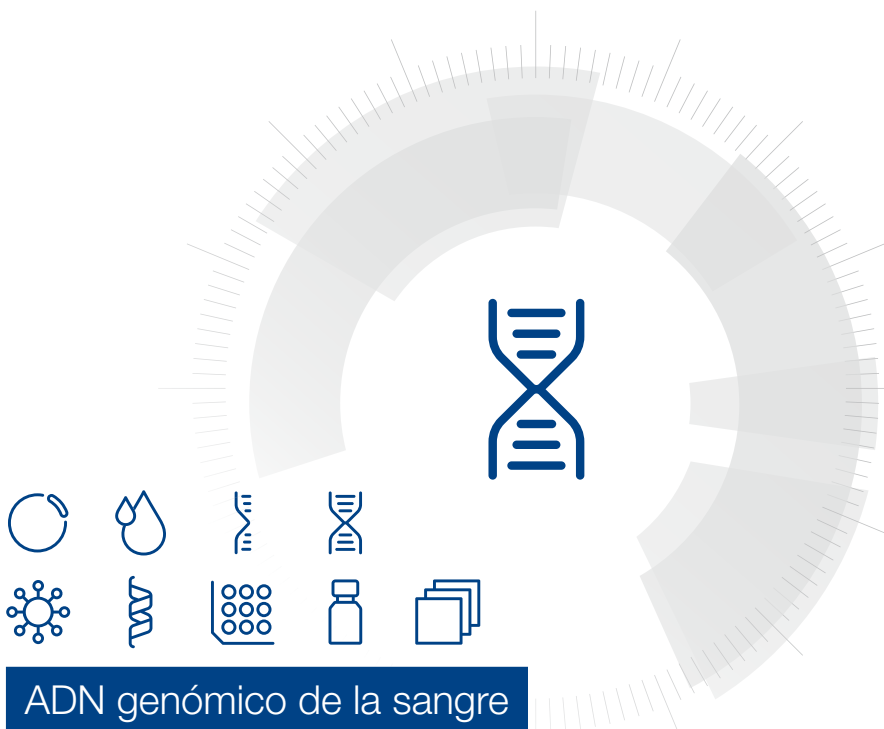


MACHEREY-NAGEL

Manual del usuario



ADN genómico de la sangre

■ NucleoSpin® Dx Blood



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
52355 Düren · Alemania, Tel.: +49 24 21 969-0



Abril 2022/Rev. 05



740899.50,
740899.250



50/250
preparaciones

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland



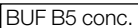



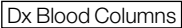

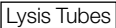
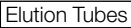

MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Índice

1 Componentes	4
1.1 Contenido del kit	4
1.2 Reactivos, consumibles y equipos que debe proporcionar el usuario	5
1.3 Acerca de este manual del usuario	5
2 Descripción del producto	7
2.1 Uso previsto	7
2.2 Limitaciones de uso del producto	7
2.3 Control de calidad	7
2.4 Introducción y especificaciones del kit	8
2.5 Rendimiento analítico	9
2.6 Procedimientos de elución	10
3 Condiciones de almacenamiento y preparación de las soluciones de trabajo	11
4 Instrucciones de seguridad	12
4.1 Eliminación	12
5 Purificación de ADN genómico con NucleoSpin® Dx Blood	13
5.1 Protocolo de un vistazo	14
5.2 Procedimiento	15
6 Anexo	17
6.1 Resolución de problemas	17
6.2 Obligación de notificación	19
6.3 Bibliografía general	19
6.4 Información para pedidos	19
6.5 Explicación de los símbolos	19
6.6 Restricción de uso del producto/garantía	20

1 Componentes

1.1 Contenido del kit

REF	NucleoSpin® Dx Blood		
		50 preparaciones 740899.50	250 preparaciones 740899.250
Buffer B3		15 mL	60 mL
Wash Buffer BW		30 mL	150 mL
Wash Buffer B5 (Concentrate)*		12 mL	50 mL
Elution Buffer BE**		13 mL	60 mL
Proteinase Buffer PB		1,8 mL	8 mL
Proteinase K (lyophilized)*		30 mg	2 × 75 mg
NucleoSpin® Dx Blood Columns (red rings -plus Collection Tubes)		50	250
Collection Tubes (2 mL)		3 × 50	3 × 250
Lysis Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
Elution Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
User manual		1	1

* Para la preparación de las soluciones de trabajo y las condiciones de almacenamiento, consulte el apartado 3.

