

3207-0010

chemagic™ DNA CS200 kit

Instruções de uso. Reagentes para 960 extrações.

Fabricante:

Wallac Oy

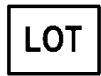
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlândia

Telefone: +358 2 2678 111

PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE

revvity

SÍMBOLOSDispositivo médico para uso diagnóstico *in vitro*

Número do lote



Número de embalagem



Número de catalogo



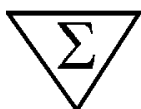
Data limite de utilização



Limite de temperatura



Guardar longe da luz



Conteúdo suficiente para <n> testes



Consultar Instruções de uso



Fabricante



GHS02



GHS08



GHS07



GHS05



Este lado para cima



Reciclável



Frágil, manusear com cuidado



Mantenha seco

ÍNDICE

SÍMBOLOS	2
FINALIDADE.....	5
RESUMO E PRINCÍPIO	5
CONTEÚDO DO KIT	5
Reagentes.....	6
MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O KIT	13
COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS	13
Estabilidade das amostras de plasma	14
Estabilidade das amostras de sangue total	14
Influência das substâncias interferentes.....	14
CUIDADOS E PRECAUÇÕES	14
PROCEDIMENTO	15
Protocolo de extração com o instrumento chemagic 360-D	15
Etapas detalhadas do processamento	16
Protocolo de extração usando o instrumento chemagic Prime Jr-D.....	20
OBSERVAÇÕES SOBRE O PROCEDIMENTO.....	20
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO.....	21
CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO	21
Amostras de sangue.....	21
Amostras de plasma.....	23
GARANTIA	25

chemagic™ DNA CS200 kit

FINALIDADE

O kit chemagic™ DNA CS200 destina-se à extração e purificação de DNA do sangue total ou plasma humano para análise por sistemas de teste de diagnóstico PCR *in vitro*. O distúrbio e a determinação dos analitos dependem do próximo ensaio PCR na sequência. O produto deve ser utilizado em um fluxo de trabalho automatizado somente por profissionais de laboratório treinados.

RESUMO E PRINCÍPIO

O kit chemagic DNA CS200 baseia-se em uma plataforma de tecnologia de esferas magnéticas de propriedade da Revvity chemagen Technologie GmbH. As células ou outras fontes de DNA presentes nas amostras de sangue total ou plasma são lisadas durante o processo de extração. Os ácidos nucleicos liberados se ligam a pequenas partículas magnetizáveis que, em seguida, são separadas magneticamente do material da amostra. Durante as etapas seguintes, os contaminantes são removidos e os ácidos nucleicos purificados são transferidos para um tampão de eluição. O processamento automatizado da amostra é realizado utilizando-se o instrumento chemagic 360-D (2024-0010) com o chemagic 360 96 Rod Head Set (conjunto de cabeças da haste chemagic 360 96) (CMG-370) ou chemagic Prime™ Jr-D (2029-0010).

CONTEÚDO DO KIT

O kit contém reagentes suficientes para realizar 960 extrações.

A data de validade do kit fechado está especificada na etiqueta externa. Não use nenhum componente com a data de validade vencida. Conserve a uma temperatura entre +2 e +25°C.

Depois de aberto, os componentes do kit possuem estabilidade limitada. A estabilidade após a abertura está indicada para cada componente em separado, na lista de reagentes abaixo. Observação: tampe bem os frascos imediatamente após o uso para evitar a evaporação.

Os frascos podem descolorir durante o armazenamento. A descoloração dos frascos não produz efeitos sobre o funcionamento do ensaio.

O kit contém os seguintes itens:

Componente	Quantidade
Magnetic Beads B (Esferas magnéticas B)	1 frasco, 150 mL
Lysis Buffer P (Tampão de lise P)	1 frasco, 480 mL
Binding Buffer P (Tampão de ligação P)	2 frascos, 550 mL
Lysis Buffer B (Tampão de lise B)	1 frasco, 480 mL
Binding Buffer B (Tampão de ligação B)	2 frascos, 550 mL
Wash Buffer BB (Tampão de lavagem BB)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer BA (Tampão de lavagem BA)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer E (Tampão de lavagem E)	1 frasco, 700 mL
Wash Buffer H (Tampão de lavagem H)	1 frasco, 700 mL
Elution Buffer (Tampão de eluição)	1 frasco, 240 mL
Proteinase K (Proteinase K)	5 frascos (liofilizada)
Poly(A)RNA (Poli-A RNA)	10 tubos (seca)
Poly(A)RNA buffer (Tampão de Poli-A RNA)	10 tubos, 0.5 mL
Disposable Tips (96 ea) (Ponteiras descartáveis (96 unidades))	10 x 96 unidades

Reagentes

Componente	Estabilidade e armazenamento
Esferas magnéticas B	Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

Suspensão de partículas contendo óxido de ferro nanoparticulado, encapsulado em uma matriz de álcool polivinílico. As esferas magnéticas (28.0 ± 0.5 mg/mL) se ligam ao DNA durante o processo de extração.

Tampão de lise P



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Guardar longe da luz. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução tampão aquosa pronta para uso, contendo tiocianato de guanidina (50–75%). O tampão de lise é usado para lisar as células ou outras fontes de DNA presentes na amostra, para obter o DNA em solução.

O tampão de lise P contém tiocianato de guanidínio:

H302+H312+H332 Nocivo se ingerido, em contato com a pele ou se inalado.

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H412 Nocivo para a vida aquática, podendo causar efeitos nefastos e duradouros.

P260 Não respire poeiras ou névoas.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P310 Ligue imediatamente para um CENTRO DE INTOXICAÇÃO/médico.

P362+P364 Retire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizá-la.

