

3207-0010

chemagic™ DNA CS200 kit

Mode d'emploi. Réactifs pour 960 extractions.

Fabricant :
Wallac Oy
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlande
Téléphone : +358 2 2678 111

POUR USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*

CE

revvity

SYMBOLESDispositif médical de diagnostic *in vitro*

Code du lot



Numéro d'emballage



Référence du catalogue



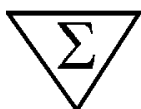
Date d'expiration



Limites de température



Conserver à l'abri de la lumière



Contenu suffisant pour "n" tests



Consulter la notice d'utilisation



Fabricant



GHS02



GHS08



GHS07



GHS05



Haut



Recyclable



Fragile, manipuler avec précautions



Conserver au sec

TABLE DES MATIÈRES

SYMBOLES	2
BUT.....	5
RÉSUMÉ ET PRINCIPE	5
CONTENU DE LA TROUSSE	5
Réactifs	7
MATÉRIEL INDISPENSABLE NON FOURNI AVEC LA TROUSSE	13
PRÉLÈVEMENT ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	13
Stabilité des échantillons de plasma.....	13
Stabilité des échantillons de sang total.....	14
Influence des substances interférentes	14
MISE EN GARDE ET PRÉCAUTIONS	14
PROCÉDURE	15
Protocole d'extraction à l'aide de l'instrument chemagic 360-D.....	15
Description détaillée des étapes du traitement.....	16
Protocole d'extraction à l'aide de l'instrument chemagic Prime Jr-D	20
NOTES GÉNÉRALES.....	20
LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	21
CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES	21
Échantillons de sang	21
Échantillons de plasma.....	23
GARANTIE	25

chemagic™ DNA CS200 kit

BUT

La trousse chemagic™ DNA CS200 kit est destinée à l'extraction et à la purification de l'ADN à partir du sang total ou du plasma humain pour analyse dans des systèmes de tests diagnostiques *in vitro* par PCR. Le trouble et la détermination des analytes dépendent de l'analyse PCR en aval. Le produit est destiné à être utilisé par du personnel de laboratoire formé avec un flux de travail automatisé.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

La trousse chemagic DNA CS200 kit est conçue à partir d'une plateforme basée sur la technologie des billes magnétiques, plateforme exclusive de Revvity chemagen Technologie GmbH. Les cellules ou d'autres sources d'ADN présentes dans des échantillons de sang total ou de plasma sont lysées pendant le processus d'extraction. Les acides nucléiques libérés se lient aux petites particules magnétisables qui sont ensuite séparées magnétiquement du matériau d'échantillon. Au cours des étapes suivantes, les contaminants sont retirés et les acides nucléiques purifiés sont transférés dans un tampon d'élution. Le traitement automatique des échantillons s'effectue à l'aide de l'instrument chemagic 360-D (2024-0010) et l'ensemble chemagic 360 96 Rod Head Set (CMG-370) ou chemagic Prime™ Jr-D (2029-0010).

CONTENU DE LA TROUSSE

La trousse contient suffisamment de réactifs pour effectuer 960 extractions.

La date de péremption de la trousse non ouverte est inscrite sur l'étiquette extérieure. Ne pas utiliser un quelconque constituant après la date de péremption. Stocker entre +2 et +25 °C.


Après l'ouverture, les composants de la trousse ont une durée de stabilité limitée. Cette durée de stabilité après l'ouverture est indiquée séparément pour chaque composant dans la liste des réactifs ci-dessous. Remarque : Bien refermer les flacons immédiatement après l'utilisation, de façon à éviter toute évaporation.

Les bouteilles peuvent se décolorer pendant la période de stockage. La décoloration des bouteilles n'a aucun impact sur le fonctionnement du dosage.

La trousse contient les éléments suivants :

Composant	Quantité
Magnetic Beads B (Billes magnétiques B)	1 bouteille, 150 mL
Lysis Buffer P (Tampon de lyse P)	1 bouteille, 480 mL
Binding Buffer P (Tampon de liaison P)	2 bouteilles, 550 mL
Lysis Buffer B (Tampon de lyse B)	1 bouteille, 480 mL
Binding Buffer B (Tampon de liaison B)	2 bouteilles, 550 mL
Wash Buffer BB (Tampon de lavage BB)	1 bouteille, 700 mL
Wash Buffer BA (Tampon de lavage BA)	1 bouteille, 700 mL
Wash Buffer E (Tampon de lavage E)	1 bouteille, 700 mL
Wash Buffer H (Tampon de lavage H)	1 bouteille, 700 mL
Elution Buffer (Tampon d'élution)	1 bouteille, 240 mL
Proteinase K (Protéinase K)	5 bouteilles (lyophilisées)
Poly(A)RNA (Poly(A)ARN)	10 tubes (séchés)
Poly(A)RNA buffer (Tampon poly(A)ARN)	10 tubes, 0.5 mL
Disposable Tips (96 ea) (Embouts jetables (96 unités))	10 x 96 unités

Réactifs

Constituants	Stabilité et conservation
Billes magnétiques B	Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.
Suspension de particules contenant de l'oxyde de fer nanoparticulaire encapsulé dans une matrice d'alcool polyvinylique. Les billes magnétiques (28.0 ± 0.5 mg/mL) se lient à l'ADN pendant le processus d'extraction.	
Tampon de lyse P	Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Conserver à l'abri de la lumière. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.
	
