


ES	REF 1N006	Mezcla liofilizada para la amplificación del ADN basada en técnicas de PCR		IVD
	STAT-NAT® DNA Mix			CE
		REAGENT: 12 x 8 DNA Mix Tubes		
		BUFFER : 2 x 0.75 mL Reconstitution Buffer		
NOTA: El folleto de este paquete se debe leer atentamente antes de usar el producto. Se deben seguir las instrucciones del folleto. La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones del folleto de este paquete.				

USO INDICADO

El STAT-NAT® DNA Mix es una mezcla maestra para la amplificación de ácidos nucleicos de muestras de ADN extraídas de especímenes humanos¹. El kit puede ser usado para un ensayo basado en técnicas PCR y es compatible con sistemas manuales y automáticos. El kit STAT-NAT® DNA Mix está destinado a ser utilizado en combinación con primers y sondas para procedimientos de diagnóstico in vitro. Sólo para uso profesional de laboratorio.

PRINCIPIO

El kit STAT-NAT® DNA Mix es una mezcla enzimática versátil para la amplificación por PCR (PCR de punto final o PCR en tiempo real) basado en reactivos de amplificación liofilizados propiedad de SENTINEL CH. S.p.A. que garantizan la sensibilidad y la especificidad de la reacción sin pasos manuales intermedios para establecer las mezclas de reacción. La tecnología PCR utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias diana específicas de ADN junto con primers específicos del objetivo en una configuración de reacción.

La PCR en tiempo real permite la detección simultánea de los productos amplificados mediante sondas específicas etiquetadas o tintes fluorescentes.

El kit consta de 12 tiras de 8 DNA mix tubes, cada uno de los cuales contiene una mezcla de reacción de ADN liofilizada optimizada (hasta 96 reacciones en total cada uno).

La STAT-NAT® DNA Mix está destinada a ser utilizada con primer y sondas preoptimizados.

REACTIVOS

El kit STAT-NAT® DNA-Mix consiste en:

REAGENT: 12 x 8 DNA Mix Tubes

El kit incluye 12 bolsas de aluminio etiquetadas 8 x DNA Mix Tubes que contienen una tira de 8 tubos (0.2mL tubo PCR) con PCR Master Mix liofilizada y un pequeño saquito de desecante naranja.

Cada DNA Mix Tube contiene:

- dNTPs (dATP, dCTP, dGTP y dTTP); para una concentración final de 0.6 mM cada una
- Polimerasa Hot Start Taq;
- Tampón de reacción.

REAGENT correctamente almacenados a una temperatura de 15 a 30°C, estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase; utilice únicamente envases no dañados.

BUFFER: 2 x 0.75 ml Reconstitution Buffer

El kit incluye 2 tubos de STAT-NAT® Reconstitution Buffer (0.75 mL) en forma líquida, etiquetados como *Reconstitution Buffer*.

Cada tubo de Buffer contiene MgCl₂ (para una concentración final de 5mM)

El STAT-NAT® Reconstitution Buffer incluye los estabilizadores y cofactores específicos para la enzima incluida en la DNA Mix liofilizada.

Los tampones deben almacenarse a +15/+30 °C. Use solo paquetes no dañados.

Después de la apertura, vuelva a cerrar STAT-NAT® Reconstitution Buffer y almacénelo a +15/ +30 °C.

Estabilidad del tubo en uso: estable hasta la fecha de caducidad indicada en el envase si se almacena a +15/+30 °C

EQUIPO DE INSTRUMENTOS Y MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Oligo: mezclas caseras de primers y sondas o kits Oligo disponibles en el mercado,

Equipo general de laboratorio molecular: cabina de bioseguridad (campana de flujo laminar) para la manipulación de muestras, centrifuga/microcentrifuga, agitador vórtex, pipetas de volumen variable, plásticos desechables estériles.

Kit de extracción: La extracción de ácido nucleico debe realizarse con los kits de extracción validados CE-IVD disponibles en el mercado, de acuerdo con los protocolos para la extracción de muestras clínicas. La calidad de los ácidos nucleicos extraídos tiene un profundo impacto en el rendimiento del producto.

Ciclador Térmico PCR: Ciclador térmico disponible en el mercado (PCR en tiempo real, PCR de punto final).

Equipo de protección personal (EPP): como guantes, batas de laboratorio, gafas de seguridad, mascarillas.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

El kit STAT-NAT® DNA Mix – REF. 1N006 está destinado a ser utilizado en combinación con primers y sondas para procedimientos de diagnóstico in vitro;

