Maxwell® 16
INSTRUMENT

Manual técnico

Maxwell® 16 Blood DNA Purification System

Precaución: Maneje los cartuchos con cuidado, los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.

PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA

IVD
Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

EC REP
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania

CE

INSTRUCCIONES DE USO DEL PRODUCTO
AS1015

Promega

Maxwell® 16 Blood DNA Purification System

Toda la documentación técnica se encuentra disponible en Internet en: www.promega.com Visite nuestra web para verificar que está utilizando la versión más reciente de este Manual técnico. Si tiene alguna pregunta acerca del uso del sistema, póngase en contacto con los Servicios técnicos de Promega. Dirección de correo electrónico: esp_techserv@promega.com

1. Uso previsto de Maxwell® 16 Blood DNA Purification System 1

2. Componentes del producto, condiciones de conservación y leyenda de símbolos 4

3. Antes de empezar 6
- A. Preparación de muestras de sangre total 6
- B. Preparación de muestras de capa leucocitaria humana 7
- C. Preparación de los cartuchos de Maxwell® 16 8

4 Purificación de ADN automatizada en Maxwell® 16 Instrument 10
- A. Maxwell® 16 IVD Instrument (nº de cat. AS3050) 10
- B. Maxwell® 16 Clinical Instrument (nº de cat. AS2050) 12

5. Solución de problemas 15

1. Uso previsto de Maxwell® 16 Blood DNA Purification System

Maxwell® 16 System, que consiste en Maxwell® 16 Blood DNA Purification System[(a)] (nº de cat. AS1015) y Maxwell® 16 Instrument (nº de cat. AS3050, AS2050), se utiliza para aislar el ADN de forma automatizada en muestras de sangre total y capa leucocitaria humanas. Con Maxwell® 16 System pueden usarse muestras recogidas en tubos de extracción de sangre tratados con EDTA, heparina o citrato. La metodología de aislamiento usada por Maxwell® 16 System le proporciona ADN apto para ser analizado directamente mediante métodos de amplificación estándar. Entre estos métodos se incluye una variedad de pruebas de reacción de la polimerasa (PCR) para fines de diagnóstico in vitro. Maxwell® 16 System no está destinado para su uso como parte de una prueba diagnóstica in vitro específica.

Maxwell® 16 Blood DNA Purification System es sólo para uso profesional. Los resultados de diagnóstico obtenidos usando ADN purificado con este sistema deben interpretarse junto con otros datos clínicos o de laboratorio.

Limitaciones de uso del producto

Maxwell® 16 Blood DNA Purification System (nº de cat. AS1015) no está destinado para su uso con muestras de tejido o de fluidos corporales que no sean sangre. No está destinado para su uso con muestras no humanas o para la purificación del ARN.

El rendimiento de Maxwell® 16 System ha sido evaluado aislando ADN de 300 µl de muestras de sangre total, o de 250 µl de muestras de capa leucocitaria obtenidas de individuos sanos con un recuento de leucocitos entre $4{,}2 \times 10^6$ y $1{,}2 \times 10^7$.

El usuario es el responsable de establecer las características de rendimiento necesarias para posteriores aplicaciones de diagnóstico. Deben incluirse controles adecuados en las aplicaciones de diagnóstico que utilicen ADN purificado con Maxwell® 16 System.

El cumplimiento de la Directiva de la UE 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico médico in vitro se ha demostrado exclusivamente para el uso de Maxwell® 16 Blood DNA Purification System (nº de cat. AS1015) con Maxwell® 16 Instrument (nº de cat. AS3050, AS2050) en el modo IVD/clínico.

Proceso de purificación con Maxwell ® 16 Blood DNA

Cuando se usa junto con Maxwell® 16 Instrument, Maxwell® 16 Blood DNA Purification System (nº de cat. AS1015) automatiza la purificación de ácidos nucleicos de hasta 16 muestras usando como principio de separación la lisis celular y la unión de los ácidos nucleicos a partículas de sílice magnetizadas.

