada (50 ml)
- Agitador vorticial

Para el procedimiento de vacío únicamente

- Sistema de vacío QIAvac 24 Plus (n.º de cat. 19413) o equivalente[†]
- VacValves (n.º de catálogo 19408)
- QIAvac Connecting System (n.º de catálogo 19419)
- Vacuum Pump (n.º de catálogo 84020)
- Vacuum Regulator (n.º de catálogo 19530)

* No utilice alcohol desnaturalizado, que contiene otras sustancias como metanol o metililcetona.

[†] Para garantizar el correcto procesamiento de las muestras en los procedimientos con el QIAamp DSP DNA Blood Mini, es muy recomendable comprobar y calibrar los instrumentos (p. ej., pipetas y bloques calefactores) siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Para el procedimiento automatizado únicamente

- QIAcube Connect MDx instrument (n.º de cat. 9003070) *
- Rotor Adapters (n.º de cat. 990394)
- Rotor Adapter Holder (n.º de cat. 990392)
- Sample Tubes CB (n.º de cat. 990382; tubo de entrada de la muestra)
- Shaker Rack Plugs (n.º de cat. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (n.º de cat. 990393)
- Filter Tips, 1000 µl (n.º de cat. 990352).
- Filter Tips, 200 µl (n.º de cat. 990332).
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, n.º de cat. 72.706)

* Para garantizar el correcto procesamiento de las muestras en los procedimientos con el QIAamp DSP DNA Blood Mini, es muy recomendable comprobar y calibrar los instrumentos (p. ej., pipetas y bloques calefactores) siguiendo las recomendaciones de los fabricantes.

Advertencias y precauciones

Tenga en cuenta que puede ser necesario que tenga que consultar las normativas locales para conocer los requisitos de notificación, en relación con los sucesos graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo; al fabricante y/o su representante autorizado y a la autoridad sanitaria del país en el que resida el usuario y/o el paciente.

Para uso diagnóstico in vitro.

Lea atentamente todas las instrucciones antes de utilizar el kit.

Información de seguridad

Siempre que trabaje con productos químicos utilice una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las hojas de datos SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN.

<p>PRECAUCIÓN</p> 	<p>NO añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los residuos de la preparación de las muestras.</p>
---	---

- El tampón de lisis (AL) y el tampón de lavado 1 (AW1) contienen clorhidrato de guanidina, que puede formar compuestos muy reactivos cuando se combina con lejía. Si se derrama el líquido de estos tampones, límpielo con un detergente de laboratorio adecuado y agua. Si el líquido derramado contiene microorganismos potencialmente infecciosos, limpie primero la zona afectada con agua y detergente de laboratorio y, a continuación, con hipoclorito sódico al 1 % (v/v). Si los frascos de tampones sufren algún daño o pierden líquido, use guantes y gafas de protección al desecharlos para evitar lesiones personales o lesiones a terceros.

- QIAGEN no ha analizado los residuos líquidos generados por los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini para determinar si contienen materiales residuales infecciosos. La contaminación del residuo líquido con materiales residuales infecciosos es improbable pero no se puede descartar completamente. Por consiguiente, el residuo líquido debe considerarse como infeccioso, y manipularse y desecharse siguiendo las normas de seguridad aplicables.
- Los materiales de muestra y las muestras son potencialmente infecciosos. Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.

Información para emergencias

CHEMTREC

EE. UU y Canadá 1-800-424-9300

Fuera de EE. UU. y Canadá +1 703-527-3887

Precauciones

A los diversos componentes del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit les conciernen las siguientes declaraciones de riesgo y seguridad:

Buffer AL



Contiene: clorhidrato de guanidina y ácido maleico. ¡Advertencia! Puede ser nocivo en caso de ingestión o inhalación. Provoca irritación cutánea. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca irritación ocular grave. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico en caso de malestar. En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

Buffer AW1



Contiene: clorhidrato de guanidina. ¡Advertencia! Nocivo en caso de ingestión o inhalación. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

QIAGEN Protease



Contiene: subtilisina. ¡Peligro! Nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea. Provoca lesiones oculares graves. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Puede irritar las vías respiratorias. Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Llevar equipo de protección respiratoria. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. Transporte a la persona al exterior y manténgala en reposo en una posición cómoda para respirar.

Eliminación

Los residuos contienen muestras y reactivos. Estos residuos pueden contener material tóxico o infeccioso y deben eliminarse adecuadamente. Consulte en la normativa local en materia de seguridad los procedimientos de eliminación adecuados.

Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Dichas hojas están disponibles en línea en formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la hoja de datos sobre seguridad de cada kit de QIAGEN y de cada componente del kit.

Almacenamiento y manipulación de reactivos

Debe prestar especial atención a las fechas de caducidad y condiciones de almacenamiento impresas en las cajas y etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados o mal almacenados.

Las columnas de centrifugación QIAamp Mini deben conservarse a 2-8 °C a su recepción y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

Nota: Para asegurarse de que no se mezclen los componentes de diferentes kits, etiquete las columnas de centrifugación QIAamp Mini con los números de lote del kit correspondientes.

