

DNA.SAL™

Dispositivo para colección de DNA salival
Número de catálogo DNAS - 102

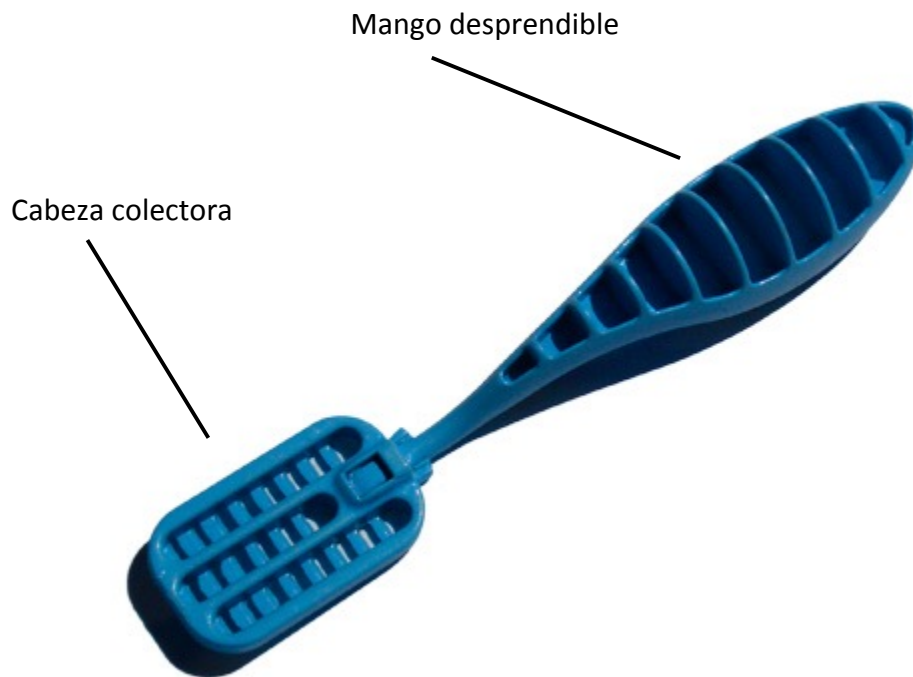
Instrucciones de uso



Tabla de contenido

Introducción	3
Declaración de uso pretendido	5
Aplicaciones	5
Principios del procedimiento	5
Contenido del estuche	6
Instrucciones paso a paso	7
Ventajas	9
Datos de rendimiento	9
Precauciones	12
Soporte técnico	12
Información para pedidos	12
Referencias	12

1. Introducción



DNA•SAL™

Dispositivo para colección de DNA salival



NOTA: Este folleto de "Instrucción de uso" contiene información detallada sobre la colección de muestras de DNA con el empleo del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival, patentado. Con objeto de lograr los máximos resultados, estas instrucciones deben seguirse estrictamente de acuerdo al protocolo proporcionado aquí mismo.

Hojas de seguridad de materiales

Las hojas de seguridad de materiales (HSM) para los componentes químicos del estuche están disponibles en Oasis Diagnostic® Corporation. Llame al 360-546-1563.

Avisos legales

Todos los derechos reservados © 2011,2012 por Oasis Diagnostic® Corporation.

Garantía

Oasis Diagnostic® Corporation garantiza que el producto descrito en este manual satisface los estándares de rendimiento descritos en la literatura publicada por la compañía. Si este producto falla en satisfacer estos estándares de rendimiento, Oasis Diagnostic® Corporation reemplazará el producto o librárá un crédito por el precio de compra completo, incluso los cargos de envío.

Oasis Diagnostic® Corporation no proporciona otras garantías a de ninguna clase, sean expresas o implícitas. La garantía por daños de Oasis Diagnostic® Corporation no excederá el precio de compra del producto y no se extiende a daños directos, indirectos, consecuenciales o incidentales que resulten del uso, resultados del empleo, o utilización impropia del producto.

2. Uso pretendido

El uso pretendido del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival es la colección de saliva enriquecida con células epiteliales para la subsecuente extracción de DNA a partir de especímenes bucales. El Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival es solamente para uso en investigación. No para para uso en procedimientos diagnósticos.

3. Aplicaciones

El DNA genómico extraído mediante una combinación de células epiteliales y leucocitos colectados con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival, patentado, puede utilizarse en un número creciente de aplicaciones de investigación. Los ejemplos incluyen el uso de DNA en estudios de vigilancia, estudios epidemiológicos, determinación de susceptibilidad a la enfermedad, aplicaciones en tecnología de microarreglos, genotipaje, estudios de asociación amplia del genoma y otros.