P405 Armazene em local seguro.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

EUH032 O contato com ácidos libera gases muito tóxicos.

Tampão de ligação P



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução de Tris-HCl tamponada (pH 5.0–5.9), pronta para uso, com perclorato de sódio (25–50%), ácido acético (1–2.5%) e etanol (25–50%). O tampão de ligação é usado para criar as condições apropriadas para obter o DNA ligado às esferas magnéticas.

O tampão de ligação P contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor altamente inflamáveis.

H302 Nocivo se ingerido.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida.

P210 Mantenha longe do calor, superfícies quentes, chamas acesas e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Use equipamento à prova de explosões [elétrica, ventilação, raios].

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P403+P235 Armazene em um local bem ventilado. Conservar em local fresco.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Tampão de lise B



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Evite a exposição do kit à luz solar direta. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

ATENÇÃO

Solução tampão aquosa pronta para uso (pH 6.9–7.4), contendo cloreto de guanidina (15–25 %) e detergente. O tampão de lise é usado para lisar as células sanguíneas para obter o DNA em solução.

O tampão de lise B contém cloreto de guanidínio:

H315 Provoca irritação na pele.

H319 Provoca irritação ocular grave.

P264 Lave bem após manusear.

P280 Use luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P332+P313 Se ocorrer irritação da pele: procure aconselhamento/atendimento médico.

P362+P364 Retire a roupa contaminada e lave-a antes de reutilizá-la.

P337+P313 Se a irritação ocular persistir: Procure aconselhamento/atendimento médico.

Tampão de ligação B



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução de Tris-HCl tamponada (pH 5.0–5.9), pronta para usar, com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). O tampão de ligação é usado para criar as condições apropriadas para que o DNA se ligue às esferas magnéticas.

O tampão de ligação B contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor altamente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida.

P210 Mantenha longe do calor, superfícies quentes, chamas acesas e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Use equipamento à prova de explosões [elétrica, ventilação, raios].

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P403+P235 Armazene em um local bem ventilado. Conservar em local fresco.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Tampão de lavagem BB



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução de Tris-HCl tamponada (pH 5.0–5.6) pronta para uso, com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). Usada para remover contaminantes não relacionados com o DNA durante a etapa de lavagem.

O tampão de lavagem BB contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor altamente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida.

P210 Mantenha longe do calor, superfícies quentes, chamas acesas e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Use equipamento à prova de explosões [elétrica, ventilação, raios].

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P403+P235 Armazene em um local bem ventilado. Conservar em local fresco.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Tampão de lavagem BA



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução de Tris-HCl tamponada (pH 5.0–5.6) pronta para uso, com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). Usada para remover contaminantes não relacionados com o DNA durante a etapa de lavagem.

O tampão de lavagem BA contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor altamente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida.

P210 Mantenha longe do calor, superfícies quentes, chamas acesas e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Use equipamento à prova de explosões [elétrica, ventilação, raios].

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P403+P235 Armazene em um local bem ventilado. Conservar em local fresco.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Tampão de lavagem E



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

PERIGO

Solução pronta para uso, contendo etanol a 50–75 %. Usada para remover os últimos vestígios de contaminantes não relacionados com o DNA durante a etapa de lavagem.

O tampão de lavagem E contém etanol:

H225 Líquido e vapor altamente inflamáveis.

P210 Mantenha longe do calor, superfícies quentes, chamas acesas e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Use equipamento à prova de explosões [elétrica, ventilação, raios].

P280 Use luvas de proteção/roupas de proteção/protetores oculares/protetores faciais.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P403+P235 Armazene em um local bem ventilado. Conservar em local fresco.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Tampão de lavagem H

Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

Solução aquosa ultrafiltrada, pronta para uso. Usada para remover possíveis resíduos de etanol.

Tampão de eluição

Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de aberto, é estável por 60 dias a uma temperatura entre +2 e +25 °C.

Solução Tris-HCl tamponada 10 mM (pH 7.8–8.4), pronta para uso.

Proteinase K



Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do frasco. Depois de reconstituída, é estável por 28 dias a uma temperatura entre +2 e +8°C.

PERIGO

A proteinase K (Proteinase 50–90%) é reconstituída com a adição de 2.5 mL de água de grau molecular. A proteinase K é adicionada para aumentar a eficiência da etapa de lise.

A proteinase K contém proteinase, serina de Tritirachium album:

H315 Provoca irritação na pele.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H334 Pode provocar alergia ou sintomas de asma, além de dificuldades respiratórias se inalado.

H335 Pode provocar irritação respiratória.

P261 Evite inalar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray.

P280 Use luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P284 [No caso de ventilação inadequada] use proteção respiratória.

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P405 Armazene em local seguro.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

Poli-A RNA

Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do tubo. Depois de reconstituída, é estável por 30 dias a uma temperatura entre +2 e +8°C.

A Poli-A RNA é reconstituída com a adição de 440 µL de tampão de Poli-A RNA. A Poli-A RNA funciona como um transportador de DNA para aumentar a eficiência do processo de extração.

Tampão de Poli-A RNA

Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade especificada na etiqueta do tubo.



PERIGO

Solução tampão aquosa pronta para uso, contendo tiocianato de guanidina (25–50%). O tampão de Poli-A RNA é usado na reconstituição da Poli-A RNA.

O tampão de Poli(A)RNA contém tiocianato de guanidínio:

H302+H332 Nocivo se ingerido, em contato com a pele ou se inalado.

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H412 Nocivo para a vida aquática, podendo causar efeitos nefastos e duradouros.

P260 Não respire poeiras ou névoas.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): retire imediatamente todas as roupas contaminadas. Lave a pele com água [ou tome um banho].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: lave cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se houver e for fácil fazê-lo. Continue enxaguando.

