



INSTRUCCIONES DE USO

Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit

Número de producto:	IVD-2017 Reactivos para 180 extracciones.
UDI-DI:	4260543364281
Versión:	V240503 ES  
Fabricante:	Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Alemania www.revvity.com

CE

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

1. ÍNDICE DEI CONTENUTI

1. Índice dei contenuti.....	1
2. Explicación de las palabras de señalización en esta IFU	3
3. Símbolos utilizados en las instrucciones de uso y en las etiquetas	3
4. Finalidad prevista.....	5
5. Resumen y principio	5
6. Notificación de incidentes	6
7. Información general y almacenamiento	7
8. Instrucciones electrónicas de uso.....	8
9. Advertencias y precauciones	8
10. Reactivos del kit e información de seguridad	10
10.1 Magnetic Beads	10
10.2 Lysis Buffer 1	10
10.3 Binding Buffer 2	11
10.4 Wash Buffer 3	12
10.5 Wash Buffer 4	13
10.6 Wash Buffer 5	14
10.7 Elution Buffer 6	15
10.8 Proteinase K	15
10.9 Poly(A) RNA	16
10.10 Poly(A) RNA Buffer	17
10.11 Otros componentes del kit	17
11. Archivo de protocolos necesarios	18
12. Material necesario pero no suministrado con el kit	18
12.1 Productos de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	18
12.2 Elementos adicionales necesarios.....	18
12.3 Otros artículos opcionales de Revvity chemagen Technologie GmbH	18
12.4 Otros elementos opcionales	19
13. Recogida y manipulación de muestras	20
14. Descripción detallada del protocolo	21
14.1 Procedimiento de protocolo	21
14.2 Posicionamiento.....	22
14.3 Pasos del proceso	22
14.4 Breve descripción/ Guía rápida.....	25
15. Características de rendimiento	27






15.1	LoD utilizando el instrumento chemagic Prepito para la extracción y los sistemas PCR Roche lightcycler 480 II, Applied Biosystems™ 7500 FAST, Bio-Rad cfx touch y analytik jena qtower . ³	27
16.	Limpieza y mantenimiento	28
17.	Aplicaciones posteriores	29
18.	Otras preguntas	30
19.	Limitaciones del procedimiento.....	30
20.	Garantía.....	31

2. EXPLICACIÓN DE LAS PALABRAS DE SEÑALIZACIÓN EN ESTA IFU

Palabra clave	Descripción
¡CUIDADO!	Peligro potencial que puede provocar daños leves o medios.
NOTA:	Los errores cometidos por el operador pueden provocar que no se garantice el rendimiento óptimo del kit.

3. SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LAS INSTRUCCIONES DE USO Y EN LAS ETIQUETAS

Símbolo	Título del símbolo	Símbolo	Título del símbolo
	Marca CE Conformidad europea		Límite de temperatura
	Producto sanitario <i>in vitro</i>		Contiene suficientes para <n> pruebas
	Consulte las instrucciones de uso o las instrucciones de uso		Cantidad
	Fabricante		No reutilizar
	Batch code		Traducción
	Catalogue number		Fecha de caducidad
	No utilizar si el envase está dañado y consultar las instrucciones de uso		Por aquí arriba

Símbolo	Título del símbolo	Símbolo	Título del símbolo
	GHS02		Mercancías peligrosas: Clase 3 Líquido inflamable
	GHS07		Mercancías peligrosas: Clase 8 Sustancias corrosivas
	GHS08		

chemagic™ es una marca comercial de Revvity chemagen Technologie GmbH.

4. FINALIDAD PREVISTA

El Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit (IVD-2017) es un kit para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN y ARN a partir de plasma humano, saliva e hisopos nasales u orofaríngeos para fines de diagnóstico *in vitro*.

El producto se utiliza en el chemagic™ Prepito o chemagic™ Prepito-D y está destinado al personal de laboratorio formado para el chemagic Prepito/-D en combinación con kits de purificación de ácidos nucleicos. El kit está diseñado para su uso con aplicaciones posteriores de DIV que empleen amplificación enzimática y detección de ADN y ARN (por ejemplo, PCR, RT-PCR, NGS).

Para más información, consulte las secciones "REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD" y "ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES" de este documento.

