

INSTRUCCIONES DE USO

chemagic™ Pathogen NA gDNA Kit H96 Pathogen NA gDNA Kit H96 XL

Número de producto:	IVD-1049 & IVD-1049-1000 Reactivos para 960 extracciones.
UDI-DI:	4260543364182 & 4260543364274
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 CON TENUTI

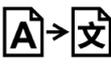
1.	Índice dei con tenuti.....	1
2.	Explicación de las palabras de señalización de esta IFU	3
3.	Símbolos utilizados en las instrucciones de uso y en las etiquetas	3
4.	Finalidad prevista.....	5
5.	Resumen y principio	5
6.	Notificación de incidentes	6
7.	Información general y almacenamiento	7
8.	Instrucciones electrónicas de uso.....	8
9.	Advertencias y precauciones	8
10.	Reactivos del kit e información de seguridad (IVD-1049).....	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	Wash Buffer 6	15
10.8	Elution Buffer 7	16
10.9	Proteinase K	16
10.10	Poly(A) RNA	17
10.11	Poly(A) RNA Buffer	18
10.12	Otros componentes del kit	18
11.	Reactivos del kit e información de seguridad (IVD-1049-1000).....	19
11.1	Magnetic Beads	19
11.2	Lysis Buffer 1	19
11.3	Binding Buffer 2	20
11.4	Wash Buffer 3	21
11.5	Wash Buffer 4	22
11.6	Wash Buffer 5	23
11.7	Wash Buffer 6	24
11.8	Elution Buffer 7	25
11.9	Proteinase K	25
11.10	Poly(A) RNA	26
11.11	Poly(A) RNA Buffer	27
11.12	Otros componentes del kit	27
12.	Archivos de protocolos necesarios	28

13. Material necesario pero no suministrado con el kit	29
13.1 Productos de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	29
13.2 Elementos adicionales necesarios.....	29
13.3 Otros artículos opcionales de Revvity chemagen Technologie GmbH	29
13.4 Otros elementos opcionales	29
14. Recogida y manipulación de muestras	30
15. Descripción detallada del protocolo para 200 µL de material de muestra	31
15.1 Procedimiento del protocolo para 200 µL de material de muestra (varias especies)	31
15.2 Pasos del proceso	32
15.3 Breve descripción/ Guía rápida.....	35
16. Descripción detallada del protocolo para 500 µL de material de muestra	38
16.1 Procedimiento del protocolo para 500 µL de material de muestra (varias especies)	38
16.2 Pasos del proceso	39
16.3 Breve descripción/ Guía rápida.....	42
17. Descripción detallada del protocolo para 1000 µL de material de muestra	45
17.1 Procedimiento del protocolo para 1000 µL de material de muestra (varias especies)	45
17.2 Pasos del proceso	46
17.3 Breve descripción/ Guía rápida.....	49
18. Características de rendimiento	53
18.1 Rendimientos de ADN con sangre y saliva	53
18.2 LoD utilizando el instrumento chemagic 360-D para la extracción y el sistema de PCR en tiempo real QuantStudio 5 de Thermo Fisher Scientific.	54
19. Limpieza y mantenimiento	56
20. Aplicaciones posteriores	57
21. Otras preguntas	60
22. Limitaciones del procedimiento.....	60
23. Garantía.....	61

2. EXPLICACIÓN DE LAS PALABRAS DE SEÑALIZACIÓN DE ESTA IFU

Palabra clave	Descripción
¡CUIDADO!	Peligro potencial que puede provocar daños leves o medios.
¡ATENCIÓN!	Una manipulación inadecuada puede dañar el instrumento.
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 electrónicas		Cantidad
	Fabricante		No reutilizar
	Batch code		Traducción
	Catalogue number		Fecha de caducidad

Símbolo	Título del símbolo	Símbolo	Título del símbolo
	No utilizar si el envase está dañado y consultar las instrucciones de uso		Por aquí arriba
	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 chemagic™ Pathogen NA gDNA Kit H96 (IVD-1049) y el chemagic™ Pathogen NA gDNA Kit H96 XL (IVD-1049-1000) son kits para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN y ARN de plasma humano, sangre, saliva e hisopos nasales u orofaríngeos para fines de diagnóstico *in vitro*.

Los productos se utilizan en el instrumento chemagic™ 360-D y están destinados al personal de laboratorio formado para el instrumento chemagic 360-D en combinación con los kits de purificación de ácidos nucleicos chemagic. Los kits están diseñados para su uso con aplicaciones posteriores de DIV que emplean amplificación enzimática y detección de ADN/ 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 chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 y el chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL se basan 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, sangre, 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 360-D con chemagic 96 Rod Head Set o instrumento equivalente.

Para minimizar las irregularidades en los resultados del diagnóstico, los productos deben 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. NOTIFICACIÓN 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

Los kits contienen reactivos suficientes para realizar 960 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").

NOTA: Vuelva a tapar bien las botellas inmediatamente después de su uso para evitar la evaporación.

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 96, suministrado con chemagic 360 96 Rod Head Set) 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 chemagic 360-D (chemagic 360-D User Manual). Este manual se suministrará con el instrumento chemagic 360-D.

Los archivos de protocolo relacionados con el kit están disponibles en la página web o se los proporcionará el servicio de atención al cliente (consulte la sección "ARCHIVOS DE PROTOCOLOS NECESARIOS").

8. INSTRUCCIONES ELECTRÓNICAS DE USO

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

Para descargar estas instrucciones de uso electrónicas, visite:

- chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96:
<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/chemagic-pathogen-na-gdna-kit-h96/>
- chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL:
<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/chemagic-pathogen-na-gdna-kit-h96-xl/>

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*.