P310 Ligue imediatamente para um CENTRO DE INTOXICAÇÃO/médico.

P405 Armazene em local seguro.

P501 Descarte o conteúdo/recipiente de acordo com as normas locais.

EUH032 O contato com ácidos libera gases muito tóxicos.

Ponteiras descartáveis
(96 unidades)

Temperatura entre +2 e +25°C até a data de validade
especificada na etiqueta.

MATERIAIS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O KIT

O kit chemagic DNA CS200 requer os seguintes itens, disponíveis na Wallac Oy ou na Revvity, Inc. e seus distribuidores:

- chemagic 360-D (Nº de prod. 2024-0010) com o Conjunto de Cabeças da haste chemagic 360 96 (Nº de prod. CMG-370) ou chemagic Prime Jr-D (Nº de prod. 2029-0010)
- consumíveis para a Extração de DNA chemagic (placas de poços rasos, placas de poços fundos, Nº de prod. 4148-0010)

Itens adicionais necessários:

- pipetas e ponteiros de pipeta com barreiras contra aerossol
- água de grau molecular

Itens adicionais opcionais:

- chemagic Stand 96 (nº do prod. CMG-301)

COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS

Devem ser usadas amostras de plasma humano (200 µL), fresco ou normalmente armazenado por até cinco dias, a uma temperatura de +2 a +8 °C ou armazenado congelado a uma temperatura de -20 a -80 °C. As amostras congeladas não devem ser descongeladas mais de uma vez. Os estabilizantes de amostras recomendados são EDTA ou citrato. O uso de amostras de plasma estabilizadas com heparina pode causar problemas de inibição na PCR e, por isso, não é recomendado.

Devem ser usadas amostras de sangue total (200 µL), fresco ou armazenado por um período máximo de uma semana, a uma temperatura de +2 a +8°C. Os estabilizantes de sangue recomendados são EDTA ou citrato. O uso de amostras de sangue estabilizadas com heparina pode causar problemas de inibição na PCR e, por isso, não é recomendado. A contagem de glóbulos brancos nas amostras de sangue total diminui durante o armazenamento.

A contagem de glóbulos brancos nas amostras de sangue total diminui durante o armazenamento. O armazenamento de amostras pode causar um rendimento ruim da extração de DNA.

A eficiência da extração usando outros tipos de materiais de amostra ainda não foi determinada.

Estabilidade das amostras de plasma

A influência do tempo de armazenamento e da temperatura foi estudada¹ usando várias amostras de plasma, confirmadas como negativas e positivas para Citomegalovírus (CMV), coletadas em tubos de coleta contendo EDTA ou citrato como anticoagulante. As amostras foram armazenadas a -20 °C. O DNA extraído foi analisado com CE IVD registrado abaixo para diagnóstico de CMV em singlicato e foi categorizado como CMV-positivo e CMV-negativo. Nenhum desvio clinicamente significativo foi observado nos resultados em comparação com o método de extração do comparador.

Estabilidade das amostras de sangue total

A influência do tempo de armazenamento e da temperatura foi estudada² usando várias amostras de sangue total coletadas de doadores saudáveis em tubos de coleta contendo EDTA ou citrato como anticoagulante. As amostras foram armazenadas entre +2 e +8 °C por até 7 dias. As amostras de DNA extraídas foram replicadas no ensaio de PCR registrado CE IVD e as amostras foram testadas por um kit de ensaio posterior, já disponível comercialmente, para detectar a síndrome do X Frágil utilizando amostras de referência recomendadas pelo National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Nenhum desvio clinicamente significativo foi observado nos resultados.

Influência das substâncias interferentes

O efeito das substâncias contidas no sangue total ou plasma humano com possível interferência na extração do DNA foi testado³ tanto em amostras de sangue total quanto em amostras de plasma. As substâncias testadas e suas concentrações são apresentadas na tabela a seguir. Com base nos resultados, concluiu-se que as substâncias testadas não interferem na extração do DNA.

Substâncias interferentes	Concentração	Interferência
Bilirrubina conjugada	332 µg/mL	Não
Bilirrubina não conjugada	200 µg/mL	Não
Triglicerídeos	30 mg/mL	Não
Albumina de soro humano	30 mg/mL	Não

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

O produto deve ser utilizado somente por profissionais de laboratório treinados.

Para minimizar irregularidades nos resultados de diagnóstico, o produto deve ser utilizado com um controle interno, bem como controles positivos e negativos durante todo o processo de preparação da amostra, e amplificação e detecção da amostra de acordo com o próximo ensaio utilizado na sequência.

¹ Estudo realizado no Turku University Hospital, Turku, Finlândia.

² Estudo realizado na Wallac Oy, Turku, Finlândia.

³ Estudo realizado na Revvity chemagen Technologie GmbH, Baesweiler, Alemanha.

Manuseie todas as amostras dos pacientes como potencialmente infecciosas. Mesmo assim, todas as precauções recomendadas para o manuseio dos derivados de sangue devem ser observadas. Consulte a publicação "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Biossegurança em Laboratórios Biomédicos e de Microbiologia), do Departamento de Saúde e Serviço Social dos Estados Unidos, ou outras regulamentações locais ou nacionais.