5. RESUMEN Y PRINCIPIO

El Prepito viral DNA/RNA 300 Kit se basa en una plataforma de tecnología de Magnetic Beads de Revvity chemagen Technologie GmbH. Las células y otras fuentes de ADN/ ARN presentes en plasma humano, saliva e hisopos nasales u orofaríngeos se lisan durante el proceso de extracción. Los ácidos nucleicos liberados se unen a pequeñas partículas magnetizables y, a continuación, se separan por acción magnética del material de la muestra. Durante los pasos siguientes, los contaminantes se eliminan y los ácidos nucleicos purificados se transfieren a un elution buffer. El procesamiento automatizado de las muestras se lleva a cabo mediante el instrumento chemagic Prepita o chemagic Prepito-D.

Para minimizar las irregularidades en los resultados del diagnóstico, el producto debe utilizarse con los controles apropiados durante todo el proceso de preparación de la muestra, amplificación de la muestra y detección según el ensayo posterior utilizado.

6. NOTIFICACION DE INCIDENTES

Para un usuario/ tercero en la Unión Europea y en países con un régimen normativo idéntico (IVDR (UE) 2017/746), si durante el uso de este producto o como resultado de su uso se produce un incidente grave, este debe comunicarse a su autoridad nacional así como al fabricante y Revvity chemagen Technologie GmbH a través del teléfono +49 (0) 2401805500 o escribiendo a support.chemagen@revvity.com o a sus representantes legales.

La autoridad competente en Alemania es el Instituto Federal de Medicamentos y Productos Sanitarios (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM). Encontrará información de contacto actualizada en el sitio web del BfArM: <https://www.bfarm.de>.

7. INFORMACIÓN GENERAL Y ALMACENAMIENTO

El kit contiene reactivos suficientes para realizar 180 extracciones.

La fecha de caducidad del kit sin abrir se indica en la etiqueta exterior. No utilice ningún componente después de la fecha de caducidad. Almacene el producto a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Una vez abierto, los componentes del kit tienen una estabilidad limitada. La estabilidad posterior a la apertura se indica para cada componente de forma independiente en la lista de reactivos que figura a continuación (sección "REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD").

Si el Lysis Buffer 1 contiene precipitados (formados durante la transferencia o el almacenamiento), la solución debe calentarse a 50-60 °C y mezclarse a fondo hasta que la solución esté clara. La claridad del Lysis Buffer 1 debe confirmarse siempre visualmente antes de su uso.

Las botellas pueden cambiar de color durante el almacenamiento. Este cambio de color de las botellas no afecta a la funcionalidad del ensayo.

En algunos casos, pueden quedar trazas de Magnetic Beads en la solución de elución. Aunque estas partículas no suelen interferir en la PCR o la mayoría de las aplicaciones derivadas, se recomienda ejecutar un paso de separación adicional mediante centrifugación o separación de partículas magnéticas (chemagic Stand 2x12) para separar cualquier traza de dichas partículas.

El ADN/ ARN extraído debería utilizarse inmediatamente después de la extracción con la prueba de diagnóstico *in vitro* deseado.

En esta IFU nos referimos al Manual de Usuario del Prepito/ -D (chemagic Prepito User Manual). Este manual se suministrará con el instrumento chemagic Prepito/-D.

El archivo de protocolo relacionados con el kit será proporcionado por Revvity chemagen Technologie GmbH (consulte la sección "ARCHIVO DE PROTOCOLOS NECESARIOS").

8. INSTRUCCIONES ELECTRONICAS DE USO

En nuestra página web encontrará instrucciones de uso electrónicas (eIFU) en varios idiomas.

Para descargar estas instrucciones de uso electrónicas, visite:

<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/>.

Las eIFU están disponibles como mínimo en inglés (EN), francés (FR), español (ES) e italiano (IT), previa solicitud, también en otras lenguas requeridas.

Si tiene alguna pregunta sobre la descarga o las instrucciones de uso electrónicas, póngase en contacto con nosotros: support.chemagen@revvity.com, info.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

9. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso diagnóstico *in vitro*.

El producto está destinado al personal de laboratorio formado para el instrumento chemagic Prepito/-D en combinación con los kits de purificación de ácidos nucleicos chemagic.

Para utilizar con éxito el Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit es necesario conocer a fondo estas instrucciones de uso y el manual del usuario de Prepito/-D.

Los reactivos suministrados con este kit están destinados a ser utilizados como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote diferentes.

No utilice los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit. Una vez abiertos, los reactivos pueden utilizarse durante el periodo de tiempo indicado en el listado de reactivos de esta IFU.

Cualquier desviación del protocolo puede afectar a los resultados.

Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.