Los productos están destinados al personal de laboratorio formado para el instrumento chemagic 360-D en combinación con los kits de purificación de ácidos nucleicos chemagic.

Para utilizar con éxito el kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 y el kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL es imprescindible y necesario conocer a fondo estas instrucciones de uso y el Manual del usuario de chemagic 360-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.

Los reactivos se dispensan automáticamente en filas enteras y, por lo tanto, las puntas desechables de la chemagic Tips 96 Tray deben utilizarse también en filas enteras en cada varilla en contacto con cualquier solución reactiva.

También debe tenerse en cuenta que si se realizan placas parciales, las soluciones pueden no ser suficientes para 960 extracciones.

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 cloruro de guanidinio y es nocivo por ingestión, contacto con la piel o inhalación. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3 y Wash Buffer 4 contienen perclorato sódico y etanol y son líquidos y vapores inflamables y nocivos por ingestión. El Wash Buffer 5 contiene etanol y es un líquido y vapor inflamables. Proteinase K contiene *Tritirachium album* serina proteinasa y causa irritación cutánea 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 sheets, SDS) disponibles en nuestra página web.

Siga las normativas locales para la manipulación de soluciones etanólicas.

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

10. REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD (IVD-1049)

El kit chemagic Pathogen NA gDNA H96 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
 ATENCIÓN	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 (pH 6.7-7.2) lista para su uso que contiene cloruro de guanidinio (30-50 %) y alcohol isotridecílico (1-1.5 %). 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 cloruro de guanidinio y alcohol

istridecílico.**Frases de peligro, precaución y HUE**

H302	Nocivo en caso de ingestión.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave
P280	Llevar guantes/ gafas/ máscara de protección.
P301+P312	EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar.
P330	Enjuagarse la boca.
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.
P332+P313	En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

10.3 BINDING BUFFER 2

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Binding Buffer 2   PELIGRO	1 bidón (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del bidón. 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 vapor altamente 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 (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 (pH 5.0-5.6) lista para usar con perclorato sódico (10-20 %) y etanol (10-30 %). Utilizada para eliminar los contaminantes distintos de ADN/ ARN durante el paso de lavado.

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

Frases de peligro, precaución y HUE

H226	Líquido y vapor 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 (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 (pH 5.0-5.6) lista para usar con perclorato sódico (10-20 %) y etanol (10-30 %). Utilizada para eliminar los últimos restos de contaminantes distintos de ADN/ ARN durante el paso de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 4 contiene etanol y perclorato sódico.

Frases de peligro, precaución y HUE

H226	Líquido y vapor 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  PELIGRO	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 lista para usar que contiene etanol (50-70 %). Se utiliza para eliminar los últimos restos de contaminantes no ADN/ no ARN durante la fase de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 5 contiene etanol.

Frases de peligro, precaución y HUE

H225	Líquido y vapores muy inflamables.
P210	Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de

Frases de peligro, precaución y HUE

	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.

10.7 WASH BUFFER 6

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash 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 acuosa ultrafiltrada lista para utilizar. Utilizada para eliminar posibles restos de etanol.

10.8 ELUTION BUFFER 7

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Elution Buffer 7	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 de Tris-HCl 10 mM (pH 7.8-8.4) lista para su uso.

10.9 PROTEINASE K

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Proteinase K  PELIGRO	 10 viales 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 1.25 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.

10.10 POLY(A) RNA

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Poly(A) RNA	10 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

10.11 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
 Poly(A) RNA Buffer	10 tubos (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.

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.

10.12 OTROS COMPONENTES DEL KIT

El chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 contiene el siguiente material plástico.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
chemagic Tips 96 Tray	10	De +2 a +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	60	De +2 a +25 °C

11. REACTIVOS DEL KIT E INFORMACIÓN DE SEGURIDAD (IVD-1049-1000)

El chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL contiene los siguientes reactivos.

11.1 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.

11.2 LYSIS BUFFER 1

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Lysis Buffer 1  ATENCIÓN	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 (pH 6.7-7.2) lista para su uso que contiene cloruro de guanidinio (30-50 %) y alcohol isotridecílico (1-1.5 %). 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 cloruro de guanidinio y alcohol istridecílico.

Frases de peligro, precaución y HUE

H302	Nocivo en caso de ingestión.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave
P280	Llevar guantes/ gafas/ máscara de protección.
P301+P312	EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar.
P330	Enjuagarse la boca.
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.
P332+P313	En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
P501	Eliminar el contenido/ el recipiente de acuerdo con la normativa local/ regional/ nacional/ internacional.

11.3 BINDING BUFFER 2

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Binding Buffer 2  PELIGRO	1 bidón (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del bidón. 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 perlas magnéticas.

¡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.

11.4 WASH BUFFER 3

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 3  PELIGRO	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	+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 (pH 5.0-5.6) lista para usar con perclorato sódico (10-20 %) y etanol (10-30 %). Utilizada para eliminar los últimos restos de 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

H226	Líquido y vapor 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.

11.5 WASH BUFFER 4

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 4  PELIGRO	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 (pH 5.0-5.6) lista para usar con perclorato sódico (10-20 %) y etanol (10-30 %). Utilizada para eliminar los últimos restos de contaminantes distintos de ADN/ ARN durante el paso de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 4 contiene etanol y perclorato sódico.

Frases de peligro, precaución y HUE

H226	Líquido y vapor 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.