O tampão de lise contém tiocianato de guanidínio e é nocivo se for ingerido, entrar em contato com a pele ou inalado, provoca queimaduras graves na pele e lesão ocular, sendo nocivo para a via aquática com efeitos de longa duração. **O tampão de ligação P contém perclorato de sódio e etanol** e é um líquido e vapor altamente inflamável, sendo nocivo se ingerido, que provoca irritação ocular grave e pode causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida. **O tampão de poli(A)RNA contém tiocianato de guanidínio** e é nocivo se for ingerido ou inalado, provoca queimaduras graves na pele e lesão ocular, sendo nocivo para a via aquática com efeitos de longa duração. **O tampão de lavagem BB, tampão de lavagem BA e tampão de ligação B contém perclorato de sódio e etanol** e são líquidos e vapores altamente inflamáveis, que provocam irritação ocular grave e podem causar danos aos órgãos por meio da exposição prolongada ou repetida. **O tampão de lise B contém cloreto de guanidínio** e provoca irritação na pele e irritação ocular grave. **Tampão de lavagem E contém etanol** e é altamente inflamável como líquido e vapor. **A Proteinase K contém Proteinase, serina de Tritirachium album** e provoca irritação na pele e irritação ocular grave, e pode provocar alergia ou sintomas de asma ou dificuldades respiratórias se for inalada e pode causar irritação respiratória. Veja as precauções específicas na seção "CONTEÚDO DO KIT".

Para evitar acidentes ao trabalhar com os componentes do kit, use sempre óculos de proteção, luvas descartáveis e roupas de proteção. Para obter informações detalhadas, consulte as folhas de dados de segurança (SDS) do respectivo produto.

Siga as normas locais de manuseio de soluções etanólicas.

O descarte de todos os resíduos também deve estar de acordo com as regulamentações locais.

Para um paciente/usuário/terceiro na União Europeia e nos países com um regime regulatório idêntico (IVDR; EU 2017/746/EU); se, durante o uso deste dispositivo ou em consequência do seu uso, ocorrer um incidente grave, comunique ao fabricante e à sua autoridade nacional. As informações de contato do fabricante deste dispositivo para comunicar um incidente grave estão afixadas na capa destas instruções de uso.

PROCEDIMENTO

Protocolo de extração com o instrumento chemagic 360-D

A duração do protocolo de extração automatizada é de aproximadamente 75 minutos.

O protocolo é adequado para o processamento de até 96 amostras em paralelo (consulte as etapas do protocolo abaixo). Para obter instruções detalhadas sobre o uso do instrumento chemagic 360-D, consulte o seu manual do usuário.

Os reagentes e as amostras devem ser colocados à temperatura ambiente (+19 a +25°C) antes de serem utilizados.

Observação: Tampe bem os frascos imediatamente após o uso, ou mantenha-os conectados firmemente ao instrumento chemagic 360-D. O tampão de ligação P, o tampão de ligação B, o tampão de lavagem BB, o tampão de lavagem BA e o tampão de lavagem E contêm etanol. Se o etanol evaporar, o rendimento máximo ou a sensibilidade de detecção não podem ser garantidos.

Etapas detalhadas do processamento

Etapas de preparação

1. Verifique se todos os componentes do kit estão em boas condições. Se encontrar algum dano, contate o fornecedor.
2. Para amostras de plasma: reconstitua os componentes da proteinase K e da Poli-A RNA.
 - a. Proteinase K: adicione 2.5 mL de água de grau molecular ao frasco da proteinase K e misture cuidadosamente até dissolver.
 - b. Poli-A RNA: adicione 440 µL do tampão de Poli-A RNA ao tubo de Poli-A RNA e misture bem até dissolver.
3. Para amostras de plasma: caso o tampão de lise P contenha precipitado (formado durante a transferência ou no armazenamento), a solução deve ser aquecida a 50–60°C e bem misturada até ficar transparente. A transparência do tampão de lise P deve ser sempre confirmada visualmente antes do uso (a inspeção visual deve ser feita antes da mistura e da abertura da tampa do frasco).
4. Conecte os frascos de reagente ao instrumento chemagic 360-D do seguinte modo:
 - Distribuidor 1: nenhum frasco conectado
 - Distribuidor 2: nenhum frasco conectado
 - Distribuidor 3: tampão de lavagem BB
 - Distribuidor 4: tampão de lavagem BA
 - Distribuidor 5: tampão de lavagem E
 - Distribuidor 6: tampão de lavagem H
5. Encha e prepare o tubo do chemagic 360-D com reagentes, escolhendo o protocolo **'prime manifolds H96 all 360 V150116'**. Pressione o botão [Insert IDs], siga as instruções do software e inicie a preparação pressionando o botão [OK]. Se as funções que permitem a entrada dos dados da ID estiverem desativadas, inicie a preparação pressionando o botão [Start]. A preparação tem que ser feita quando os frascos de reagente forem conectados ao instrumento chemagic 360-D pela primeira vez, ou quando o tubo do instrumento ainda não estiver cheio com os reagentes mencionados acima.
6. Assegure-se de que as amostras estejam homogêneas no momento da pipetagem em uma placa, misturando-as cuidadosamente.

Etapas do protocolo

As **esferas magnéticas B** (placa de poço raso na posição 2 da placa no instrumento chemagic 360-D) são ressuspensas misturando-as bem e pipetando-as manualmente (150 µL/poço) em cada poço de amostra correspondente que estiver sendo usado.

O **tampão de eluição** (placa de poço profundo na posição 8 da placa no instrumento chemagic 360-D) é pipetado manualmente (100 µL/poço) em cada poço de amostra correspondente que estiver sendo usado.

As etapas de preparação da amostra são feitas manualmente. Os reagentes usados na preparação da amostra dependem do tipo de amostra (sangue total/plasma). Após a conclusão das etapas de preparação de amostras (consulte a tabela de etapas de preparação de amostras), a placa de amostras é colocada no instrumento chemagic 360-D e o processo de extração automática do DNA é iniciado.