Manipule todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras potencialmente infecciosas deben inactivarse. Consulte la publicación "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos o cualquier otra normativa local o nacional.

El Lysis Buffer 1 contiene tiocianato de guanidinio y es nocivo por ingestión, contacto con la piel o inhalación. Binding Buffer 2 y Wash Buffer 3 contienen perclorato sódico

y etanol y son líquidos y vapores inflamables y nocivos por ingestión. El Wash Buffer 4 contiene etanol y es un líquido y vapor inflamables. Proteinase K contiene Tritirachium album serina proteinasa y causa irritación de la piel e irritación ocular grave, puede causar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias si se inhala e irritación respiratoria. Poly(A) RNA Buffer contiene tiocianato de guanidinio y es nocivo por ingestión o inhalación. Véanse las precauciones específicas para todos los componentes en la sección "REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD".

Para evitar lesiones al trabajar con los componentes del kit, utilice siempre gafas de seguridad, guantes desechables y ropa protectora. Para obtener información detallada, consulte las correspondientes fichas de datos de seguridad (safety data sheet, SDS) disponibles en nuestra página web.

Siga las normativas locales para la manipulación de soluciones etalónicas.

La eliminación de todos los residuos debe estar en consonancia con las normativas locales.

10. REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD

El Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit contiene los siguientes reactivos.

10.1 MAGNETIC BEADS

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Magnetic Beads	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Suspensión de partículas que contienen óxido de hierro nanoparticular encapsulado en una matriz de alcohol polivinílico. Las Magnetic Beads se unen al ADN/ ARN durante el proceso de extracción.

10.2 LYSIS BUFFER 1

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
<p>PELIGRO</p>	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella. Debe almacenarse en la oscuridad. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.



Solución tampón acuosa lista para su uso que contiene tiocianato de guanidina (50-70 %). El Lysis Buffer 1 se utiliza para lisar las células u otra fuente de ADN/ ARN presente en la muestra para obtener el ADN/ ARN en la solución.

¡CUIDADO! El Lysis Buffer 1 contiene tiocianato de guanidinio.

Frases de peligro, precaución y HUE

H302+H312	Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel.
H314	Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
P101	Si se necesita consejo médico, tener a mano el envase o la etiqueta.
P102	Mantener fuera del alcance de los niños.
P103	Leer atentamente y seguir todas las instrucciones.
P303+P361+P353	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
P310	Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.
P321	Se necesita un tratamiento específico (ver en esta etiqueta).
P405	Guardar bajo llave.
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.
EUH032	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

10.3 BINDING BUFFER 2

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Binding Buffer 2   PELIGRO	1 botella contenida en el chemagic 8-Pack	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del 8-Pack. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.


Solución tamponada Tris-HCl (pH 5.2-6.1) lista para su uso con perclorato sódico (20-40 %) y etanol (40-60 %). El Binding Buffer 2 se utiliza para crear las condiciones adecuadas para que el ADN/ ARN se una a las Magnetic Beads.

¡CUIDADO! El Binding Buffer 2 contiene etanol y perclorato sódico.

Frases de peligro, precaución y HUE

H225	Líquido y vapores muy inflamables.
H302	Nocivo en caso de ingestión.
P210	Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.
P240	Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.
P241	Utilizar material [eléctrico/ de ventilación/ iluminación] antideflagrante.
P280	Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara/ los oídos.
P303+P361+P353	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

10.4 WASH BUFFER 3

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 3  PELIGRO	1 botella contenida en el chemagic 8-Pack	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del 8-Pack. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución tamponada Tris-HCl (pH 4.8-5.6) lista para usar con perclorato sódico (20-30 %) y etanol (20-40 %). Utilizada para eliminar los contaminantes distintos de ADN/


ARN durante el paso de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 3 contiene etanol y perclorato sódico.

Frases de peligro, precaución y HUE

H225	Líquido y vapores muy inflamables.
P210	Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.
P240	Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.
P241	Utilizar material [eléctrico/ de ventilación/ iluminación] antideflagrante.
P280	Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara/ los oídos.
P303+P361+P353	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

10.5 WASH BUFFER 4

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 4  PELIGRO	1 botella contenida en el chemagic 8-Pack	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del 8-Pack. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución lista para usar que contiene etanol al 50-70 %. Utilizada para eliminar los últimos restos de contaminantes distintos de ADN/ ARN durante el paso de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 4 contiene etanol.

