

3207-0010

chemagic™ DNA CS200 kit

Instrucciones de uso. Reactivos para 960 extracciones.

Fabricante:

Wallac Oy

Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlandia

Teléfono: +358 2 2678 111

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE

revvity

SÍMBOLOSProducto sanitario para diagnóstico *in vitro*

Código de lote



Número de envase



Número de catálogo



Fecha de caducidad



Límite de temperatura



Almacenar en ambiente oscuro



Contenido suficiente para <n> ensayos



Consúltense las instrucciones de uso



Fabricante



GHS02



GHS08



GHS07



GHS05



Este lado arriba



Reciclable



Frágil, manejar con cuidado



Manténgase seco

ÍNDICE

SÍMBOLOS	2
FINALIDAD DEL KIT.....	5
RESUMEN Y PRINCIPIO	5
CONTENIDO DEL KIT.....	5
Reactivos.....	7
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT	13
TOMA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS	13
Estabilidad de las muestras de plasma	14
Estabilidad de las muestras de sangre entera.....	14
Influencia de las sustancias que interfieren.....	14
CUIDADOS Y PRECAUCIONES.....	14
PROCEDIMIENTO	15
Protocolo de extracción usando el instrumento chemagic 360-D.....	15
Pasos del procesamiento en detalle.....	16
Protocolo de extracción con el instrumento chemagic Prime Jr-D.....	20
NOTAS DE PROCEDIMIENTO	20
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	21
CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO	21
Muestras de sangre.....	21
Muestras de plasma:	23
GARANTÍA	25

chemagic™ DNA CS200 kit

FINALIDAD DEL KIT

El kit chemagic™ DNA CS200 está indicado para la extracción y purificación de ADN de sangre total o plasma humano y el análisis mediante sistemas de prueba diagnóstica *in vitro* basados en PCR. El trastorno y la determinación de los analitos dependen del ensayo posterior basado en la PCR. El producto está diseñado para ser utilizado con un flujo de trabajo automatizado por personal de laboratorio cualificado.

RESUMEN Y PRINCIPIO

El kit chemagic DNA CS200 se basa en una tecnología de plataforma de microesferas Magnetic beads patentadas por Revvity chemagen Technologie GmbH. Las células u otras fuentes de ADN presentes en las muestras de sangre total o plasma se lisan durante el proceso de extracción. Los ácidos nucleicos liberados se enlazan a pequeñas partículas magnetizables que luego se separan magnéticamente del material de la muestra. Durante los pasos posteriores, se eliminan los contaminantes y los ácidos nucleicos purificados se transfieren a un tampón de elución. El procesamiento automatizado de las muestras se realiza con el instrumento chemagic 360-D (2024-0010) con el chemagic 360 96 Rod Head Set (CMG-370) o chemagic Prime™ Jr-D (2029-0010).

CONTENIDO DEL KIT

El kit contiene reactivos suficientes para realizar 960 extracciones.

La fecha de caducidad del kit sin abrir viene indicada en una etiqueta exterior. No utilizar ningún componente después de la fecha de caducidad. Almacenar entre +2 y +25 °C.

Una vez abierto, los componentes del kit poseen una estabilidad limitada. La estabilidad tras la apertura del kit viene indicada para cada componente por separado en la lista de reactivos que se muestra a continuación. Nota: vuelva a poner el tapón para cerrar bien los frascos inmediatamente después de su uso para evitar la evaporación.

Los frascos pueden decolorarse durante el almacenamiento. No obstante, esta decoloración no tiene efecto alguno sobre la funcionalidad del ensayo.

El kit contiene los elementos siguientes:

Componente	Cantidad
Magnetic Beads B (Microesferas Magnetic Beads B)	1 frasco, 150 mL
Lysis Buffer P (Tampón de lisis P)	1 frasco, 480 mL
Binding Buffer P (Tampón de retención P)	2 frascos, 550 mL
Lysis Buffer B (Tampón de lisis B)	1 frasco, 480 mL
Binding Buffer B (Tampón de retención B)	2 frascos, 550 mL
Wash Buffer BB (Tampón de lavado BB)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer BA (Tampón de lavado BA)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer E (Tampón de lavado E)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer H (Tampón de lavado H)	1 frasco, 700 mL
Elution Buffer (Tampón de elución)	1 frasco, 240 mL
Proteinase K (Proteinasa K)	5 frascos (liofilizados)
Poly(A)RNA (Poli(A)ARN)	10 tubos (deshidratados)
Poly(A)RNA buffer (Tampón de poli(A)ARN)	10 tubos, 0.5 mL
Disposable Tips (96 ea) (Puntas desechables (96 cada uno))	10 x 96 cada uno

Reactivos

Componente	Estabilidad y conservación
------------	----------------------------

Microesferas Magnetic Beads B Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

Suspensión de partículas que contienen nanopartículas de óxido de hierro encapsulada en una matriz de alcohol polivinílico. Las microesferas Magnetic Beads (28.0 ± 0.5 mg/mL) se unen al ADN durante el proceso de extracción.

Tampón de lisis P



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Almacenar en ambiente oscuro. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución de tampón acuoso con tiocianato de guanidinio (50–75 %) lista para su uso. El tampón de lisis se usa para lisar las células u otra fuente de ADN presentes en la muestra con el fin de incorporar el ADN a la solución.