OBSERVAÇÃO: A execução da extração automatizada deve ser iniciada imediatamente após a adição do tampão de ligação P e/ou do tampão de ligação B aos poços de amostra lisados. A demora pode causar um rendimento e pureza inferiores.

Consulte a tabela abaixo para obter informações mais detalhadas sobre a posição da placa e os detalhes da etapa do protocolo.

Execução da Extração de DNA Automatizada no instrumento chemagic 360-D

Posição no sistema de rastreamento *	Material em posição	Etapas detalhadas do protocolo
		<p>Selecione o protocolo 'check manifolds H96 all 360 V150116' para lavar o tubo antes de iniciar a execução da extração automatizada.</p> <p>Pressione o botão [Insert IDs], siga as instruções no software e inicie a lavagem pressionando o botão [OK].</p> <p>Se as funções que permitem a entrada dos dados da ID estiverem desativadas, inicie a lavagem pressionando os botões [OK] e [Start].</p>
		<p>Ao usar as funções que permitem a entrada dos dados da ID, selecione o protocolo '---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che' e pressione o botão [Insert IDs]. Siga as instruções no software para introduzir os dados necessários.</p> <p>Carregue as placas nas posições de 1-8 do sistema de rastreamento. Quando todas as placas estiverem posicionadas, pressione o botão [OK].</p>
1	Suporte com ponteiros descartáveis	Use as ponteiros descartáveis segundo as posições das amostras. Observação: As ponteiros devem estar em todas as filas do suporte.
2	Placa de poço raso Esferas magnéticas B 150 µL	<p>Faça a pipetagem completa das esferas magnéticas B ressuspendidas em cada poço de amostra que estiver sendo usado.</p> <p>Coloque a placa na posição 2 do suporte.</p>
Prepare as amostras segundo os procedimentos descritos nas tabelas separadas. As amostras devem ser preparadas após finalizar todas as outras etapas de preparação, e as placas devem ser colocadas nas posições 1-2 e 4-8 do sistema de rastreamento.		
3	Placa de amostra (Placa de poço profundo)	Coloque a placa com as amostras preparadas na posição 3 do suporte e verifique se todas as placas estão bem posicionadas e encaixadas. Feche a portal frontal e inicie o processo de extração de DNA imediatamente.
4	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na posição 4 do suporte. O tampão de lavagem BB é distribuído na placa automaticamente.
5	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na posição 5 do suporte. O tampão de lavagem BA é distribuído na placa automaticamente.
6	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na posição 6 do suporte. O tampão de lavagem E é distribuído na placa automaticamente.
7	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na posição 7 do suporte. O tampão de lavagem H é distribuído na placa automaticamente.
8	Placa de poço profundo tampão de eluição 100 µL	Coloque a placa do tampão de eluição preenchida na posição 8 do suporte.
		<p>Ao usar as funções que permitem a entrada dos dados da ID, a execução da extração é iniciada pressionando o botão [Start], no fim do diálogo.</p> <p>Se as funções que permitem a entrada dos dados da ID estiverem desativadas, coloque as placas nas posições de 1-8 do sistema de rastreamento.</p> <p>Quando todas as placas estiverem posicionadas, selecione o protocolo '---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che', marque as colunas que estiverem sendo usadas no mapa da placa no diálogo e inicie a execução da extração pressionando o botão [Start].</p>

* Os números no sistema de rastreamento se referem ao posicionamento da placa no instrumento chemagic 360-D.

Preparação da amostra, amostras com sangue total

Material	Etapas detalhadas do protocolo
Placa de poço profundo Sangue 200 µL (amostra) Tampão de lise B 450 µL	Coloque 200 µL de sangue total em até 96 poços da placa de amostra. Adicione o tampão de lise B aos poços que contêm amostra e incube a placa por 10 minutos.
Tampão de ligação B 1050 µL	Adicione o tampão de ligação B a cada poço de amostra de sangue total lisada. Coloque a placa de amostra na posição 3 do suporte e inicie a execução imediatamente.

Preparação da amostra, amostras de plasma

Material	Etapas detalhadas do protocolo
Placa de poço profundo Poli-A RNA reconstituída 4 µL Proteinase K reconstituída 10 µL Plasma (amostra) 200 µL Tampão de lise P 450 µL	Adicione a Poli-A RNA e a proteinase K reconstituídas aos poços de amostra. Coloque 200 µL de plasma em até 96 poços da placa de amostra. Adicione o tampão de lise P aos poços que contêm amostra e incube as amostras em 50–60 °C por 10 minutos. A atividade da proteinase K diminuirá após um tempo de incubação superior a 10 minutos no tampão de lise P. Certifique-se de que todas as amostras estejam misturadas com Poli(A)RNA/Proteinase K/Tampão de lise P durante a incubação.
Tampão de ligação P 1050 µL	Adicione o tampão de ligação P a cada poço de amostra de plasma lisada. Coloque a placa de amostra na posição 3 do suporte e inicie a execução imediatamente.

Ao finalizar o procedimento de isolamento, recolha os eluatos de DNA e use o botão [Turn Table] para descarregar o sistema de rastreamento. Cada clique no botão [Turn Table] move o sistema de rastreamento (bandeja) no sentido horário em uma posição. Nunca mova o sistema de rastreamento (bandeja) manualmente. Observação: não gire o eixo x manualmente, pois isso pode causar danos ao equipamento. Todos os movimentos devem ser realizados com a função [Turn Table].

Protocolo de extração usando o instrumento chemagic Prime Jr-D

A duração do protocolo de extração automatizada é de aproximadamente 3 horas e 10 minutos.

O protocolo é adequado para o processamento de até 48 amostras por execução e fornece processamento automatizado de amostras. Para obter instruções detalhadas sobre o uso do instrumento chemagic Prime Jr-D, consulte o manual do instrumento chemagic Prime Jr-D.