Frases de peligro, precaución y HUE

H225	Líquido y vapores muy inflamables.
P210	Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.
P240	Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.
P241	Utilizar material [eléctrico/ de ventilación/ iluminación] antideflagrante.
P280	Llevar guantes/ ropa de protección/ equipo de protección para los ojos/ la cara/ los oídos.
P303+P361+P353	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

10.6 WASH BUFFER 5

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 5	1 botella contenida en el chemagic 8-Pack	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del 8-Pack. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.



Solución acuosa ultrafiltrada lista para utilizar. Utilizada para eliminar posibles restos de etanol.

10.7 ELUTION BUFFER 6

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Elution Buffer 6	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella. Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

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

10.8 PROTEINASE K

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Proteinase K  PELIGRO	 1 vial de vidrio (liofilizado)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. Tras la reconstitución, permanece estable durante 28 días a una temperatura comprendida entre +2 y +8 °C.

La Proteinase K se reconstituye añadiendo 2.5 mL de agua purificada. La solución Proteinase K se añade para mejorar la eficiencia del paso de lisis.

¡CUIDADO! La Proteinase K contiene Proteínasa, serina de Tritirachium album e hidrato de acetato de calcio.

Frases de peligro, precaución y HUE

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.

Frases de peligro, precaución y HUE


P261	Evitar respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol.
P280	Llevar guantes/ gafas/ máscara de protección.
P284	[En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
P405	Guardar bajo llave.
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

10.9 POLY(A) RNA

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Poly(A) RNA	2 tubos (liofilizado)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de los tubos. Una vez reconstituido, estable durante 30 días a +2 a +8 °C.

El Poly(A) RNA se reconstituye añadiendo 440 µL de Poly(A) RNA Buffer. El Poly(A) RNA funciona como un transportador de ADN/ ARN para mejorar la eficiencia del proceso de extracción.

10.10 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Poly(A) RNA Buffer 	2 tubos (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de los tubos.

ADVERTENCIA

Solución tampón acuosa lista para utilizar con tiocianato de guanidina (20-40 %). El Poly(A) RNA Buffer se utiliza para la reconstitución de Poly(A) RNA.

¡CUIDADO! El Poly(A) RNA Buffer contiene tiocianato de guanidinio.

Frases de peligro, precaución y HUE

H302	Nocivo en caso de ingestión.
P264	Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
P270	No comer, beber ni fumar durante su utilización.
P301+P312	EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar.
P330	Enjuagarse la boca.
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.
EUH032	En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

10.11 OTROS COMPONENTES DEL KIT

El Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit contiene el siguiente material plástico.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
chemagic Tips S	180	De +2 a +25 °C
Prepito Tubes M	360	De +2 a +25 °C
Prepito Tubos M Cap Stripes (8 tapas/ tira)	23	De +2 a +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	15	De +2 a +25 °C

11. ARCHIVO DE PROTOCOLOS NECESARIOS

El siguiente archivo de protocolo será proporcionado por Revvity chemagen Technologie GmbH y está ya preinstalado en el chemagic Prepito/-D, disponible en la página web o será proporcionado por el servicio de atención al cliente.

Protocolo (archivo.che)	Tipo de protocolo/ objetivo
031.che (nombre del protocolo: Viral DNA/RNA dipping, con el kit para el instrumento VD 230515)	Archivo de extracción relacionado con el kit para el instrumento chemagic Prepito/-D

12. MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

El Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit requiere los siguientes elementos.

12.1 PRODUCTOS DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Artículo	N.º de producto
chemagic Prepito instrument	2022-0030
chemagic Prepito-D instrument	2022-0020

12.2 ELEMENTOS ADICIONALES NECESARIOS

Artículo	Propósito
Pipetas y puntas de pipeta con barreras contra aerosoles	Prellenado de Magnetic Beads, Elution Buffer 6, Proteinase K Poly(A) RNA
Agua de calidad para biología molecular	Reconstitución de la Proteinase K
Etanol al 70	Limpieza del instrumento chemagic Prepito/-D

12.3 OTROS ARTÍCULOS OPCIONALES DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Producto	N.º de producto
chemagic Stand 2x12	CMG-300

12.4 OTROS ELEMENTOS OPCIONALES

Producto	Propósito
Solución salina isotónica, estéril	Licuada del material del hisopo antes de su uso
Tubo Sarstedt (ref. 72.693 ó 72.694)	Tubo de reacción para la inactivación del material de muestra

13. RECOGIDA Y MANIPULACION DE MUESTRAS

El kit chemagic Prepito DNA/RNA 300 Kit se puede utilizar con plasma humano fresco y congelado, estabilizado con EDTA o citrato procedente de sistemas habituales de extracción de sangre, saliva estabilizada (tubos de extracción Oragene™ y Spectrum™) y medios de transporte procedentes de hisopos (p. ej., eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) como alícuotas directas de 300 µL por aislado.

