

Diciembre 2017

Hoja de protocolo del instrumento QIASymphony[®] SP

Protocolo Complex400_OBL_V4_DSP

Este documento es la *hoja de protocolo del instrumento* QIASymphony SP Complex400_OBL_V4_DSP, R2, para el QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versión 1.

Información general

El QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit está diseñado para diagnóstico in vitro.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Material de muestra	Muestras respiratorias y urogenitales
Nombre del protocolo	Complex400_OBL_V4_DSP
Conjunto de controles del ensayo predeterminado	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
Editable	Volumen de eluido: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior

Cajón "Sample" (muestras)

Tipo de muestra	Muestras respiratorias (BAL [lavado broncoalveolar], bastoncillos secos, medio de transporte, aspirados, esputo) y muestras urogenitales (orina, medio de transporte)
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestras utilizado; para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubos de muestras primarios	Para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubos de muestras secundarios	Para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Insertos	Depende del tipo de tubo de muestras utilizado; para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Otro	Se requiere una mezcla de ARN transportador-tampón AVE; el uso de un control interno es opcional

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 1-17	Puntas con filtro desechables, 200 µl
Soporte de gradillas de puntas 1-17	Puntas con filtro desechables, 1500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen 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

Cajón "Eluate" (eluidos)

Gradilla de elución (recomendamos utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)	Para 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†	96	96	128	128
Puntas con filtro desechables, 1500 µl†	128	192	224	288
Cartuchos de preparación de muestras‡	18	36	54	72
Cubiertas para 8 barras¶	3	6	9	12

* Para realizar más de un examen de inventario se requieren puntas con filtro desechables adicionales. Si se utilizan menos de 24 muestras por lote, se reduce el número de puntas 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 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 seleccionado

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

* 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-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE)

Volumen de elución seleccionado (µl)	Volumen de ARN transportador (CARRIER) de partida (µl)	Volumen de control interno (µl)*	Volumen de tampón AVE (AVE) (µl)	Volumen final por muestra (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* 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 para obtener más información.

Nota: Los valores mostrados en la tabla corresponden a la preparación de la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER) para un ensayo anterógrado que requiere 0,1 µl de control interno por µl de eluido.

Lisis fuera del instrumento

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas de protección. Para obtener más información, consulte las hojas de datos correspondientes sobre la seguridad de los materiales (material safety data sheets, MSDS), que puede solicitar al proveedor del producto.

Los protocolos de complejos del instrumento QIASymphony constan de 4 pasos: lisis, unión, lavado y elución. Para algunas muestras resulta útil realizar la lisis manualmente, por ejemplo, para la inactivación de patógenos en un armario de seguridad biológica. El protocolo Complex400_OBL_V4_DSP permite realizar la lisis manual de forma similar al protocolo Complex400_V4_DSP. Las muestras pretratadas se transfieren al instrumento QIASymphony SP y se procesan con el protocolo Complex400_OBL_V4_DSP.

Nota: El protocolo Complex400_OBL_V4_DSP requiere el tampón ACL y el tampón ATL (ATL). El tampón ACL (n.º cat. 939017) y el tampón ATL (ATL) (n.º cat. 939016) no forman parte del QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit y se deben pedir por separado.

Lisis manual

1. Pipetee 40 µl de proteinasa K, 165 µl de tampón ATL (ATL), 120 µl de mezcla de ARN transportador y control interno y 315 µl de tampón ACL en un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694).

Nota: Cuando se procese más de una muestra utilizando lisis manual, se puede preparar una solución de partida de esta solución. Tan solo multiplique los volúmenes necesarios para una muestra por el número total de muestras que se van a procesar e incluya un volumen adicional equivalente a 2 muestras adicionales. Invierta el tubo varias veces para mezclar su contenido, transfiera 640 µl a un tubo Sarstedt de 2 ml para cada muestra y, luego, continúe con el paso 4 para cada muestra.

2. Cierre la tapa y mezcle invirtiendo el tubo 5 veces.
3. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.
4. Añada 400 µl de la muestra al tubo, cierre la tapa y mezcle mediante agitación vorticial de pulsos durante 10 segundos.
5. Incube el tubo a 68 °C durante 15 minutos (± 1 minuto).
6. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.
7. Coloque los insertos para los tubos de muestras apropiados en un soporte de tubos y cargue los tubos de muestras (sin las tapas).