DANGER	
Solution tampon aqueuse prête à l'emploi contenant du thiocyanate de guanidinium (50 à 75 %). Le tampon de lyse est utilisé pour lyser les cellules ou toute autre source d'ADN présente dans l'échantillon, de façon à transférer l'ADN dans la solution.	
<p>Le tampon de lyse P contient du thiocyanate de guanidinium :</p> <p>H302+H312+H332 Nocif en cas d'ingestion, de contact avec la peau ou d'inhalation.</p> <p>H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.</p> <p>H412 Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.</p> <p>P260 Ne pas respirer les poussières ou les émanations.</p> <p>P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].</p> <p>P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.</p> <p>P310 Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/médecin.</p> <p>P362+P364 Enlever tous les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.</p> <p>P405 Conserver sous clé.</p> <p>P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.</p> <p>EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.</p>	

Tampon de liaison P



DANGER

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

Solution prête à l'emploi à base de tampon Tris-HCl (pH 5.0 à 5.9) contenant du perchlorate de sodium (25 à 50 %), de l'acide acétique (1 à 2.5 %) et de l'éthanol (25 à 50 %). Le tampon de liaison est utilisé pour créer les conditions appropriées et permettant de lier l'ADN aux billes magnétiques.

Le tampon de liaison P contient du perchlorate de sodium et de l'éthanol :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

H302 Nocif en cas d'ingestion.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée

P210 Ne pas exposer à la chaleur, aux surfaces chaudes, aux étincelles, aux flammes nues et autres sources de feu. Ne pas fumer.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P403+P235 Stocker dans un endroit bien ventilé. Garder au frais.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Tampon de lyse B



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Éviter l'exposition à la lumière directe du soleil. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

AVERTISSEMENT

Solution tampon aqueuse prête à l'emploi (pH 6.9 à 7.4) contenant du chlorure de guanidinium (15 à 25 %) et un détergent. Le tampon de lyse est utilisé pour lyser les cellules sanguines, de façon à libérer l'ADN dans la solution.

Le tampon de lyse B contient du chlorure de guanidinium :

H315 Provoque une irritation cutanée.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

P264 Laver soigneusement après manipulation.

P280 Porter des gants de protection / lunettes de sécurité / une protection faciale.

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P332+P313 En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.

P362+P364 Enlever tous les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.

Tampon de liaison B



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

DANGER

Solution prête à l'emploi à base de tampon Tris-HCl (pH 5.0 à 5.9) contenant du perchlorate de sodium (15 à 25 %) et de l'éthanol (25 à 50 %). Le tampon de liaison est utilisé pour créer les conditions appropriées et permettant de lier l'ADN aux billes magnétiques.

Le tampon de liaison B contient du perchlorate de sodium et de l'éthanol :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée

P210 Ne pas exposer à la chaleur, aux surfaces chaudes, aux étincelles, aux flammes nues et autres sources de feu. Ne pas fumer.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P403+P235 Stocker dans un endroit bien ventilé. Garder au frais.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Tampon de lavage BB



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

DANGER

Solution prête à l'emploi à base de tampon Tris-HCl (pH 5.0 à 5.6) contenant du perchlorate de sodium (15 à 25 %) et de l'éthanol (25 à 50 %). S'utilise pour retirer les contaminants non-ADN pendant l'étape du lavage.

Le tampon de lavage BB contient du perchlorate de sodium et de l'éthanol :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée

P210 Ne pas exposer à la chaleur, aux surfaces chaudes, aux étincelles, aux flammes nues et autres sources de feu. Ne pas fumer.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P403+P235 Stocker dans un endroit bien ventilé. Garder au frais.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Tampon de lavage BA



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

DANGER

Solution prête à l'emploi à base de tampon Tris-HCl (pH 5.0 à 5.6) contenant du perchlorate de sodium (15 à 25 %) et de l'éthanol (25 à 50 %). S'utilise pour retirer les contaminants non-ADN pendant l'étape du lavage.

Le tampon de lavage BA contient du perchlorate de sodium et de l'éthanol :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée

P210 Ne pas exposer à la chaleur, aux surfaces chaudes, aux étincelles, aux flammes nues et autres sources de feu. Ne pas fumer.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P403+P235 Stocker dans un endroit bien ventilé. Garder au frais.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Tampon de lavage E



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

DANGER

Solution prête à l'emploi contenant de l'éthanol 50 à 75 %. S'utilise pour retirer les dernières traces de contaminants non-ADN pendant l'étape du lavage.

Le tampon de lavage E contient de l'éthanol :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

P210 Ne pas exposer à la chaleur, aux surfaces chaudes, aux étincelles, aux flammes nues et autres sources de feu. Ne pas fumer.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P280 Porter des gants de protection/vêtements de protection/lunettes de protection/une visière protégeant le visage.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P403+P235 Stocker dans un endroit bien ventilé. Garder au frais.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Tampon de lavage H

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

Solution d'eau ultra filtrée, prête à l'emploi. S'utilise pour supprimer les éventuels résidus d'éthanol.

Tampon d'éluion

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Après l'ouverture, elle est stable pendant 60 jours entre +2 et +25 °C.

Solution à base de tampon Tris-HCl 10 mM (pH 7.8 à 8.4) prêt à l'emploi.

Protéinase K



Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette de la bouteille. Une fois reconstituée, elle est stable pendant 28 jours entre +2 et +8 °C.

DANGER

La protéinase K (protéinase 50 à 90 %) est reconstituée en ajoutant 2.5 mL d'eau moléculaire. La protéinase K est ajoutée pour améliorer l'efficacité de l'étape de lyse.

La protéinase K contient de la protéinase et de la sérine de Tritirachium album :

H315 Provoque une irritation cutanée.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H334 Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation

H335 Peut irriter les voies respiratoires

P261 Éviter d'inhaler les poussières/fumées/gaz/gouttelettes/vapeurs/pulvérisations générés par le produit.

P280 Porter des gants de protection / lunettes de sécurité / une protection faciale.

P284 [En cas de ventilation inadéquate] porter une protection respiratoire.

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P405 Conserver sous clé.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

Poly(A)ARN

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du tube. Une fois reconstituée, elle est stable pendant 30 jours entre +2 et +8 °C.

Le poly(A)ARN est reconstitué en ajoutant 440 µL de tampon poly(A)ARN. Le poly(A)ARN est porteur d'ADN pour améliorer l'efficacité du processus d'extraction.

Tampon poly(A)ARN

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du tube.



DANGER

Solution tampon aqueuse prête à l'emploi contenant du thiocyanate de guanidinium (25 à 50 %). Le tampon poly(A)ARN est utilisé pour la reconstitution du poly(A)ARN.