Entre los pasos automatizados que realiza Maxwell® 16 System se incluyen:

- Lisis de la muestra en presencia de un agente caotrópico y detergente.
- Unión de ácidos nucleicos a partículas de sílice magnetizadas.
- Lavado de las partículas unidas para separarlas del resto de componentes celulares.
- Elución de los ácidos nucleicos en un tampón que permite añadirlos directamente a la PCR estándar.

El usuario selecciona el protocolo de procesamiento adecuado, coloca las muestras en los cartuchos de reactivos, coloca los cartuchos en la plataforma de Maxwell® 16 instrument y cierra la puerta. A continuación, el usuario pone en marcha el instrumento y éste lleva a cabo todos los pasos del protocolo.

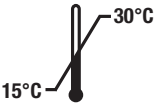
La temperatura de las muestras se regula mediante un sistema de calentamiento controlado por el protocolo. El ADN extraído puede usarse para amplificación por PCR.

2. Componentes del producto, condiciones de conservación y leyenda de símbolos

Producto	Tamaño	Nº de cat.
Maxwell® 16 Blood DNA Purification System	48 preparaciones	AS1015

suficiente para 48 aislamientos automatizados.







Incluye:

- 48 Cartuchos Maxwell® 16 Blood DNA
- 50 Émbolos de purificación
- 50 Tubos de elución
- 20 ml Tampón de elución

Condiciones de almacenamiento: guarde los Maxwell® 16 DNA Purification Kits a 15–30 °C. Consulte la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto. No utilice el producto después de la fecha de caducidad.



Información de seguridad: Los cartuchos de reactivos contienen hidrocloruro de guanetidina y tiocianato de guanetidina, que son nocivos e irritantes. Los cartuchos también contienen etanol e isopropanol, que son inflamables.



Los cartuchos de reactivos de Maxwell® 16 han sido diseñados para su uso con sustancias potencialmente infecciosas. Los usuarios deben llevar la protección adecuada (como guantes y gafas de seguridad) al manipular sustancias infecciosas. Los usuarios deben ceñirse a las directrices de su institución en lo referente a la manipulación y eliminación de todas las sustancias infecciosas al utilizar este sistema.

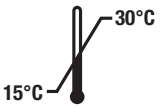
Los cartuchos de reactivos de Maxwell® 16 contienen sustancias químicas potencialmente peligrosas. Los usuarios deben llevar guantes al manipular los cartuchos de reactivos. Los usuarios deben seguir las directrices de su institución en lo referente a la eliminación.

Para más información de seguridad, consulte la ficha de datos de seguridad del material, disponible en **www.promega.com**.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania

Leyenda de símbolos

Símbolo	Explicación	Símbolo	Explicación
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	EC REP	Representante autorizado
	Conservar a 15-30 °C.		Fabricante
	Importante		Nocivo. Irritante.
	Suficiente para "n" pruebas		Conformidad Europea
	Advertencia. Peligro biológico.		Advertencia. Riesgo de quedar atrapado.
REF	Referencia de catálogo	LOT	Número de lote
	No reutilizar		

3. Antes de empezar

Materiales que ha de aportar el usuario

- pipetas y puntas de pipeta para transferir la muestra a los cartuchos de reactivos previamente rellenados
- tubos de almacenamiento para muestras de ADN

3.A. Preparación de muestras de sangre total

Tabla 1. Volumen de la muestra de sangre total y requisitos previos al procesamiento

Tipo de muestra	Kit	Volumen	Requisitos previos al procesamiento
Sangre total humana	Blood DNA Purification System (nº de cat. AS1015)	300 µl	Ninguno

Capacidad de procesamiento y rendimiento de muestra de sangre total

El rendimiento total del ADN genómico procedente de muestras de sangre depende del volumen de la muestra y del número de leucocitos por ml. Todos los cartuchos suministrados con Maxwell® 16 Blood DNA Purification System están diseñados para la purificación de ADN genómico a partir de 300 µl de sangre total, asumiendo un promedio de leucocitos entre $4{,}2 \times 10^6$ y $1{,}2 \times 10^7$/ml de sangre total (los valores de un adulto normal y sano). Si se excede el volumen o el número de células recomendado, el rendimiento y la calidad del ADN genómico purificado pueden verse afectados y se puede producir una contaminación cruzada de las muestras.