11.6 WASH BUFFER 5

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash Buffer 5  PELIGRO	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 lista para usar que contiene etanol (50-70 %). Utilizada para eliminar los últimos restos de contaminantes distintos de ADN/ ARN durante el paso de lavado.

¡CUIDADO! El Wash Buffer 5 contiene etanol.

Frases de peligro, precaución y HUE

H225	Líquido y vapor altamente 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.

11.7 WASH BUFFER 6

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Wash 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 acuosa ultrafiltrada lista para utilizar. Utilizada para eliminar posibles restos de etanol.

11.8 ELUTION BUFFER 7

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Elution Buffer 7	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).

11.9 PROTEINASE K

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Proteinase K  PELIGRO	 20 viales 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 1.25 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.

11.10 POLY(A) RNA

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Poly(A) RNA	20 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.

11.11 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Cantidad	Caducidad y almacenamiento
Poly(A) RNA Buffer 	20 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 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.

11.12 OTROS COMPONENTES DEL KIT

El chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL contiene el siguiente material plástico.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
chemagic Tips 96 Tray	10	De +2 a +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	70	De +2 a +25 °C

12. ARCHIVOS DE PROTOCOLOS NECESARIOS

Los siguientes archivos de protocolo serán proporcionados por Revvity chemagen Technologie GmbH y están disponibles en la página web o serán proporcionados por el servicio de atención al cliente.

Protocolo	Tipo de protocolo/objetivo
chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che	Archivo de extracción relacionado con el kit (archivo.che) para el instrumento chemagic 360-D (para 200 µL de material de muestra)
chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che	Archivo de extracción relacionado con el kit (archivo.che) para el instrumento chemagic 360-D (para 500 µL de material de muestra)
chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che	Archivo de extracción relacionado con el kit (archivo.che) para el instrumento chemagic 360-D (para material de muestra de 1000 µL)
prime manifolds H96 all 360 V150116.che	Llenado y cebado del tubo del instrumento chemagic 360-D con reactivos
check manifolds H96 all 360 V150116.che	Comprobación del funcionamiento de las bombas
regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che	Limpieza regular del instrumento chemagic 360-D (una vez por semana)
intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che	Limpieza intensiva del instrumento chemagic 360-D (una vez al mes)

13. MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO CON EL KIT

El chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 y el chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL requieren los siguientes elementos.

13.1 PRODUCTOS DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Artículo	N.º de producto
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 96 Rod Head Set	CMG-370

13.2 ELEMENTOS ADICIONALES NECESARIOS

Artículo	Propósito
Pipetas y puntas de pipeta con barreras contra aerosoles	Prellenado de Magnetic Beads, Elution Buffer 7, Proteinase K Poly(A) RNA
Agua de calidad para biología molecular	Reconstitución de la Proteinase K
70% de etanol	Limpieza del instrumento chemagic 360-D

13.3 OTROS ARTÍCULOS OPCIONALES DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Producto	N.º de producto
chemagic Stand 96 (suministrado con chemagic 96 Rod Head Set)	CMG-301

13.4 OTROS ELEMENTOS OPCIONALES

Producto	Propósito
Solución salina isotónica, estéril	Licuada del material del hisopo antes de su uso y llenado del volumen de la muestra

14. RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

El chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 y el chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL se pueden utilizar con plasma humano fresco y congelado y sangre, estabilizada con EDTA o citrato de sistemas comunes de recogida de sangre, saliva estabilizada (tubos de recogida Oragene™ y Spectrum™) y medios de transporte de hisopos (por ejemplo, eNAT™ Copan Diagonstics Inc.) como alícuotas directas de 200, 500 o 1000 µL por aislamiento.

Debe utilizarse sangre humana entera (hasta 800 µL u 800 µL cubiertos con 200 µL de solución salina isotónica) fresca, congelada o almacenada normalmente durante un máximo de 10 días a +2 a +8 °C. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda la congelación a -20 °C o -80 °C en alícuotas. Los estabilizadores de la sangre recomendados son EDTA o citrato. El uso de muestras de sangre estabilizadas con heparina puede causar inhibición en aplicaciones posteriores, por lo que no se recomienda. El recuento de glóbulos blancos en la muestra de sangre total disminuye durante el almacenamiento. El almacenamiento prolongado de las muestras puede provocar un rendimiento deficiente del ADN tras la extracción.

Tras la recogida y centrifugación, el plasma puede almacenarse a 2-8 °C durante un máximo de 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda la congelación a -20 °C o -80 °C en alícuotas. Las muestras de plasma congeladas no deben descongelarse más de una vez. La congelación-descongelación repetida conduce a la desnaturalización y precipitación de proteínas, lo que resulta en rendimientos reducidos de ácidos nucleicos.

El material de muestra de los hisopos secos debe transferirse a una solución salina isotónica. Por lo tanto, añadir 250 µL de solución salina isotónica e incubar durante 5 min a 15-25 °C antes de usar. Deben utilizarse 200 µL de la muestra de solución salina isotónica incubada por aislamiento.

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, la muestra para el análisis de patógenos debe inactivarse antes de su uso. Recomendamos incubar las muestras a 68 °C durante 15 minutos (± 2 minutos) para la inactivación. La inactivación de patógenos no fue validada en el IVD-1049/-1000. Transfiera el lisado inactivado a la placa de pocillos profundos de muestra en el paso 10 del protocolo de extracción y continúe con el paso 11.

15. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROTOCOLO PARA 200 µL DE MATERIAL DE MUESTRA

15.1 PROCEDIMIENTO DEL PROTOCOLO PARA 200 µL DE MATERIAL DE MUESTRA (VARIAS ESPECIES)

El siguiente procedimiento describe la preparación y la ejecución del protocolo de extracción con el instrumento chemagic 360-D que se utilizará con el kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96.

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 60 minutos.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el "PASOS DEL PROCESO" a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic 360-D, consulte el Manual del usuario de chemagic 360-D

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

Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic 360-D como se indica a continuación:

Bomba	Tampón
Bomba 1	Lysis Buffer 1
Bomba 2	Binding Buffer 2
Bomba 3	Wash Buffer 3
Bomba 4	Wash Buffer 4
Bomba 5	Wash Buffer 5
Bomba 6	Wash Buffer 6

NOTA: Vuelva a tapar herméticamente las botellas después del uso o manténgalos conectadas herméticamente al instrumento chemagic 360-D. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3, Wash Buffer 4 y Wash Buffer 5 contienen etanol. Si el etanol se evapora, no se puede garantizar el rendimiento óptimo ni la sensibilidad de detección.

15.2 PASOS DEL PROCESO

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con material en la posición (muestras, Magnetic Beads y tampones).
3. Reconstituir los componentes Proteinase K y Poly(A) RNA:

Componente	Reconstitución
Proteinase K	Añadir 1.25 mL de agua de grado de biología molecular al vial de Proteinase K y mezclar suavemente hasta que 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.

4. Llene y cebe los tubos chemagic 360-D con reactivos eligiendo el protocolo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el cebado. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start].

NOTA: El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos mencionados anteriormente.

5. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
6. Seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**" y pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones del software chemagic QA.

7. Asegúrese de que la chemagic Tips 96 Tray contiene suficientes puntas y está alineada con las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray en la posición 1 del tracking system.
8. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

NOTA: Compruebe que todas las botellas de suministro de buffer contengan suficiente tampón. Sólo se pueden llevar a cabo 96 aislamientos si el nivel de líquido de todos los buffers es superior a 125 mL.

9. Seleccione el número de muestras para el prellenado mediante el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
10. Prellene los pocillos seleccionados de la placa de muestras con 200 µL de muestra. Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en los pocillos de la placa de muestras.

NOTA: Es necesario licuar el material de muestra de hisopos secos para poder utilizarlo.

11. Prellene previamente el Elution Buffer 7 y las Magnetic Beads completamente resuspendidas pipeteando manualmente según cada pocillo correspondiente en uso.

Componente	Posición de la placa en instrumento chemagic 360-D	Volumen/ pozo
Magnetic Beads	3	30 µL
Elution Buffer 7	7	50-100 µL

NOTA: Mezcle enérgicamente 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.

12. Añada los siguientes reactivos a los pocillos que contienen la muestra:
 - 4 µL de Poly(A) RNA y
 - 10 µL Proteinase K.
13. Coloque las chemagic Deep Well Plates 2 mL en el tracking system siguiendo las instrucciones del software chemagic QA.
14. Coloque la placa de la muestra en la posición 2 del tracking system.

15. Compruebe que todas las placas están bien orientadas y encajan.
16. Cierre la puerta delantera e inicie el proceso pulsando [Start].
17. Se inicia el proceso automatizado de extracción de ADN/ ARN.
18. Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada clic en [Turn Table] desplaza el tracking system (mesa) una posición en el sentido de las agujas del reloj.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

Para más información sobre la limpieza del aparato, véase el apartado "LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO".

15.3 BREVE DESCRIPCIÓN/ GUÍA RÁPIDA

Extracción automatizada de ADN/ ARN en el instrumento chemagic 360-D (protocolo de 200 µL):

- Seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" para aclarar los tubos antes de iniciar la extracción automatizada.
- Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el aclarado.
- Si utiliza las funciones que habitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**" y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software chemagic QA para cumplimentar los datos necesarios.
- Cargue las placas y la chemagic Tips 96 Tray en las posiciones del tracking system 1-7 como se indica a continuación.

(Los números del tracking system se refieren a la posición de la placa en el instrumento chemagic 360-D).

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapas del protocolo en detalle
1	chemagic Tips 96 Tray	<p>Utilice las puntas desechables según las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray del tracking system.</p> <p>Nota: Las puntas deben estar presentes en la bandeja en filas completas.</p>
2	Placa de muestras (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Colocar la placa con las muestras preparadas (200 µL de muestra, 4 µL de Poly(A) RNA y 10 µL de Proteinasa K) en el tracking system.</p> <p>El Lysis Buffer 1 y el Binding Buffer 2 se dispensan en la placa automáticamente.</p>
3	chemagic Deep Well Plate 2 mL con Magnetic Beads de 30 µL	<p>Pipetee 30 µL de Magnetic Beads completamente resuspendidas en cada pocillo en uso según la placa de muestras y coloque la placa.</p> <p>El Wash Buffer 3 se dispensa automáticamente en la placa.</p>
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Coloca el plato vacío en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 4 se dispensa en la placa automáticamente.</p>
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Coloca el plato vacío en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 5 se dispensa automáticamente en la placa.</p>
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Coloca el plato vacío en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 6 se dispensa en la placa automáticamente.</p>

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapa del protocolo en detalle
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 50-100 µL de Elution Buffer 7	Pipetear (50-100 µL) de Elution Buffer 7 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y colocar la placa en el tracking system.