Le tampon poly(A)ARN contient du thiocyanate de guanidinium :

H302+H332 Nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation.

H314 Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.

H412 Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P260 Ne pas respirer les poussières ou les émanations.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tout vêtement contaminé. Rincer la peau avec de l'eau [ou se doucher].

P305+P351+P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer délicatement à l'eau pendant plusieurs minutes. Retirer les lentilles de contact, le cas échéant, et si cela peut être fait facilement. Continuer à rincer.

P310 Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/médecin.

P405 Conserver sous clé.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales.

EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Embouts jetables (96 unités)

Entre +2 et +25 °C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette.

MATÉRIEL INDISPENSABLE NON FOURNI AVEC LA TROUSSE

La trousse chemagic DNA CS200 kit nécessite les éléments suivants, disponibles auprès de Wallac Oy ou de Revvity, Inc. et ses distributeurs :

- chemagic 360-D (prod. n° 2024-0010) et chemagic 360 96 Rod Head Set (ensemble tête de tige chemagic 360 96) (prod. n° CMG-370) ou chemagic Prime Jr-D (prod. n° 2029-0010)
- consommables pour extraction d'ADN chemagic (plaques à puits bas, plaques à puits profonds, prod. n° 4148-0010)

Éléments supplémentaires requis :

- pipettes et embouts de pipettes avec filtres aérosols
- eau moléculaire

Éléments supplémentaires facultatifs :

- chemagic Stand 96 (prod. n° CMG-301)

PRÉLÈVEMENT ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Il convient d'utiliser des échantillons de plasma humain (200 µL), frais ou stockés généralement pendant un maximum de cinq jours entre +2 et +8 °C ou stockés congelés entre -20 et -80 °C. Les échantillons congelés ne doivent pas être décongelés à plus d'une reprise. Les stabilisateurs d'échantillon recommandés sont l'EDTA ou le citrate. L'utilisation d'échantillons de plasma stabilisés à l'héparine peut générer des problèmes d'inhibition de la PCR (réaction en chaîne de la polymérase) et n'est donc pas recommandée.

Il convient d'utiliser des échantillons de sang total humain (200 µL), frais ou stockés généralement pendant un maximum d'une semaine entre +2 et +8 °C. Les stabilisateurs d'échantillon de sang recommandés sont l'EDTA ou le citrate. L'utilisation d'échantillons de sang stabilisés à l'héparine peut générer des problèmes d'inhibition de la PCR (réaction en chaîne de la polymérase) et n'est donc pas recommandée. La numération leucocytaire dans l'échantillon de sang total baisse pendant le stockage.

La numération leucocytaire dans l'échantillon de sang total baisse pendant le stockage. Le stockage des échantillons peut altérer l'extraction d'ADN.

L'efficacité de l'extraction en utilisant d'autres types d'échantillons n'a pas été déterminée.

Stabilité des échantillons de plasma

L'influence de la durée de conservation et de la température a été étudiée¹ sur plusieurs échantillons de plasma négatifs et positifs au cytomégalovirus (CMV) recueillis dans des tubes de recueil contenant soit l'EDTA soit le citrate comme anticoagulant. Les échantillons ont été conservés à -20 °C. L'ADN extrait a été analysé avec un essai en aval certifié CE IVD pour le diagnostic du CMV en un seul exemplaire, et a été classé comme positif au

¹ Étude réalisée au Centre hospitalier universitaire de Turku, en Finlande.

CMV et négatif au CMV. Aucune déviation significative sur le plan clinique n'a été observée dans les résultats par rapport à la méthode d'extraction utilisée comme comparateur.

Stabilité des échantillons de sang total

L'influence de la durée de conservation et de la température a été étudiée² sur plusieurs échantillons de sang total recueillis de donneurs sains dans des tubes de recueil contenant soit l'EDTA ou le citrate comme anticoagulant. Les échantillons ont été conservés à entre +2 et +8 °C pendant jusqu'à 7 jours. Les échantillons d'ADN extraits ont été répliqués dans une analyse PCR certifiée CE IVD et les échantillons ont été testés avec une trousse d'essai en aval disponible sur le marché pour la détection du syndrome de l'X fragile en utilisant des échantillons de référence recommandées par le National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Aucune déviation significative sur le plan clinique n'a été observée dans les résultats.

Influence des substances interférentes

L'effet de substances contenues dans le sang total ou le plasma humain susceptibles d'interférer avec l'extraction d'ADN a été testé³ dans les échantillons de sang total et de plasma. Les substances testées et leurs concentrations sont présentées dans le tableau ci-dessous. Sur la base des résultats, il a été conclu que les substances testées n'interfèrent pas avec l'extraction d'ADN.

Substance interférente	Concentration	Interférence
Bilirubine conjuguée	332 µg/mL	Non
Bilirubine non conjuguée	200 µg/mL	Non
Triglycérides	30 mg/mL	Non
Albumine sérique humaine	30 mg/mL	Non

MISE EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Le produit est destiné à être utilisé par du personnel de laboratoire formé.

Pour minimiser les irrégularités des résultats diagnostiques, le produit est destiné à être utilisé avec un contrôle interne ainsi que des contrôles positifs et négatifs tout au long du processus de préparation de l'échantillon, d'amplification et de détection de l'échantillon, selon l'analyse en aval utilisée.

Considérer tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux. Cependant, toutes les précautions de manipulation de dérivés du sang sont à observer. Se référer à la publication « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » du U.S. Department of Health and Human Services (département américain de la santé et des services humains) ou toute autre réglementation locale ou nationale.

² Étude réalisée à Wallac Oy, Turku, Finlande.

³ Étude réalisée à Revvity chemagen Technologie GmbH, Baesweiler, Allemagne.

