

Diciembre 2017

Hoja de protocolo del instrumento QIASymphony[®] SP

Protocolo Complex400_V4_DSP

Este documento es la *hoja de protocolo del instrumento QIASymphony SP Complex400_V4_DSP, R2*, para el QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versión 1.

Información general

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

Kit	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Material de muestra	Muestras respiratorias y urogenitales
Nombre del protocolo	Complex400_V4_DSP
Conjunto de controles del ensayo predeterminado	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
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	Tampón ATL (ATL)
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

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††	34	60	86	112
Puntas con filtro desechables, 1500 µl††	123	205	295	385
Cartuchos de preparación de muestras§	18	36	54	72
Cubiertas para 8 barras¶	3	6	9	12

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

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

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

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

¶ Hay doce cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro 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.

Los tubos que contienen la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) se colocan en un soporte de tubos. El soporte de tubos que contiene las mezclas de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) debe colocarse en la ranura A del cajón de muestras.

Según el número de muestras que vayan a procesarse, recomendamos utilizar tubos de 2 ml (Sarstedt, n.º de cat. 72.693 y 72.694) o tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm (Becton Dickinson, n.º de cat. 352051) para diluir el control interno, según se describe en la tabla siguiente. El volumen se puede dividir en 2 o más tubos.

Cálculo del volumen de mezcla de control interno

Tipo de tubo	Nombre que aparece en la pantalla táctil del QIASymphony	Cálculo del volumen de la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) por tubo
Microtubo de 2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, con base de apoyo, (Sarstedt, n.º de cat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, sin base de apoyo (Sarstedt, n.º de cat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, n.º de cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno (n = número de muestras; $120 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 12 muestras ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. No llene el tubo con más de 1,9 ml (es decir, un máximo de 12 muestras por tubo). Si se van a procesar más de 12 muestras, utilice más tubos asegurándose de añadir el volumen de vacío por tubo.

† Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) (n = número de muestras; $120 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 96 muestras ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para obtener información sobre los insertos necesarios.

Uso de material de laboratorio FIX

El uso de detección del nivel de líquido (liquid-level detection, LLD) para la transferencia de muestras permite utilizar tubos primarios y secundarios. No obstante, esto requiere determinados volúmenes muertos en los tubos respectivos. Para minimizar los volúmenes muertos, se deben usar tubos secundarios sin detección del nivel de líquido. Hay material de laboratorio FIX específico disponible (p. ej., SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) que también puede seleccionarse en la pantalla táctil del QIASymphony SP. Este tipo de tubo/gradilla impone restricciones para la aspiración. La muestra se aspira a una altura determinada en el tubo que se define por el volumen de la muestra que se debe transferir. Por consiguiente, es esencial asegurarse de que se utiliza el volumen indicado en la lista de material de laboratorio. Las listas de material de laboratorio pueden descargarse en www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Los tubos de muestras que pueden utilizarse con o sin detección del nivel de líquido y los volúmenes de muestras necesarios también se indican en www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. No utilice volúmenes superiores o inferiores al volumen necesario, ya que esto puede dar lugar a errores durante la preparación de las muestras.

Los tubos para detección del nivel de líquido y los tubos que no sean para detección del nivel de líquido pueden procesarse en un lote/serie.

Preparación del material de muestra

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.

Orina

La orina puede procesarse sin pretratamiento adicional. Transfiera la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694) y colóquela en el soporte de tubos. También pueden utilizarse tubos primarios. El volumen inicial mínimo necesario puede variar en función del tubo primario utilizado. Los formatos compatibles de tubos primarios y secundarios, incluido el volumen inicial mínimo necesario para cada protocolo, se indican en www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. 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 500 µl de tampón ATL (ATL) (n.º de cat. 939016). Transfiera la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694). Coloque la muestra en el soporte de tubos y procésela con el protocolo Complex400_V4_DSP y el material de laboratorio FIX necesario.

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_V4_DSP.

1. Sedimente las bacterias mediante centrifugado a 5000 × g durante 10 minutos.
2. Suspenda el sedimento bacteriano en 500 µl de la solución enzimática apropiada (20 mg/ml de lisozima o 200 µg/ml de lisostafina; 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. Transfiera la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694), colóquela en el soporte de tubos y continúe con el protocolo Complex400_V4_DSP y el material de laboratorio FIX necesario.

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% (p/v) de DTT puede prepararse con antelación y almacenarse en partes alícuotas a -20 °C. Las alícuotas descongeladas deben desecharse después del uso.

2. Incube a 37 °C hasta que la viscosidad de la muestra sea adecuada para pipetear.
3. Transfiera al menos 500 µl de la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694). Procese la muestra con el protocolo Complex400_V4_DSP.

Bastoncillos con secreciones y fluidos corporales secos

1. Sumerja la punta del bastoncillo seco en 750 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. Transfiera al menos 500 µl de la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694). Procese la muestra con el protocolo Complex400_V4_DSP.

Nota: Este protocolo está optimizado para bastoncillos de algodón o polietileno. Si se utilizan otros bastoncillos, podría ser necesario ajustar el volumen del tampón ATL (ATL) para asegurarse de que haya al menos 500 µl disponibles como material de muestra.

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

† Esta no es una lista de proveedores completa.

Frotis respiratorios o urogenitales almacenados en medio de transporte

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 con 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 QIA Symphony 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). Transfiera la muestra a un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de cat. 72.693 o 72.694) y colóquela en el soporte de tubos. También pueden utilizarse tubos primarios. El volumen inicial mínimo necesario puede variar en función del tubo primario utilizado. Los tubos primarios y secundarios compatibles, incluido el volumen inicial mínimo necesario para cada protocolo, se indican en www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

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-S28-002 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

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