El tampón de lisis P contiene tiocianato de guanidina:

H302+H312+H332 Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P260 No respirar el polvo o nieblas.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P362+P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

Tampón de retención P



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución tamponada Tris-HCl (pH 5.0–5.9) con perclorato de sodio (25–50 %), ácido acético (1–2.5 %) y etanol (25–50 %) lista para su uso. El tampón de retención se usa para crear las condiciones adecuadas para obtener el ADN retenido en las microesferas Magnetic Beads.

El tampón de retención P contiene perclorato de sodio y etanol:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H302 Nocivo en caso de ingestión.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

P210 Mantener alejado del calor, así como de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.

P241 Usar equipos [eléctricos/de ventilación/de iluminación] antideflagrantes.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Tampón de lisis B



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Evite la exposición a la luz directa del sol. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

ATENCIÓN

La solución tampón acuosa, lista para usar (pH 6.9–7.4) contiene cloruro de guanidinio (15–25 %) y detergente. El tampón de lisis se usa para lisar los glóbulos sanguíneos con el fin de incorporar el ADN a la solución.

El tampón de lisis B contiene cloruro de guanidinio:

H315 Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305+P351+P338 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.

P332+P313 En caso de irritación cutánea: obtener atención/consejo médico.

P362+P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

P337+P313 Si persiste la irritación ocular: obtener atención/consejo médico.

Tampón de retención B



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución tamponada Tris-HCl (pH 5.0-5.9) con perclorato de sodio (15–25 %) y etanol (25–50 %) lista para su uso. El tampón de retención se usa para crear las condiciones adecuadas para obtener el ADN retenido en las microesferas Magnetic Beads.

El tampón de retención B contiene perclorato de sodio y etanol:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

P210 Mantener alejado del calor, así como de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.

P241 Usar equipos [eléctricos/de ventilación/de iluminación] antideflagrantes.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Tampón de lavado BB



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución lista para usar, tamponada con Tris-HCl (pH 5.0–5.6) con perclorato sódico (15–25 %) y etanol (25–50 %). Se usa para eliminar los contaminantes que no afectan al ADN durante el paso de lavado.

El tampón de lavado BB contiene perclorato de sodio y etanol:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

P210 Mantener alejado del calor, así como de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.

P241 Usar equipos [eléctricos/de ventilación/de iluminación] antideflagrantes.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Tampón de lavado BA



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución lista para usar, tamponada con Tris-HCl (pH 5.0–5.6) con perclorato sódico (15–25 %) y etanol (25–50 %). Se usa para eliminar los contaminantes que no afectan al ADN durante el paso de lavado.

El tampón de lavado BA contiene perclorato de sodio y etanol:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

P210 Mantener alejado del calor, así como de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.

P241 Usar equipos [eléctricos/de ventilación/de iluminación] antideflagrantes.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Tampón de lavado E



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

PELIGRO

Solución con etanol 50–75 % lista para su uso. Se usa para eliminar las últimas trazas de los contaminantes que no afectan al ADN durante el paso de lavado.

El tampón de lavado E contiene etanol:

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

P210 Mantener alejado del calor, así como de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.

P241 Usar equipos [eléctricos/de ventilación/de iluminación] antideflagrantes.

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P403+P235 Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Tampón de lavado H

Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

Solución de agua ultrafiltrada lista para su uso. Se usa para eliminar posibles residuos de etanol.

Tampón de elución

Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez abierto, se mantiene estable durante 60 días de +2 °C a +25 °C.

Solución tamponada (pH 7.8–8.4) 10 mM Tris-HCl lista para su uso.

Proteinasas K



Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del frasco. Una vez reconstituida, se mantiene estable durante 28 días de +2 °C a +8 °C.

PELIGRO

La proteínasa K (proteínasa 50–90 %) se reconstituye añadiendo 2.5 mL de agua de grado molecular. La proteínasa K se añade para reforzar la eficiencia de la fase de lisis.

La proteinasa K contiene proteinasa y serina de Tritirachium album:

H315 Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación

H335 Puede irritar las vías respiratorias

P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P284 [En caso de ventilación inadecuada] llevar equipo de protección respiratoria.

P305+P351+P338 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.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

Poli(A)ARN

+2–+25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del tubo. Una vez reconstituida, se mantiene estable durante 30 días de +2 °C a +8 °C.

El poli(A)ARN se reconstituye añadiendo 440 µL de tampón de poli(A)ARN. El poli(A)ARN funciona como un transportador de ADN para reforzar la eficiencia del proceso de extracción.

Tampón de poli(A)ARN

+2–+25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del tubo.



PELIGRO

Solución de tampón acuoso con tiocianato de guanidinio (25–50 %) lista para su uso. El tampón de poli(A)ARN se usa para reconstituir el poli(A)ARN.

El tampón de poli(A)ARN contiene tiocianato de guanidina:

H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P260 No respirar el polvo o nieblas.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclarar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 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.

P310 Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de conformidad con la normativa local.

EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

Puntas desechables
(96 cada uno)

Entre +2 °C y +25 °C hasta la fecha de caducidad
indicada en la etiqueta.

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

El kit chemagic DNA CS200 requiere los siguientes componentes, que se pueden obtener de Wallac Oy o de Revvity, Inc. y sus distribuidores:

- chemagic 360-D (nº de ref. 2024-0010) con chemagic 360 96 Rod Head Set (nº de ref. CMG-370) o chemagic Prime Jr-D (nº de ref. 2029-0010)
- consumibles para Extracción de ADN chemagic (placas de pocillos bajos, placas de pocillos profundos, nº de ref. 4148-0010)

Componentes adicionales necesarios:

- pipetas y puntas de pipeta con barreras para aerosoles
- agua de grado molecular

Componentes adicionales opcionales:

- chemagic Stand 96 (prod. n.º CMG-301)

TOMA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Deben usarse muestras de plasma humano (200 µL), nuevas o conservadas de forma convencional durante como máximo cinco días de +2 °C a +8 °C o congeladas de -20 °C a -80 °C. Las muestras congeladas no deben descongelarse más de una vez. Los estabilizantes de muestras recomendados son EDTA o citrato. No se recomienda usar muestras de plasma estabilizadas con heparina, ya que pueden causar problemas de inhibición en PCR.