Le tampon de lyse P contient du thiocyanate de guanidinium qui est nocif en cas d'ingestion, de contact avec la peau ou d'inhalation, provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves, est nocif pour les organismes aquatiques et entraîne des effets néfastes à long terme. **Le tampon de liaison P contient du perchlorate de sodium et de l'éthanol**, forme du liquide et des vapeurs hautement inflammables et est nocif en cas d'ingestion, provoque une sévère irritation des yeux et comporte un risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée. **Le tampon poly(A)ARN contient du thiocyanate de guanidinium** qui est nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation, provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves, est nocif pour les organismes aquatiques et entraîne des effets néfastes à long terme. **Le tampon de lavage BB, le tampon de lavage BA et le tampon de liaison B contiennent du perchlorate de sodium et de l'éthanol**, dont les liquides et les vapeurs sont très inflammables, provoquent une sévère irritation des yeux et comportent un risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée. **Le tampon de lyse B contient du chlorure de guanidinium** et provoque une irritation cutanée et une sévère irritation des yeux. **Le tampon de lavage E contient de l'éthanol** dont le liquide et les vapeurs sont très inflammables. **La protéinase K contient de la protéinase et de la sérine de Tritirachium album** et provoque une irritation cutanée et une sévère irritation des yeux, peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation et peut irriter les voies respiratoires. Voir les précautions spécifiques dans la section « CONTENU DE LA TROUSSEE ».

Pour éviter toute blessure pendant la manipulation des composants de la trousse, veiller à porter un masque de protection, des gants jetables et des vêtements de protection. Pour obtenir des informations détaillées, consulter la fiche signalétique (SDS) correspondante.

Se conformer aux réglementations locales concernant la manipulation des solutions éthanoliques.

Traiter tout déchet dans le respect de la réglementation locale en vigueur.

Pour les patients/utilisateurs/tiers de l'Union européenne et d'un pays appliquant un régime réglementaire identique (IVDR ; UE 2017/746/UE) ; si un incident sérieux est survenu pendant l'utilisation de ce dispositif ou du fait de son utilisation, veuillez le signaler au fabricant et à votre autorité nationale. Les coordonnées du fabricant de ce dispositif pour signaler tout incident sérieux sont indiquées en page de couverture de ce mode d'emploi.

PROCÉDURE

Protocole d'extraction à l'aide de l'instrument chemagic 360-D

Le protocole d'extraction automatisé dure environ 75 minutes.

Le protocole est prévu pour le traitement de 96 échantillons en parallèle (voir les étapes du protocole ci-dessous). Pour obtenir des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic 360-D, veuillez consulter le manuel d'utilisation du chemagic 360-D.

Tous les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant usage.

Remarque : Bien refermer les bouteilles immédiatement après l'utilisation ou maintenir les bouteilles fixées hermétiquement à l'instrument chemagic 360-D. Le tampon de liaison P, le tampon de liaison B, le tampon de lavage BB, le tampon de lavage BA et le tampon de lavage E contiennent de l'éthanol. En cas d'évaporation de l'éthanol, il est impossible de garantir le rendement optimal ou la sensibilité de détection.

Description détaillée des étapes du traitement

Étapes de préparation

1. Vérifier l'intégrité de tous les composants de la trousse. En cas d'endommagement, contacter le revendeur.
2. Pour des échantillons de plasma : reconstituer les constituants Protéinase K et Poly(A)ARN
 - a. Protéinase K : ajouter 2.5 mL d'eau moléculaire à la bouteille de Protéinase K et mélanger doucement jusqu'à dissolution.
 - b. Poly(A)ARN : ajouter 440 µL de tampon Poly(A)ARN au tube à essai de Poly(A)ARN et mélanger vigoureusement jusqu'à dissolution.
3. Pour des échantillons de plasma : si le tampon de lyse P contient un précipité (formé pendant le transfert ou le stockage), la solution doit être chauffée entre 50 et 60 °C et vigoureusement mélangé jusqu'à ce que la solution soit limpide. La limpidité du tampon de lyse P doit toujours être visuellement vérifiée avant l'utilisation (effectuer une inspection visuelle suivie du mélange et de l'ouverture du bouchon de la bouteille).
4. Fixer les bouteilles de réactifs à l'instrument chemagic 360-D en respectant les instructions ci-après :
 - Distributeur 1 : Aucune bouteille n'est fixée
 - Distributeur 2 : Aucune bouteille n'est fixée
 - Distributeur 3 : Tampon de lavage BB
 - Distributeur 4 : Tampon de lavage BA
 - Distributeur 5 : Tampon de lavage E
 - Distributeur 6 : Tampon de lavage H
5. Remplir et amorcer les conduites du chemagic 360-D avec les réactifs en suivant le protocole « **prime manifolds H96 all 360 V150116** ». Appuyer sur le bouton [Insert IDs] (insérer identifiants), suivre les instructions indiquées dans le logiciel et lancer l'amorçage en appuyant sur le bouton [OK]. Si les fonctions activant la saisie de données d'identification sont désactivées, lancer l'amorçage en appuyant directement sur le bouton [Start] (démarrer). L'amorçage doit être effectué lorsque les bouteilles de réactifs sont fixées à l'instrument chemagic 360-D pour la première fois ou lorsque les conduites de l'instrument ne sont pas déjà remplies des réactifs susmentionnés.
6. Veiller à l'homogénéité des échantillons en les mélangeant doucement lors du pipetage sur une plaque.

Étapes du protocole

Les billes magnétiques B (plaque à puits bas sur la position 2 de la plaque de l'instrument chemagic 360-D) sont à nouveau resuspendues en les mélangeant vigoureusement et pipetées manuellement (150 µL/puits) dans chaque puits d'échantillon correspondant utilisé.

Le tampon d'élution (plaque à puits profonds sur la position 8 de la plaque de l'instrument chemagic 360-D) est pipeté manuellement (100 µL/puits) dans chaque puits d'échantillon correspondant utilisé.

Les étapes de préparation des échantillons sont effectuées manuellement. Les réactifs utilisés dans la préparation des échantillons dépendent du type d'échantillon (sang total/plasma). Après les étapes de préparation de l'échantillon (consultez le tableau d'étapes de préparation de l'échantillon), la plaque d'échantillon est placée sur l'instrument chemagic 360-D et le processus automatique d'extraction de l'ADN est lancé.