Todos los tampones se pueden conservar a temperatura ambiente (15-25 °C) hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

La QIAGEN Protease (QP) liofilizada se puede conservar a temperatura ambiente (15-25 °C) hasta la fecha de caducidad del kit sin que su rendimiento se vea afectado.

Estabilidad en uso

La QIAGEN Protease (QP) reconstituida permanece estable hasta un año si se conserva a 2-8 °C, pero solo hasta la fecha de caducidad del kit. Evite conservar la solución de partida de QIAGEN Protease (QP) a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo.

El tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido y el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido permanecen estables hasta 1 año a temperatura ambiente (15-25 °C), pero solo hasta la fecha de caducidad del kit.

Para la preparación de tampones para el procedimiento automatizado, siga las instrucciones del *Manual del usuario del QIAcube Connect MDx* (que puede buscarse bajo la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com).

Recogida, almacenamiento y manipulación de muestras

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de diferentes factores y está relacionada con la aplicación posterior específica. Se ha evaluado con aplicaciones posteriores ejemplares. El usuario es responsable de consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en su laboratorio o de validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Para conocer las recomendaciones generales de recogida, transporte y almacenamiento, consulte la guía aprobada del CLSI MM13-A "Recolección, transporte, preparación y almacenamiento de muestras para métodos moleculares". Además, se deben seguir las instrucciones del fabricante para el dispositivo de recogida de muestras seleccionado durante la preparación, el almacenamiento, el transporte y la manipulación general de las muestras. Además de las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de sangre, debe tenerse en cuenta la norma ISO 20186-2:2019 (E) para la extracción de ADN genómico de sangre total venosa.

Nota: Según la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre puede afectar la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos podría causar inhibiciones en algunas aplicaciones posteriores. Por lo tanto, recomendamos el uso de muestras de sangre tratadas con EDTA o citrato como anticoagulante.

Si se utilizan muestras frescas de sangre en tubos primarios, mezcle bien las muestras de sangre (p. ej., invirtiendo los tubos varias veces) antes de la transferencia de las muestras. Las muestras congeladas (con un máximo de 3 ciclos de congelación/descongelación) deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar el procedimiento. No use muestras de

sangre que se hayan congelado y descongelado más de 3 veces. 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 transfiera la muestra sin coágulos. Los crioprecipitados que se formaron durante la descongelación de muestras congeladas obstruirán la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini o pueden afectar el procedimiento automatizado en el QIAcube Connect MDx. Si los crioprecipitados están visibles, evite aspirarlos.

El rendimiento y la calidad del ADN purificado dependen de las condiciones de conservación de la sangre. Las muestras de sangre más recientes pueden proporcionar mejores resultados. Para el almacenamiento a corto plazo durante un máximo de 10 días, recomendamos una temperatura de 2-8 °C. Sin embargo, para aplicaciones que requieran un tamaño máximo de fragmentos, como la transferencia de Southern (Southern blot), recomendamos el almacenamiento a 2-8 °C durante un máximo de 3 días únicamente, ya que después de ese período se producirán niveles bajos de degradación del ADN. Para la conservación a largo plazo (más de 10 días), recoja la sangre en tubos que contengan un anticoagulante convencional (preferiblemente EDTA, si se requiere ADN de alto peso molecular) y consérvela a -20 o -80 °C.

Notas importantes

Cuestiones importantes antes de comenzar un protocolo

- Tras recibir el kit, compruebe que los componentes no hayan sufrido ningún daño. Si los blísteres o los frascos de tampones están dañados, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN o con su distribuidor local. Si se derrama algún líquido, consulte el apartado “Información de seguridad” (página 15). No utilice los componentes dañados de un kit, dado que su rendimiento podría verse afectado.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre transferencias de líquidos. Para evitar la contaminación cruzada, recomendamos usar puntas de pipeta con filtro para aerosoles.
- Use guantes desechables durante todo el procedimiento y compruebe periódicamente que no se hayan contaminado con el material de las muestras. Deseche los guantes si se contaminan.
- Para minimizar la contaminación cruzada, no abra más de un tubo a la vez.
- Tras haber realizado todos los pasos de agitación vorticial de pulsos, centrifugue brevemente los tubos de microcentrifugadora con el fin de eliminar las gotas del interior de las tapas. El usuario debe asegurarse de que se mantiene la trazabilidad de las muestras durante todo el procedimiento.
- Todos los pasos de centrifugación se realizan a temperatura ambiente (15-25 °C).
- No utilice componentes de kits distintos del que está utilizando, a menos que tengan los mismos números de lote.
- Procure evitar la contaminación microbiana de los reactivos del kit.
- Para reducir al mínimo el riesgo de infección con material potencialmente infeccioso, se recomienda trabajar bajo un flujo de aire laminar hasta que las muestras estén lisadas.
- Este kit solo debe utilizarlo personal cualificado para los métodos de laboratorio de diagnóstico in vitro.