Deben usarse muestras de sangre total humana (200 µL), nuevas o conservadas de forma convencional durante máximo una semana de +2 °C a +8 °C. Los estabilizantes de sangre recomendados son EDTA o citrato. No se recomienda usar muestras de sangre estabilizadas con heparina, ya que pueden causar problemas de inhibición en PCR. El recuento leucocitario en la muestra de sangre total disminuye durante el almacenamiento.

El recuento leucocitario en la muestra de sangre total disminuye durante el almacenamiento. El almacenamiento de las muestras puede tener como consecuencia un rendimiento escaso de la extracción de ADN.

No se ha determinado la eficiencia de la extracción con otros tipos de material de muestra.

Estabilidad de las muestras de plasma

La influencia del tiempo y la temperatura de almacenamiento se estudió¹ utilizando varias muestras de plasma con confirmación de negatividad y positividad para el citomegalovirus (CMV) recogidas en tubos de recogida que contenían EDTA o citrato como anticoagulante. Las muestras se almacenaron a -20 °C. El ADN extraído se analizó con un ensayo registrado IVD con marca CE para el diagnóstico de CMV por separado y se clasificó como CMV positivo y CMV negativo. No se observó ninguna desviación clínicamente significativa en los resultados en comparación con el método de extracción de referencia.

Estabilidad de las muestras de sangre entera

La influencia del tiempo y la temperatura de almacenamiento se estudió² utilizando varias muestras de sangre entera recogidas de donantes sanos en tubos de recogida que contenían EDTA o citrato como anticoagulante. Las muestras se almacenaron entre +2 y +8 °C hasta 7 días. Las muestras de ADN extraído se replicaron en un ensayo de PCR registrado IVD con marcado CE y las muestras se analizaron con un kit de ensayo posterior disponible comercialmente para detectar el síndrome de X frágil utilizando muestras de referencia recomendadas por el National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). No se observó ninguna desviación clínicamente significativa en los resultados.

Influencia de las sustancias que interfieren

El efecto de las sustancias contenidas en la sangre entera o el plasma humanos que posiblemente interfieran con la extracción de ADN se analizó³ en muestras tanto de sangre entera como de plasma. Las sustancias analizadas y sus concentraciones se presentan en la tabla a continuación. A tenor de los resultados, se llegó a la conclusión de que las sustancias analizadas no interfieren en la extracción de ADN.

Sustancia que interfiere	Concentración	Interferencia
Bilirrubina conjugada	332 µg/mL	No
Bilirrubina no conjugada	200 µg/mL	No
Triglicéridos	30 mg/mL	No
Albúmina sérica humana	30 mg/mL	No

CUIDADOS Y PRECAUCIONES

El producto está diseñado para ser utilizado por personal de laboratorio cualificado.

Para minimizar las irregularidades en los resultados diagnósticos, el producto está diseñado para su uso con un control interno así como con controles positivos y negativos durante todo el proceso de preparación de las muestras, y amplificación de muestras y detección según el ensayo posterior utilizado.

¹ Estudio realizado en Turku University Hospital, Turku, Finlandia.

² Estudio realizado en Wallac Oy, Turku, Finlandia.

³ Estudio realizado en Revvity chemagen Technologie GmbH, Baesweiler, Alemania.

Tratar todas las muestras de pacientes como potencialmente infecciosas. No obstante, deben seguirse todas las precauciones recomendadas para la manipulación de derivados sanguíneos. Consulte la publicación “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” del U.S. Department of Health and Human Services o las normas locales o nacionales.

El tampón de lisis P contiene tiocianato de guanidina y es nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación, provoca quemaduras cutáneas graves y daño ocular, y es nocivo para la vida acuática con efectos duraderos. **El tampón de retención P contiene perclorato de sodio y etanol** y es un líquido y un vapor altamente inflamables, así como nocivo en caso de ingestión, provoca irritación ocular grave, y puede provocar daño en órganos por exposición repetida o prolongada. **El tampón de poli(A)ARN contiene tiocianato de guanidina** y es nocivo en caso de ingestión o inhalación, provoca quemaduras cutáneas graves y daño ocular, y es nocivo para la vida acuática con efectos duraderos. **El tampón de lavado BB, el tampón de lavado BA y el tampón de retención B contienen perclorato de sodio y etanol** y son líquidos y vapores altamente inflamables, provocan irritación ocular grave, y pueden provocar daño en órganos por exposición repetida o prolongada. **El tampón de lisis B contiene cloruro de guanidinio** y provoca irritación cutánea e irritación ocular grave. **El tampón de lavado E contiene etanol** y es un líquido y vapor muy inflamable. **La proteinasa K contiene proteinasa y serina de Tritirachium album** y provoca irritación cutánea e irritación ocular grave; puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación y puede provocar irritación respiratoria. Véanse las precauciones específicas de la sección «CONTENIDO DEL KIT».

Para evitar daños durante el trabajo con los componentes del kit, llevar siempre gafas de seguridad, guantes desechables y prendas protectoras. Para obtener información detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS, en inglés) correspondientes.