REMARQUE : Le cycle d'extraction automatisé doit être lancé immédiatement après avoir ajouté le tampon de liaison P et/ou le tampon de liaison B aux puits d'échantillons de lyse. Toute hésitation dans cette procédure est proscrite car elle risque d'avoir un impact négatif sur le rendement et la pureté des solutions.

Veillez consulter le tableau ci-dessous pour des informations plus détaillées sur le positionnement de la plaque et les étapes du protocole.

Cycle d'extraction automatique d'ADN dans l'instrument chemagic 360-D

Position sur le système de suivi*	Matériel en position	Description détaillée des étapes du protocole
		<p>Choisir le protocole « check manifolds H96 all 360 V150116 » pour rincer les conduites avant de démarrer le cycle automatique.</p> <p>Appuyer sur le bouton [Insert IDs] (insérer identifiants), suivre les instructions indiquées dans le logiciel et lancer le rinçage en appuyant sur le bouton [OK].</p> <p>Si les fonctions activant la saisie de données d'identification sont désactivées, lancer le rinçage en appuyant sur les boutons [OK] et [Start] (démarrer).</p>
		<p>Lorsque les fonctions activant la saisie de données d'identification sont utilisées, choisir le protocole « ---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che » et appuyer sur le bouton [Insert IDs] (insérer identifiants). Suivre les instructions indiquées dans le logiciel pour renseigner les données requises.</p> <p>Placer les plaques sur le système de suivi, des positions 1 à 8. Après avoir placé les plaques, appuyer sur le bouton [OK].</p>
1	Portoir avec embouts jetables	Utiliser les embouts jetables en respectant les positions des échantillons. Remarque : Les embouts doivent être en rangées complètes sur le portoir.
2	Plaque à puits bas 150 µL de billes magnétiques B	<p>Billes magnétiques B remises en suspension avec pipette dans chaque puits d'échantillon utilisé.</p> <p>Placer la plaque sur la position 2 du portoir.</p>
Préparer les échantillons en respectant les procédures décrites dans les tableaux joints. Les échantillons doivent être préparés après avoir effectué toutes les autres étapes de préparation et après avoir placé les plaques sur les positions 1 à 2 et 4 à 8 du système de suivi.		
3	Plaque d'échantillon (plaque à puits profonds)	Placer la plaque avec les échantillons préparés sur la position 3 du portoir et vérifier que toutes les plaques sont bien positionnées et installées. Fermer le couvercle avant et lancer le processus d'extraction d'ADN immédiatement.
4	Plaque à puits profonds	Placer la plaque vide sur la position 4 du portoir. Le tampon de lavage BB est distribué automatiquement sur la plaque.
5	Plaque à puits profonds	Placer la plaque vide sur la position 5 du portoir. Le tampon de lavage BA est distribué automatiquement sur la plaque.
6	Plaque à puits profonds	Placer la plaque vide sur la position 6 du portoir. Le tampon de lavage E est distribué automatiquement sur la plaque.
7	Plaque à puits profonds	Placer la plaque vide sur la position 7 du portoir. Le tampon de lavage H est distribué automatiquement sur la plaque.
8	Plaque à puits profonds 100 µL de tampon d'éluion	Placer la plaque préremplie du tampon d'éluion sur la position 8 du portoir.
		<p>Lorsque les fonctions activant la saisie de données d'identification sont utilisées, le cycle d'extraction est lancé en appuyant sur le bouton [Start] (démarrer) à la fin de la boîte de dialogue.</p> <p>Si les fonctions activant la saisie de données d'identification sont désactivées, placer les plaques sur le système de suivi, des positions 1 à 8.</p> <p>Après avoir placé les plaques, choisir le protocole « ---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che », marquer les colonnes utilisées sur le plan de la plaque dans la boîte de dialogue et lancer le cycle d'extraction en appuyant directement sur le bouton [Start] (démarrer).</p>

* Les chiffres indiqués sur le système de suivi indiquent le positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D

Préparation des échantillons, échantillons de sang total

Matériel	Description détaillée des étapes du protocole
Plaque à puits profonds 200 µL de sang (échantillon) 450 µL de tampon de lyse B	Remplir jusqu'à 96 puits de la plaque d'échantillon avec 200 µL de sang total. Ajouter le tampon de lyse B aux puits contenant l'échantillon et incuber la plaque pendant 10 minutes.
1050 µL de tampon de liaison B	Ajouter le tampon de liaison B à chacun des puits d'échantillon de sang total lysés. Placer la plaque d'échantillon sur la position 3 du portoir et lancer immédiatement le processus.

Préparation des échantillons, échantillons de plasma

Matériel	Description détaillée des étapes du protocole
Plaque à puits profonds 4 µL de Poly(A)ARN reconstitué 10 µL de Protéinase K reconstituée 200 µL de plasma (échantillon) 450 µL de tampon de lyse P	Ajouter le Poly(A)ARN reconstitué et la Protéinase K reconstituée aux puits d'échantillons. Remplir jusqu'à 96 puits de la plaque d'échantillon avec 200 µL de plasma. Ajouter le tampon de lyse P aux puits contenant l'échantillon et incuber les échantillons entre 50 et 60 °C pendant 10 minutes. L'activité de la Protéinase K baissera après une incubation supérieure à 10 minutes dans un tampon de lyse P. Vérifier que tous les échantillons sont mélangés avec du poly(A)ARN/de la protéinase K/du tampon de lyse P pendant l'incubation.
1050 µL de tampon de liaison P	Ajouter le tampon de liaison P à chacun des puits d'échantillon de plasma lysés. Placer la plaque d'échantillon sur la position 3 du portoir et lancer immédiatement le processus.