Preparación de reactivos y tampones

- Preparación de la QIAGEN Protease

Añada 1,2 ml de disolvente de proteasa (PS) al vial de QIAGEN Protease (QP) liofilizada y mezcle cuidadosamente. Para evitar la formación de espuma, mezcle invirtiendo el vial varias veces. Compruebe que la QIAGEN Protease (QP) se haya disuelto por completo.

Importante: No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).

- Preparación del tampón de lavado 1

Usando una probeta graduada, añada 25 ml de etanol (96–100 %) al frasco que contiene 19 ml de concentrado de solución tampón de lavado 1 (AW1). Conserve el tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido a temperatura ambiente (15-25 °C).

Importante: mezcle siempre el tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido invirtiendo el frasco varias veces antes de iniciar el procedimiento.

- Preparación del tampón de lavado 2

Usando una probeta graduada, añada 30 ml de etanol (96–100 %) al frasco que contiene 13 ml de concentrado de solución tampón de lavado 2 (AW2). Conserve el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido a temperatura ambiente (15-25 °C).

Importante: mezcle siempre el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido invirtiendo el frasco varias veces antes de iniciar el procedimiento.

- Preparación del tampón de elución

Con el kit se suministra un frasco de tampón de elución (AE). Para evitar la contaminación del tampón de elución (AE), se recomienda utilizar puntas de pipeta con filtro para aerosoles cuando se pipetea el tampón de elución (AE) del frasco y volver a poner el tapón del frasco inmediatamente después.

Importante: el tampón de elución (AE) contiene azida sódica como conservante, la cual presenta absorbancia a 260 nm. Por lo tanto, al cuantificar el ADN en el eluido midiendo la absorbancia a 260 nm, al determinar la pureza del ADN en el eluido midiendo la absorbancia a 260 y 280 nm o al controlar la absorbancia en el rango comprendido entre 220 nm y 350 nm, asegúrese de que la muestra para ensayo en blanco contenga la misma concentración de azida sódica que el eluido. Por ejemplo, si prepara el eluido para la medición de absorbancia diluyendo 50 µl de este con 100 µl de agua, para preparar la muestra para ensayo en blanco diluya 50 µl de tampón de elución (AE) con 100 µl de agua. Utilice agua destilada fresca para las diluciones.

Manipulación de las columnas de centrifugación QIAamp Mini

Dada la sensibilidad de las tecnologías de amplificación de los ácidos nucleicos, cuando se manipulen las columnas de centrifugación QIAamp Mini deben adoptarse las siguientes medidas de precaución con el fin de evitar una posible contaminación cruzada entre las preparaciones de muestras:

- Dispense la muestra o la solución cuidadosamente en la columna de centrifugación QIAamp Mini. Pipetee la muestra en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde de la columna.
- Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta.
- Abra cada vez solamente una columna de centrifugación QIAamp Mini y procure no generar aerosoles.

Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus

Compruebe que haya montado correctamente la columna de centrifugación QIAamp Mini, el conector VacConnector (VC) y la válvula VacValve (consulte la Figura 2).

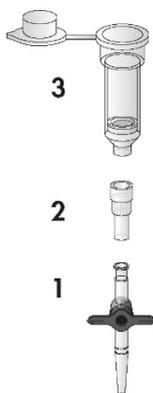


Figura 2. Ensamblado de los componentes del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para el procesamiento al vacío de las muestras. (1) VacValve (2) VacConnector (VC) y (3) columna de centrifugación QIAamp Mini.

Si se emplea el procedimiento de vacío con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus, recomendamos etiquetar los tubos de lisis (LT), los tubos de elución (ET) y las columnas de centrifugación QIAamp Mini según el esquema de la Figura 3 (consulte la página siguiente) para no confundir las muestras. Esta figura se puede fotocopiar y etiquetar con los nombres de las muestras. Si se utiliza un sistema de vacío distinto o el procedimiento de centrifugación, recomendamos utilizar un esquema similar.

Fecha: _____

Usuario: _____

ID del análisis: _____

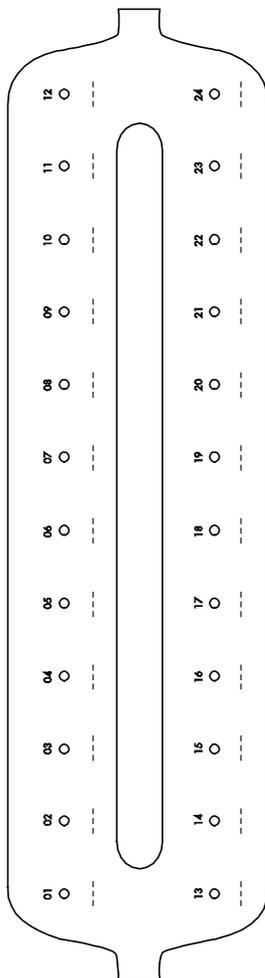


Figura 3. Esquema de etiquetado para tubos de lisis (LT), tubos de elución (ET) y columnas de centrifugación QIAamp Mini para su uso en el sistema de vacío QIAvac 24 Plus.