El empleo de muestras orales para el aislamiento del DNA se ha convertido en una opción muy atractiva respecto del aislamiento a partir de sangre o tejido por una serie de razones relevantes: la colección bucal es rápida, costo efectiva y no invasiva, y pueden realizarla personas con adiestramiento mínimo. Además, no requiere equipo especializado

4. Principios del Procedimiento

El Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival colecta y recoge saliva rica en DNA mediante la abrasión de células del interior de la mejilla, para lo cual utiliza una serie de bordes serrados en la plataforma del dispositivo colector. En unos cuantos segundos se acumula una combinación de células en los vacíos creados en la superficie de la herramienta **DNA•SAL™**. Se desprende una cantidad significativa de células adicionales las cuales quedan libremente disponibles en la saliva de la boca. Después de raspar durante 30 segundos, el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival se retira de la boca y enseguida, mediante un sorbo, se coloca en esta una pequeña cantidad de Solución de lavado estabilizadora disponible en el estuche. Con esta solución (inocua) se enjuaga durante unos pocos segundos la parte donde se han desprendido las células y a continuación la solución se escupe (de regreso) en el mismo Tubo colector. Se desprende el mango de la cabeza colectora del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival y se coloca cuidadosamente en el Tubo colector con la mezcla de la Solución de lavado estabilizadora y la saliva. A continuación el Tubo colector y el espécimen se

procesan de inmediato para extraer el DNA, o se embarcan a un laboratorio distante para el aislamiento del DNA. Para instrucciones más detalladas sobre el empleo del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival, por favor véase la sección de Procedimientos (Sección 4) adelante.

NOTA: para la extracción del DNA de las muestras de saliva colectadas con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival, se recomiendan las opciones de estuches siguientes:

Descripción del Producto	Número de catálogo
Reactivos para aislamiento de DNA mediante precipitación con etanol, 50 preparaciones	DNAS-501
Estuche acompañante DNA•SAL™ para extracción de DNA (Método de columna de vórtice, 50 preparaciones)	DNAS-502
Estuche acompañante DNA•SAL™ para extracción de DNA (Método de microplaca con 96 celdas, 2 x 96 celdas)	DNAS-503

5. Contenido del estuche

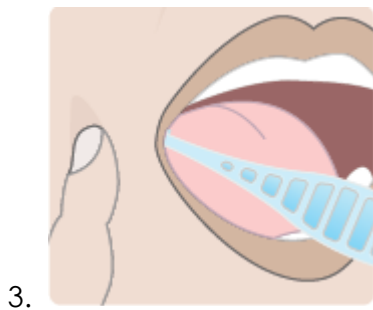
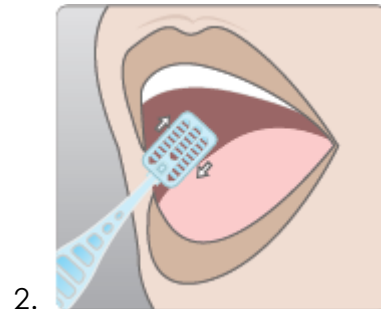
	Cantidad
Dispositivo DNA•SAL™ para colección de DNA salival	1 pieza
Tubo colector (con Solución de lavado estabilizadora)	1 pieza
Inserto del producto	1 pieza
Sobre (opcional)	1 pieza

Almacenar a temperatura ambiente entre 4 y 30° C.