Lorsque la procédure d'isolement est terminée, récupérer les éluats d'ADN et utiliser le bouton [Turn Table] (tourner la table) pour décharger le système de suivi. Chaque clic sur le bouton [Turn Table] (tourner la table) déplace d'une position le système de suivi (table) dans le sens horaire. Ne jamais actionner manuellement le système de suivi (table). Remarque : Ne pas tourner pas manuellement l'axe x, car cela peut endommager l'équipement. Tous les mouvements doivent être effectués avec la fonction [Turn Table] (tourner la table).

Protocole d'extraction à l'aide de l'instrument chemagic Prime Jr-D

Le protocole d'extraction automatisé dure environ 3 heures et 10 minutes.

Le protocole est prévu pour le traitement de 48 échantillons par essai et offre un traitement automatisé des échantillons. Pour obtenir des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic Prime Jr-D, veuillez consulter le manuel de l'instrument chemagic Prime Jr-D.

Tous les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant usage.

NOTES GÉNÉRALES

1. Il est important de bien comprendre ce mode d'emploi ainsi que le manuel d'utilisation du chemagic 360-D pour utiliser correctement la trousse chemagic DNA CS200 kit.
2. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la trousse. Après leur ouverture, les réactifs peuvent être utilisés pendant la période indiquée sur la liste de référencement des réactifs de ce mode d'emploi.
3. Toute dérogation au protocole peut affecter les résultats.
4. Les réactifs sont automatiquement distribués dans les rangées complètes et les protections (incluses dans la trousse) doivent également être utilisées dans les rangées complètes, sur chaque tige qui entre en contact avec une quelconque solution de réactif. Il est également important de noter que si des plaques sont partiellement utilisées, les solutions peuvent ne pas suffire pour la totalité des 960 extractions.
5. L'ouverture du couvercle de l'instrument chemagic 360-D pendant le processus d'extraction automatisé annule le processus et les échantillons peuvent être perdus.
6. Le nettoyage et l'entretien du système sont décrits de manière détaillée dans le manuel d'utilisation du chemagic 360-D.
 - Le nettoyage du système s'effectue une fois par semaine : Nettoyer le distributeur chemagic. Sélectionner le protocole « **regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che** » et appuyer sur le bouton [Insert IDs] (insérer identifiants) ou [Start] (démarrer) si les fonctions avancées sont désactivées. Respecter les instructions fournies par le logiciel.
 - Avant la prochaine utilisation du distributeur chemagic, exécuter le protocole d'amorçage approprié.
 - Le nettoyage du distributeur chemagic avec de l'éthanol 70 % est recommandé une fois par mois. Utiliser simplement le protocole « **intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che** » au lieu du protocole régulier pour cette opération.
 - Si le distributeur chemagic n'est pas utilisé pendant une durée plus longue, il est obligatoire d'effectuer une « procédure de nettoyage régulière » pour garantir le fonctionnement de l'instrument lors de sa remise en service.
7. La quantité d'ADN obtenue à partir de l'échantillon de sang total peut être quantifiée par une méthode indépendante, par exemple mesure UV.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Dans certains cas, des traces de billes magnétiques B peuvent être déposées sur l'éluat. Bien que ce type de particules ne soit généralement pas gênant pour la PCR ou la plupart des applications en aval, une étape de séparation supplémentaire à l'aide d'un séparateur magnétique (chemagic Stand 96, fourni avec l'ensemble chemagic 360 96 Rod Head Set prod. no CMG-370) ou une étape de centrifugation est recommandée, de façon à supprimer toutes les traces de particules. Pour la mesure UV des éluats d'ADN issus des échantillons de sang total, des traces de Billes magnétiques peuvent entraîner un bruit de fond plus élevé et une étape de séparation doit être réalisée avant la quantification.

L'ADN extrait doit être utilisé immédiatement après l'extraction dans le test diagnostique in vitro souhaité.

La trousse n'est pas destinée à l'extraction et à la purification de l'ADN génomique humain ou de l'ADNlc humain issu d'un échantillon de plasma, ou de l'ADNlc humain issu d'un échantillon de sang total.

Le rendement d'ADN dépend fortement des caractéristiques du sang, par exemple des résultats de quantification des leucocytes faibles dans un faible rendement d'ADN.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Échantillons de sang

La performance d'exécution de la trousse 3207-0010 chemagic DNA CS200 Kit et de l'instrument 2024-0010 chemagic 360-D sur des échantillons de sang total a été établie en extrayant l'ADN d'échantillons de donneurs sains. Le rendement moyen de chaque échantillon a été calculé et déterminé par rapport au nombre de leucocytes. Le tableau 1 indique les statistiques descriptives des moyennes des échantillons et les rendements d'ADN présents dans les figures 1 et 2 en utilisant des tubes d'échantillons d'EDTA et de citrate. Remarque : Le rendement d'ADN est également influencé par la dilution de l'échantillon provoquée par le tube de l'échantillon utilisé (le volume de l'agent de conservation est différent dans les tubes d'échantillon d'EDTA et de citrate).

Les résultats de pureté de l'ADN extrait sont présentés dans la figure 3.

Tableau 1. Les statistiques descriptives des résultats des échantillons

Variable	N	Médiane	Moyenne	Minimum	Maximum
Rendement/citrate (µg/échantillon de 200 µL)	41	4.6	4.6	3.0	6.6
Rendement/EDTA (µg/échantillon de 200 µL)	41	5.1	5.2	2.8	7.9