** Composición de Elution Buffer BE: 5 mM de Tris/HCl, pH 8,5

1.2 Reactivos, consumibles y equipos que debe proporcionar el usuario

Reactivos

- Etanol al 96 – 100 % (para ajustar las condiciones de unión del ADN y para preparar Wash Buffer B5)

Consumibles

- Puntas de pipeta desechables (se recomiendan puntas de pipetas de barrera de aerosol para evitar contaminaciones cruzadas)

Equipo

- Pipeteadores manuales
- Centrifugadora para tubos de microcentrifugadora
- Agitadora vorticial
- Bloque de calentamiento térmico o baño de agua (para la lisis de muestras a 70 °C)
- Equipo de protección personal (p. ej., bata de laboratorio, guantes, gafas)

1.3 Acerca de este manual del usuario

Se recomienda encarecidamente leer el apartado detallado de protocolo de este manual del usuario. Resumiendo, el protocolo está diseñado para usarse únicamente como herramienta complementaria para una consulta rápida mientras se realiza el procedimiento de purificación.

Los manuales del usuario MACHEREY-NAGEL están disponibles en Internet, en **www.mn-net.com**.

Dirijase al servicio técnico para informarse sobre los cambios del manual de usuario actual con respecto a las revisiones anteriores.

Datos de contacto

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11
52355 Duren, Alemania
Tel.: +49 24 21 969-0
Llamada gratuita: 0800 26 16 000 (solo Alemania)
Correo electrónico: info@mn-net.com

Soporte técnico Bioanálisis

Tel.: +49 24 21 969-270

Correo electrónico: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales del usuario en otros idiomas están disponibles en la sección de descargas de la página del producto.



2 Descripción del producto

2.1 Uso previsto

NucleoSpin® Dx Blood es un kit para el aislamiento del ADN genómico a partir de sangre completa humana tanto recién extraída como congelada, estabilizada con EDTA, citrato o heparina, obtenida con los sistemas de extracción de sangre habituales para el posterior análisis *in vitro*. Este producto ofrece ADN genómico purificado que después se utiliza en análisis posteriores, como PCR, qPCR o secuenciación, para obtener información sobre el ADN genómico de la muestra. Este producto lo emplean profesionales en laboratorios de diagnóstico.

El kit **NucleoSpin® Dx Blood** no es adecuado para el autoanálisis ni los análisis inmediatos. El usuario debe tener experiencia con las técnicas de biología molecular, por ejemplo, con la sangre completa y otros materiales de muestra humanos potencialmente infecciosos.

Se recomienda el uso de controles adecuados, como internos, de extracción y positivos/negativos.

2.2 Limitaciones de uso del producto

El kit **NucleoSpin® Dx Blood** no está indicado para el uso con muestras de tejido o heces, líquidos corporales extracelulares, como el plasma, el suero y la orina, ni el líquido cefalorraquídeo. No se ha evaluado el rendimiento del kit con células de la capa leucoplaquetaria, cultivadas o aisladas, frotis, gotas de sangre seca ni ADN viral. Tampoco se ha especificado el kit para el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos bacterianos, fúngicos o parasitarios.

2.3 Control de calidad

De acuerdo con el sistema de gestión de calidad de MACHEREY-NAGEL, cada lote del kit **NucleoSpin® Dx Blood** se somete a pruebas con especificaciones predeterminadas para garantizar la calidad homogénea del producto.

2.4 Introducción y especificaciones del kit

NucleoSpin® Dx Blood se basa en la consolidada tecnología de membranas de sílice NucleoSpin® y brinda una manera sencilla de aislar el ADN genómico a partir de 200 µL de muestras de sangre completa. El ADN purificado está listo para usarse en la amplificación posterior mediante PCR.

El método **NucleoSpin® Dx Blood** se basa en una serie de pasos sencillos:

Primero, se lisan las muestras de sangre en presencia de sales caotrópicas y Proteinase K. Después, se une el ADN genómico del lisado a una columna de **NucleoSpin® Dx Blood**. Posteriormente, se lava la membrana con ácidos nucleicos unidos y finalmente se eluye el ADN genómico de alta pureza.

Muestras

El kit puede usarse con 200 µL de sangre completa humana tanto recién extraída como congelada, tratada con EDTA, citrato o heparina, obtenida con los sistemas de extracción de sangre habituales.

Normalmente, con 200 µL de sangre completa humana se conseguirán 3–5 µg de ADN genómico, dependiendo de la cantidad de glóbulos blancos de la muestra.