- Compruebe que todas las placas están orientadas y ajustadas.
- Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].
- Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automatizado de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezclará automáticamente.
- Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.
- Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**", marque las columnas en uso en el mapa de la placa del cuadro de diálogo e inicie la ejecución de extracción directa pulsando [Start].
- Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

16. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROTOCOLO PARA 500 µL DE MATERIAL DE MUESTRA

16.1 PROCEDIMIENTO DEL PROTOCOLO PARA 500 µL DE MATERIAL DE MUESTRA (VARIAS ESPECIES)

El siguiente procedimiento describe la preparación y la ejecución del protocolo de extracción utilizando el instrumento chemagic 360-D con el kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL.

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 60 minutos.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el "PASOS DEL PROCESO" a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic 360-D, consulte el Manual del usuario de chemagic 360-D.

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

Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic 360-D como se indica a continuación:

Bomba	Tampón
Bomba 1	Lysis Buffer 1
Bomba 2	Binding Buffer 2
Bomba 3	Wash Buffer 3
Bomba 4	Wash Buffer 4
Bomba 5	Wash Buffer 5
Bomba 6	Wash Buffer 6

NOTA: Vuelva a tapar herméticamente las botellas después del uso o manténgalos conectadas herméticamente al instrumento chemagic 360-D. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3, Wash Buffer 4 y Wash Buffer 5 contienen etanol. Si el etanol se evapora, no se puede garantizar el rendimiento óptimo ni la sensibilidad de detección.

16.2 PASOS DEL PROCESO

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con el material en posición (muestras, Magnetic Beads y tampones).
3. Reconstituya los componentes Proteinasa K y Poly(A) RNA:

Componente	Reconstitución
Proteinase K	Añada 1.25 mL de agua de grado de biología molecular al vial de Proteinase K y mezclar 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.

4. Llene y cebe los tubos chemagic 360-D con reactivos eligiendo el protocolo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el cebado. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start].

NOTA: El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos mencionados anteriormente.

5. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
6. Seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" y pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones del software chemagic QA.

7. Asegúrese de que la chemagic Tips 96 Tray contiene suficientes puntas y está alineada con las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray en la posición 1 del tracking system.
8. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

NOTA: Compruebe que todas las botellas de suministro de buffer contengan suficiente tampón. Sólo se pueden llevar a cabo 96 aislamientos si el nivel de líquido de todos los buffers es superior a 125 mL.

9. Seleccione el número de muestras para el prellenado utilizando el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
10. Prellene los pocillos seleccionados de la placa de muestras con 500 µL de muestra. Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en los pocillos de la placa de muestras.

NOTA: Es necesario licuar el material de muestra de hisopos secos para poder utilizarlo.

9. Llenar previamente el Elution Buffer 7 y las Magnetic Beads completamente resuspendidas pipeteando manualmente según cada pocillo correspondiente en uso.

Componente	Posición de la placa en instrumento chemagic 360-D	Volumen/ pozo
Magnetic Beads	3	50 µL
Elution Buffer 7	7	100-300 µL

NOTA: Mezcle enérgicamente 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.

10. Añada los siguientes reactivos a los pocillos que contienen la muestra.
 - 4 µL de Poly(A) RNA y
 - 10 µL Proteinase K.
11. Coloque las chemagic Deep Well Plates 2 mL en el tracking system conforme a las instrucciones del software chemagic QA.
12. Coloque la placa de la muestra en la posición 2 del tracking system.

13. Compruebe que todas las placas están bien orientadas y ajustadas.
14. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start].
15. Así se inicia el proceso automatizado de extracción de ADN/ ARN.
16. Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

Para más información sobre la limpieza del aparato, véase el apartado "LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO".

16.3 BREVE DESCRIPCIÓN/ GUÍA RÁPIDA

Extracción automatizada de ADN/ ARN en el instrumento chemagic 360-D (protocolo de 500 µL):

- Seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" para aclarar los tubos antes de iniciar la extracción automatizada.
- Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el aclarado.
- Si utiliza las funciones que habitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software chemagic QA para cumplimentar los datos necesarios.
- Cargue las placas y la chemagic Tips 96 Tray en las posiciones del tracking system 1-7 como se indica a continuación.

(Los números del tracking system hacen referencia a la posición de la placa en el instrumento chemagic 360-D).

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapas del protocolo en detalle
1	chemagic Tips 96 Tray	<p>Utilice las puntas desechables según las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray del tracking system.</p> <p>Nota: Las puntas deben estar presentes en la bandeja en filas completas.</p>
2	Placa de muestras (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Colocar la placa con las muestras preparadas (500 µL de muestra, 4 µL de Poly(A) RNA y 10 µL de Proteinase K) en el tracking system.</p> <p>El Lysis Buffer 1 y el Binding Buffer 2 se dispensan en la placa automáticamente.</p>
3	chemagic Deep Well Plate 2 mL con Magnetic Beads de 50 µL	<p>Pipetee 50 µL de Magnetic Beads completamente resuspendidas en cada pocillo en uso según la placa de muestras y coloque la placa en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 3 se dispensa automáticamente en la placa.</p>
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Coloque el plato vacío en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 4 se dispensa en la placa automáticamente.</p>
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Coloque el plato vacío en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 5 se dispensa automáticamente en la placa.</p>

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapas del protocolo en detalle
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Coloque el plato vacío en el tracking system. El Wash Buffer 6 se dispensa en la placa automáticamente.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 100-300 µL de Elution Buffer 7	Pipetear (100-300 µL) de Elution Buffer 7 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y colocar la placa en el tracking system.