Os reagentes e as amostras devem ser colocados à temperatura ambiente (+19 a +25°C) antes de serem utilizados.

OBSERVAÇÕES SOBRE O PROCEDIMENTO

1. É necessário compreender perfeitamente este suplemento e o manual do instrumento chemagic 360-D para que o uso do kit chemagic DNA CS200 seja bem-sucedido.
2. Não use reagentes de kits após a data de validade impressa no rótulo. Depois de abertos, os reagentes podem ser usados pelo período de tempo indicado na lista de reagentes do folheto.
3. Qualquer variação no protocolo pode interferir nos resultados.
4. Os reagentes são distribuídos automaticamente por filas completas; portanto, as tampas das ponteiras (incluídas no kit) também devem ser usadas em filas completas, em cada haste em contato com qualquer solução reagente. Também deve ser observado que se forem executadas placas parciais, as soluções podem não ser suficientes para 960 extrações.
5. A abertura da porta do instrumento chemagic 360-D durante a execução de uma extração finalizará a execução e as amostras que estiverem sendo processadas podem ser perdidas.
6. A limpeza e manutenção do sistema está descrita em detalhes no manual do usuário do chemagic 360-D.
 - A limpeza do sistema é realizada uma vez por semana: limpeza do Dispensador chemagic. Selecione o protocolo '**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**' e pressione botão [Insert IDs] ou o botão [Start] se as funções avançadas estiverem desativadas. Siga as instruções no software.
 - Antes do próximo uso do Dispensador chemagic, realize o protocolo de preparação apropriado.
 - Recomendamos a limpeza do Dispensador chemagic com 70% de etanol uma vez por mês. Para isso, basta usar o '**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**' em vez do procedimento habitual.
 - Se não for usar o Dispensador chemagic por um longo período, é obrigatório realizar o "procedimento de limpeza habitual" para manter a qualidade do desempenho do instrumento quando for usado novamente.
7. A quantidade de DNA da amostra de sangue total obtida pode ser quantificada usando um método independente, por exemplo, a medição UV.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Em alguns casos, podem ficar vestígios de esferas magnéticas B no eluato. Embora normalmente essas partículas não interfiram na PCR ou na maioria das aplicações posteriores, recomendamos uma etapa de separação adicional usando um separador magnético (chemagic Stand 96, fornecido com o Conjunto de Cabeças da haste chemagic 360 96, nº de prod. CMG-370) ou uma centrifugação para separar qualquer vestígio de partículas. Para a medição UV de eluatos de DNA de amostras de sangue total, traços de esferas magnéticas podem causar um fundo mais elevado e uma etapa de separação deve ser feita antes da quantificação.

O DNA extraído deve ser usado imediatamente após a extração no teste de diagnóstico *in vitro* desejado.

O kit não se destina a ser usado para extração e purificação de genoma humano ou cfDNA humano a partir de amostra de plasma, ou cfDNA humano a partir de amostra de sangue total.

A produção de DNA depende fortemente das características do sangue, por exemplo, a baixa contagem de leucócitos resulta em uma diminuição da produção de DNA.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Amostras de sangue

O desempenho do kit chemagic DNA CS200 (3207-0010) e do instrumento chemagic 360-D (2024-0010), usando amostras de sangue total, foi determinado por meio de amostras de extrações de DNA de doadores saudáveis. O rendimento médio de cada amostra foi calculado e tabulado em relação à contagem de glóbulos brancos. A tabela 1 mostra a estatística descritiva das médias de amostras e dos rendimentos do DNA apresentados nas figuras 1 e 2, usando tubos de ensaio com EDTA e citrato. Observação: O rendimento de DNA também é afetado pela diluição da amostra provocada pelo tubo de ensaio usado (o volume de conservante é diferente nos tubos de amostra com EDTA e citrato).

Os resultados da pureza do DNA extraído são mostrados na figura 3.

Tabela 1. A estatística descritiva dos resultados da amostra

Variável	N	Mediana	Média	Mínimo	Máximo
Rendimento de citrato (µg/amostra de 200 µL)	41	4.6	4.6	3.0	6.6
Rendimento de EDTA (µg/amostra de 200 µL)	41	5.1	5.2	2.8	7.9