A continuación se muestra una selección de dispositivos de extracción de sangre apropiados:

Tabla 1: Selección de sistemas de extracción de sangre apropiados

Sistema de extracción de sangre	Fabricante
S-Monovette® Li-Heparin	Sarstedt
S-Monovette® EDTA	Sarstedt
S-Monovette® Citrat	Sarstedt
VACUETTE® EDTA	GREINER BIO-ONE
BD VACUTAINER® K2E	BD
K3 EDTA	DELTA LAB
K2 EDTA	APTACA

Limitaciones respecto a las muestras

Los crioprecipitados formados durante la descongelación de las muestras congeladas pueden atascar la **NucleoSpin® Dx Blood Column**. Si dichos precipitados son visibles, evite aspirarlos al cargar el lisado en la columna de unión.

Las muestras hemolíticas e hiperlipidémicas obvias pueden afectar al rendimiento y la pureza del ADN.

Tabla 2: Especificaciones del kit de un vistazo

Parámetro	NucleoSpin® Dx Blood
Material de muestra	Sangre completa humana tanto recién extraída como congelada, tratada con EDTA, citrato o heparina, obtenida con los sistemas de extracción de sangre habituales
Volumen de muestra	200 µL
Rendimiento habitual del ADN	3–5 µg, dependiendo de la cantidad de glóbulos blancos
Calidad habitual del ADN	Cociente A_{260}/A_{280} 1,7–1,9 Cociente A_{260}/A_{230} 1,8–2,3
Volumen de elución	50–200 µL
Concentración habitual del ADN	40–60 ng/µL
Procesamiento	Centrifugado

2.5 Rendimiento analítico

Se calculó la repetibilidad en las series a partir del aislamiento paralelo de 12 alícuotas idénticas de muestras de sangre. El rendimiento medio del ADN fue $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3$, lo que corresponde a un CV del 6%. Se analizó la repetibilidad entre series en dos series independientes. En cada una, se aisló el ADN de una muestra de sangre con 6 réplicas. La diferencia entre los rendimientos medios de las dos series fue $0,2 \mu\text{g}$ de ADN, lo que corresponde al 6%. Para la repetibilidad de un lote a otro, se analizaron en paralelo tres lotes de NucleoSpin® Dx Blood. Con cada lote, se aisló el gADN en 6 réplicas. Todas las réplicas se obtuvieron de una sola muestra de sangre. Los rendimientos medios del ADN para seis preparaciones fueron 5,2, 4,8 y $5 \mu\text{g}$, con unas desviaciones estándar de 0,4, 0,5 y $0,5 \mu\text{g}$ respectivamente. El CV de los rendimientos medios de los tres lotes fue del 4%.

Para la evaluación de la reproducibilidad, dos operadores aislaron el ADN de muestras de sangre completa en paralelo. El rendimiento medio ($n=6$) fue $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$ y $3 \pm 0,2 \mu\text{g}$, respectivamente, lo que corresponde a un CV del 9% y el 7% para seis preparaciones. La diferencia de los rendimientos medios entre ambos operadores fue $0,1 \mu\text{g}$.

El uso diagnóstico *in vitro* de **NucleoSpin® Dx Blood** se ejemplifica en las siguientes publicaciones:

Hadzsiev, K. *et al.* (2019) Rubinstein-Taybi syndrome 2 with cerebellar abnormality and neural tube defect. *Clin Dysmorphol.*, 28(3), 137–141.

Komlósi, K. *et al.* (2015) Phenotypic variability in a Hungarian patient with the 4q21 microdeletion syndrome. *Mol Cytogenet.*, 8, 16.

Czakó, M. *et al.* (2019) Possible Phenotypic Consequences of Structural Differences in Idic(15) in a Small Cohort of Patients. *Int J Mol Sci.*, 20(19), 4935.

Szabo, A. *et al.* (2015) Partial tetrasomy of the proximal long arm of chromosome 15 in two patients: the significance of the gene dosage in terms of phenotype. *Mol Cytogenet.*, 8, 41.

2.6 Procedimientos de elución

Se eluye el ADN a partir de las **NucleoSpin® Dx Blood Columns** con entre 50 y 200 μL de Elution Buffer BE. Al aumentar el volumen de elución, aumenta el rendimiento general del ADN, mientras que disminuye la concentración del ADN (consultar la figura 1).

Normalmente, es posible usar hasta 10 μL del eluido como plantilla en una mezcla de PCR de 50 μL sin afectar a la PCR. Se recomienda conservar el ADN eluido a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Los ciclos repetidos de congelación-descongelación no interferirán con la mayoría de las aplicaciones posteriores.