- Compruebe que todas las placas están orientadas y ajustadas.
- Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].
- Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automatizado de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezclará automáticamente.
- Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.
- Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**", marque las columnas en uso en el mapa de la placa del cuadro de diálogo e inicie la ejecución de extracción direct pulsando [Start].
- Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

17. DESCRIPCIÓN DETALLADA DEL PROTOCOLO PARA 1000 µL DE MATERIAL DE MUESTRA

17.1 PROCEDIMIENTO DEL PROTOCOLO PARA 1000 µL DE MATERIAL DE MUESTRA (VARIAS ESPECIES)

El siguiente procedimiento describe la preparación y la ejecución del protocolo de extracción utilizando el instrumento chemagic 360-D con el kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL.

La duración del protocolo de extracción automatizado es de aproximadamente 85 minutos.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el "PASOS DEL PROCESO" a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic 360-D, consulte el Manual del usuario de chemagic 360-D.

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

Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic 360-D como se indica a continuación:

Bomba	Tampón
Bomba 1	Lysis Buffer 1
Bomba 2	Binding Buffer 2
Bomba 3	Wash Buffer 3
Bomba 4	Wash Buffer 4
Bomba 5	Wash Buffer 5
Bomba 6	Wash Buffer 6

NOTA: Vuelva a tapar herméticamente las botellas después del uso o manténgalos conectadas herméticamente al instrumento chemagic 360-D. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3, Wash Buffer 4 y Wash Buffer 5 contienen etanol. Si el etanol se evapora, no se puede garantizar el rendimiento óptimo ni la sensibilidad de detección.

17.2 PASOS DEL PROCESO

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con el material en posición (muestras, Magnetic Beads y tampones).
3. Reconstituya los componentes Proteinase K y Poly(A) RNA:

Componente	Reconstitución
Proteinase K	Añada 1.25 mL de agua de grado de biología molecular al vial de Proteinase K y mezclar 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.

4. Llene y cebe los tubos chemagic 360-D con reactivos eligiendo el protocolo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el cebado. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start].

NOTA: El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos mencionados anteriormente.

5. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
6. Seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**" y pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones del software chemagic QA.

7. Asegúrese de que la chemagic Tips 96 Tray contiene suficientes puntas y está alineada con las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray en la posición 1 del tracking system.
8. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

NOTA: Compruebe que todas las botellas de suministro de buffer contengan suficiente tampón. Sólo se pueden llevar a cabo 96 aislamientos si el nivel de líquido de todos los buffers es superior a 125 mL.

9. Seleccione el número de muestras para el prellenado mediante el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
10. Llene previamente los pocillos seleccionados de la placa de muestras en las posiciones 2 y 3 con 500 µL de muestra cada uno (cuando utilice sangre, sólo 400 µL cada uno). Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en los pocillos de la placa de muestras.

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

11. Llenar previamente el Elution Buffer 7 y las Magnetic Beads completamente resuspendidas pipeteando manualmente según cada pocillo correspondiente en uso.

Componente	Posición de la placa en instrumento chemagic 360-D	Volumen/ pozo
Magnetic Beads	4	30 µL
Magnetic Beads	5	30 µL
Elution Buffer 7	8	100-300 µL

NOTA: Mezcle enérgicamente 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.

12. Añada los siguientes reactivos a los pocillos que contienen la muestra.
 - 4 µL de Poly(A) RNA y
 - 10 µL Proteinase K.

13. Coloque las placas chemagic Deep Well Plates 2 mL en el tracking system conforme a las instrucciones del software chemagic QA.
14. Coloque las placas de muestras en las posiciones 2 y 3 del tracking system.
15. Compruebe que todas las placas están bien orientadas y ajustadas.
16. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start].
17. Así se inicia el proceso automatizado de extracción de ADN/ ARN.
18. Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

Para más información sobre la limpieza del aparato, véase el apartado "LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO".

17.3 BREVE DESCRIPCIÓN/ GUÍA RÁPIDA

Extracción automatizada de ADN/ ARN en el instrumento chemagic 360-D (protocolo de 1000 µL):

- Seleccione el protocolo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" para aclarar los tubos antes de iniciar la extracción automatizada.
- Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software chemagic QA y pulse [OK] para iniciar el aclarado.
- Si utiliza las funciones que habitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**" y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software chemagic QA para cumplimentar los datos necesarios.
- Cargue las placas y la chemagic Tips 96 Tray en las posiciones del tracking system 1-8 como se indica a continuación.

(Los números del tracking system hacen referencia la posición de la placa en el instrumento chemagic 360-D).

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapas del protocolo en detalle
1	chemagic Tips 96 Tray	<p>Utilice las puntas desechables según las posiciones de las muestras y coloque la chemagic Tips 96 Tray del tracking system.</p> <p>Nota: Las puntas deben estar presentes en la bandeja en filas completas.</p>
2	Placa de muestras (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Colocar la placa con las muestras preparadas (400 µL de sangre o 500 µL de otro material de muestra, 4 µL de Poly(A) RNA y 10 µL de Proteinase K) en el tracking system.</p> <p>El Lysis Buffer 1 y el Binding Buffer 2 se dispensan en la placa automáticamente.</p>
3	Placa de muestras (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Colocar la placa con las muestras preparadas (400 µL de sangre o 500 µL de otro material de muestra, 4 µL de Poly(A) RNA y 10 µL de Proteinase K) en el tracking system.</p> <p>El Lysis Buffer 1 y el Binding Buffer 2 se dispensan en la placa automáticamente.</p>
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL con Magnetic Beads de 30 µL	<p>Pipetear 30 µL de Magnetic Beads completamente resuspendidas en cada pocillo en uso según la placa de muestras y colocar la placa en el tracking system.</p> <p>El Wash Buffer 3 se dispensa automáticamente en la placa.</p>

Posición en el tracking system	Material en posición	Etapas del protocolo en detalle
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL con perlas magnéticas de 30 μ L	Pipetear 30 μ L de Magnetic Beads completamente resuspendidas en cada pocillo en uso según la placa de muestras y colocar la placa en el tracking system. El Wash Buffer 4 se dispensa automáticamente en la placa.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Coloca el plato vacío en el tracking system. El Wash Buffer 5 se dispensa automáticamente en la placa.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Coloca el plato vacío en el tracking system. El Wash Buffer 6 se dispensa en la placa automáticamente.
8	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 100-300 μ L de Elution Buffer 7	Pipetear (100-300 μ L) de Elution Buffer 7 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y colocar la placa en el tracking system.