6. Instrucciones paso a paso

1. Esperar 10 minutos después de comer o beber antes de la colección.
2. Acumular saliva en la boca y asegurarse que las mejillas están húmedas con saliva.
3. Abrir el Tubo colector con la Solución de lavado estabilizadora y colocar el frasco y la tapa sobre una superficie plana.
4. Tomar el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival y colocarlo en la boca con los dientes colectores perpendiculares a la porción interna de la mejilla, y moverlo hacia el extremo INFERIOR de dicha porción interna hasta el sitio en el cual la mejilla se junta con la línea de la encía.
5. Colocar firmemente un dedo en el EXTERIOR de la mejilla (para oponer resistencia) al tiempo que se colecta la muestra y con los dientes colectores se rastrilla oprimiendo la región hacia atrás y hacia adelante durante un mínimo de 30 segundos. En este momento se puede visualizar en la zona de colección del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival el material celular colectado y la saliva. La presencia de este material celular y saliva no es un requisito ya que una cantidad importante de células adicionales permanecerán en la saliva de la boca y serán colectadas mediante el lavado subsecuente. El tiempo mínimo de rastrillado que se recomienda es de 30 segundos.
6. Retirar el dispositivo de la boca y sostenerlo con una mano.
7. Con la otra mano verter el contenido del Tubo colector (2 mL de la inocua Solución de lavado estabilizante) en la boca y “agitarlo” en todo el interior durante 10 a 15 segundos. NO DEGLUTIR la solución. Después de 10 a 15 segundos ESCUPIR la mezcla de Solución de lavado estabilizadora y saliva de regreso en el Tubo colector.
8. Insertar en el Tubo colector el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival con la zona de colección hacia abajo; en seguida doblar repetidamente hacia atrás y hacia adelante (como se muestra en el diagrama 4 adelante) la cabeza del dispositivo en el cuello del Tubo colector hasta que la cabeza colectora del dispositivo **DNA-SAL™** se desprenda y caiga en el interior del Tubo colector.

9. Descarte el mango del dispositivo y cierre bien la tapa del Tubo colector para asegurar la muestra.
10. Agitar vigorosamente el Tubo colector (ahora con la mezcla de Solución de lavado estabilizadora, saliva y células) durante 15 segundos para mezclar el contenido.
11. La muestra está lista para ser procesada de inmediato o para su transporte a un laboratorio



7. Ventajas del Dispositivo DNA•SAL™ para colección de DNA salival y de los estuches acompañantes para extracción del DNA de Oasis Diagnostics®

- Las muestras orales colectadas con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival (DNAS-102) son estables por periodos prolongados (mínimo 30 (treinta) días) a temperatura ambiente en la Solución de lavado estabilizadora Oasis.
- Colección indolora y no invasiva.
- Abundante obtención de DNA genómico de alta calidad.
- Sencillo de usar.
- Protocolo amigable con el usuario para su posible empleo en colecciones domésticas.
- Apropiado para poblaciones pediátricas y geriátricas.
- Procesamiento rápido y simple mediante formatos disponibles para precipitación con etanol, columna de vórtice y microplaca con 96 celdas.
- La extracción del DNA puede hacerse con una cantidad tan pequeña como 100 µL de saliva/células colectadas mediante el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival.

8. Datos de rendimiento

Características del rendimiento del dispositivo DNA-SAL™ para colección de DNA salival.

La utilidad del DNA aislado para aplicaciones ulteriores en investigación depende de la extracción de DNA de alta calidad en cantidad suficiente para el análisis y también de obtener una muestra estable la cual se ha protegido de la degradación mediante agentes estabilizadores.

Como parte del proceso de validación, el DNA obtenido mediante el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival se evaluó respecto de tres características importantes del rendimiento: cantidad recuperada, calidad (pureza) y estabilidad de la muestra, en tres experimentos realizados por investigadores independientes.

1.) Cantidad de DNA aislado (pre y post extracción)

El Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival proporciona una mezcla de saliva, células epiteliales y Solución de lavado estabilizadora, la cual puede fácilmente extraerse para proporcionar grandes cantidades de DNA purificado. El volumen total de solución disponible para extracción varía de persona a persona, pero el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival proporciona un volumen mínimo de 3 mL de solución para su purificación subsecuente.

NOTA: Se acostumbra cuantificar el DNA aislado posextracción en términos del número de microgramos por mililitro ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de DNA. A partir de este valor se puede calcular fácilmente el DNA aislado (μg).

Resultados

Los resultados siguientes se observaron de un total de ocho ($n=8$) muestras:

La concentración promedio (en $\mu\text{g}/\text{mL}$) de DNA obtenida con base en un tamaño de espécimen se 500 μl mediante el protocolo de aislamiento de DNA con precipitación con etanol = 123.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

La concentración promedio (en $\mu\text{g}/\text{mL}$) de DNA obtenida con base en un tamaño de espécimen se 400 μl mediante el protocolo de aislamiento de DNA con enlace de DNA (columna de vórtice) = 62.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Mediante un sistema robótico automático para la manipulación de la muestra se observó un valor promedio de 27.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

2.) Calidad del DNA (pureza)

La calidad del DNA se valoró mediante la medición de los valores de absorbancia con tres longitudes de onda: 230 nm, 260 nm y 280 nm, y el cálculo de las razones A260/A280 y A260/A230 con los procedimientos estándar. Se informa que el DNA puro tiene una razón A260/A230 entre 1.7 y 2.0, y una razón A260/A230 mayor de 1.5.