Almacenamiento de los ácidos nucleicos

Recomendación:

Almacenamiento a corto plazo (hasta 24 h): $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Almacenamiento a largo plazo (más de 24 h): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

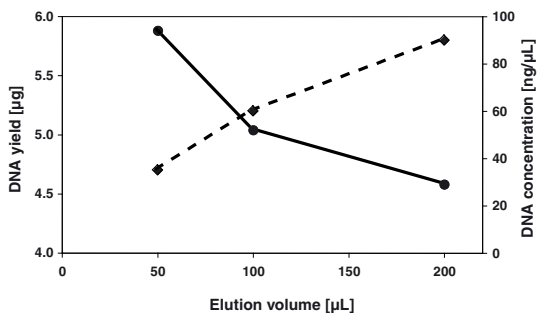


Figura 1

Impacto del volumen de elución sobre el rendimiento general del ADN (línea discontinua) y la concentración del ADN (línea continua). Se realizó la elución con 50, 100 y 200 μL .

3 Condiciones de almacenamiento y preparación de las soluciones de trabajo

Atención:

- Tras la recepción del kit, compruebe si los componentes están dañados. Si el contenido del kit, como los frascos de tampón o los envases blíster, está dañado, diríjase al servicio técnico y al servicio de atención al cliente o al distribuidor local de MACHEREY-NAGEL.
- No utilice componentes del kit dañados.
- Al recibir el kit **NucleoSpin® Dx Blood**, este se debe guardar a una temperatura de 18–25 °C. NO es necesario abrir el kit tras la recepción y extraer los componentes individuales para guardarlos por separado.
- Las **NucleoSpin® Dx Blood Columns** se pueden utilizar hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

Antes de iniciar el protocolo **NucleoSpin® Dx Blood**, prepare lo siguiente:

- **Wash Buffer B5:** Añada el volumen indicado de etanol (96–100 %; consulte la tabla siguiente o el frasco) a **Wash Buffer B5 Concentrate**. Marque la etiqueta del frasco para indicar que se ha añadido etanol. Guarde el Wash Buffer B5 a 18–25 °C hasta la fecha de caducidad.
- La **Proteinase K** liofilizada se puede almacenar a 18–25 °C hasta la fecha de caducidad, sin disminución del rendimiento. Antes de utilizar el kit por primera vez, añada el volumen indicado de **Proteinase Buffer PB** para disolver la Proteinase K liofilizada. La Proteinase K reconstituida se debe almacenar a -20 °C durante un máximo de 6 meses, pero solo hasta la fecha de caducidad.
- Durante el almacenamiento, especialmente a bajas temperaturas, puede formarse un precipitado blanco en Buffer B3 y Buffer BW. Dichos precipitados pueden disolverse fácilmente incubando el frasco a 70 °C durante 5 min antes del uso.

NucleoSpin® Dx Blood		
REF	50 preparaciones 740899.50	250 preparaciones 740899.250
Wash Buffer B5 (concentrado)	12 mL Añadir 48 mL de etanol	50 mL Añadir 200 mL de etanol
Proteinase K	30 mg Añadir 1,35 mL de Proteinase Buffer	2 × 75 mg Añadir 3,35 mL de Proteinase Buffer a cada vial

4 Instrucciones de seguridad

Cuando trabaje con el kit **NucleoSpin® Dx Blood**, use prendas de protección adecuadas (p. ej., bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección). Para más información, consulte las fichas de datos de seguridad (FDS, disponibles en línea en <http://www.mn-net.com/msds>).



Atención: El clorhidrato de guanidina de Buffer B3 y Buffer BW puede formar compuestos altamente reactivos si se combina con lejía. Por ello, no añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los residuos de la preparación de la muestra.

No se ha analizado la presencia de materiales infecciosos residuales en los residuos generados con el kit **NucleoSpin® Dx Blood**. Una contaminación de los residuos líquidos con material infeccioso residual es altamente improbable, debido al tampón de lisis intensamente desnaturalizante y al tratamiento con Proteinase K, pero no se puede excluir por completo. Por lo tanto, los residuos líquidos se deben considerar infecciosos y se deben manipular y eliminar de acuerdo con las normas de seguridad locales.

4.1 Eliminación

Elimine los materiales peligrosos, infecciosos o biológicamente contaminados de manera segura y aceptable y de acuerdo con todos los requisitos locales y reglamentarios.

5 Purificación de ADN genómico con NucleoSpin® Dx Blood

El procedimiento siguiente proporciona instrucciones para procesar una única muestra de sangre. Sin embargo, se pueden procesar varias muestras al mismo tiempo; el número depende de la capacidad de la microcentrifugadora utilizada.