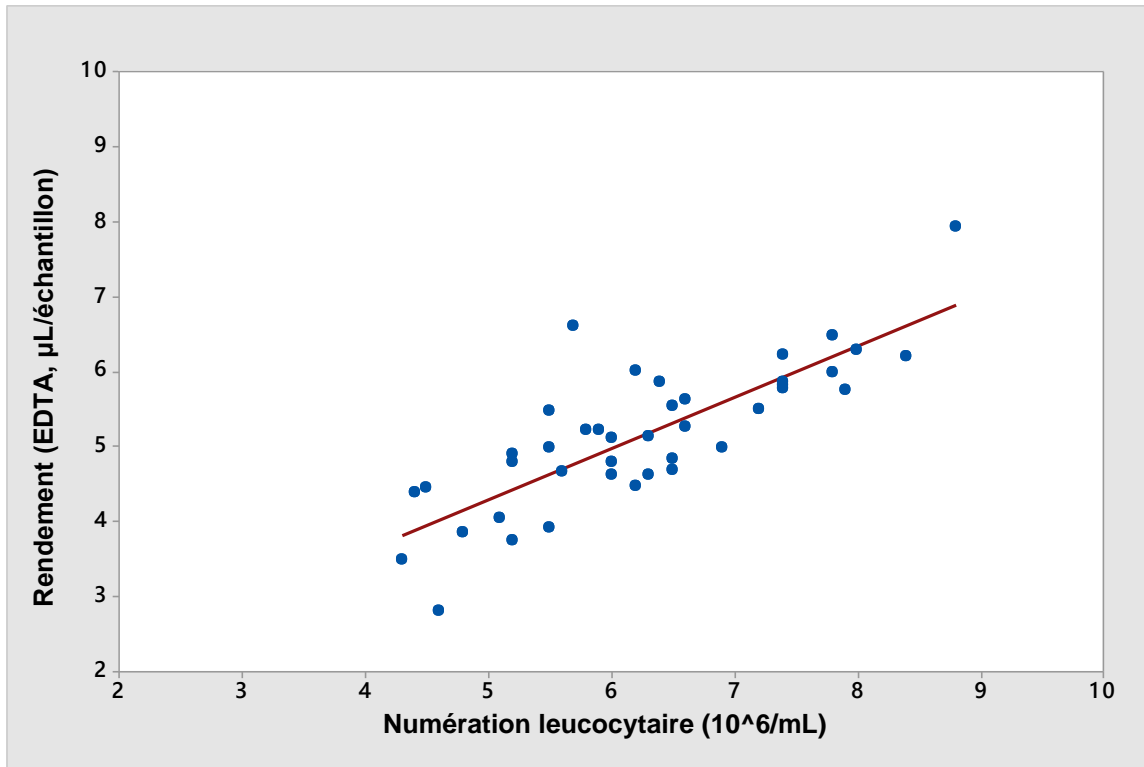


Figure 1. Le rendement d'ADN (tubes d'EDTA, 41 échantillons) à partir d'un volume d'échantillon de 200 µL. Le nombre de leucocytes des donneurs sains a été déterminé et se trouvait sur un intervalle de 4.3 à 8.8 x 10⁶ cellules/mL.

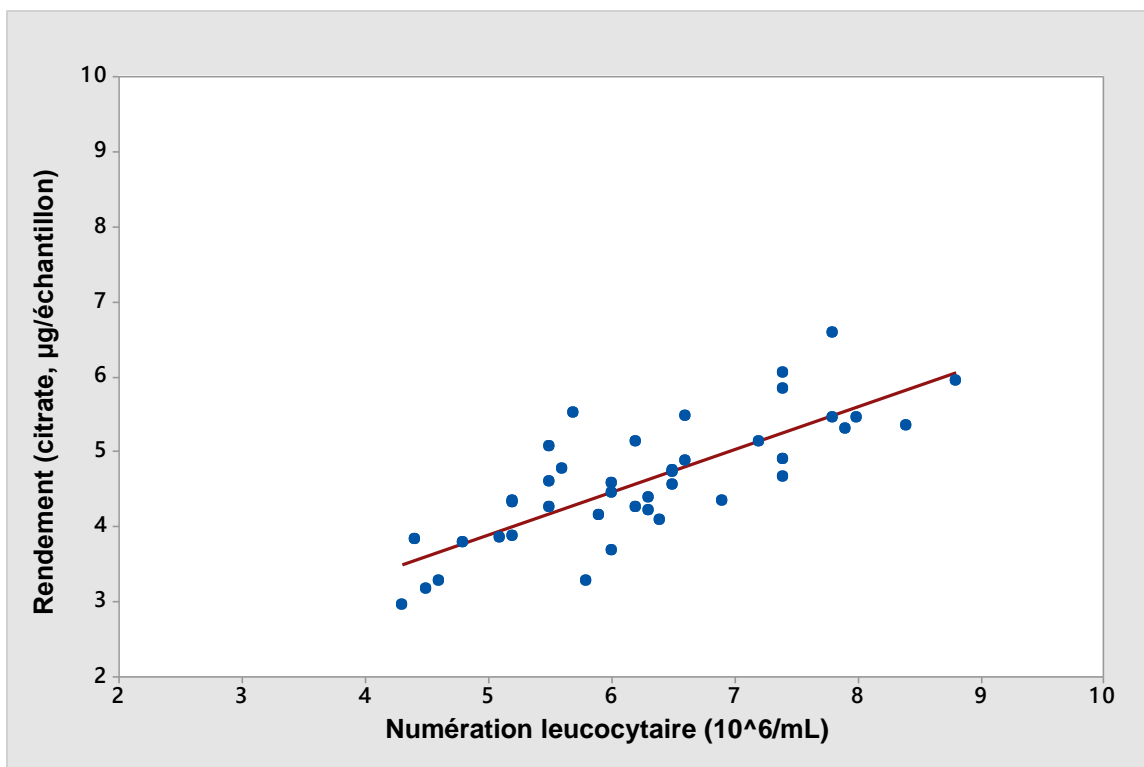


Figure 2. Le rendement d'ADN (tubes de citrate, 41 échantillons) à partir d'un volume d'échantillon de 200 µL. Le nombre de leucocytes des donneurs sains a été déterminé et se trouvait sur un intervalle de 4.3 à 8.8 x 10⁶ cellules/mL.