Notas:

1. Se pueden utilizar muestras de sangre total recogidas en tubos de tratados con EDTA, citrato o heparina.
2. Las muestras de sangre deben almacenarse a 4 °C y deben procesarse en los 7 días posteriores a su extracción.
3. Cuando trabaje con muestras de ADNg concentrado, las partículas residuales de MagneSil® pueden eliminarse realizando un segundo aclarado con la gradilla de elución magnética o centrifugando el material eluido seguido por transferencia del sobrenadante a un tubo nuevo.

3.B. Preparación de muestras de capa leucocitaria humana

Tabla 2. Volumen de la muestra de capa leucocitaria y requisitos previos al procesamiento

Tipo de muestra	Kit	Volumen	Requisitos previos al procesamiento
Capa leucocitaria humana	Blood DNA Purification System (nº de cat. AS1015)	250 µl de concentrado de 2,5 ml de sangre total	1. Tubo de Spin Vacutainer® para 20 minutos a 2.000 × *g*. 2. Recoja los leucocitos usando una pipeta de 1 ml. 3. Añada muestra al pocillo nº 1.

Capacidad de procesamiento y rendimiento de muestra de capa leucocitaria

La centrifugación de una muestra de sangre total a 2.000 × *g* durante 20 minutos separa el material en tres capas: una capa inferior que contiene principalmente hematíes, una capa superior de plasma y una delgada capa blanca en la interfase enriquecida en leucocitos. Se puede utilizar una pipeta de 1 ml para recoger cuidadosamente los leucocitos enriquecidos (capa leucocitaria) de la interfase. Normalmente, esto produce una concentración diez veces superior de leucocitos en la muestra de sangre, dependiendo de la técnica del usuario y de lo bien que se aglutinen los leucocitos. Características como la antigüedad de la muestra y su almacenamiento, la claridad de la capa de plasma y el número de leucocitos pueden afectar a la recuperación de la fracción de capa leucocitaria y al ADN obtenido.

Un volumen de 250 µl de capa leucocitaria (obtenido a partir de 2,5 ml de sangre total) se puede procesar usando el cartucho de Maxwell® 16 Blood DNA y el método de capa leucocitaria.

Notas:

1. El volumen de elución es importante.

   Coloque 300 µl de tampón de elución en el tubo de elución de Maxwell® 16 para procesar 250 µl de muestra de capa leucocitaria. Durante el proceso se puede perder una parte del tampón de elución debido a la evaporación y al humedecimiento de las partículas MagneSil® durante la elución.
2. Cuando trabaje con ADN genómico concentrado, las partículas residuales de MagneSil® pueden eliminarse realizando un segundo aclarado con la gradilla de elución magnética o centrifugando el material eluido y extrayendo el sobrenadante a un tubo nuevo.
3. La concentración de ADN purificado debe medirse por absorbancia a A_{260}. La pureza del ADN debe confirmarse con electroforesis en gel de agarosa y midiendo la proporción A_{260}/A_{280}, que suele ser >1,7.
4. Deben incluirse controles adecuados en las aplicaciones de diagnóstico que utilicen ADN purificado con Maxwell® 16 System.
5. Durante la evaluación del rendimiento, se ha demostrado que el arrastre de ADN entre cartuchos era <6 pg/µl. El usuario es el responsable de establecer las características de rendimiento necesarias para aplicaciones de diagnóstico.