Siga las normativas locales para la manipulación de soluciones con etanol.

Todos los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normativas locales.

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen normativo idéntico (IVDR; UE 2017/746/UE); si, durante el uso de este producto sanitario o como consecuencia de su uso se produjera un incidente grave, deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad nacional. Los datos de contacto del fabricante de este producto sanitario para comunicar un incidente grave figuran en la cubierta de estas instrucciones de uso.

PROCEDIMIENTO

Protocolo de extracción usando el instrumento chemagic 360-D

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 75 minutos.

El protocolo sirve para el procesamiento simultáneo de hasta 96 muestras (véanse los pasos del protocolo a continuación). Para obtener instrucciones detalladas acerca del uso del instrumento chemagic 360-D, consulte el manual de usuario de chemagic 360-D.

Antes de usarlos, se debe dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (+19–+25 °C).

NOTA: vuelva a poner el tapón para cerrar bien los frascos inmediatamente después de su uso o mantenga los frascos conectados firmemente al instrumento chemagic 360-D. El tampón de retención P, el tampón de retención B, el tampón de lavado BB, el tampón de lavado BA y el tampón de lavado E contienen etanol. Si el etanol se evapora, no se puede garantizar una sensibilidad de detección o un rendimiento óptimos.

Pasos del procesamiento en detalle

Pasos de preparación

1. Examine todos los componentes del kit para asegurarse de que no tienen daños. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Para muestras de plasma: reconstituya los componentes de la proteinasa K y el poli(A)ARN.
 - a. Proteinasa K: añada 2.5 mL de agua de grado molecular al frasco de proteinasa K y mezcle suavemente hasta que se disuelva.
 - b. Poli(A)ARN: añada 440 µL de tampón de poli(A)ARN al tubo de poli(A)ARN y mezcle bien hasta que se disuelva.
3. Para muestras de plasma: si el tampón de lisis P contiene sedimentos (formados durante la transferencia o el almacenamiento), debe calentarse la solución a 50–60 °C y mezclarse bien hasta que la solución se aclare. La transparencia del tampón de lisis P siempre se debe confirmar visualmente antes del uso (la inspección visual debe hacerse después de mezclar y abrir el tapón del frasco).
4. Conecte los frascos de reactivo al instrumento chemagic 360-D como se indica a continuación:
 - Colector 1: sin frasco conectado
 - Colector 2: sin frasco conectado
 - Colector 3: tampón de lavado BB
 - Colector 4: tampón de lavado BA
 - Colector 5: tampón de lavado E
 - Colector 6: tampón de lavado H
5. Rellene y cebe los tubos chemagic 360-D con reactivos según el protocolo '**prime manifolds H96 all 360 V150116**'. Pulse el botón [Insert IDs], siga las instrucciones proporcionadas en el software e inicie el cebado pulsando el botón [OK]. Si están desactivadas las funciones que permiten la introducción de datos de la ID, inicie directamente el cebado presionando el botón [Start]. El cebado debe hacerse cuando los frascos de reactivo se conectan al instrumento chemagic 360-D por primera vez o cuando el tubo del instrumento todavía no se ha llenado con los reactivos mencionados anteriormente.
6. Asegúrese de que las muestras son homogéneas en el momento de pipetear las muestras de una placa mezclando suavemente.

Pasos del protocolo

Las microesferas **Magnetic Beads B** (placa de pocillos bajos en la posición 2 de placa del instrumento chemagic 360-D) se vuelven a suspender mezclando bien y se pipetea manualmente (150 µL/pocillo) en cada uno de los pocillos de muestra correspondientes que estén en uso.

El **tampón de elución** (placa de pocillos profundos en la posición 8 de placa del instrumento chemagic 360-D) se pipetea manualmente (100 µL/pocillo) en cada uno de los pocillos de muestra correspondientes que estén en uso.

Los pasos de preparación de las muestras se realizan manualmente. Los reactivos utilizados en la preparación de muestras dependen del tipo de muestra (sangre completa/plasma). Una vez completado los pasos de preparación de muestras (consulte la tabla de los pasos de preparación de muestras), la placa de muestras se coloca en el instrumento chemagic 360-D y se inicia el proceso de extracción ADN automatizado.

Nota: el ensayo de extracción automatizada se debe iniciar inmediatamente después de añadir el tampón de retención P y/o el tampón de retención B a los pocillos de muestras lisadas. El retraso puede hacer que disminuya el rendimiento y la pureza.

Consulte en la tabla a continuación información más detallada sobre la posición de la placa y los pasos del protocolo.