Antes de iniciar la preparación:

- Verifique que Wash Buffer B5 y Proteinase K se hayan preparado de acuerdo con el apartado 3.
- Compruebe que se dispone de etanol al 96–100 % (desnaturalizado o no desnaturalizado) para ajustar las condiciones de unión del ADN.
- Ajuste una incubadora (p. ej., un bloque calefactor) o un baño de agua a 70 °C.
- Deje que las muestras de sangre se ajusten a la temperatura ambiente. Asegúrese de mezclar bien las muestras.
- Si se ha formado un precipitado en Lysis Buffer B3 o Buffer BW, incube el tampón a 70 °C hasta que se haya disuelto el precipitado.
- Por regla general, no mezcle reactivos ni columnas de diferentes kits o lotes.
- Deje que Elution Buffer BE se ajuste a la temperatura ambiente.
- No añada la solución de Proteinase K directamente a Lysis Buffer B3. Debe mezclarse Proteinase K con la muestra de sangre antes de añadir Buffer B3.
- Todos los pasos del centrifugado se deben llevar a cabo a temperatura ambiente.

5.1 Protocolo de un vistazo

Vista general complementaria del protocolo:

Lea detenidamente el protocolo detallado (apartado 5.2) antes de iniciar el procedimiento.

Lisar las muestras de sangre	1	25 µL de Proteinase K		
	2	200 µL de sangre		
	3	200 µL de B3, mezclar		
	4	RT, 5 min		
	5	70 °C, 10 min, mezclar		
	6	2000 g, 1 s		
Ajustar las condiciones de unión del ADN	7	210 µL de etanol, mezclar		
	8	2000 g, 1 s		
Unir el ADN	9	Cargar el lisado		
	10	11 000 g, 1 min		
	11	Transferir la NucleoSpin® Dx Blood Column a un nuevo Collection Tube		
Lavar la membrana de sílice	12	500 µL de BW		
	13	11 000 g, 1 min		
	14	Transferir la NucleoSpin® Dx Blood Column a un nuevo Collection Tube		
	15	600 µL de B5		
	16	11 000 g, 1 min		
Secar la membrana de sílice	17	Transferir la NucleoSpin® Dx Blood Column a un nuevo Collection Tube		
	18	11 000 g, 1 min		

Eluir el ADN	19	Transferir la NucleoSpin® Dx Blood Column a un Elution Tube
	20	50–200 µL de BE
	21	11 000 g, 1 min



5.2 Procedimiento

- 1 Pipetee **25 µL de solución de Proteinase K** en un Lysis Tube (1,5 mL, suministrado).
- 2 Añada **200 µL de muestra de sangre** al Lysis Tube. Mezcle.
- 3 Añada **200 µL de Buffer B3** al Lysis Tube, cierre la tapa y mezcle enérgicamente con la agitadora vorticial de pulsos durante 10 s.
No mezcle previamente el Buffer B3 y la Proteinase K.
- 4 Incube a **temperatura ambiente** durante **5 min** (± 1 min).
- 5 Incube el Lysis Tube a **70 °C** (± 2 °C) durante **10 min** (± 1 min). Tras la incubación, mezcle enérgicamente con la **agitadora vorticial** de pulsos durante 5 s.
- 6 **Centrifugue brevemente** el Lysis Tube (aprox. 1 s a 2000 g) para eliminar las gotas de la tapa (solo un breve giro).
- 7 Añada **210 µL de etanol** (96–100 %) a la muestra. Cierre la tapa y mezcle con la agitadora vorticial de pulsos durante 5 s.
Asegúrese de que se mezclen bien el etanol y el lisado.
- 8 **Centrifugue brevemente** el Lysis Tube (aprox. 1 s a 2000 g) para eliminar las gotas de la tapa (solo un breve giro).
- 9 **Cargue con cuidado todo el lisado** en la **NucleoSpin® Dx Blood Column** introducida en un Collection Tube y cierre la tapa.
- 10 **Centrifugue 1 min a 11 000 g.**
Si no se extrae por completo el lisado a través de la membrana, repita la centrifugación con una fuerza g mayor (15 000–20 800 g durante 1 min). Si el lisado sigue sin traspasar por completo la membrana, deseche la muestra y repita el aislamiento con otra nueva.
- 11 Introduzca la **NucleoSpin® Dx Blood Column** en un nuevo Collection Tube (2 mL, suministrado) y elimine el Collection Tube con el flujo del paso anterior.
- 12 Abra la **NucleoSpin® Dx Blood Column** y añádale **500 µL de Buffer BW**. Cierre la tapa.
Nota: Asegúrese de retirar el lisado residual con Buffer BW.
- 13 **Centrifugue 1 min a 11 000 g.**

14 Introduzca la **NucleoSpin® Dx Blood Column** en un nuevo Collection Tube (2 mL, suministrado) y elimine el Collection Tube con el flujo del paso anterior.