3.C. Preparación de los cartuchos de Maxwell® 16

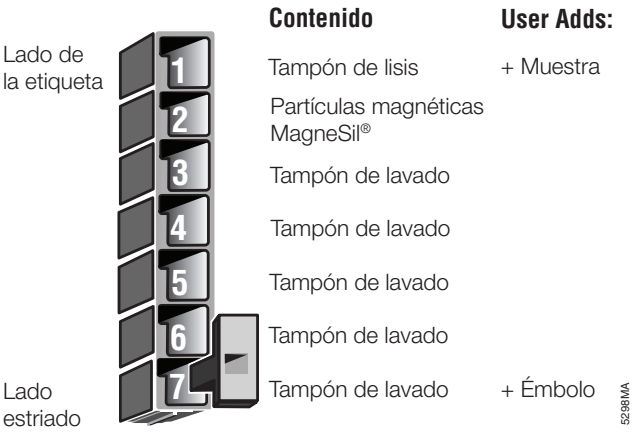
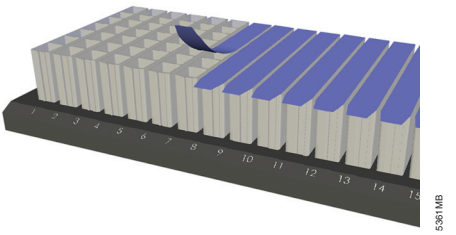
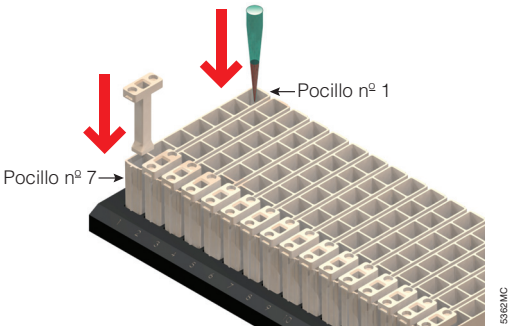


Figura 1. Cartucho de Maxwell® 16 Blood DNA Purification Kit. La muestra se añade al pocillo nº 1.

Siga los procedimientos de laboratorio estándar para evitar la contaminación cruzada de las muestras. Use guantes y sustitúyalos a menudo. Utilice puntas de pipeta resistentes a aerosoles cuando transfiera las muestras para reducir al mínimo la posibilidad de contaminación cruzada. No utilice cartuchos si no tienen precintos o si están dañados.



1. Coloque cada cartucho que vaya a usar en la gradilla de cartuchos de Maxwell® 16 Cartridge Rack con el lado estriado mirando hacia el lado numerado de la gradilla. Quite con cuidado el precinto de los cartuchos. Tenga cuidado para evitar la contaminación de los reactivos cuando quite el precinto.



2. Coloque un émbolo en el pocillo nº 7 de cada cartucho, asegurándose de que el fondo del émbolo llegue al fondo del cartucho. (El pocillo nº 7 es el más cercano al lado estriado del cartucho).

   Nota: el émbolo encajará en el cartucho con una cierta holgura.

3. Transfiera la muestra al pocillo nº 1 (el más cercano a la etiqueta del cartucho y el más alejado del usuario). Tenga cuidado para evitar la contaminación de las muestras durante la transferencia y asegúrese de identificar y controlar en todo momento las muestras.

Los cartuchos de reactivos de Maxwell® 16 han sido diseñados para su uso con sustancias potencialmente infecciosas. Los usuarios deben llevar la protección adecuada (como guantes y gafas de seguridad) al manipular sustancias infecciosas. Los usuarios deben seguir las directrices de su institución en lo referente a la manipulación y eliminación de todas las sustancias infecciosas al utilizar este sistema.

Los cartuchos de reactivos de Maxwell® 16 contienen sustancias químicas potencialmente peligrosas. Los usuarios deben llevar guantes al manipular los cartuchos de reactivos. Los usuarios deben seguir las directrices de su institución en lo referente a la eliminación.

Los tubos de elución azules se usarán más tarde en el proceso de configuración.

4. Purificación de ADN automatizada en Maxwell® 16 Instrument

4.A. Maxwell® 16 IVD Instrument (nº de cat. AS3050)

Consulte el manual técnico del *Maxwell®16 IVD Instrument* n.º TM315 para obtener información detallada sobre la configuración y la ejecución del Maxwell®16 IVD Instrument.