Ensayo de extracción de ADN automatizada en el instrumento chemagic 360-D

Posición en el sistema de seguimiento*	Material en la posición	Paso del protocolo en detalle
		<p>Seleccione el protocolo 'check manifolds H96 all 360 V150116' para lavar los tubos antes de iniciar el ensayo de extracción automatizada.</p> <p>Pulse el botón [Insert IDs] (insertar ID), siga las instrucciones proporcionadas en el software y empiece el aclarado pulsando el botón [OK] (aceptar).</p> <p>Si las funciones que permiten la entrada de datos de identificación están desactivadas, inicie directamente el aclarado pulsando los botones [OK] (aceptar) y [Start] (iniciar).</p>
		<p>Cuando utilice las funciones que permiten la entrada de datos de identificación, seleccione el protocolo '---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che' y pulse el botón [Insert IDs] (insertar ID). Siga las instrucciones proporcionadas en el software para rellenar los datos requeridos.</p> <p>Cargue las placas en las posiciones 1-8 del sistema de seguimiento. Después de colocar todas las placas en su posición, pulse el botón [OK].</p>
1	Soporte con puntas desechables	Use puntas desechables de acuerdo con las posiciones de las muestras. NOTA: las puntas tienen que estar presentes en el soporte en filas enteras.
2	Placa de pocillos normales 150 µL de microesferas Magnetic Beads B	Pipetee totalmente las microesferas Magnetic Beads B resuspendidas en cada pocillo de muestra que esté en uso. Coloque la placa en la posición 2 del soporte.
Prepare las muestras según los procedimientos descritos en tablas separadas. Las muestras se deben preparar cuando todos los demás pasos de preparación están listos y las placas están colocadas en las posiciones 1-2 y 4-8 del sistema de seguimiento.		
3	Placa de muestras (Placa de pocillos profundos)	Coloque la placa con las muestras preparadas en la posición 3 de la gradilla y compruebe que todas las placas tienen la colocación y el ajuste precisos. Cierre la puerta frontal e inicie de inmediato el proceso de extracción de ADN.
4	Placa de pocillos profundos	Coloque la placa vacía en la posición 4 del soporte. El tampón de lavado BB se dispensa automáticamente en la placa.
5	Placa de pocillos profundos	Coloque la placa vacía en la posición 5 del soporte. El tampón de lavado BA se dispensa automáticamente en la placa.
6	Placa de pocillos profundos	Coloque la placa vacía en la posición 6 del soporte. El tampón de lavado E se dispensa automáticamente en la placa.
7	Placa de pocillos profundos	Coloque la placa vacía en la posición 7 de la gradilla. El tampón de lavado H se dispensa automáticamente en la placa.
8	Placa de pocillos profundos 100 µL de tampón de elución	Coloque la placa previamente llenada con tampón de elución en la posición 8 de la gradilla.
		<p>Cuando se utilizan las funciones que permiten la entrada de datos de identificación, el ensayo de extracción se inicia pulsando el botón [Start] (iniciar) al final del cuadro de diálogo.</p> <p>Si las funciones que permiten la entrada de datos de identificación están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-8 del sistema de seguimiento.</p> <p>Después de colocar todas las placas en su posición, seleccione el protocolo.</p> <p>'---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che', marque las columnas en uso en el mapa de placas del cuadro de diálogo y empiece el ensayo de extracción directamente pulsando el botón [Start] (iniciar).</p>

* Los números del sistema de seguimiento se refieren a la posición de la placa en el instrumento chemagic 360-D

Preparación de la muestra, muestras de sangre completa

Material	Paso del protocolo en detalle
Placa de pocillos profundos 200 µL de sangre (muestra) 450 µL de tampón de lisis B	Dispense en hasta 96 pocillos de la placa de muestras con 200 µL de sangre completa. Añada tampón de lisis B a los pocillos que contienen muestra e incube la placa durante 10 minutos.
1050 µL de tampón de retención B	Añada el tampón de retención B a cada pocillo de muestra con sangre completa lisada. Coloque la placa de muestras en la posición 3 de la gradilla e inicie el ensayo inmediatamente.

Preparación de la muestra, muestras de plasma

Material	Paso del protocolo en detalle
Placa de pocillos profundos 4 µL de poli(A)ARN reconstituido 10 µL de proteinasa K reconstituida 200 µL de plasma (muestra) 450 µL de tampón de lisis P	Añada el poli(A)ARN y la proteinasa K reconstituidos a los pocillos de muestras. Dispense en hasta 96 pocillos de la placa de muestras con 200 µL de plasma. Añada tampón de lisis P a los pocillos que contienen muestra e incube las muestras a 50–60 °C durante 10 minutos. La actividad de la proteinasa K disminuirá después de una incubación más larga de 10 minutos en tampón de lisis P. Verifique que todas las muestras se mezclan con poli(A)ARN/proteinasa K/tampón de lisis P durante la incubación.
1050 µL de tampón de retención P	Añada el tampón de retención P a cada pocillo de muestra con plasma lisado. Coloque la placa de muestras en la posición 3 de la gradilla e inicie el ensayo inmediatamente.

Cuando haya terminado el procedimiento de aislamiento, recoja los eluatos de ADN y use el botón [Turn Table] (girar mesa) para descargar el sistema de seguimiento. Cada clic en el botón [Turn Table] mueve (la mesa de) el sistema de seguimiento una posición en sentido de las agujas del reloj. No mueva nunca el sistema de seguimiento (mesa) manualmente. Nota: no gire el eje x a mano porque podría dañar el equipo. Todos los movimientos tienen que hacerse con la función [Turn Table] (girar mesa).

Protocolo de extracción con el instrumento chemagic Prime Jr-D

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 3 horas y 10 minutos.

El protocolo sirve para el procesamiento de hasta 48 muestras por experimento y proporciona el procesamiento automatizado de las muestras. Para obtener instrucciones detalladas acerca del uso del instrumento chemagic Prime Jr-D, consulte el manual del instrumento chemagic Prime Jr-D.

Antes de usarlos, se debe dejar que los reactivos y las muestras alcancen la temperatura ambiente (+19–+25 °C).

