

Manual de instrucciones de uso del QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit (hoja de protocolo)

circDNA_2000_DSP_V2 y circDNA_4000_DSP_V2

Versión 2



Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con el QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1 Encontrará la hoja del protocolo en formato electrónico en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Información general

Para uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo está indicado para la purificación de ADN circulante libre humano a partir de plasma y orina humanos frescos o congelados utilizando el QIASymphony DSP Circulating DNA Kit y el instrumento QIASymphony SP.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
N.º de catálogo	937556	
Material de muestra	Plasma humano: <ul style="list-style-type: none">De tubos de recogida de sangre con estabilizadores del perfil de ccfDNA (p. ej., Cell-Free DNA BCT®, Streck®)De tubos de recogida de sangre sin estabilizadores del perfil de ccfDNA (p. ej., EDTA) Orina humana: <ul style="list-style-type: none">Con estabilizadores del perfil de cfDNASin estabilizadores del perfil de cfDNA	
Nombre del protocolo	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Conjunto de controles de ensayo predeterminado	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Volumen de elución	60 µl	60 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior	Versión 5.0 o superior
Configuración de software necesaria para uso IVD	Perfil predeterminado 1	Perfil predeterminado 1

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

Cajón "Sample" (Muestra)

Tipo de muestra	Plasma y orina humanos (consulte "Preparación del material de muestra")
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestra usado Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Tubos de muestra primarios	n/a
Tubos de muestra secundarios	Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Insertos	n/a
Otro	La proteinasa K se debe añadir en la ranura A (posición 1, 2 y/o 3)

n/a = no aplicable.

Preparación de la proteinasa K en el cajón "Sample" (Muestra)

El QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit contiene solución de proteinasa K lista para usar que puede conservarse a temperatura ambiente.

Nota: Se colocan tubos que contienen proteinasa K en un portatubos. Los tubos que contienen la proteinasa K deben colocarse en las posiciones 1, 2 y/o 3 en la ranura A del cajón "Sample" (Muestras). Consulte el tipo de tubo necesario en la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Número de muestras*	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11 660
72	9020	18 040†
96	11 660	23 320†

* Para cada muestra se requieren 110 µl para circDNA_2000_DSP o 220 µl para circDNA_4000_DSP, más un volumen vacío adicional de 1100 µl ($[n \times 110 \text{ o } 220 \text{ µl}] + 1100 \text{ µl}$).

† Para circDNA_4000_DSP: Si se procesan más de 48 muestras, utilice un segundo tubo. El volumen de carga máximo de cada tubo es de 11 660 µl. Para el segundo tubo se requiere un volumen vacío adicional de 1100 µl.

Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

Posición A1 y/o A2	Cartucho de reactivos (Reagent Cartridge, RC)
Posición B1	n/a
Soporte de gradillas de puntas 1-18	Disposable filter-tips, 200 µl o 1500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o 8-Rod Covers

n/a = no aplicable.

Cajón "Waste" (Residuos)

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

Cajón "Eluate" (Eluidos)

Gradilla de elución (recomendamos utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)	Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
--	---

Materiales plásticos necesarios

Protocolo circDNA_2000_DSP

Material de plástico	Un lote 24 muestras*	Dos lotes 48 muestras*	Tres lotes 72 muestras*	Cuatro lotes 96 muestras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	56	112	168	224
Sample prep cartridges‡	15	30	45	60
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 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 (Reactive cartridge, RC).

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

¶ Hay doce cubiertas para 8-Rod Covers por caja unitaria.

Protocolo circDNA_4000_DSP

Material de plástico	Un lote 24 muestras*	Dos lotes 48 muestras*	Tres lotes 72 muestras*	Cuatro lotes 96 muestras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	96	192	288	384
Sample prep cartridges‡	18	36	54	72
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 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 (Reactive Cartridge, RC).

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

¶ Hay doce cubiertas para 8-Rod Covers por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro indicados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración; por ejemplo, número de controles internos usados por lote.

Volumen de elución

Volumen de elución seleccionado	Volumen de elución inicial
60 µl	75 µl

El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. El volumen de elución medio disponible es de ≥ 60 µl. En casos individuales, el volumen de eluido final para determinadas muestras puede ser hasta 5 µl inferior al volumen seleccionado (p. ej., 55 µl). Se recomienda comprobar el volumen de eluido real cuando se utilice un sistema de preparación automatizada del ensayo que no verifique el volumen de eluido antes de la transferencia.