1. Encienda el Maxwell® 16 IVD Instrument. El instrumento se encenderá, mostrará el número de versión de firmware, realizará las autocomprobaciones y colocará todas las piezas en la posición de inicio.
2. Compruebe que la pantalla Inicio indique el hardware SEV y que esté instalado el hardware SEV. Pulse Run/Stop para continuar.
3. Introduzca un usuario y su PIN, si está activada esta opción.
4. En la pantalla Protocolos, seleccione Sangre o Capa Leucocitaria.
5. En la pantalla siguiente, verifique que se han seleccionado el método y el usuario correctos. Seleccione Run/Stop para continuar.
6. Abra la puerta cuando se le indique en pantalla y seleccione Run/Stop.



Advertencia: Peligro de atrapamiento.

7. Consulte el manual técnico del *Maxwell®16 IVD Instrument* n.º TM315 para introducir los datos del lector del código de barras si esta opción está activada.



8. Transfiera los cartuchos que contienen las muestras y los émbolos de la gradilla de preparación de cartuchos a la plataforma de Maxwell® 16. Asegúrese de colocar los cartuchos en el instrumento con el lado estriado del cartucho más cercano a la puerta.

   Notas:

   Si le resulta difícil ajustar el cartucho en la plataforma, compruebe la orientación del cartucho.

   Introduzca el cartucho introduciendo primero el lado estriado y presionando después hacia abajo en la parte posterior del cartucho, hasta que quede encajado con un "clic".

   Si va a procesar menos de 16 muestras, centre los cartuchos de reactivos en la plataforma, espaciándolos uniformemente desde el centro hacia afuera.

9. Coloque un tubo de elución azul por cada cartucho en las ranuras para tubos de elución que hay en la plataforma.
10. Añada 300 µl de tampón de elución a cada tubo de elución azul.



11. Pulse el botón "Run/Stop". La plataforma se retraerá. Cierre la puerta.

    Advertencia: riesgo de quedar atrapado

    El Maxwell® 16 IVD Instrument iniciará de forma inmediata la purificación. La pantalla mostrará el tiempo aproximado restante.

    Notas:

    1. Si pulsa el botón Run/Stop o abre la puerta, la ejecución se detendrá.
    2. Si se abandona la ejecución antes de su finalización, el instrumento retirará las partículas de los émbolos y eyectará estos últimos en el pocillo n.º 7 del cartucho. Se perderán las muestras.

12. Cuando haya finalizado la ejecución de purificación automatizada, siga las instrucciones en pantalla para realizar la transferencia de datos. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el manual técnico del *Maxwell®16 IVD Instrument* n.º TM315 y del manual técnico del *Maxwell Sample Track Software* n.º TM314.

13. Para abrir la puerta, siga las instrucciones en pantalla que aparecen al final del método. Verifique que los émbolos se encuentren en el pocillo n.º 7 del cartucho al final de la ejecución. Si los émbolos no se sueltan de la barra del émbolo magnético, empújelos suavemente hacia abajo con sus manos para retirarlos.



14. Pulse Run/Stop para extender la plataforma hacia afuera del instrumento.

    Advertencia: Peligro de atrapamiento.

15. Retire los tubos de elución de sus ranuras térmicas y colóquelos en la gradilla de tubos de elución magnética. Transfiera las muestras eluidas a los tubos de almacenamiento con pipeta. Deseche los tubos de elución azules tras transferir la muestra eluida.

    Nota: Para evitar la transferencia de partículas, utilice una punta de pipeta para aspirar las muestras y separarlas de las partículas capturadas en el lateral del tubo de elución azul.