Procedimiento

Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con una microcentrifugadora/purificación automatizada en el QIAcube Connect MDx

Para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras de 200 µl de sangre total tratada con EDTA o citrato con una microcentrifugadora o realizados automáticamente en el QIAcube Connect MDx.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- El siguiente procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra de sangre. No obstante, es posible procesar varias muestras al mismo tiempo; el número dependerá de la capacidad de la microcentrifugadora utilizada.
- El procesamiento automatizado de 2-10 muestras o 12 muestras se puede realizar en el instrumento QIAcube Connect MDx.
- En el caso de la automatización, siga las instrucciones que aparecen en la interfaz del usuario (QIAcube Connect MDx) y consulte el *Manual del usuario del QIAcube Connect MDx* (que pueden encontrarse en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com).

Antes de comenzar

- Equilibre las muestras de sangre a temperatura ambiente y compruebe que estén bien mezcladas.
- Asegúrese de que todos los reactivos y las columnas de centrifugación QIAamp Mini (en blísteres cerrados) se equilibren a temperatura ambiente.

- Ponga un bloque calefactor a 56 °C para utilizarlo en el paso 4 (necesario para el procedimiento manual y el procedimiento automatizado con lisis manual fuera del instrumento).
- Asegúrese de que el tampón de lavado 1 (AW1), el tampón de lavado 2 (AW2) y la QIAGEN Protease (QP) se hayan preparado según las instrucciones del apartado "Preparación de reactivos y tampones" de la página 22.
- Si se ha formado algún precipitado en el tampón de lisis (AL), disuélvalo incubándolo a una temperatura de 56 °C.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN utilizan pruebas funcionales de liberación de kit para cada lote de kit individual. Por lo tanto no mezcle reactivos de lotes de kit distintos y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.

Procedimiento

- Para realizar el procedimiento manual con una microcentrifugadora, siga los pasos 1-15.
 - Este procedimiento se puede automatizar en 3 distintas versiones:
 - Volumen de elución: 100 µl con automatización total (la automatización se inicia en el paso 1)
 - Volumen de elución: 200 µl con automatización total (la automatización se inicia en el paso 1)
 - Lisis manual: con automatización parcial con lisis manual fuera del instrumento y volúmenes de elución de 100-200 µl en incrementos de 10 µl (la automatización se inicia en el paso 5)
1. Pipetee 20 µl de QIAGEN Protease (QP) en un tubo de lisis (LT).
 - ⓘ Compruebe la fecha de caducidad de la proteasa reconstituida antes de utilizarla.
 2. Añada 200 µl de muestra de sangre al tubo de lisis (LT).

3. Añada 200 µl de tampón de lisis (AL) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle mediante agitación vorticial de pulsos durante ≥ 15 segundos.
 - ❗ Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y el tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea.
 - ❗ Dada la alta viscosidad del tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado o utilizando una pipeta adecuada.
 - ❗ No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).
4. Incube a 56 °C durante 10 min.
5. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 s a velocidad máxima para eliminar las gotas del interior de la tapa.
 - ❗ En el caso de la lisis manual (pasos 1-5) fuera del instrumento, se pueden automatizar los siguientes pasos (pasos 6-15) en el QIAcube Connect MDx mediante el protocolo de lisis manual.
6. Añada 200 µl de etanol (al 96-100 %) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle bien mediante agitación vorticial de pulsos durante ≥ 15 s.
7. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 s a velocidad máxima para eliminar las gotas del interior de la tapa.
8. Dispense cuidadosamente todo el lisado obtenido en el paso 7 en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta.
 - ❗ Si se están procesando varias muestras, no abra más de un tubo de lisis (LT) cada vez.
9. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a aproximadamente 6000 x g durante 1 minuto. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo que contiene el filtrado.

-  si el lisado no ha traspasado completamente la membrana tras el centrifugado a $6000 \times g$ (8000 rpm), vuelva a centrifugar a velocidad máxima (hasta $20\,800 \times g$) durante 1 minuto.
-  Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1 de la página 27.

10. Abra cuidadosamente la columna de centrifugación QIAamp Mini y añada 500 μ l de solución tampón de lavado 1 (AW1) procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta.

11. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a aproximadamente $6000 \times g$ durante 1 minuto. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo que contiene el filtrado.

12. Abra cuidadosamente la columna de centrifugación QIAamp Mini y añada 500 μ l de solución tampón de lavado 2 (AW2) procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta.

13. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y centrifugue a velocidad máxima (aprox. $20\,000 \times g$, o 14 000 rpm) durante 1 min. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y deseche el tubo que contiene el filtrado.

Centrifugue a velocidad máxima (aprox. $20\,000 \times g$ o 14 000 rpm) durante 3 min para secar completamente la membrana.

-  La omisión del secado por centrifugación puede producir una inhibición del ensayo anterógrado.

14. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de elución (ET) nuevo y deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado. Abra cuidadosamente la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini y dispense de 50 a 200 μ l de tampón de elución (AE) en el centro de la membrana.

- ① Es importante utilizar un tubo de elución nuevo para evitar la contaminación a causa de tampones de lavado residuales que podrían producir la inhibición del ensayo anterógrado.
- ① La dispensación del tampón de elución (AE) en el centro de la membrana es especialmente importante para los volúmenes de elución más pequeños para garantizar la recuperación óptima de los ácidos nucleicos y del tampón de elución (AE).

15. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente durante 1 minuto. Centrifugue a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir el ADN.

- ① Oriente las tapas del tubo de elución de modo que apunten en la dirección opuesta a la rotación del rotor (p. ej., si el rotor gira en el sentido de las agujas del reloj, oriente las tapas en sentido antihorario).
- ① En el caso de que todos los procedimientos sean automatizados, elimine los eluidos del instrumento directamente después de que haya finalizado el análisis y almacénelos adecuadamente.

Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con un sistema de vacío

Para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras de 200 µl de sangre total tratada con EDTA o citrato con un sistema de vacío QIAvac 24 Plus.

Cuestión importante antes de comenzar

El siguiente procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra de sangre. No obstante, con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus se pueden procesar hasta 24 muestras simultáneamente.

Antes de comenzar

- Equilibre las muestras de sangre a temperatura ambiente y compruebe que estén bien mezcladas.
- Asegúrese de que todos los reactivos y las columnas de centrifugación QIAamp Mini (en blísteres cerrados) se equilibren a temperatura ambiente.
- Ponga un bloque calefactor a 56 °C para utilizarlo en el paso 4.
- Asegúrese de que el tampón de lavado 1 (AW1), el tampón de lavado 2 (AW2) y la QIAGEN Protease (QP) se hayan preparado según las instrucciones del apartado "Preparación de reactivos y tampones" de la página 22.
- Si se ha formado algún precipitado en el tampón de lisis (AL), disuélvalo incubándolo a una temperatura de 56 °C.
- Para minimizar la contaminación cruzada, inserte un VacConnector (VC) en cada adaptador Luer del sistema de vacío.
- Asegúrese de que no haya nada en el frasco de residuos del sistema de vacío y que todas las conexiones se hayan realizado correctamente.
- Para obtener información detallada sobre el funcionamiento del sistema de vacío, especialmente acerca de su mantenimiento, consulte el manual de uso suministrado con el equipo.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN utilizan pruebas funcionales de liberación de kit para cada lote de kit individual. Por lo tanto, no mezcle reactivos de lotes de kit distintos y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.

Procedimiento

1. Pipetea 20 µl de QIAGEN Protease (QP) en un tubo de lisis (LT).
 -  Compruebe la fecha de caducidad de la proteasa reconstituida antes de utilizarla.
2. Añada 200 µl de muestra de sangre al tubo de lisis (LT).
3. Añada 200 µl de tampón de lisis (AL) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle mediante agitación vorticial de pulsos durante ≥ 15 s.
 -  Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y el tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea.
 -  Dada la alta viscosidad del tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado o utilizando una pipeta adecuada.
 -  No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).
4. Incube a 56 °C durante 10 min.
5. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 s a velocidad máxima para eliminar las gotas del interior de la tapa.
6. Añada 200 µl de etanol (al 96-100 %) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mezcle bien mediante agitación vorticial de pulsos durante ≥ 15 s.
7. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 s a velocidad máxima para eliminar las gotas del interior de la tapa.
8. Inserte la columna de centrifugación QIAamp Mini en el VacConnector (VC) del sistema de vacío. Asegúrese de que la válvula de vacío principal (entre el sistema de vacío y el colector de vacío) y la válvula con tapón de rosca (en el colector de vacío) estén cerradas. Encienda la bomba de vacío.

Deseche el tubo de lavado (WT) (2 ml) en el que está colocada la columna de centrifugación QIAamp Mini en el blíster.

El vacío solamente se aplica al sistema de conexión (si se utiliza) y no al colector de vacío.

9. Dispense cuidadosamente todo el lisado obtenido en el paso 7 en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta.

 Si se están procesando varias muestras, no abra más de un tubo de lisis (LT) cada vez.

10. Abra la válvula de vacío principal. Una vez que el lisado haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula de vacío principal y abra la válvula con tapón de rosca en el colector de vacío para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.

Tras cerrar la válvula principal de vacío, el vacío solamente se aplica al sistema de conexión (si se utiliza) y no al colector de vacío.

 Utilice la válvula con tapón de rosca del colector de vacío para una rápida eliminación del vacío.

 Si se procesan varias columnas de centrifugación QIAamp Mini al mismo tiempo, se recomienda cerrar la VacValve de cada columna después de que el lisado haya pasado a través de esta con el fin de reducir la duración de este paso de vacío.

 Si al cabo de 10 minutos el lisado aún no ha terminado de atravesar la membrana, coloque la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio, cierre la tapa y centrifugue a $6000 \times g$ (8000 rpm) durante 3 minutos o hasta que haya pasado todo el lisado. Coloque la columna de centrifugación QIAamp Mini en otro tubo de lavado (WT) limpio y prosiga con el paso 10 del protocolo en la página 33.

 Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1 de la página 32.

11. Dispense 750 μ l de tampón de lavado 1 (AW1) en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta. Deje la tapa de la columna abierta y abra la válvula de vacío principal. Una vez que la solución tampón de lavado 1 (AW1) haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula principal de vacío y abra la válvula con tapón de rosca para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.