NOTAS DE PROCEDIMIENTO

1. Para usar correctamente el kit chemagic DNA CS200 es esencial leer y entender bien todas las instrucciones de este prospecto y el manual del instrumento chemagic 360-D.
2. No use los reactivos de un kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del mismo. Una vez abiertos, los reactivos se pueden usar durante el periodo de tiempo establecido en la lista de reactivos de este prospecto.
3. Cualquier desviación del protocolo puede afectar a los resultados.
4. Los reactivos se dispensan automáticamente en filas enteras y por lo tanto también se deben usar las tapas de las puntas (incluidas en el kit) en filas enteras en cada barra que esté en contacto con cualquier solución de reactivos. A su vez, debe tenerse en cuenta que si se procesan placas parcialmente llenas, puede que las soluciones no sean suficientes para 960 extracciones.
5. Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras el ensayo de extracción automatizado está en curso, se terminará el ensayo y las muestras en proceso se perderán.
6. La limpieza y el mantenimiento del sistema se describen con detalle en el manual de usuario de chemagic 360-D.
 - La limpieza del equipo se realiza una vez a la semana: limpie el chemagic Dispenser. Seleccione el protocolo «**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**» y pulse el botón [Insert IDs] (insertar ID) o el botón [Start] (iniciar) si las funciones mejoradas están desactivadas. Siga las instrucciones proporcionadas en el software.
 - Antes del siguiente uso del chemagic Dispenser, lleve a cabo el protocolo adecuado de cebado.
 - Se recomienda limpiar el chemagic Dispenser con etanol 70 % una vez al mes. Simplemente utilice el protocolo «**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**» en lugar del normal para este fin.
 - Si el chemagic Dispenser no se va a utilizar durante un periodo de tiempo más largo, es obligatorio realizar el «procedimiento de limpieza habitual» para mantener el rendimiento del instrumento cuando vuelva a estar en servicio.

7. La cantidad de ADN procedente de la muestra de sangre entera obtenida se puede cuantificar utilizando un método independiente, p. ej. medición UV.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

En algunos casos, podrían quedar restos de microesferas magnéticas Magnetic Beads B en el eluido. Aunque generalmente dichas partículas no interfieren con la PCR o con la mayoría de las aplicaciones posteriores, se recomienda realizar un paso de separación adicional usando un separador magnético (chemagic Stand 96, suministrado con el chemagic 360 96 Rod Head Set, nº de ref. CMG-370) o el centrifugado, para separar cualquier traza de partículas. Durante la medición UV de los eluido de ADN de las muestras de sangre entera, la trazas de las microesferas magnéticas pueden causar un fondo más alto y debe efectuarse un paso de separación antes de la cuantificación.

El ADN extraído debe utilizarse inmediatamente después de la extracción en la prueba de diagnóstico *in vitro* elegida.

El kit no está destinado para su uso en la extracción y purificación de ADNlc humano o genómico humano a partir de una muestra de plasma, o de ADNlc humano a partir de una muestra de sangre entera.

La producción de ADN depende en gran medida de las características de la sangre, p. ej., un recuento de leucocitos bajo da como resultado una disminución de la producción de ADN.

CARACTERISTICAS DEL ENSAYO

Muestras de sangre

El rendimiento del kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 y el instrumento 2024-0010 chemagic 360-D usando muestras de sangre completa se estableció recogiendo muestras de extracciones de ADN de donantes sanos. Se calculó el rendimiento medio de cada muestra y se representó gráficamente en comparación con el recuento leucocitario. En la tabla 1 se muestra la estadística descriptiva de las medias de las muestras y los rendimientos de ADN se presentan en las figuras 1 y 2 usando tubos de muestras con EDTA y con citrato. Nota: el rendimiento de ADN también se ve afectado por la dilución de la muestra causada por el tubo de muestras utilizado (el volumen de conservante es diferente en tubos con EDTA y con citrato).

Los resultados sobre la pureza del ADN extraído se presentan en la figura 3.

Tabla 1. Las estadísticas descriptivas de los resultados de las muestras

Variable	N	Mediana	Media	Mínimo	Máximo
Rendimiento de citrato (µg/200 µL muestra)	41	4.6	4.6	3.0	6.6
Rendimiento de EDTA (µg/200 µL muestra)	41	5.1	5.2	2.8	7.9