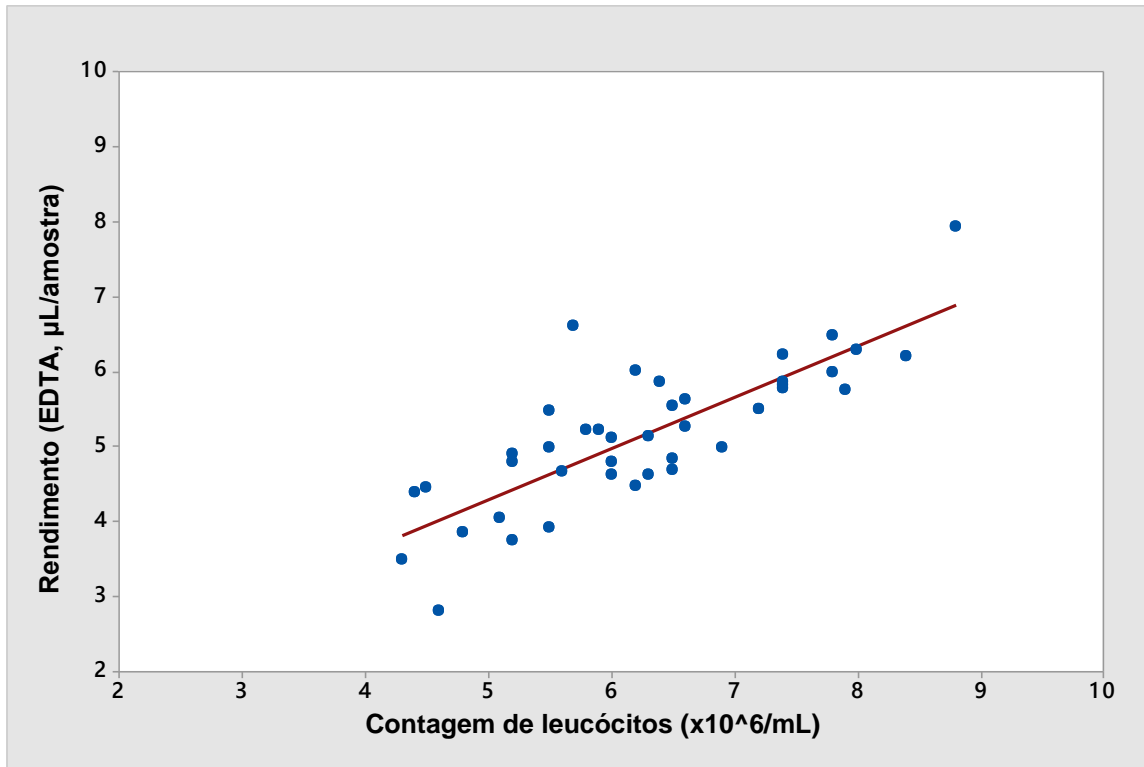


Figura 1. O rendimento do DNA (tubos com EDTA, 41 amostras) de volume de amostras de 200 µL. As contagens de glóbulos brancos dos doadores saudáveis foram determinadas e estavam na faixa de 4.3 – 8.8 x 10⁶ cél/mL.

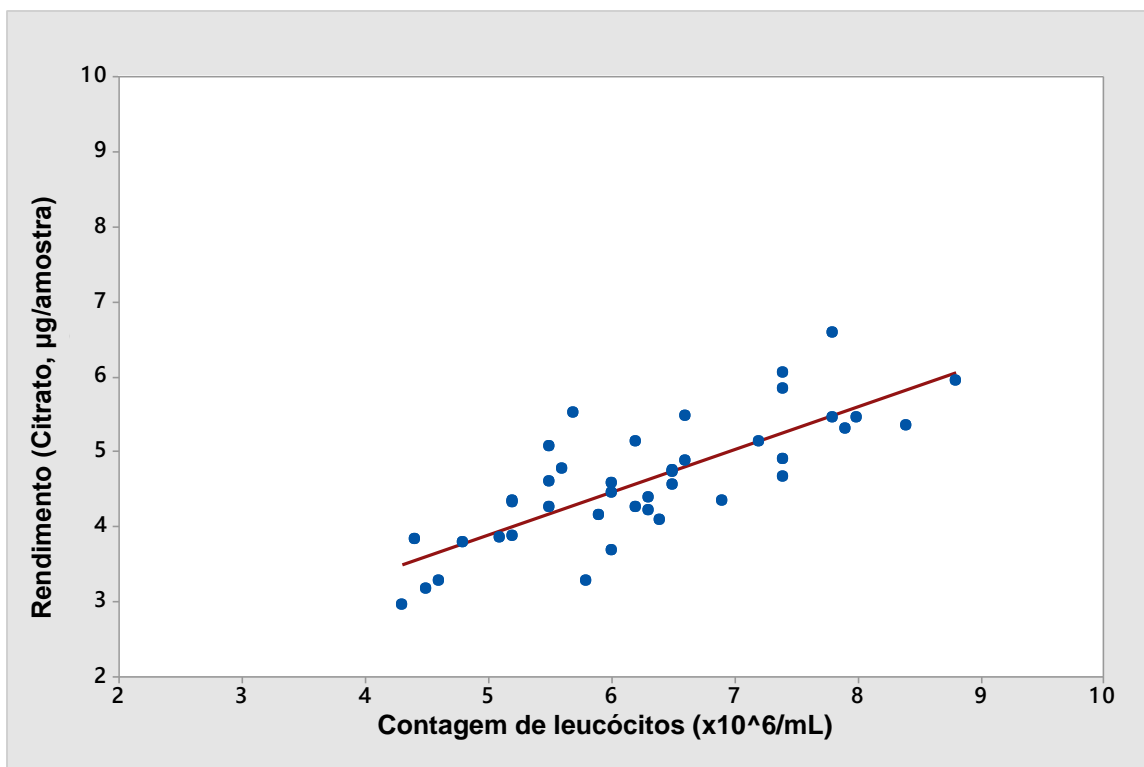


Figura 2. O rendimento do DNA (tubos com citrato, 41 amostras) de volume de amostras de 200 µL. As contagens de glóbulos brancos dos doadores saudáveis foram determinadas e estavam na faixa de 4.3 – 8.8 x 10⁶ cél/mL.