Tras la recogida y centrifugación, el plasma puede almacenarse a 2-8 °C durante 6 horas como máximo. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda congelar a -20 °C o -80 °C en alícuotas. Las muestras de plasma o suero congeladas no deben descongelarse más de una vez. La repetición del ciclo de congelación/descongelación puede provocar la desnaturalización y precipitación de proteínas, lo que resulta en un menor rendimiento de los ácidos nucleicos.

El material de muestra de los hisopos secos debe transferirse a solución salina isotónica. Por lo tanto, añadir 350 µL de solución salina isotónica e incubar durante 5 minutos a 15-25 °C antes de su uso. Deben utilizarse 300 µL de muestra incubada con solución salina isotónica por cada aislado.

NOTA: No utilice tampones que contengan fosfato para la resuspensión.

No se ha determinado la eficacia de extracción de material de muestra distinto de los tipos de muestra enumerados anteriormente.

Para una manipulación segura, las muestras para las pruebas virales (p. ej., extracción de ARN viral de SARS-CoV-2) deben inactivarse antes de su uso. Pipetee 4 µL de Poly(A) RNA, 10 µL de Proteinase K y 300 µL de Lysis Buffer 1 en un tubo Sarstedt de 2 mL. Nota: si se van a procesar más de una muestra para la inactivación, puede prepararse una solución de reserva de esta solución. Multiplique los volúmenes requeridos para una muestra por el número total de muestras que deben procesarse e incluya el volumen adicional al equivalente de 3 muestras extra. Invierta el tubo varias veces para mezclar, transfiera 314 µL a un tubo Sarstedt de 2 mL para cada muestra y, a continuación añada 300 µL de muestra a cada tubo, cierre la tapa y mezcle mediante un agitador vórtex por pulsos durante 10 segundos. Incube el tubo a 68 °C durante 15 minutos (± 2 minutos) para la inactivación. Transfiera el lisado inactivado completamente a la Deep Well Plate 2 mL de muestras en el paso 19 del protocolo de extracción y prosiga por el paso 20.

14. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROTOCOLO

14.1 PROCEDIMIENTO DE PROTOCOLO

El siguiente procedimiento describe la preparación y la ejecución del protocolo de extracción utilizando el instrumento chemagic Prepito/-D.

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 39 minutos.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 12 muestras en paralelo (consulte el "PASOS DEL PROCESO"). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic Prepito/-D, consulte el Manual del usuario de chemagic Prepito/-D.

NOTA: Las muestras y los reactivos deben llevarse a temperatura ambiente (+19 a +25 °C) antes de su uso.

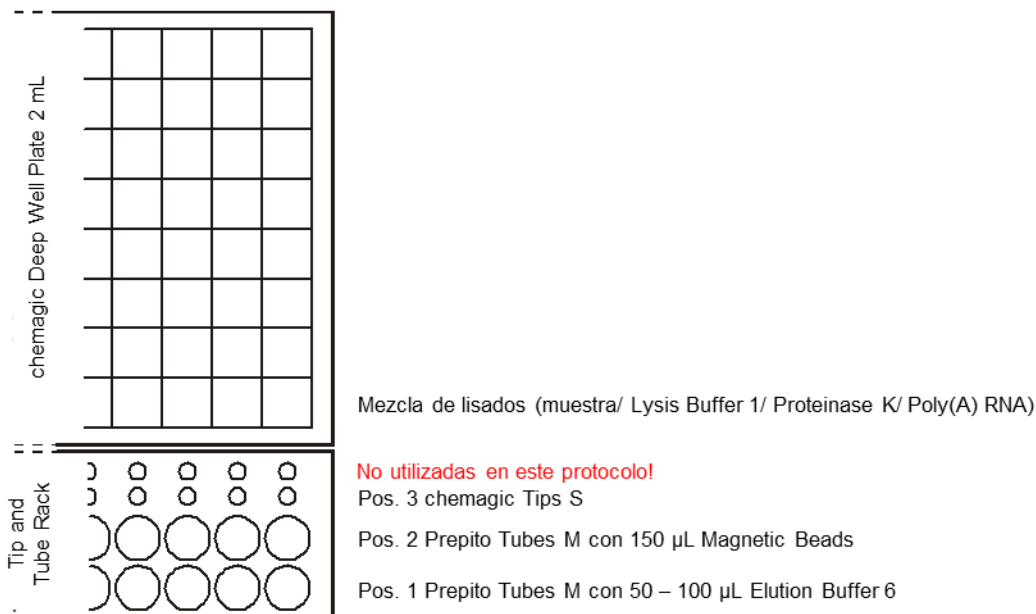
Conecte los tubos según su numeración a los respectivos homólogos (véase más abajo) en el chemagic 8-Pack. Retire las tapas de los frascos individuales de tampón en el chemagic 8-Pack y perfora el septo con el pincho colocado en el extremo de cada tubo. Coloque el chemagic 8-Pack boca abajo en el soporte de reactivos y utilice la función de cebado manual para un llenado completo del sistema de dispensación.