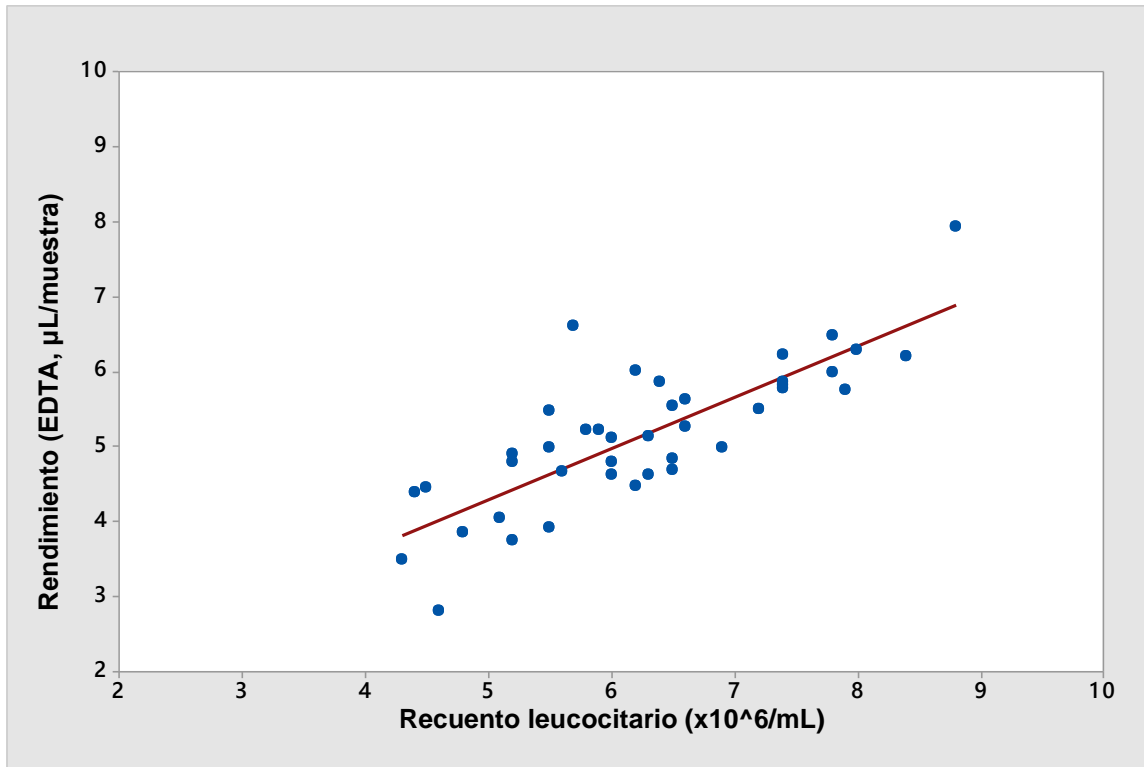


Figura 1. El rendimiento de ADN (tubos con EDTA, 41 muestras) de volumen de muestra de 200 µL. Se determinaron los recuentos leucocitarios de los donantes sanos y estaban en el rango 4.3 – 8.8 x 10⁶ células/mL.

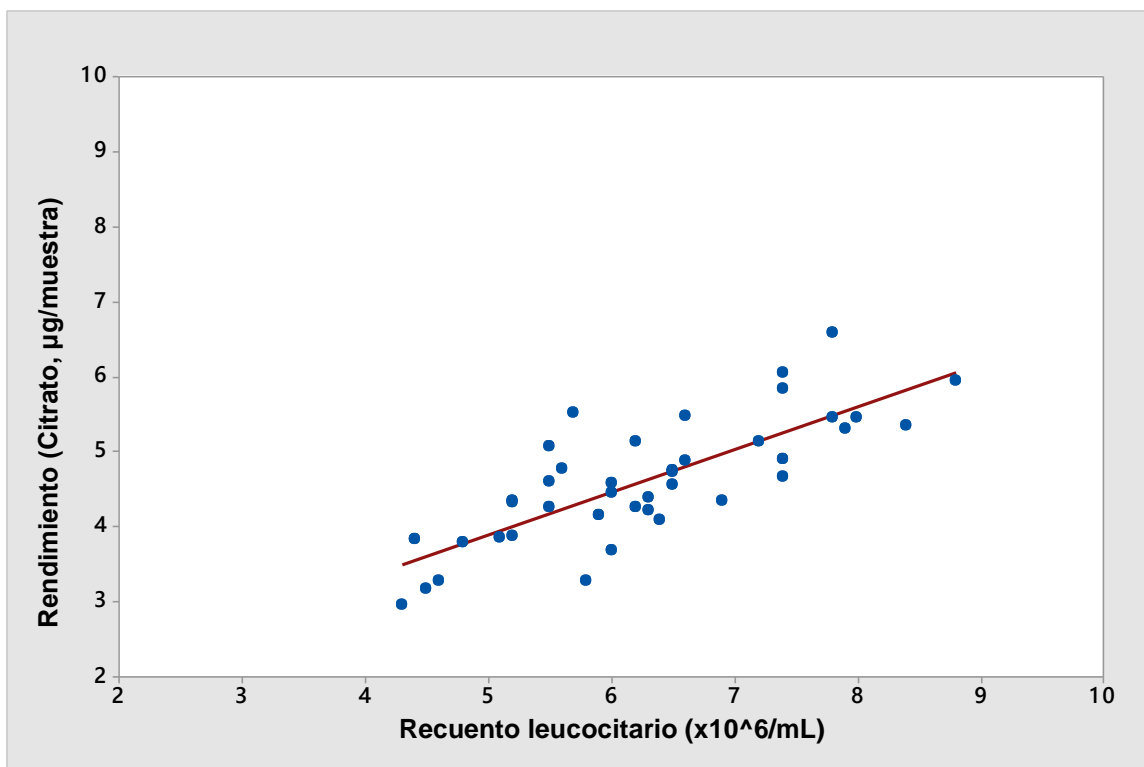


Figura 2. El rendimiento de ADN (tubos con citrato, 41 muestras) de volumen de muestra de 200 µL. Se determinaron los recuentos leucocitarios de los donantes sanos y estaban en el rango 4.3 – 8.8 x 10⁶ células/mL.