15 Abra la **NucleoSpin® Dx Blood Column** y añádale **600 µL de Buffer B5**. Cierre la tapa.

Nota: Asegúrese de retirar el tampón de lavado residual del paso anterior con Buffer B5.

16 Centrifugue 1 min a 11,000 g.

17 Introduzca la **NucleoSpin® Dx Blood Column** en un nuevo Collection Tube (2 mL, suministrado) y elimine el Collection Tube con el flujo del paso anterior.

18 Centrifugue 1 min a 11,000 g.

El etanol residual se retira en este paso.

19 Introduzca la **NucleoSpin® Dx Blood Column** en un Elution Tube limpio (1,5 mL, suministrado) y elimine el Collection Tube del paso anterior.

20 Abra la **NucleoSpin® Dx Blood Column** y añada **50–200 µL de Buffer BE** directamente en el centro de la membrana.

21 Centrifugue 1 min a 11 000 g para eluir el ADN de la columna.

6 Anexo

6.1 Resolución de problemas

Problema	Posible causa y sugerencias
Falta de rendimiento o rendimiento escaso del ADN	<i>Concentración baja de glóbulos blancos en la muestra</i>
	<ul style="list-style-type: none"> El rendimiento del ADN depende del número de glóbulos blancos por muestra. Las muestras de sangre con pocos glóbulos blancos dan lugar a una escasa cantidad de ADN.
	<i>Lisis incompleta de la muestra</i>
<ul style="list-style-type: none"> Muestra de sangre no homogénea o con coágulos: Asegúrese de que se tomen las muestras de sangre siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo de recogida. Asegúrese de que solo se use como material de muestra la sangre que se pueda transferir fácilmente pipeteándola. Si es necesario, homogeneice la muestra de sangre antes del uso. Muestra no mezclada bien con Proteinase K y el tampón de lisis. La mezcla debe agitarse enérgicamente en una agitadora vorticial inmediatamente después de añadir el Lysis Buffer B3. Digestión no óptima de Proteinase K. Nunca añada Proteinase K directamente al Lysis Buffer B3. 	
<i>Reactivos no aplicados correctamente</i>	<ul style="list-style-type: none"> Prepare los tampones y la solución de Proteinase K conforme a las instrucciones (apartado 3). Añada etanol al lisado antes de cargarlo en la columna.
<i>Centrifugación inapropiada</i>	<ul style="list-style-type: none"> No alargue el tiempo ni aumente la velocidad de centrifugación en los pasos 6 y 8. Realice únicamente un giro rápido para retirar las gotas de la tapa.
<i>Elución subóptima del ADN de la columna</i>	<ul style="list-style-type: none"> La eficacia de elución depende del volumen del tampón de elución. Para una eficacia de elución máxima, utilice 200 µL de tampón de elución, y para una concentración de ADN máxima, 50 µL.
Atasco de la columna de unión del ADN	<i>Muestra de sangre no homogénea</i>
	<ul style="list-style-type: none"> El crioprecipitado formado durante la descongelación de las muestras congeladas puede atascar la NucleoSpin® Dx Blood Column. Si dichos precipitados son visibles, evite aspirarlos al cargar el lisado en la columna de unión. Los precipitados también se pueden formar en las muestras de sangre recién extraídas. Asegúrese de mezclar bien las muestras. Si la columna se atasca durante el paso de unión del ADN, repita la centrifugación con una fuerza g mayor (15 000–20 800 g durante 1 min).