Se realizó una evaluación independiente de la pureza del DNA subsecuente al aislamiento a partir de muestras colectadas mediante el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival. La evaluación utilizó ocho ($n=8$) muestras colectadas y almacenadas, antes de su análisis, en la Solución de lavado estabilizadora de Oasis Diagnostic® proporcionada con cada Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival

La valoración de la pureza se llevó al cabo tras el aislamiento del DNA mediante un método de extracción con enlace del DNA (columna de vórtice) seguido de la adaptación de un sistema robótico automático (QiaCube, Qiagen, Alemania) para el manejo y manipulación de la muestra.

Resultados

Promedio observado (n=8) $A_{260}/A_{280} = 1.83$

Promedio observado (n=8) $A_{260}/A_{230} = 2.67$

NOTA: La calidad del DNA aislado depende grandemente del método de aislamiento utilizado (extracción mediante precipitación con etanol frente a métodos de enlace del DNA frente a celdas de microplaca), así como de uno a otro fabricante de los estuches. Por tanto, para el aislamiento del DNA a partir de saliva y/o células bucales se recomienda emplear un método optimizado.

3.) Estabilidad

Con objeto de valorar la estabilidad de las muestras salivales colectadas con el uso del Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival se obtuvieron tres (3) muestras de acuerdo a las instrucciones proporcionadas antes en la Sección 6.

Después de enjuagar la boca con la Solución de lavado estabilizante, la Solución se escupió en el Tubo colector proporcionado en el estuche y se almacenó a temperatura ambiente (15 – 30° C). De este espécimen se obtuvieron alícuotas y se analizaron inmediatamente (día 0) y subsecuentemente en los días 1, 3, 5, 10, 20 y 30 para verificar la degradación del DNA mediante electroforesis con gel de agarosa. Ninguna muestra mostró degradación, incluso hasta el día 30, lo cual indica que la Solución de lavado estabilizadora confiere estabilidad al DNA por un mínimo de 30 días.

4.) Aplicación en pruebas de PCR

Con objeto de verificar la adecuación del DNA aislado para su uso en aplicaciones de investigación, se corrieron en paralelo muestras de saliva colectadas con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival y DNA extraído de sangre total mediante el estuche para aislamiento GenXtract de ViennaLab (Viena, Austria), en dos estuches de hibridación inversa PCR StripAssay (RUO) para alfa-talasemia y hemocromatosis. En cada caso se empleó el protocolo proporcionado por el fabricante.

La prueba StripAssay® proporciona resultados visuales y en este trabajo experimental los resultados observados en cada análisis fueron idénticos entre sangre y saliva, lo cual confirma que una combinación de recolección de muestra con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival y el aislamiento de DNA con estuches de extracción establecidos proporciona un método aceptable de purificación de la muestra como paso inicial previo a la prueba de PCR.

9. Precauciones

Por favor, cuando colecte muestras con el Dispositivo **DNA•SAL™** para colección de DNA salival siga las precauciones siguientes:

1. Asegurar que el Tubo colector que contiene la Solución de lavado estabilizadora está colocado en una superficie plana.
2. Cuando se cierre el Tubo colector por favor asegurar que la tapa está bien cerrada.
3. Evitar introducir objetos extraños en el Tubo colector una ve abierto.

10. Soporte técnico

Se puede obtener soporte técnico mediante el envío de los detalles de cualquier requerimiento por correo electrónico amplibio@amplibio.com

11. Información para pedidos

Descripción del Producto	Número de catálogo
Dispositivo DNA•SAL™ para colección de DNA salival	DNAS-102

Otros accesorios

Descripción del Producto	Número de catálogo
Reactivos para aislamiento de DNA mediante precipitación con etanol, 50 preparaciones	DNAS-501
Estuche acompañante DNA•SAL™ para extracción de DNA (Método de columna de vórtice, 50 preparaciones)	DNAS-502
Estuche acompañante DNA•SAL™ para extracción de DNA (Método de microplaca con 96 celdas, 2 x 96 celdas)	DNAS-503
Solución de lavado estabilizadora (100 mL)	DNAS-504

DNA•SAL™ y Oasis Diagnostic® son marcas registradas de Oasis Diagnostic® Corporation.

DNA•SAL™ está protegido por la Patente estadounidense D627882 y patentes extranjeras y domésticas y derechos reservados.