Preparación del material de muestra

Orina

La orina puede procesarse sin pretratamiento adicional. El sistema está optimizado para muestras de orina pura que no contienen conservantes. Para aumentar la sensibilidad para patógenos bacterianos, las muestras se pueden centrifugar. Después de desechar el sobrenadante, el sedimento puede resuspenderse en al menos 400 µl de tampón ATL (ATL) (n.º de cat. 939016). Utilice 400 µl del material pretratado como muestra para la preparación de la lisis fuera del instrumento.

Aislamiento de ADN genómico a partir de bacterias grampositivas

Es posible mejorar la purificación del ADN para algunas bacterias grampositivas mediante pretratamiento enzimático antes de transferir la muestra al instrumento QIASymphony SP y de iniciar el protocolo Complex400_OBL_V4_DSP.

1. Sedimente las bacterias mediante centrifugado a $5000 \times g$ durante 10 minutos.
2. Suspenda el sedimento bacteriano en 400 μ l de la solución enzimática apropiada (20 mg/ml de lisozima o 200 μ g/ml de lisostafina en 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Incube a 37 °C durante al menos 30 minutos (± 2 minutos).
4. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.
5. Utilice 400 μ l del material pretratado como muestra para la preparación de la lisis fuera del instrumento.

Muestras viscosas o mucosas

Algunas muestras (p. ej., esputo, aspirados respiratorios) pueden ser viscosas y requieren licuefacción para permitir el pipeteo. Las muestras de baja viscosidad no requieren preparación adicional. Las muestras con viscosidad de media a alta deben prepararse de la siguiente manera:

1. Diluya la muestra en una dilución 1:1 con Sputasol*† (Oxoid, n.º de cat. SR0233) o 0,3% (p/v) de DTT.
Nota: La solución de 0,3% de DTT puede prepararse con antelación y almacenarse a – 20 °C en partes alícuotas adecuadas. Las alícuotas descongeladas se deben desechar después del uso.
2. Incube a 37 °C hasta que la viscosidad de la muestra sea adecuada para pipetear.
3. Utilice 400 μ l del material pretratado como muestra para la preparación de la lisis fuera del instrumento.

* Sputasol (Oxoid, n.º de cat. SR0233, www.oxoid.com) o ditiotreititol (DTT).

† Esta no es una lista de proveedores completa.

Bastoncillos con secreciones y fluidos corporales secos

1. Sumerja la punta del bastoncillo seco en 650 µl de tampón ATL (ATL) (n.º de cat. 939016) e incube a 56 °C durante 15 minutos (±1 minuto), con mezcla continua. Si la mezcla no es posible, aplique agitación vorticial antes y después de la incubación durante 10 segundos como mínimo.
2. Retire el bastoncillo y escurra todo el líquido presionándolo contra el interior del tubo.
3. Utilice 400 µl del material pretratado como muestra para la preparación de la lisis fuera del instrumento.

Nota: Este protocolo está optimizado para bastoncillos de algodón o polietileno. Si se utilizan otros bastoncillos, puede ser necesario ajustar el volumen del tampón ATL (ATL) para asegurarse de que haya al menos 400 µl disponibles como material de muestra.

Frotis respiratorios o urogenitales

Pueden utilizarse medios de almacenamiento para frotis respiratorios o urogenitales sin pretratamiento. Si no se ha retirado el bastoncillo, presiónelo contra la pared del tubo para escurrir el líquido. Todo exceso de mucosidad en la muestra debe retirarse en este momento recogiendo en el bastoncillo. A continuación, todo el líquido residual de la mucosidad y el bastoncillo debe escurrirse presionando el bastoncillo contra la pared del tubo. Por último, el bastoncillo y la mucosidad deben retirarse y desecharse. Si las muestras son viscosas, realice un paso de licuefacción (consulte "Muestras viscosas o mucosas" más arriba) antes de transferir la muestra al instrumento QIAasymphony SP. Si no hay material inicial suficiente, pipetee tampón ATL (ATL) en el medio de transporte para ajustar el volumen inicial mínimo necesario y aplique agitación vorticial a la muestra durante 15-30 segundos en el tubo (si el bastoncillo se encuentra en el medio de transporte, lleve a cabo este paso antes de retirar el bastoncillo). Utilice 400 µl del material como muestra para la preparación de la lisis fuera del instrumento.

Historial de revisiones

Historial de revisiones del documento	
R2 12/2017	Actualización del software QIASymphony 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 del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales del usuario y los manuales del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc. que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales.
12/2017 HB-0301-S29-002 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Servicio técnico support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com