Problema **Posible causa y sugerencias**

Escasa calidad del ADN	<p><i>Reactivos no aplicados correctamente</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Prepare los tampones y la solución de Proteinase K conforme a las instrucciones (apartado 3). Añada etanol al lisado y mezcle antes de cargarlo en las columnas. <p><i>Lisis incompleta de la muestra</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestra no mezclada bien con la solución de Proteinase K y el tampón de lisis. La mezcla debe agitarse enérgicamente en una agitadora vorticial inmediatamente después de añadir el tampón de lisis. • Digestión no óptima de Proteinase K. No añada Proteinase K directamente al Lysis Buffer B3. <p><i>Procesamiento de muestras de sangre antiguas o con coágulos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Asegúrese de usar como material de muestra únicamente la sangre que se pueda transferir fácilmente pipeteándola. Si es necesario, homogeneice la muestra de sangre antes del uso.
Rendimiento subóptimo del ADN genómico en reacciones enzimáticas	<p><i>Arrastre de etanol</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Asegúrese de retirar todo el Buffer B5 con etanol antes de la elución del ADN. Si el nivel de llenado del flujo de Wash Buffer B5 después del segundo lavado alcanza la salida de la columna por cualquier motivo, deseche el flujo, vuelva a poner la columna en el Collection Tube y vuelva a centrifugar. <p>• Los eluidos de ADN pueden contener restos de etanol. Sin embargo, no se observó ninguna disminución del rendimiento de la PCR utilizando como plantilla un eluido de ADN de hasta el 20 % del volumen final de la PCR (p. ej., usando como plantilla 4 µL de 100 µL de eluido en una PCR de 20 µL). El porcentaje máximo del volumen de plantilla de una PCR puede variar dependiendo de la robustez del sistema de PCR y debe determinarlo el usuario.</p> <p><i>Contaminación del ADN con sustancias inhibidoras</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Si prepara el ADN a partir de muestras de sangre antigua o con coágulos, asegúrese de usar como material de muestra únicamente la sangre que se pueda transferir fácilmente pipeteándola. Si es necesario, homogeneice la muestra de sangre antes del uso.

Diríjase a:

MACHEREY-NAGEL Alemania

Tel.: +49 (0) 24 21 969 270

Correo electrónico: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Obligación de notificación

Tenga en cuenta que cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá ser comunicado inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que se haya producido el incidente. Puntos de contacto europeos de vigilancia: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Bibliografía general

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik -Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471 – 7.

Orzińska A. *et al.* (2015) 14 Years of Polish Experience in Non-Invasive Prenatal Blood Group Diagnosis. *Transfus Med Hemother*, 42, 361 – 364.

Papadopoulou A. *et al.* (2014) Calcium sensing receptor in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 35, 632e638.











Bleda S. *et al.* (2012) Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. *Diabetes & Vascular Disease Research*, 9(1), 68 – 74.

6.4 Información para pedidos

Producto	REF	Unidades
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Para información más detallada sobre el producto, visite www.mn-net.com.

6.5 Explicación de los símbolos

	Número de catálogo		Intervalo permitido de temperaturas de almacenamiento
	Código de lote		Fecha de caducidad
	Fabricante		Atención: más información en el manual del usuario
	Productos para diagnóstico <i>in vitro</i>		No reutilizar
	Leer las instrucciones de uso		
	Suficiente para <n> análisis		

6.6 Restricción de uso del producto/garantía

El kit **NucleoSpin® Dx Blood** es un sistema genérico para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras de sangre completa humana para fines de diagnóstico *in vitro*.

El kit está diseñado para utilizarse con aplicaciones posteriores que utilicen amplificación enzimática y detección de ADN (p. ej., PCR). Todos y cada uno de los resultados diagnósticos generados con DNA aislado con el kit **NucleoSpin® Dx Blood** en combinación con un análisis diagnóstico deben interpretarse teniendo en cuenta los resultados clínicos o de laboratorio adicionales. El kit **NucleoSpin® Dx Blood** no proporciona un resultado diagnóstico. Es responsabilidad exclusiva del usuario utilizar y validar el kit en combinación con un análisis diagnóstico *in vitro* posterior. SOLO los productos MACHEREY-NAGEL especialmente etiquetados como IVD son adecuados para uso diagnóstico *in vitro*.

Consulte las instrucciones de seguridad en el capítulo correspondiente del manual del usuario. El kit **NucleoSpin® Dx Blood** se debe utilizar exclusivamente en un entorno de análisis adecuado, es decir, en un entorno de laboratorio adecuado.

El usuario correspondiente es responsable de todos y cada uno de los daños resultantes de la aplicación del kit **NucleoSpin® Dx Blood** para un uso distinto al previsto especificado en el manual del usuario.

Este producto MACHEREY-NAGEL se envía con documentación que contiene las especificaciones y otra información técnica. MACHEREY-NAGEL garantiza el cumplimiento de las especificaciones indicadas. La única obligación de MACHEREY-NAGEL y el único recurso del cliente se limita a la sustitución de productos de forma gratuita en caso de que los productos no funcionen según lo garantizado. Se hace referencia complementaria a los términos y condiciones comerciales generales de MACHEREY-NAGEL, que están impresos en la lista de precios. Póngase en contacto con nosotros si desea obtener una copia adicional.