- Use el STAT-NAT® Reconstitution Buffer para reconstituir la DNA Mix liofilizada;
- Lea todas las instrucciones incluidas en el folleto del kit antes de realizar la prueba;
- Cumpla con la fecha de caducidad del kit;
- No mezcle reactivos para la amplificación o consumibles de otros kits comerciales;
- No mezcle reactivos o consumibles de kits con diferentes números de lote;
- No utilice reactivos si el embalaje está dañado a su llegada;
- No reutilice la tira;
- Las MSDS están disponibles en www.sentinel diagnostics.com o en su proveedor local;
- Mantenga la tira, con los tubos de Master Mix liofilizada, protegida de la luz y la humedad;
- Evite la contaminación microbiana, de ribonucleasa (RNasa) y de desoxirribonucleasa (DNasa) de todos los reactivos y consumibles;
- En los casos en que el laboratorio también realice pruebas de PCR de tubo abierto, se debe tener cuidado de asegurar que no se contaminen los consumibles y reactivos necesarios para las pruebas, el equipo de protección personal como guantes y batas de laboratorio y el instrumento;
- Lávese bien las manos después de realizar la prueba;
- No se debe pipetear por la boca. No fume, beba ni coma en las zonas donde se manipulan las muestras o los reactivos.
- Siempre use DPI para la protección individual;
- El producto debe ser manejado por personal con la formación necesaria en técnicas de biología molecular, tal como extracción de ácidos nucleicos, amplificación, detección y en automatización;

- Almacene el material positivo y/o potencialmente positivo separado de los componentes del kit, para evitar contaminaciones.
 - ATENCIÓN Este producto implica la manipulación de material humano. Se recomienda considerar todos los materiales de origen humano potencialmente infecciosos y manipularlos según la norma OSHA Standard on Bloodborne Pathogens², Biosafety Level 2³ u otras prácticas de bioseguridad adecuadas^{4,5} para los materiales que contienen o se sospecha que contienen agentes infecciosos.

INSTRUCCIONES DE USO

1. Asegúrese de que, antes del uso, las bolsas estén siempre bien selladas y de que los saquitos de desecante estén dentro de las bolsas. Use sólo paquetes no dañados;
 2. Corte las bolsas de aluminio en el punto indicado por las muescas laterales;
 3. Saque las tiras de las bolsas inmediatamente antes de su uso;
 4. Examine la Master Mix liofilizada antes de usar para verificar que el contenido tiene un aspecto sólido y blanco. Por favor, descarte el producto que aparezca con signos de contaminación por humedad (es decir, cambio de color, producto colapsado, etc.);
 5. Asegurarse de que la Master Mix liofilizada esté en el fondo de los tubos de ensayo antes de abrir los tapones de las tiras;
 6. Elimine las bolsas de aluminio y su contenido si los saquitos de desecante pasan de naranja a verde;
- Se recomienda utilizar toda la tira de 8 tubos en una sola sesión.**

PROCEDIMIENTO

Ajustes de los parámetros cíclicos de la PCR:

1. Antes de comenzar la reacción, encienda el ciclador térmico y abra el programa específico correspondiente;
2. Ajuste el perfil térmico optimizado para los oligonucleótidos (primer/sondas) utilizados; para obtener información básica sobre el ajuste y la programación de los diferentes instrumentos PCR, consulte el manual de usuario del instrumento específico;
3. Para el método PCR en tiempo real, ajuste los detectores eligiendo el tinte adecuado; este kit no contiene tinte de referencia pasivo;
4. Los parámetros sugeridos para el uso de STAT-NAT® DNA Mix con un ciclador térmico y equipo resumidos en la Tabla A son un ejemplo; la idoneidad de los ajustes de ejecución debe ser validada por el usuario para cada aplicación.

Tabla A:

Paso	Número de ciclo	Temperatura	Tiempo
1	1	95° C	2 min
2	30-45	95 °C	5 o 15 seg.
		T _m – 5°C	15 o 30 seg.
		72 °C	10 seg.

Configuración de la reacción:

1. Extraiga el ADN de las muestras para que sea examinado (sistema de extracción no incluido en el kit);
2. Añada a cada muestra el control interno exógeno (eIC), si es necesario (no se suministra);
3. Prepare los controles (control positivo, PC; control negativo, NC; control sin plantilla, NTC) (no suministrados); Prepare los puntos Standard (STD) si es necesario (no suministrados);
4. Saque el número necesario de tubos de ensayo de las bolsas inmediatamente antes de utilizarlos;
5. Reconstituya cada DNA Mix Tube liofilizado añadiendo 10 µl de STAT-NAT® Reconstitution Buffer, como se indica en la tabla B. La mezcla de ADN liofilizado se disolverá en pocos segundos;

6. Añada primer/sonda, muestra y agua (si es necesario) hasta un volumen total de 15 µL, para alcanzar un volumen de reacción final de 25 µL por cada tubo, como se indica en la tabla B.

Tabla B: Volúmenes de reacción para muestras desconocidas, PC, NTC, NC, etc.

Componentes por tubo de ensayo	Volumen por tubo de ensayo/reacción
STAT-NAT® Reconstitution Buffer	10 µl
Primers/sondas/ tinte fluorescente + ADN extraído (incluido eIC, si es necesario) o PC/NC/NTC/STD añada agua, si es necesario	15 µl
Volumen final de reacción	25 µL

7. Asegúrese de que no hay burbujas de aire; si fuera así, elimínelas por aspiración con la punta de una pipeta y girando;
8. Cierre cada DNA Mix tube con el tapón específico;
9. Ejecute la PCR.