12. Dispense 750 µl de tampón de lavado 2 (AW2) en la columna de centrifugación QIAamp Mini procurando no mojar el borde. Evite tocar la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini con la punta de pipeta. Deje la tapa de la columna abierta y abra la válvula de vacío principal. Una vez que la solución tampón de lavado 2 (AW2) haya atravesado la columna de centrifugación QIAamp Mini, cierre la válvula principal de vacío y abra la válvula con tapón de rosca para ventilar el colector. Cierre la válvula con tapón de rosca una vez que el vacío haya desaparecido del colector.
13. Cierre la tapa de la columna de centrifugación QIAamp Mini, retirela del sistema de vacío y deseche el VacConnector (VC). Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de lavado (WT) limpio y centrifúguela a velocidad máxima (aprox. 20 000 x g, o 14 000 rpm) durante 3 min para secar completamente la membrana.
- ❗ La omisión del secado por centrifugación puede producir una inhibición del ensayo anterógrado.
14. Ponga la columna de centrifugación QIAamp Mini en un tubo de elución (ET) nuevo y deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado. Abra con cuidado la tapa de la columna QIAamp Mini Spin y dispense de 50 a 200 µl de tampón de elución (AE) en el centro de la membrana.
- ❗ Es importante usar un tubo de elución (ET) para evitar la contaminación a causa de tampones de lavado residuales que podrían causar la inhibición del ensayo anterógrado.
 - ❗ La dispensación del tampón de elución (AE) en el centro de la membrana es especialmente importante para los volúmenes de elución más pequeños para garantizar la recuperación óptima de los ácidos nucleicos y del tampón de elución (AE).
15. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente durante 1 min. Centrifugue a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 minuto para eluir el ADN.
- ❗ Oriente las tapas del tubo de elución (ET) de modo que apunten a la dirección opuesta a la rotación del rotor (p. ej., si el rotor gira en el sentido de las agujas del reloj, oriente las tapas en sentido antihorario).
 - ❗ Después de este protocolo, siga el procedimiento de mantenimiento del sistema de vacío (para más detalles, consulte el manual de uso suministrado con el sistema de vacío).

Control de calidad

Conforme al sistema de gestión de la calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit se somete a pruebas frente a una serie de especificaciones predeterminadas con el fin de garantizar una calidad constante del producto.

Limitaciones

El rendimiento del sistema se ha comprobado utilizando sangre total para el aislamiento de ADN genómico.

En la sección “Descripción y principio”, encontrará información sobre el uso del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. El procedimiento automatizado se explica detalladamente en la sección “Protocolo: Aislamiento y purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre con una microcentrifugadora/purificación automatizada en el QIAcube Connect MDx”.

Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema con los procedimientos utilizados en cada laboratorio que no estén contemplados en los estudios de rendimiento de QIAGEN.

Para reducir al mínimo el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles apropiados para las aplicaciones posteriores. Para realizar validaciones adicionales se recomienda seguir las directrices de la “ International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) detalladas en ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text And Methodology”.

Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros datos clínicos o de laboratorio.

Características del rendimiento

Encontrará las características del rendimiento correspondientes en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Guía de resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, también puede consultar la página de preguntas frecuentes (Frequently Asked Questions) de nuestro Centro de servicio técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del servicio técnico de QIAGEN se encargarán de responder cualquier pregunta que tenga sobre la información y/o los protocolos de este manual de uso, así como sobre las tecnologías para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Manipulación general

- a) Obstrucción de las puntas de pipeta durante la transferencia de muestras
- Mezcle bien las muestras de sangre (p. ej., invirtiendo los tubos varias veces) antes de la transferencia de las muestras. Las muestras congeladas deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar el procedimiento.
- Procure evitar la presencia de coágulos de sangre en las muestras y transfiera la muestra sin coágulos. Los crioprecipitados que se forman durante la descongelación de muestras congeladas obstruirán la membrana de la columna de centrifugación QIAamp Mini o pueden producir problemas durante el procedimiento automatizado.
- b) Columna de centrifugación QIAamp Mini obstruida
- Flujo de trabajo de centrifugación:
- si el lisado no ha traspasado completamente la membrana tras el centrifugado a 6000 × g (8000 rpm), vuelva a centrifugar a velocidad máxima (hasta 20 800 × g) durante 1 minuto.
- Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1.
- Flujo de trabajo de vacío:
- Si se reduce la velocidad de flujo, se puede prolongar el tiempo de vacío.
- De forma alternativa, cierre la VacValve, si se utiliza, y retire con cuidado el conjunto de VacConnector-VacValve de la columna de centrifugación QIAamp Mini sin perder el lisado.
- Retire la columna de centrifugación QIAamp Mini del colector de vacío, colóquela en un tubo de lavado de 2 ml y centrifúguela a máxima velocidad hasta que la muestra haya atravesado por completo la membrana. Vuelva a colocar el conjunto de VacConnector-VacValve que contiene el lisado restante. Conecte la bomba de vacío, abra la VacValve y continúe con la carga del lisado restante.