Conecta los tubos de la siguiente manera:

Bomba	Tampón	N.º de chemagic 8-Pack
Bomba 1	Sin botella conectada	-
Bomba 2	Binding Buffer 2	2
Bomba 3	Wash Buffer 3	3
Bomba 4	Wash Buffer 4	4
Bomba 5	Wash Buffer 5	5
Bomba 6	Sin botella conectada	-

14.2 POSICIONAMIENTO

Ver "PASOS DEL PROCESO" para obtener información detallada.



14.3 PASOS DEL PROCESO

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Reconstituya los componentes Proteinase K y Poly(A) RNA:

Componente	Reconstitución
Proteinase K	Añada 2.5 mL de agua de grado de biología molecular al vial de Proteinase K y mezcle suavemente hasta su completa disolución.
Poly(A) RNA	Añada 440 µL de Poly(A) RNA Buffer al tubo de Poly(A) RNA y mezcle bien hasta su completa disolución.

3. Si el Lysis Buffer 1 contiene precipitados (formados durante la transferencia o el almacenamiento), la solución debería calentarse a 50-60 °C y mezclarse bien hasta que sea clara. Debería confirmarse siempre de manera visual la claridad de Lysis Buffer 1 antes de su uso.
4. Encienda el chemagic Prepito/-D y espere a que finalice el autotest.

5. Pulse [Change Protocol].
6. Pulse [Serum/Plasma] en la ventana "Select Protocol Group"
7. Seleccione el protocolo Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit pulsando [Viral DNA/RNA300] y confirme pulsando [OK].
8. Confirme la selección del protocolo en la ventana "Select Protocol Group" pulsando [OK].
9. Introduzca el código de acceso de 4 dígitos [2364] para la autorización y confirme pulsando [enter].
10. Pulse [Start process].
11. Lea la información del protocolo en la pantalla de información que aparece.
12. Confirme pulsando [continue].
13. Seleccione las posiciones de las muestras y confirme pulsando [continue].
14. Introduzca el código de barras del kit con el lector de códigos de barras y confirme pulsando [OK].
15. Para registrar las muestras y los tubos de elución, pulse [Yes] y siga las instrucciones de la pantalla táctil para introducir los códigos de barras correspondientes.
16. Prepare la Prepito Tip and Tube Rack con el material necesario y coloque una chemagic Tip S en la posición 3 para cada muestra de acuerdo con las posiciones de las muestras (consulte la sección "POSICIONAMIENTO").
17. Coloque dos Tubos Prepito M, uno en la posición 1 y otro en la posición 2, y rellene previamente el Elution Buffer 6 y las Magnetic Beads completamente resuspendidas pipeteando manualmente según cada pocillo en uso (véase también la sección "POSICIONAMIENTO") de la siguiente manera:

Componente	Posición en el Tip and Tube Rack	Volumen/ tubo
Elution Buffer 6	1	50 - 100 µL
Magnetic Beads	2	150 µL

NOTA: Mezcle energicamente la suspensión de Magnetic Beads antes de proceder a dispensarla; de lo contrario, la suspensión no será homogénea y el resultado de ADN/ ARN podría ser bajo.

18. Añada los siguientes reactivos en la posición de muestra de la chemagic Deep Well Plate 2 mL definida como pocillos de muestra (Pos. "Mezcla de lisados", véase la sección "POSICIONAMIENTO").
 - 4 µL de Poly(A) RNA y
 - 10 µL Proteinase K.
19. Añada 300 µL de material de muestra y 300 µL de Lysis Buffer 1 en el pocillo lleno de Poly(A) RNA y Proteinase K.