- Compruebe que todas las placas están orientadas y ajustadas.
- Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].
- Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automatizado de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezclará automáticamente.
- Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.
- Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo "**chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**", marque las columnas en uso en el mapa de la placa del cuadro de diálogo e inicie la ejecución de extracción direct pulsando [Start].

- Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

¡ATENCIÓN! No desplace nunca el tracking system (mesa) manualmente. Podría causar daños en el instrumento. Todos los movimientos deben realizarse con la función [Turn Table].

NOTA: Si se abre la puerta del instrumento chemagic 360-D mientras se está llevando a cabo el proceso de extracción automatizada, éste se interrumpirá y las muestras en proceso pueden perderse.

18. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

18.1 RENDIMIENTOS DE ADN CON SANGRE Y SALIVA

El rendimiento esperado de ADN para la extracción de sangre humana depende del número de glóbulos blancos. El número de leucocitos extraídos viene determinado por el volumen de entrada y el recuento de leucocitos (WBC). En la mayoría de las muestras no se conocerá el recuento de glóbulos blancos, pero en individuos sanos se encuentra en el intervalo de 4 - 10 mio. de glóbulos blancos por mL de sangre.

IVD-1049 utilizando el protocolo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**" extrae una media de 5.34 pg de ADN por glóbulo blanco. IVD-1049-1000 utilizando el protocolo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" extrae una media de 6.69 pg de ADN por glóbulo blanco y utilizando el protocolo "**chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**" extrae una media de 4.32 pg de ADN por glóbulo blanco.

Tabla 1: Rendimiento y pureza del ADN de las muestras de sangre y saliva.

Material de la muestra / Condiciones de almacenamiento	Volumen [mL]	WBC [millones de células/ mL de sangre].	Rendimiento medio [µg]	CV [%]	Pureza media [260/280]
Sangre 1 / 4°C	0.2	7.2	7.7	13.9	2.1
Saliva	0.2	-	4.6	14.5	2.2
Sangre 1 / 4°C	0.5	7.2	24.1	5.6	2.0
Saliva	0.5	-	11.3	5.9	1.8
Sangre 2 / 4°C	0.8	7.5	32.4	11.3	1.9

18.2 LOD UTILIZANDO EL INSTRUMENTO CHEMAGIC 360-D PARA LA EXTRACCIÓN Y EL SISTEMA DE PCR EN TIEMPO REAL QUANTSTUDIO 5 DE THERMO FISHER SCIENTIFIC.

Al utilizar este kit de extracción con la qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN una empresa de Revvity) se obtuvieron los siguientes datos de LoD. En total, se realizaron cuatro series de extracción con dos lotes del kit con el protocolo de extracción "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 VD220531.che**". Ocho concentraciones de material de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2 (AccuPlex SARS-CoV-2 Verification Panel - Full Genome | SeraCare) se introdujeron en el medio eNAT (Copan Italia S.p.A.): 0, 23.45, 46.90, 93.75, 187.5, 375, 750 y 1500 copias por 1 mL de medio eNAT. Se prepararon seis réplicas por lote de kit y por placa. Todos los eluidos por número de copias se analizaron con el EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR (EUROIMMUN a Revvity company, <https://www.fda.gov/media/138761/download>) determinando el valor Ct.

La tasa de aciertos para cada concentración de material de referencia AccuPlex SARS-CoV-2 se calculó dividiendo el número de réplicas positivas por el número total de réplicas. Las tasas de acierto (eje y) y las concentraciones correspondientes (eje x, log₁₀ concentración) se trazaron para determinar el ajuste probit. El número de copias correspondiente a una tasa de aciertos de 0.95 se determinó para cada lote del kit por separado y se comunicó como límite de detección. Se utilizaron las cuatro series para determinar el límite de detección de cada lote de kits. Para el lote de kit 1 se calculó un límite de detección de 0.743 cp/mL (intervalo de confianza del 95 %: 0.44 cp/mL a 1.23 cp/mL). El lote de kit 2 reveló un límite de detección de 0.699 cp/mL (intervalo de confianza del 95 %: 0.43 cp/mL a 1.13 cp/mL (Tabla 2).

Tabla 2: Número de muestras EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR positivas para los diferentes spiked en número de copias en eNAT por lote de kit.