Comentarios y sugerencias

Repita el procedimiento anterior si la columna de centrifugación QIAamp Mini continúa obstruida.

Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1.

Información general

Es posible que se hayan formado crioprecipitados debido a la repetición de los ciclos de congelación y descongelación. Estos pueden bloquear la columna de centrifugación QIAamp Mini. No use muestras de sangre que se hayan congelado y descongelado más de 3 veces. Las muestras congeladas deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25°C) antes de iniciar el procedimiento.

- | | | |
|----|---|---|
| c) | Se ha formado precipitado en el tampón de lisis (AL) | Disolución por incubación del tampón de lisis (AL) a 56 °C. |
| d) | Volúmenes de elución variables | <p>El volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra.</p> <p>Debido a la retención del tampón de elución (AE) en la columna de centrifugación, el volumen de eluido recuperado puede ser inferior al volumen de tampón de elución aplicado a la columna.</p> <p>Aplique el tampón de elución (AE) al centro de la membrana. La dispensación del tampón de elución (AE) en el centro de la membrana es especialmente importante para los volúmenes de elución más pequeños para garantizar la recuperación óptima de los ácidos nucleicos y del tampón de elución (AE).</p> |
| e) | No se alcanzó una presión de vacío de aprox. 800-900 mbar | <p>El colector de vacío no está herméticamente cerrado. Presione la tapa del colector de vacío después de activarlo. Compruebe si se alcanzó la presión de vacío. La junta de la tapa de QIAvac está gastada. Examine el sello del colector y sustitúyalo si es necesario.</p> <p>Las VacValves están gastadas. Extraiga todas las VacValves e inserte VacConnectors (VC) directamente en las extensiones luer. Inserte las columnas de centrifugación QIAamp Mini en los VacConnectors (VC), cierre la tapa de las columnas y active el vacío. Compruebe si se alcanzó la presión de vacío. Sustituya las VacValves si es necesario.</p> <p>La conexión con la bomba de vacío presenta fugas. Cierre toda la extensión luer con tapones luer y conecte la bomba de vacío. Compruebe que la presión de vacío sea estable después de conectar la bomba (y que la válvula del Vacuum Regulator esté cerrada). Intercambie las conexiones entre la bomba y el colector de vacío si es necesario.</p> <p>Si aún no se alcanza la presión de vacío, sustituya la bomba de vacío por una de mayor potencia.</p> |
| f) | En caso de problemas en el flujo de trabajo automatizado | Consulte el <i>Manual del usuario del QIAcube Connect MDx</i> (que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com). |

Baja producción de ADN

- | | | |
|----|--|---|
| a) | Lisis incompleta de la muestra | <p>Si la QIAGEN Protease (QP) se sometió a temperatura elevada durante un período de tiempo prolongado, es posible que pierda actividad. Repita el procedimiento con muestras nuevas y QIAGEN Protease (QP) fresca.</p> <p>Asegúrese de disolver la QIAGEN Protease (QP) con disolvente de proteasa (PS) según las instrucciones anteriores. Para evitar la formación de espuma, mezcle invirtiendo el vial varias veces. Compruebe que la QIAGEN Protease (QP) se haya disuelto por completo. No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).</p> <p>Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y el tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea. Dada la alta viscosidad del tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado o utilizando una pipeta adecuada.</p> |
| b) | Se usó un bajo porcentaje de etanol en lugar de 96-100% | <p>Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras y etanol al 96-100 %. No utilice alcohol desnaturalizado, que contiene otras sustancias como metanol o metiletilcetona.</p> |
| c) | Buffer AW1 o Buffer AW2 preparado incorrectamente | <p>Asegúrese de que los concentrados de Buffer AW1 y Buffer AW2 se hayan diluido con el volumen correcto de etanol al 96-100 % y se hayan mezclado mediante la inversión del frasco varias veces antes de iniciar el procedimiento.</p> |
| d) | Las muestras de sangre no se almacenaron correctamente | <p>El rendimiento y la calidad del ADN purificado dependen de las condiciones de conservación de la sangre. Las muestras de sangre más recientes pueden proporcionar mejores resultados. Para el almacenamiento a corto plazo durante un máximo de 10 días, recomendamos una temperatura de 2-8 °C. Sin embargo, para aplicaciones que requieran un tamaño máximo de fragmentos, como la transferencia de Southern (Southern blot), recomendamos el almacenamiento a 2-8 °C durante un máximo de 3 días únicamente, ya que después de ese período se producirán niveles bajos de degradación del ADN. Para el almacenamiento a largo plazo (más de 10 días), recoja la sangre en tubos que contengan un anticoagulante convencional (preferiblemente EDTA, si se requiere ADN de alto peso molecular) y almacénela a -20 o -80 °C.</p> |
| e) | Las muestras de sangre congeladas no se mezclaron correctamente después de la descongelación | <p>Las muestras congeladas deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar el procedimiento.</p> |