No existe garantía alguna y MACHEREY-NAGEL no se hace responsable de los daños o defectos que surjan en el envío y la manipulación (excluido el seguro de transporte para los clientes), o por accidente o uso inadecuado o anormal de este producto; defectos en productos o componentes no fabricados por MACHEREY-NAGEL, o daños resultantes de tales componentes o productos que no son de MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL no ofrece ninguna otra garantía de ningún tipo, Y ESPECÍFICAMENTE RECHAZA Y EXCLUYE TODAS LAS DEMÁS GARANTÍAS DE CUALQUIER TIPO O NATURALEZA, DIRECTAS O INDIRECTAS, EXPRESAS O IMPLÍCITAS, INCLUYENDO, SIN LIMITACIÓN, EN CUANTO A LA IDONEIDAD, LA REPRODUCTIVIDAD, LA DURABILIDAD, LA APTITUD PARA UN PROPÓSITO O USO PARTICULAR, LA COMERCIABILIDAD, EL ESTADO O CUALQUIER OTRO ASUNTO CON RESPECTO A LOS PRODUCTOS DE MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL no será responsable en ningún caso de las reclamaciones por cualquier otro daño, ya sea directo, indirecto, incidental, compensatorio, previsible, consecuente o especial (incluyendo, entre otros, la pérdida de uso, ingresos o beneficios), ya sea basado en la garantía, contrato, agravio (incluyendo negligencia) o responsabilidad estricta que surge en relación con la venta o la falta de funcionamiento de los productos MACHEREY-NAGEL según las especificaciones indicadas. Esta garantía es exclusiva y MACHEREY-NAGEL no da ninguna otra garantía expresa o implícita.

La garantía aquí proporcionada y los datos, especificaciones y descripciones de este producto MACHEREY-NAGEL que aparecen en los catálogos publicados DE MACHEREY-NAGEL y en la literatura del producto son las únicas representaciones DE MACHEREY-NAGEL con respecto al

producto y la garantía. No se autorizan otras declaraciones o manifestaciones, escritas u orales, de los empleados, agentes o representantes de MACHEREY-NAGEL, excepto las declaraciones escritas firmadas por un funcionario debidamente autorizado de MACHEREY-NAGEL; el cliente no debe basarse en ellas y no forman parte del contrato de venta ni de esta garantía.

Las afirmaciones sobre el producto están sujetas a cambios. Por lo tanto, diríjase a nuestro equipo de servicio técnico para obtener la información más reciente sobre los productos MACHEREY-NAGEL. También puede dirigirse a su distribuidor local para obtener información científica general. Las aplicaciones mencionadas en la literatura DE MACHEREY-NAGEL se proporcionan únicamente con fines informativos. MACHEREY-NAGEL no garantiza que todas las aplicaciones se hayan probado en laboratorios de MACHEREY-NAGEL utilizando productos MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL no garantiza la exactitud de ninguna de esas aplicaciones.

Última actualización: Abril 2022/Rev. 05

Motivo de la revisión:

Adición de los datos de rendimiento analítico y clínico al capítulo 2.5. Referencia a los nuevos idiomas del manual del usuario (capítulo 1.3).

Marcas comerciales:

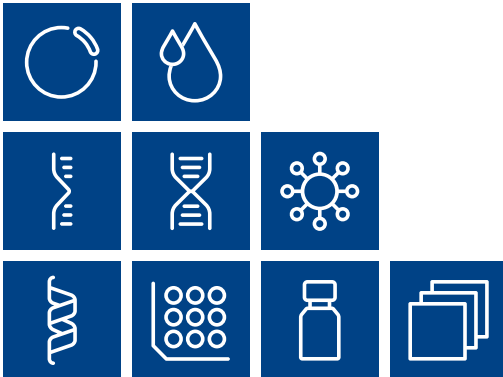
BD VACUETTE es una marca comercial de BD

NucleoMag® es una marca comercial de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG

S-Monovette es una marca comercial registrada de Sarstedt

Vacurette es una marca comercial de GREINER BIO-ONE

Todos los nombres y denotaciones utilizados pueden ser marcas, marcas comerciales o marcas registradas de sus respectivos titulares, también si no son denotaciones especiales. La mención de productos y marcas es solo un tipo de información (es decir, no atenta contra las marcas comerciales ni puede considerarse un tipo de recomendación o valoración). En cuanto a estos productos o servicios, no podemos conceder ninguna garantía en cuanto a su selección, eficacia o funcionamiento



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennener Str. 11
52355 Düren · Germany

DE	Tel.: +49 24 21 969-0	info@mn-net.com
CH	Tel.: +41 62 388 55 00	sales-ch@mn-net.com
FR	Tel.: +33 388 68 22 68	sales-fr@mn-net.com
US	Tel.: +1 888 321 62 24	sales-us@mn-net.com

A0xxxx/xxxx