Conservación de los eluidos

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de varios factores y está relacionada con la aplicación posterior específica. Se ha establecido para el QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit junto con las aplicaciones posteriores ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en el laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Se recomienda retirar la placa de eluidos del cajón "Eluate" (Eluidos) nada más finalizar la serie. Las placas de elución se pueden dejar en el instrumento QIAAsymphony SP una vez haya finalizado la serie durante la noche (como máximo 16 horas, incluido el tiempo de la serie; condiciones ambientales recomendadas: 18-26 °C y 20-75% de humedad relativa). Dependiendo de la temperatura y de la humedad, el eluido puede experimentar condensación o evaporación.

Después de la preparación de las muestras, los eluidos pueden almacenarse a 2-8 °C hasta 1 mes como máximo y a -20 °C o a -80 °C durante 2 meses como máximo. Los eluidos congelados no deben descongelarse más de 3 veces.

Preparación del material de muestra

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de varios factores y está relacionada con la aplicación posterior específica. Se ha establecido para el QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit junto con las aplicaciones posteriores ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en el laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Plasma humano

Al utilizar tubos de recogida de sangre con estabilizadores del perfil de ccfDNA, se seguirán las instrucciones del fabricante para llevar a cabo la preparación, el almacenamiento, el transporte y la manipulación general del plasma. Al utilizar tubos de recogida de sangre sin estabilizadores del perfil de ccfDNA, y si el proveedor del procedimiento de examen específico ofrece instrucciones sobre la preparación, el almacenamiento, el transporte y la manipulación general del plasma, se seguirán dichas instrucciones. Para obtener más información, consulte la norma ISO 20186-3:2019 (E) Análisis de diagnóstico molecular in vitro. Especificaciones para los procesos preanalíticos para sangre venosa total. Parte 3: ADN libre circulante aislado del plasma.

Independientemente de las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de sangre, se deben considerar los siguientes aspectos de acuerdo con la norma ISO 20186-3:2019 (E) para la extracción automática de ccfDNA del plasma con el QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit y el instrumento QIAAsymphony SP.

Las muestras de sangre sin estabilizador del perfil de ccfDNA se pueden usar en la preparación del plasma (en el caso del tubo de recogida de sangre con EDTA). También se puede usar el plasma preparado a partir de los tubos con estabilizador del perfil de ccfDNA (por ejemplo, Cell-Free DNA BCT de Streck).

Si se utiliza EDTA o citrato como anticoagulante, se recomienda separar el plasma inmediatamente después de la extracción de la sangre.

Para determinadas aplicaciones posteriores puede ser necesario excluir o minimizar los ácidos nucleicos procedentes de vesículas. En estos casos, se recomienda intercalar un paso de centrifugado de alta velocidad a $16.000 \times g$ durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) después de la obtención inicial del plasma.

Una vez extraído y centrifugado, el plasma puede conservarse a temperatura ambiente hasta 7 días y a 2-8 °C hasta un máximo de 14 días. Para una conservación más larga de hasta 24 meses, se recomienda congelar las alícuotas a -20 °C o a -80 °C. El plasma congelado no debe descongelarse más de 3 veces. La congelación y descongelación repetidas desnaturaliza y precipita las proteínas, lo que puede provocar una disminución de la cantidad de ácidos nucleicos libres circulantes. Se recomienda descongelar el plasma en un baño de agua a 30 °C durante 30 min. Si se observan crioprecipitados en las muestras, se deben quitar antes de cargar la muestra en el instrumento. Los crioprecipitados pueden resolverse aplicando agitación vorticial a la muestra, si se observan en la parte superior de la muestra, se eliminan antes de cargar la muestra en el instrumento. De manera alternativa, los crioprecipitados pueden eliminarse mediante centrifugación y se puede transferir el sobrenadante sin alterar los sedimentos a un tubo de muestra secundario (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com). Inicie inmediatamente el procedimiento de purificación.