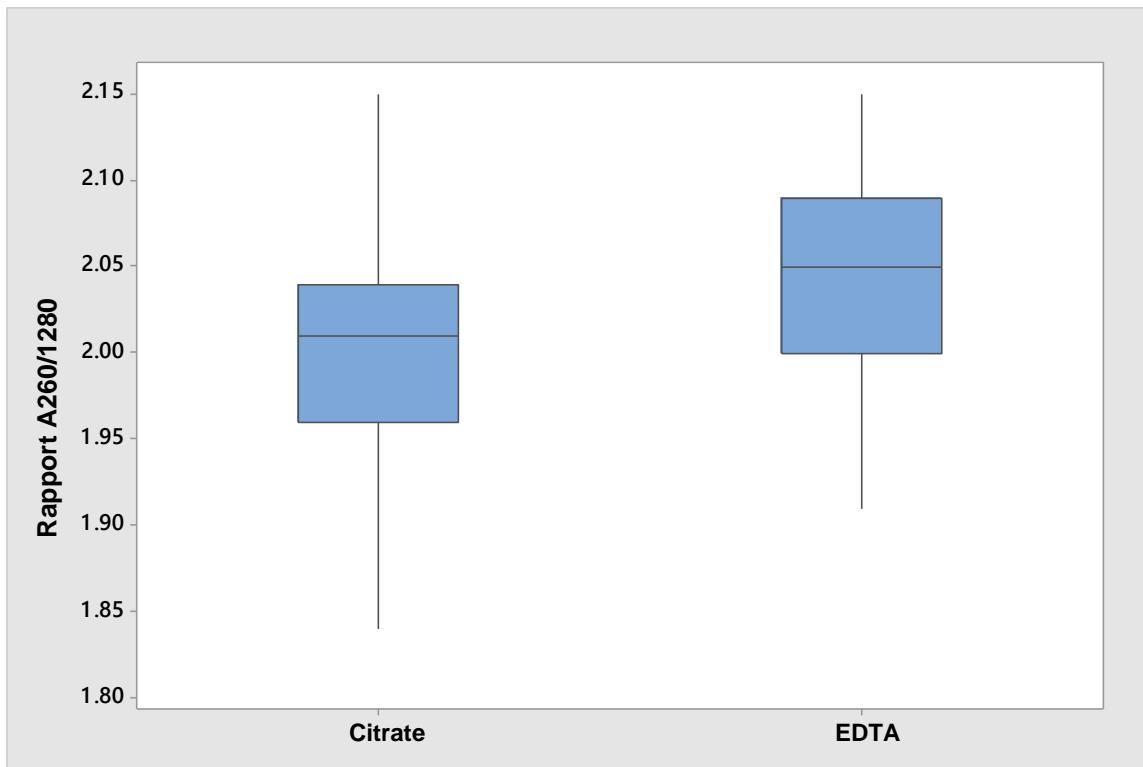


Figure 3. La pureté de l'ADN extrait (rapport d'absorption A260/A280) de 41 échantillons de citrate et de 41 échantillons d'EDTA.

Échantillons de plasma

L'étude d'évaluation du rendement de la trousse 3207-0010 chemagic DNA CS200 Kit et de l'instrument 2024-0010 chemagic 360-D utilisant des échantillons de plasma a été menée dans un laboratoire de test approuvé par le FINAS (EN ISO/CEI 17025) utilisant une application en aval approuvée par la directive CE IVD pour le diagnostic du cytomégalovirus (CMV). Les résultats des échantillons positifs des patients avec nombres de copies CMV sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Les résultats des échantillons CMV positifs de patients

Identifiant d'échantillon	Dispositif expérimental (plateforme d'extraction d'ADN chemagic)		Dispositif de comparaison (plateforme d'extraction d'ADN approuvée par la directive CE IVD)	
	Résultat de la trousse CMV (copies/mL)	Évaluation de détection	Résultat de la trousse CMV (copies/mL)	Évaluation de détection
001	2400	Positif	650	Positif
003	700	Positif	2100	Positif
005	2000	Positif	1500	Positif
007	600	Positif	550	Positif
009	650	Positif	450	Positif
011	200	Positif	100	Positif

013	1100	Positif	300	Positif
015	24000	Positif	14000	Positif
017*	50	Positif	NA	Négatif
019	16000	Positif	9900	Positif
021	6.8x10E6	Positif	4.5x10E6	Positif
025	8600	Positif	3800	Positif
029	NA	Négatif	NA	Négatif
031	1200	Positif	250	Positif
033	1000	Positif	800	Positif
035*	NA	Négatif	100	Positif
037	2000	Positif	2300	Positif
039	400	Positif	100	Positif
041	250	Positif	150	Positif
043	84000	Positif	67000	Positif
047	1100	Positif	1000	Positif
049	27000	Positif	15000	Positif
051	1300	Positif	1100	Positif
053	9500	Positif	13000	Positif
057	5000	Positif	2300	Positif
059	230000	Positif	130000	Positif
061	1200	Positif	1400	Positif
065	1600	Positif	2700	Positif
067	16000	Positif	11000	Positif
069	5700	Positif	4300	Positif
071	8400	Positif	4100	Positif
073	83000	Positif	70000	Positif
075	4200	Positif	5900	Positif
077	950	Positif	1400	Positif
079	800	Positif	400	Positif
081	2000	Positif	600	Positif
082	2200	Positif	1100	Positif
083	750	Positif	600	Positif
084	1200	Positif	350	Positif
085	500	Positif	300	Positif

* Les nombres de copies de virus 017 et 035 sont en deçà de la limite de détection de l'analyse effectuée en aval.

GARANTIE

Les données présentées ont été obtenues en utilisant la procédure indiquée. Tout changement ou modification de la procédure non recommandé par le fabricant peut affecter les résultats; dans cette éventualité Wallac Oy et ses filiales déclinent toute responsabilité exprimée, implicite ou établie par la loi y compris la responsabilité impliquée par la vente ou le transport pour son utilisation.

Dans tel cas, Wallac Oy, ses filiales et ses distributeurs agréés ne sont pas responsables des dommages indirects ou conséquents en résultant.

Pas de changement de contenu entre la version actuelle et la version précédente. Mise à jour du nom de l'entreprise et du logo.

Dernière révision le 10 mai 2023