NOTA: El material de muestra de los hisopos secos debe licuarse antes de su uso.

NOTA: La actividad de la Proteinase K disminuye después de una incubación superior a 10 minutos en Lysis Buffer 1. Asegúrese de mezclar todas las muestras con Poly(A) RNA/ Proteinase K/ Lysis Buffer 1 en este periodo tiempo.

20. Una pantalla de información indica las posiciones de muestra seleccionadas previamente. Asegúrese de que las posiciones de la muestra en la chemagic Deep Well Plate 2 mL se corresponden con las posiciones seleccionadas.
21. Coloque la chemagic Deep Well Plate 2 mL en su posición predeterminada en el tracking system y pulse [continue].
22. Coloque la Prepito Tip and Tube Rack para puntas y tubos chemagic en su posición predeterminada en el tracking system.
23. Compruebe que la chemagic Deep Well Plate 2 mL y la Prepito Tip and Tube Rack están orientadas y encajan correctamente y bloquee ambas cerrando el pestillo de seguridad.
24. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start]. Se inicia el proceso automatizado de extracción de ADN/ ARN.

14.4 BREVE DESCRIPCIÓN/ GUÍA RÁPIDA

Extracción automatizada de ADN/ ARN en el instrumento chemagic Prepito/-D:

- Pulse [Change protocol] y seleccione [Serum/Plasma] en la ventana “Select Protocol Group”.
- Seleccione el protocolo Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit pulsando [Viral DNA/RNA].
- Confirme pulsando [OK] e introduzca el código de acceso de 4 dígitos [2364] para la autorización y confirme pulsando [Enter].
- Pulse [Start Process], seleccione las posiciones de las muestras y confirme pulsando [OK].
- Introduzca el código de barras del kit con el lector de códigos de barras y confirme pulsando [OK].
- Para registrar las muestras y los tubos de elución, pulse [Yes] y siga las instrucciones de la pantalla táctil para introducir los códigos de barras correspondientes.
- Cargue la Prepito Tip and Tube Rack y la placa de muestras como se indica a continuación:

Material (posición)	Etapas del protocolo en detalle
Prepito Tip and Tube Rack posición 1	Pipetear (50 - 100 µL) de Elution Buffer 6 en Prepito Tube M en uso según la placa de muestras.
Prepito Tip and Tube Rack posición 2	Pipetear completamente las Magnetic Beads resuspendidas en Prepito Tube M en uso según la placa de muestra.
Prepito Tip and Tube Rack posición 3	Utilice las chemagic Tips S según las posiciones de las muestras.
chemagic Deep Well Plate 2 mL (Placa de muestras)	Coloque la placa con las muestras preparadas (300 µL de muestra, 4 µL de Poly(A) RNA, 10 µL de Proteinase K y 300 µL de Lysis Buffer 1) en el instrumento.

- Coloque la placa de la muestra en el instrumento.
- Coloque la Prepito Tip and Tube Rack en el instrumento.
- Compruebe que la chemagic Deep Well Plate 2 mL y la Prepito Tip and Tube Rack estén bien orientadas y ajustadas.
- Bloquee cerrando el pestillo de seguridad.
- Cierre la puerta frontal e inicie inmediatamente el proceso de extracción de ADN/ARN pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezclará automáticamente.

15. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Cuando se utiliza este kit de extracción con el ensayo de RT-PCR EURORealTime SARS-CoV-2 (Número de catálogo: MP 2606-0125, MP 2606-0225, MP 2606-0425, MP 2606-0100, MP 2606-0200 y MP 2606-1000) se notificaron los siguientes datos de límite de detección (LoD), véase más abajo (datos generados por EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Seekamp 31, 23560 Lübeck).

15.1 LOD UTILIZANDO EL INSTRUMENTO CHEMAGIC PREPITO PARA LA EXTRACCIÓN Y LOS SISTEMAS PCR ROCHE LIGHTCYCLER 480 II, APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 FAST, BIO-RAD CFX TOUCH Y ANALYTIK JENA QTOWER .³

Se determinó una LoD tentativa con 5-7 diluciones seriadas de virus recombinante SARS-CoV-2 (SeraCare, AccuPlex SARS-CoV-2 Reference Material; 5000 copias/mL) en matriz de hisopo orofaríngeo negativa para SARS-CoV-2. Cada dilución se probó con 3 réplicas de extracción individuales. Cada dilución se probó con 3 réplicas de extracción individuales. La LoD provisional se determinó en 150 copias/mL (datos no mostrados).