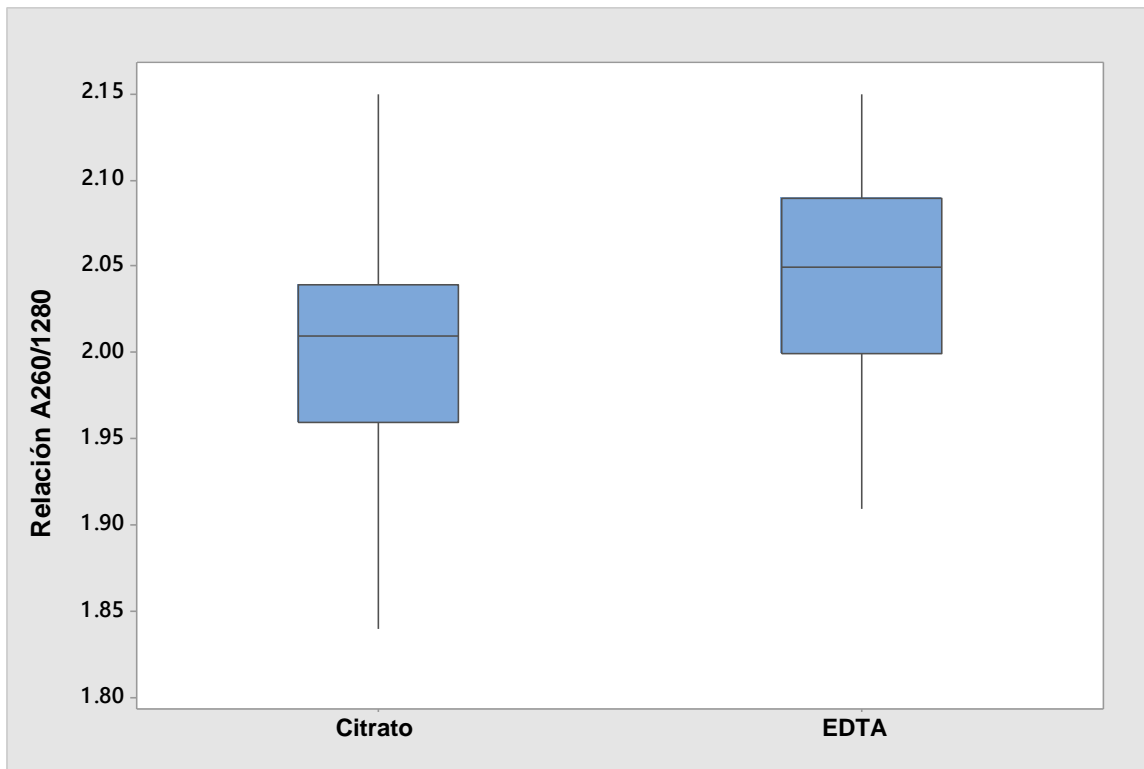


Figura 3. La pureza del ADN extraído (relación de absorbencia A260/A280) de 41 muestras de citrato y 41 muestras de EDTA.

Muestras de plasma

El estudio de evaluación del rendimiento del kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 y el instrumento 2024-0010 chemagic 360-D usando muestras de plasma se realizó en el laboratorio acreditado de pruebas FINAS (EN ISO/IEC 17025) usando la aplicación de flujo descendente registrada CE IVD para el diagnóstico de citomegalovirus (CMV). Los resultados de las muestras positivas de pacientes con números de copias de CMV se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Resultados de muestras positivas de pacientes con CMV

ID de muestra	Dispositivo en investigación (plataforma de extracción de ADN chemagic)		Dispositivo comparador (plataforma de extracción de ADN registrado CE IVD)	
	Resultado del kit CMV (copias/mL)	Evaluación de la detección	Resultado del kit CMV (copias/mL)	Evaluación de la detección
001	2400	Positivo	650	Positivo
003	700	Positivo	2100	Positivo
005	2000	Positivo	1500	Positivo
007	600	Positivo	550	Positivo
009	650	Positivo	450	Positivo
011	200	Positivo	100	Positivo

013	1100	Positivo	300	Positivo
015	24000	Positivo	14000	Positivo
017*	50	Positivo	ND	Negativo
019	16000	Positivo	9900	Positivo
021	6.8 x 10E6	Positivo	4.5 x 10E6	Positivo
025	8600	Positivo	3800	Positivo
029	ND	Negativo	ND	Negativo
031	1200	Positivo	250	Positivo
033	1000	Positivo	800	Positivo
035*	ND	Negativo	100	Positivo
037	2000	Positivo	2300	Positivo
039	400	Positivo	100	Positivo
041	250	Positivo	150	Positivo
043	84000	Positivo	67000	Positivo
047	1100	Positivo	1000	Positivo
049	27000	Positivo	15000	Positivo
051	1300	Positivo	1100	Positivo
053	9500	Positivo	13000	Positivo
057	5000	Positivo	2300	Positivo
059	230000	Positivo	130000	Positivo
061	1200	Positivo	1400	Positivo
065	1600	Positivo	2700	Positivo
067	16000	Positivo	11000	Positivo
069	5700	Positivo	4300	Positivo
071	8400	Positivo	4100	Positivo
073	83000	Positivo	70000	Positivo
075	4200	Positivo	5900	Positivo
077	950	Positivo	1400	Positivo
079	800	Positivo	400	Positivo
081	2000	Positivo	600	Positivo
082	2200	Positivo	1100	Positivo
083	750	Positivo	600	Positivo
084	1200	Positivo	350	Positivo
085	500	Positivo	300	Positivo

* Los números de copias del virus de las muestras 017 y 035 están por debajo del límite de detección del ensayo de flujo descendente.

GARANTÍA

Los resultados aquí presentados se han obtenido por el procedimiento de ensayo indicado. Cualquier cambio o modificación en el procedimiento no recomendado por el fabricante puede afectar a los resultados, en cuyo caso Wallac Oy y sus filiales declinan cualquier responsabilidad y garantía otorgada, expresa o tácita, sobre la comercialización del producto y su uso.

En tal caso, Wallac Oy, sus filiales y sus distribuidores autorizados no asumen ninguna responsabilidad por los daños o perjuicios directos o indirectos.

No hay cambios de contenido entre la versión actual y la versión anterior. Actualización del nombre y el logotipo de la empresa.

Última revisión 10 de mayo de 2023