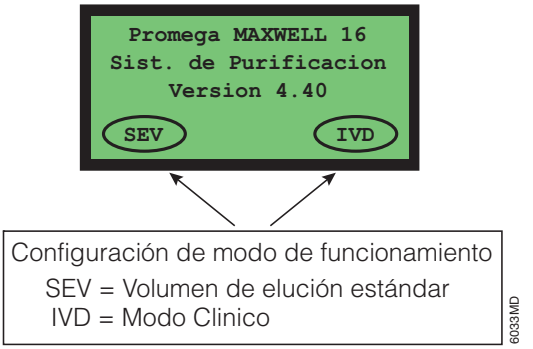


16. Retire los cartuchos y émbolos de la plataforma del instrumento y deséchelos.

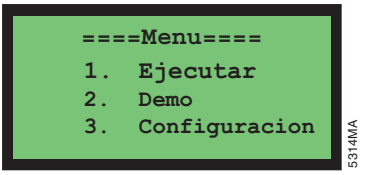
    No reutilice los cartuchos de reactivos, los émbolos o los tubos de elución.

    Si el instrumento está configurado para realizar un tratamiento mediante luz UV al final de cada ejecución, el tratamiento se iniciará cuando se cierre la puerta. Para evitar daños al ácido nucleico, asegúrese de que las muestras se retiran antes de cerrar la puerta e iniciar el tratamiento mediante luz UV.

4.B Maxwell® 16 Clinical Instrument (nº de cat. AS2050)



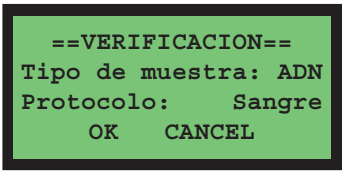
1. Maxwell® 16 System puede ejecutar métodos de investigación y forenses, aparte del método clínico. Antes de usarlo, compruebe que el instrumento esté en el modo clínico. Para ello, cierre la puerta, apague Maxwell® 16 Instrument y vuelva a encenderlo. El número de versión del firmware y el modo seleccionado se muestran tal y como indica la ilustración. Si la pantalla no coincide con la de arriba, consulte el Manual de uso de *Maxwell® 16* (nº TM300) para ver las instrucciones de restablecimiento del instrumento al modo clínico.



2. Para llevar a cabo el proceso de purificación, utilice uno de los botones de desplazamiento para llevar el cursor a "Ejecutar". Pulse "Run/Stop" para seleccionarlo.

   Nota: "Demo" es un proceso de purificación abreviado con fines demostrativos. "Configuración" se utiliza para cambiar el modo de funcionamiento del instrumento y no es necesario en este procedimiento.

3. Utilice uno de los botones de desplazamiento para llevar el cursor al protocolo/tipo de muestra requerido. Pulse "Run/Stop" para seleccionarlo.



4. Compruebe que ha seleccionado el protocolo adecuado. Utilice uno de los botones de desplazamiento para llevar el cursor a "OK".

   Pulse el botón "Run/Stop" para continuar con el proceso de purificación. Seleccione "Cancelar" si la información mostrada no es correcta.

5. Abra la puerta cuando así se le indique en la pantalla LCD. Pulse el botón "Run/Stop" para sacar la plataforma del instrumento y poder introducir fácilmente los cartuchos.



   Advertencia: riesgo de quedar atrapado.



6. Transfiera los cartuchos que contienen las muestras y los émbolos de la gradilla de preparación de cartuchos a la plataforma de Maxwell® 16. **Asegúrese de colocar los cartuchos en el instrumento con el lado estriado del cartucho más cercano a la puerta.**

   Notas:

   Si le resulta difícil ajustar el cartucho en la plataforma, compruebe la orientación del cartucho.

   Introduzca el cartucho introduciendo primero el lado estriado y presionando después hacia abajo en la parte posterior del cartucho, hasta que quede encajado con un "clic".

   Si va a procesar menos de 16 muestras, centre los cartuchos de reactivos en la plataforma, espaciándolos uniformemente desde el centro hacia afuera.

7. Coloque un tubo de elución azul por cada cartucho en las ranuras para tubos de elución que hay en la plataforma.

8. Añada 300 µl de tampón de elución a cada tubo de elución azul.

9. Pulse el botón "Run/Stop". La plataforma se retraerá. Cierre la puerta.



Advertencia: riesgo de quedar atrapado.

10. Maxwell® 16 Instrument iniciará la purificación. La pantalla LCD muestra los pasos realizados y el tiempo restante aproximado del proceso.