	Concentration [cp/mL]	Lot 1		Lot 2	
		Number of replicates	Number of positive replicates	Number of replicates	Number of positive replicates
Experiment 1	1500	6	6	6	6
	750	6	5	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	5	6	6
	93.75	6	4	6	4
	46.90	6	2	6	2
	23.45	6	1	6	4
	0	6	0	6	0
Experiment 2	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	4
	187.50	6	3	6	4
	93.75	6	4	6	4
	46.90	6	2	6	2
	23.45	6	2	6	0
	0	6	0	6	0
Experiment 3	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	6	6	5
	93.75	6	3	6	1
	46.90	6	2	6	1
	23.45	6	2	6	1
	0	6	0	6	0
Experiment 4	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	4	6	3
	93.75	6	3	6	3
	46.90	6	2	6	1
	23.45	6	2	6	2
	0	6	0	6	0
Overall	1500	24	24	24	24
	750	24	23	24	24
	375	24	24	24	22
	187.50	24	18	24	18
	93.75	24	14	24	12
	46.90	24	8	24	6
	23.45	24	7	24	7
	0	24	0	24	0
LoD		0.743 (0.436 - 1.230)		0.699 (0.431 - 1.134)	

19. LIMPIEZA Y MANTENIMIENTO

La limpieza y el mantenimiento del sistema se describen con detalle en el Manual de usuario de chemagic 360-D. La limpieza del sistema se realiza una vez por semana. Limpie el chemagic Dispenser de la siguiente manera:

- Seleccione el protocolo "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" y pulse [Insert IDs] o [Start] si las funciones avanzadas están desactivadas. Siga las instrucciones que se indican el software.
- Antes de volver a utilizar chemagic Dispenser, ejecute el protocolo de cebado correspondiente.
- Se recomienda limpiar el chemagic Dispenser con etanol al 70 % una vez al mes. Para ello, utilice el protocolo "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**" en lugar del habitual.
- Si no va a utilizar el chemagic Dispenser durante un periodo de tiempo prolongado, es obligatorio llevar a cabo el "procedimiento de limpieza regular" ("**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**") para asegurar el rendimiento del instrumento cuando se vuelva a ponerse a utilizar.

20. APLICACIONES POSTERIORES

Tras el aislamiento de ADN/ ARN patógeno y ADN genómico con la versión CMG-1049, se realizaron con éxito las siguientes aplicaciones posteriores descritas en la bibliografía.

Tabla 3: Aplicaciones descendentes revisadas por expertos y publicadas.

Material de muestra	Aplicaciones posteriores	Título	Referencia
Hisopos nasofaríngeos	Secuenciación del genoma completo	T cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron	Nature (2022-01) https://www.nature.com/articles/s41586-022-04460-3
Muestra de hisopo residual	Secuenciación del genoma completo	Omicron infection enhances Delta antibody immunity in vaccinated persons	Nature (2022-01) https://www.nature.com/articles/s41586-022-04830-x
Hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos	Secuenciación	Emergence and phenotypic characterization of the global SARS-CoV-2 C.1.2 lineage	Nature Communications (2022-04) https://www.nature.com/articles/s41467-022-29579-9
Tejido	Prueba de genotipado del VPH Linear Array	Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) Types in Invasive Vulvar Cancers and VIN3 in the United States Before Vaccine Introduction	Journal of lower genital tract disease (2012-10) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652576/
Hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos	Secuenciación del genoma completo	Early transmission of SARS-CoV-2 in South Africa: An epidemiological and phylogenetic report	International Journal of Infectious Diseases (2020-11) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33189939/
Tejido FFPE	Prueba de genotipado del VPH Linear Array	Prevalence of human papillomavirus types in invasive cervical cancers from seven US cancer registries prior to vaccine introduction	Journal of lower genital tract disease (2014-04) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24477171/

Material de muestra	Aplicaciones posteriores	Título	Referencia
Hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos	qPCR/ secuenciación	Genomic sequence of worldwide strains of SARS-CoV-2: Insights the role of variants in disease epidemiology	International Journal of Advanced Research and Development (2021-01) https://www.researchgate.net/publication/354997878 <u>Genomic sequence of worldwide strains of SARS-CoV-2 Insights the role of variants in disease epidemiology</u>
Hisopos nasofaríngeos y orofaríngeos	qPCR/ Secuenciación Illumina	Whole Genome Sequencing of SARS-CoV-2: Adapting Illumina Protocols for Quick and Accurate Outbreak Investigation during a Pandemic	Genes (2020-08) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7464704/
Muestras de tejido de diagnóstico FFPE de cérvix/vulva y orofaríngeo	Matrices	An Isothermal, Multiplex Amplification Assay for Detection and Genotyping of Human Papillomaviruses in Formalin-Fixed,Paraffin-Embedded Tissues	The Journal of Molecular Diagnostics (2020-03) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31978559/
Sangre total, líquido sinovial (contiene bacterias)	qPCR, pruebas multiplex de detección de garrapatas	Evaluation of a Novel High-Definition PCR Multiplex Assay for Simultaneous Detection of Tick-Borne Pathogens in Human Clinical Specimens	Journal of Clinical Microbiology (2020-02) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31852765/

Material de muestra	Aplicaciones posteriores	Título	Referencia
FFPE	Genotipado del VPH	Impact of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV 16/18-related prevalence in precancerous cervical lesions	Vaccines (2012-11) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23137842/
Células cervicales exfoliadas	Genotipado del VPH	Type-specific HPV and Pap test results among low-income, underserved women: providing insights into management strategies	American Journal of Obstetrics and Gynecology (2014-10) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24813971/

21. 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.

22. LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El kit IVD-1049/ IVD-1049-1000 está validado para la extracción de ADN y ARN de plasma humano, sangre, saliva e hisopos nasales u orofaríngeos. Otros materiales de muestra pueden ser compatibles, pero no han sido validados. Para dichos materiales, el usuario deberá realizar una validación.

El uso de muestras de sangre estabilizadas con heparina puede causar inhibición en aplicaciones posteriores, por lo que no se recomienda.



23. 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