Orina humana

Debido a la degradación rápida de ccfDNA después de la recogida de la orina, se recomienda enfáticamente estabilizar las muestras de orina sin demora. Las aplicaciones posteriores ejemplares se utilizaron con el QIASymphony DSP Circulating DNA Kit para establecer recomendaciones sobre la manipulación y estabilización de orina. Aunque el kit se usa como kit inicial para varias aplicaciones posteriores, la manipulación de orina debe establecerse para cualquier flujo de trabajo como parte del desarrollo de la aplicación posterior. Como alternativa, cuando se usa un estabilizador del perfil de cfDNA comercialmente disponible para la orina, se seguirán las instrucciones del fabricante.

Orina humana estabilizada

La orina estabilizada se puede conservar a temperatura ambiente (15-25 °C) o a 2-8 °C durante un máximo de 7 días. Para una conservación más larga de hasta 24 meses, se recomienda congelar las alícuotas a -20 °C o a -80 °C.

Las muestras de orina estabilizadas no requieren ningún pretratamiento. Tras la estabilización, se recomienda centrifugar las muestras de orina a baja velocidad (1900 x g) durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) para eliminar las células antes de proceder a la extracción del ccfDNA. Si después del centrifugado se aprecian precipitados en los sobrenadantes, caliente las muestras a 25 °C en un baño de agua para disolverlos. Antes de comenzar una serie, transfiera las muestras de orina estabilizadas a un tubo de muestra secundario y después cargue este tubo en el soporte para muestras (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com).

Orina humana "no estabilizada"

Antes de comenzar un protocolo que requiera el uso del Buffer ATL, compruebe si se ha formado precipitado en el Buffer ATL. En caso necesario, disuélvalo calentando el tampón en un baño de agua a 70 °C agitando suavemente. Aspire las burbujas presentes en la superficie del Buffer ATL.

Nota: El Buffer ATL (4 x 50 ml, n.º de cat. 939016) no forma parte del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit y se debe pedir por separado.

Se recomienda centrifugar las muestras de orina inmediatamente después de la recolección a baja velocidad (1900 × g) durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) para eliminar las células. Las muestras de orina no estabilizadas requieren un pretratamiento.

Importante: Antes de iniciar el pretratamiento, deje que las muestras se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C).

Importante: El centrifugado y el pretratamiento deben realizarse en las 4 horas siguientes a la recolección de la muestra de orina.

- Mezcle 2500 µl de orina (circDNA_2000_DSP) o 4500 µl de orina (circDNA_4000_DSP) con 250 µl o 450 µl de Buffer ATL, respectivamente.
- Incube las muestras a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 1 hora.
- Centrifugue las muestras a 1900 × g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).
- Si después del centrifugado se aprecian precipitados en el sobrenadante, caliente las muestras a 25 °C en un baño de agua para disolverlos.
- Transfiera los sobrenadantes a un tubo de muestra secundario y después cargue este tubo en el soporte para muestras (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com).

Importante: La estabilidad e integridad del ccfDNA están limitadas en muestras de orina no estabilizadas. Se recomienda cargar como máximo un lote de 24 muestras para cada serie de QIASymphony a fin de minimizar el tiempo de permanencia en el instrumento de las muestras de orina.

Cuestiones importantes antes de cargar las muestras

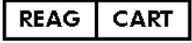
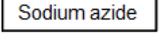
- Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras.
- Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar la serie.

Sustancias interferentes

Las muestras de plasma con altas concentraciones de gammaglobulina (>30 g/l) pueden reducir la recuperación del ADN circulante libre.

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
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)
	Componentes
	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
	Advertencia/precaución
	Proteinasa K
	Número de pocillo (es decir, pocillo del cartucho de reactivos)
	Cartucho de reactivos
	Azida sódica
	Etanol
	Identificador único de dispositivo

Historial de revisiones

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p>Versión 2, revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Actualización a la versión 2 para cumplir con IVDR• Se actualizó la redacción de la manipulación de muestras para tener en cuenta la norma ISO 20186-3:2019 (E) Análisis de diagnóstico molecular in vitro. Especificaciones para los procesos preanalíticos para sangre venosa total. Parte 3: ADN libre circulante aislado del plasma.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales de uso 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 a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN, reservados todos los derechos.