    Notas:

    Si pulsa el botón "Run/Stop" o abre la puerta el proceso se detendrá. Cierre la puerta (si está abierta) e indique si desea "continuar" o "terminar" el proceso.

    Si para el proceso antes de su finalización, el instrumento separará las partículas de los émbolos, soltará éstos en el pocillo nº7 del cartucho y **perderá la muestra.**

    Para obtener instrucciones acerca de la recuperación de la muestra tras un corte de corriente temporal, consulte la sección de solución de problemas del *Manual de uso de Maxwell® 16 Instrument* (nº TM300).

11. Una vez terminada la purificación, la pantalla LCD mostrará un mensaje indicando que el método ha finalizado.

    Cuando termine, abra la puerta del instrumento. Asegúrese de haber retirado todos los émbolos del sistema de varillas magnéticas. Si no ha retirado los émbolos, presione sobre ellos hacia abajo con cuidado con la mano para hacerlo.

12. Pulse el botón "Run/Stop" para sacar la plataforma del instrumento.

13. Retire los tubos de elución de sus ranuras térmicas y colóquelos en la gradilla de tubos de elución magnética. Transfiera las muestras eluidas a los tubos de almacenamiento con pipeta. Deseche los tubos de elución azules tras transferir la muestra eluida.

    Nota: Para evitar la transferencia de partículas, utilice una punta de pipeta para aspirar las muestras y separarlas de las partículas capturadas en el lateral del tubo de elución azul.





14. Retire los cartuchos y émbolos de la plataforma del instrumento y deséchelos. **No** reutilice los cartuchos de reactivos, los émbolos o los tubos de elución.

5. Solución de problemas

Si no encuentra aquí la respuesta a sus preguntas, póngase en contacto con su oficina o distribuidor local de Promega. Información de contacto en: **www.promega.com**. Dirección de correo electrónico: **esp_techserv@promega.com**

Síntomas	Causas y comentarios
A_{260} inferior a lo esperado (rendimiento inferior al esperado)	La muestra de sangre total tenía un bajo recuento de leucocitos. El rendimiento total de ADN genómico procedente de muestras de sangre depende del recuento de leucocitos presente en las mismas.
	La muestra de sangre total no se mezcló antes de ser procesada. Asegúrese de mezclar las muestras de sangre total antes de procesarlas para que los leucocitos estén en suspensión.
	Se ha procesado una cantidad de muestra excesiva. Procesar una cantidad de muestra superior a la recomendada no aumenta necesariamente el rendimiento y puede provocar un resultado y una pureza subóptima del ADN.
No hay ADN	La muestra fue colocada en el pocillo nº 7 en lugar de en el pocillo nº 1 del cartucho de purificación de ADN. Compruebe que la orientación del cartucho de purificación de ADN sea la correcta, de forma que la muestra se añada al pocillo nº 1. El pocillo nº 1 es el más cercano al lado etiquetado del cartucho.
Arrastre de partículas	El ADN purificado de muestras con un gran número de leucocitos puede ser viscoso y de difícil aclarado durante la elución. Lleve a cabo una segunda captura de partículas usando la gradilla de elución magnética o extraiga las partículas mediante centrifugación.

[a]U.S. Pat. Nos. 6,027,945, 6,368,800 and 6,673,631, European Pat. No. 1 204 741 and Japanese Pat. No. 4425513.

© 2008, 2010, 2012, 2013 Promega Corporation. Todos los derechos reservados.

Maxwell y MagneSil son marcas comerciales registradas de Promega Corporation.

Vacutainer es una marca comercial registrada de Becton, Dickinson and Company.

Los productos pueden estar amparados por patentes pendientes o expedidas o tener ciertas limitaciones. Visite nuestra web para obtener más información.

Todos los precios y especificaciones están sujetas a cambios sin aviso previo.

Las características de los productos están sujetas a cambios. Póngase en contacto con los Servicios técnicos de Promega o acceda al catálogo en línea de Promega para obtener la imformación más actualizada acerca de los productos Promega.