La idoneidad de la configuración de la PCR y de los ajustes de ejecución debe ser validada por el usuario para cada aplicación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El procedimiento de análisis de datos, incluida la selección del canal de detección de fluorescencia, así como los criterios de ejecución y validez de los resultados, dependen del instrumento de PCR en tiempo real, del sistema de primer/sondas y de los controles utilizados en combinación con la STAT-NAT® DNA Mix. La idoneidad del procedimiento de análisis de datos debe ser validada por el usuario para cada aplicación.

SOLUCIÓN DE PROBLEMAS

Problema 1: Variabilidad de la intensidad de la fluorescencia, para el instrumento de PCR en tiempo real, o ausencia de señal.

1. Daños por humedad en el mix liofilizado: las condiciones de almacenamiento del reactivo no cumplen con las instrucciones del folleto del kit:
 - Comprobar la fecha de caducidad del kit;
 - Comprobar las condiciones de almacenamiento del kit; asegurarse de que la bolsa esté siempre bien sellada y de que el saquito de desecante esté dentro de la bolsa;
 - Comprobar si la bolsa de desecante pasa de naranja a verde.
 2. Efecto inhibitorio de la muestra: ADN con una extracción de baja calidad. El resultado puede ser un falso negativo:
 - Asegúrese de utilizar un método de extracción de ADN validado y siga cuidadosamente las instrucciones que figuran en el folleto del kit.
 3. Efecto inhibitorio de la muestra: La presencia de inhibidores de la PCR podría causar resultados falsos negativos o inválidos.
 - Asegúrese de utilizar un método de extracción de ADN validado y siga cuidadosamente las instrucciones que figuran en el folleto del kit.
 - Asegúrese de no utilizar ningún aditivo, como la heparina.
 4. Burbujas de aire atrapadas en los tubos de PCR:
 - Elimine las burbujas de aire antes de iniciar la PCR.
 5. El Mix liofilizado no está bien reconstituido:
 - Repita el procedimiento PCR cuidadosamente.
- Problema 2: Mensaje de error dado por el instrumento de PCR.**

Consultar el Operator's Manual del instrumento o ponerse en contacto con el soporte técnico local.

Problema 3: Muestras duplicadas no reproducen resultados idénticos.

Los valores de Ct (umbral de ciclo) de muestras idénticas pueden diferir en reacciones individuales. Variaciones Ct > ± 2 sugieren errores de pipeteado u otras diferencias entre las muestras duplicadas.











TRATAMIENTO DE RESIDUOS

- Los reactivos del kit no están clasificados como peligrosos según la Regulación EC 1272/2008 (CLP). Adopte buenas prácticas laborales de manera que el producto no sea liberado en el medioambiente. Recicle si es posible. Al hacerlo, respeta las normas locales y nacionales actualmente en vigor.

- Controle y elimine todas las muestras biológicas como si fueran potencialmente infecciosas. Todo el material que entre en contacto con la muestra biológica se debe tratar con hipoclorito de sodio al 0.5% durante al menos 30 minutos o esterilizar en autoclave a 121 °C durante 30 minutos y después desechar.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987;155:335-50
- 2) US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens. <https://www.osha.gov/laws-regs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
- 3) US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, June 2020.
- 4) World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 4th ed. Geneva: World Health Organization, 2020.
- 5) CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.

Explicación de los símbolos ES		
No todos los símbolos indicados a continuación tienen por qué estar presentes en el producto		
REAGENT / STANDARD / CALIBRATOR / CONTROL / DILUENT / COLLECTION TUBE (CT) El término se refiere al único reactivo / estándar / calibrador / control / diluyente / tubo de recogida		
IVD Dispositivo médico de diagnóstico <i>In vitro</i>	REF Número de catálogo	LOT Código de lote
Cont. Contenido del kit	Distributed by Distribuido por	 Fabricante
 Precaución, consulte los documentos adjuntos Consulte las instrucciones de uso		 Límite de temperatura
 No reutilizar	Made in Italy Fabricado en Italia	 Usar antes del
 Fecha de fabricación	 Contiene suficiente para <n> pruebas	 Desechar adecuadamente
D Fecha	ID Identificación	N Nombre
 Proteger de la humedad	 No exponga el reactivo a la luz	
Rx only Para uso exclusivo de un médico o por orden de un médico (solo aplicable a la clasificación de EE.UU.).		

STAT-NAT® and SENTINAT® son marcas comerciales en varias jurisdicciones exclusivamente autorizadas a SENTINEL CH. SpA.

Nota: una barra vertical en el margen del texto indica los cambios en comparación con la versión anterior.

En caso de incidente, póngase en contacto con Sentinel Diagnostics (datos de contacto en www.sentinel diagnostics.com) o con su representante local. Para los clientes de la Unión Europea: si, durante el uso de este aparato, tiene motivos para creer que se ha producido un incidente grave, comuníquelo al fabricante y a su autoridad nacional.