El ADN no tiene un buen rendimiento en reacciones posteriores

- | | | |
|----|--------------------------------|--|
| a) | Poco o ningún ADN en el eluido | <p>Consulte "Rendimiento bajo de ADN" más arriba para conocer las razones posibles. Aumente la cantidad de eluido que se añade a la reacción, si es posible.</p> |
|----|--------------------------------|--|

Comentarios y sugerencias

- | | | |
|----|---|---|
| b) | Se usó un volumen de elución inadecuado | Determine el volumen máximo de eluido adecuado para su aplicación posterior. Reduzca o aumente el volumen de eluido añadido a la aplicación posterior en consonancia. El volumen de elución se puede adaptar proporcionalmente. La elución con volúmenes más pequeños de Buffer AE conduce a concentraciones más altas de ácido nucleico, pero puede dar lugar a un rendimiento total más bajo. |
| c) | No se ha utilizado suficiente ADN | Cuantifique el ADN purificado mediante la medición espectrofotométrica de la absorbancia a 260 nm. |
| d) | Se ha utilizado un exceso de ADN | El exceso de ADN puede inhibir algunas reacciones enzimáticas. Cuantifique el ADN purificado mediante la medición espectrofotométrica de la absorbancia a 260 nm. |
| e) | Posible arrastre inhibitor | Asegúrese de realizar el paso de centrifugación en seco antes de la elución para evitar la posible inhibición del ensayo anterógrado. Es importante usar un tubo de elución (ET) para evitar la contaminación a causa de tampones de lavado residuales que podrían causar la inhibición del ensayo anterógrado. |

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado aparecen los siguientes símbolos:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	A su recepción
	Abrir en el momento de la entrega; almacenar las columnas de centrifugación QIAamp Mini a 2-8 °C
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)
	Componentes

Símbolo	Definición del símbolo
	Contenido
	Número
	Número mundial de artículo comercial
Rn	“R” es la revisión de las Instrucciones de uso y “n” es el número de revisión
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Volumen
	Anotar la fecha actual tras añadir etanol al frasco
	Adición
	Liofilizado
	Reconstituir en

Símbolo	Definición del símbolo
	Etanol
	Clorhidrato de guanidina
	Subtilisina
	Conduce a
	Consultar las instrucciones de uso
	Nota importante
	Identificador único de dispositivo

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparaciones: QIAamp Mini Spin Columns, tampones, reactivos, tubos, equipos VacConnectors	61104
Productos relacionados		
QIAcube Connect MDx*	Garantía del instrumento y de 1 año para piezas y mano de obra	9003070
Accesorios		
QIAvac 24 Plus†	Colector de vacío para procesar entre 1 y 24 columnas de centrifugación: se incluye el QIAvac 24 Plus vacuum manifold, Luer Plugs, Quick Couplings	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Bomba de vacío universal (capacidad de 34 litros/min, vacío abs. de 8 mbar)	84020
VacConnectors (500)†	500 conectores desechables para usar con las columnas de centrifugación QIAamp en los conectores luer	19407
VacValves (24)	24 válvulas para usar con el QIAvac 24 y el QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Para su uso con colectores QIAvac	19530
QIAvac Connecting System	Sistema para conectar el colector de vacío con la bomba de vacío: incluye bandeja, frascos de residuos, tubos, acoplamientos, válvula, manómetro y 24 VacValves	19419
Rotor Adapters (10 x 24)	Para 240 preparaciones: 240 adaptadores de rotor desechables y 240 tubos de elución (1,5 ml); para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx	990394

Producto	Contenido	N.º de cat.
Rotor Adapter Holder	Soporte para 12 adaptadores de rotor desechables; para su uso con el QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 tubos (2 ml) con tapa de rosca cónicos sin base de apoyo para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Tapones para la gradilla del agitador (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Frascos de reactivos (30 ml) con tapas; paquete de 6; para usar con el QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Filter-Tips desechables, engradilladas; (8 × 128). Para usar con el QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Filter-Tips desechables, de calibre ancho, engradilladas (8 × 128); no son necesarias para todos los protocolos. Para usar con el QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Filter-Tips desechables, engradilladas; (8 × 128). Para usar con los instrumentos QIAcube Connect MDx y QIASymphony SP/AS	990332

* El instrumento QIAcube Connect MDx no está disponible en todos los países. Si desea más detalles, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.

† Para el uso con protocolos de vacío.

Para obtener información actualizada sobre licencias y sobre exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el documento de instrucciones de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Las instrucciones de uso del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p>Versión 3, Revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Actualización a la versión 3 del kit para cumplir con el IVDR● Actualización de Descripción y principio● Actualización de Materiales suministrados (incorporación de principios activos) y de Materiales necesarios pero no suministrados● Actualización de Advertencias y precauciones (incorporación de información para emergencias y de la sección Eliminación)● Actualización de Almacenamiento y manipulación de reactivos● Actualización de Recogida, almacenamiento y manipulación de muestras● Actualización de Notas importantes y Procedimiento● Actualización de Limitaciones● Actualización de Características del rendimiento● Actualización de la sección Símbolos● Actualización de Información de seguridad

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente

Acuerdo de Licencia Limitada para el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a este manual de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, este manual de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 | 1127543 © 2022 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