La LoD tentativa se validó con 21 réplicas de matriz negativa de hisopo orofaríngeo enriquecida con material de referencia AccuPlex, seguida de extracción con el Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit. A continuación, las réplicas se analizaron en el Roche LightCycler 480 II. A continuación, las réplicas se analizaron en el Roche LightCycler 480 II. El mismo procedimiento se repitió en los cicladores Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR, Bio-Rad CFX Touch y Analytik Jena qTOWER³. Se determinó que la LoD era de 150 copias/mL; los datos correspondientes figuran en la Tabla 1.

Tabla 1: Confirmación de LoD en muestras de hisopos orofaríngeos.

Instrumento	Réplicas válidas	SARS-CoV-2		IC		Tasa de detección de ARN de SARS-CoV-2
		n	Ct medio	n	Ct medio	
Roche LightCycler 480 II	21	21	36.18	21	29.30	100 %
Applied Biosystems 7500 Fast	21	21	35.14	21	29.02	100 %
Bio-Rad CFX 96 Touch	21	21	34.94	21	27.85	100 %
Analytik Jena qTOWER ³	21	21	34.66	21	28.38	100 %

16. LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO

La limpieza y el mantenimiento principal del sistema se describen detalladamente en el Manual del usuario de chemagic Prepito/-D.

17. APLICACIONES POSTERIORES

Tras el aislamiento con el Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit (CMG-2017) se realizaron con éxito las siguientes aplicaciones downstream descritas en la literatura.

Tabla 2: Aplicaciones downstream revisadas por pares y publicadas (RT-qPCR).

Material de muestra	Kit	Título	Referencia
Hisopo nasofaríngeo en medio de transporte viral	Ensayo PCR en tiempo real del coronavirus COVID-19 genesig® (Genesig)	Clinical features of 47 patients infected with COVID-19 admitted to a Regional Reference Center	Olivares et al. Rev. med. Chile (2020), Nov. 148, (11): 1577.1588. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33844763/
Hisopo nasofaríngeo en medio de transporte viral	Ensayo PCR en tiempo real del coronavirus COVID-19 genesig® (Genesig)	Clinical significance of viral loads in patients infected with SARS-CoV-2 in Fayoum University Hospitals	Hosam-Eldin et al. Egyptian Journal of Medical Microbiology (2022), oct, 31 (4): 1-4 10.21608/EJMM.2022.262665
Plasma	RealStart HBV PCR Kit 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Plasma	Real-Star HIV RT-PCR Kit 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Hisopos nasales y orofaríngeos	VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection kit (CerTest BIOTEC)	Faecal calprotectin in COVID-19 patients with intestinal symptoms	Ellakany et al. Gastroenterology Rev (2022), 17 (4): 332-337 https://doi.org/10.5114/pg.2022.114685

18. OTRAS PREGUNTAS

Para conocer otras aplicaciones, cuestiones técnicas o más información sobre cómo se obtuvieron los datos, póngase en contacto con support.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

19. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

No se recomienda el uso de los siguientes dispositivos de recogida con el Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit. Para más información, póngase en contacto con support.chemagen@revvity.com.

Tabla 3: Dispositivos de recogida cuyo uso no se recomienda.

Descripción	Marca	Nº de referencia
Tubo de muestreo de virus inactivado (10 mL), conteniendo 3 mL de medio de conservación (inactivado), 1x hisopo orofaríngeo con material de rayón	Biocomma Limited	YMJ-TE
Sistema de recogida y conservación de virus inactivados	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

No se han establecido las características de rendimiento de estos productos.

El kit DIV-2017 está validado para la extracción de ADN y ARN de plasma humano, saliva e hisopos nasales u orofaríngeos. Otros materiales de muestra pueden ser compatibles, pero no han sido validados.



20. GARANTÍA

Cualquier cambio o modificación del procedimiento no recomendado por el fabricante puede afectar a los resultados, en cuyo caso Revvity chemagen Technologie GmbH y sus filiales renuncian a todas las garantías explícitas, implícitas o legales, incluidas las garantías implícitas de comerciabilidad y adecuación al uso.

En tales casos, Revvity chemagen Technologie GmbH, sus filiales y sus distribuidores autorizados, no se responsabilizarán de ningún daño indirecto ni derivados.

Mayo de 2024

www.revvity.com

revvity