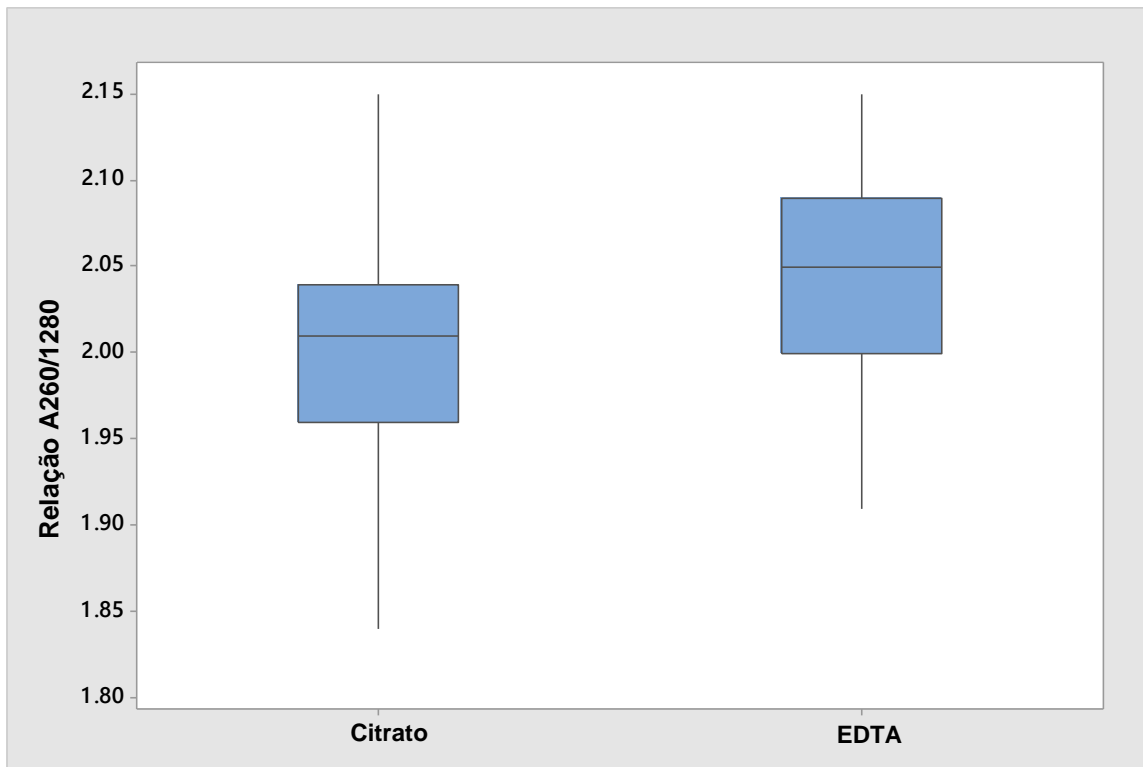


Figura 3. A pureza do DNA extraído (Índice de absorvância A260/A280) das 41 amostras de Citrato e 41 amostras de EDTA.

Amostras de plasma

O estudo de avaliação de desempenho do Kit chemagic DNA CS200 (3207-0010) e do instrumento chemagic 360-D (2024-0010) usando amostras de plasma foi realizado no laboratório de testes credenciado FINAS (EN ISO/IEC 17025), usando uma aplicação posterior para o diagnóstico de citomegalovírus (CMV), com a marcação CE IVD. Os resultados de amostras de pacientes positivos com números de cópias de CMV estão na tabela 2.

Tabela 2. Os resultados de amostras de pacientes positivos com CMV

ID da amostra	Dispositivo de investigação (plataforma de extração de DNA chemagic)		Dispositivo comparador (plataforma de extração de DNA com marcação CE IVD)	
	Resultado do kit de CMV (cópias/mL)	Avaliação da detecção	Resultado do kit de CMV (cópias/mL)	Avaliação da detecção
001	2400	Positivo	650	Positivo
003	700	Positivo	2100	Positivo
005	2000	Positivo	1500	Positivo
007	600	Positivo	550	Positivo
009	650	Positivo	450	Positivo
011	200	Positivo	100	Positivo

013	1100	Positivo	300	Positivo
015	24000	Positivo	14000	Positivo
017*	50	Positivo	NA	Negativo
019	16000	Positivo	9900	Positivo
021	6.8 x 10E6	Positivo	4.5 x 10E6	Positivo
025	8600	Positivo	3800	Positivo
029	NA	Negativo	NA	Negativo
031	1200	Positivo	250	Positivo
033	1000	Positivo	800	Positivo
035*	NA	Negativo	100	Positivo
037	2000	Positivo	2300	Positivo
039	400	Positivo	100	Positivo
041	250	Positivo	150	Positivo
043	84000	Positivo	67000	Positivo
047	1100	Positivo	1000	Positivo
049	27000	Positivo	15000	Positivo
051	1300	Positivo	1100	Positivo
053	9500	Positivo	13000	Positivo
057	5000	Positivo	2300	Positivo
059	230000	Positivo	130000	Positivo
061	1200	Positivo	1400	Positivo
065	1600	Positivo	2700	Positivo
067	16000	Positivo	11000	Positivo
069	5700	Positivo	4300	Positivo
071	8400	Positivo	4100	Positivo
073	83000	Positivo	70000	Positivo
075	4200	Positivo	5900	Positivo
077	950	Positivo	1400	Positivo
079	800	Positivo	400	Positivo
081	2000	Positivo	600	Positivo
082	2200	Positivo	1100	Positivo
083	750	Positivo	600	Positivo
084	1200	Positivo	350	Positivo
085	500	Positivo	300	Positivo

* Os números de cópias do vírus das amostras 017 e 035 estão abaixo do limite de detecção do ensaio posterior.

GARANTIA

Os dados de desempenho aqui apresentados foram obtidos através do procedimento de ensaio indicado. Qualquer mudança ou alteração no procedimento não recomendado pelo fabricante pode afetar os resultados, nesse caso, a Wallac Oy e suas afiliadas não oferecem nenhuma garantia expressa, implícita ou estatutária, inclusive a garantia implícita de negociabilidade e adequação de uso.

Nesse caso, a Wallac Oy, suas afiliadas e seus distribuidores autorizados não devem ser responsabilizados por danos indiretos ou consequentes.

A versão atual não apresenta nenhuma alteração no conteúdo em relação à versão anterior. Nome da empresa e logotipo atualizados.

Última revisão em 10 de maio de 2023