

3207-0010

chemagic™ DNA CS200 kit

Istruzioni d'uso. Reagenti per 960 estrazioni.

Fabbricante:

Wallac Oy

Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlandia

Telefono: +358 2 2678 111

PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

CE

revvity

SIMBOLIDispositivo medico-diagnostico *in vitro*

Codice di lotto



Numero confezioni



Riferimento di catalogo



Utilizzare entro



Limiti di temperatura



Conservare al buio



Contenuto sufficiente per "n" determinazioni



Consultare le istruzioni per l'uso



Fabbricante



GHS02



GHS08



GHS07



GHS05



Questo lato in alto



Riciclabile



Fragile, maneggiare con cura



Conservare a secco

INDICE

| | |
|--|----|
| SIMBOLI | 2 |
| USO PREVISTO | 5 |
| RIEPILOGO E PRINCIPIO | 5 |
| CONTENUTO DEL KIT | 5 |
| Reagenti | 6 |
| MATERIALI RICHIESTI E NON FORNITI CON IL KIT | 13 |
| RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI | 13 |
| Stabilità dei campioni di plasma | 14 |
| Stabilità dei campioni di sangue intero | 14 |
| Influenza delle sostanze interferenti | 14 |
| AVVERTENZE E PRECAUZIONI | 14 |
| PROCEDURA | 15 |
| Protocollo di estrazione mediante lo strumento chemagic 360-D | 15 |
| Passaggi dell'elaborazione in dettaglio | 16 |
| Protocollo di estrazione mediante lo strumento chemagic Prime Jr-D | 20 |
| NOTE PROCEDURALI | 20 |
| LIMITI DELLA PROCEDURA | 21 |
| PRESTAZIONI TIPICHE | 21 |
| Campioni di sangue | 21 |
| Campioni di plasma | 23 |
| GARANZIA | 25 |

chemagic™ DNA CS200 kit

USO PREVISTO

Il kit chemagic™ DNA CS200 viene impiegato per l'estrazione e la purificazione del DNA da sangue umano intero o plasma per l'analisi tramite sistemi di test diagnostici *in vitro* basati su PCR. L'esistenza di un disturbo e la determinazione degli analiti dipendono dal dosaggio a valle basato su PCR. Il prodotto deve essere usato con un flusso di lavoro automatizzato da personale di laboratorio esperto.

RIEPILOGO E PRINCIPIO

Il kit chemagic DNA CS200 si basa su una piattaforma tecnologica a microsfere magnetiche di proprietà di Revvity chemagen Technologie GmbH. Le cellule o altre fonti del DNA presenti nei campioni di sangue intero o plasma vengono sottoposti a lisi durante il processo di estrazione. Gli acidi nucleici rilasciati si legano a piccole particelle magnetizzabili che, in seguito, vengono magneticamente separate dal materiale campione. Durante i passaggi successivi, i contaminanti vengono rimossi e gli acidi nucleici purificati vengono trasferiti in un tampone di eluizione. L'elaborazione automatizzata dei campioni viene eseguita mediante il sistema chemagic 360-D (2024-0010) unitamente a chemagic 360 96 Rod Head Set (CMG-370) o chemagic Prime™ Jr-D (2029-0010).

CONTENUTO DEL KIT

Il kit contiene un numero di reagenti sufficiente per eseguire 960 estrazioni.

La data di scadenza del kit non aperto è riportata sull'etichetta esterna. Nessun componente deve essere utilizzato dopo la data di scadenza. Conservare a temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

Una volta aperti, i componenti del kit presentano una stabilità limitata. La stabilità dopo l'apertura è indicata per ciascun componente in modo separato nell'elenco dei reagenti riportato di seguito. Nota: ritappare correttamente le bottiglie subito dopo l'uso per impedire l'evaporazione.

I flaconi potrebbero scolorire durante la conservazione. Lo scolorimento dei flaconi non influisce sulla funzionalità del dosaggio.

Il kit contiene quanto segue:

| Componente | Quantità |
|---|-------------------------------------|
| Magnetic Beads B (Microsfere magnetiche B) | 1 bottiglia, 150 mL |
| Lysis Buffer P (Tampone per lisi P) | 1 bottiglia, 480 mL |
| Binding Buffer P (Tampone di legame P) | 2 bottiglie, 550 mL |
| Lysis Buffer B (Tampone per lisi B) | 1 bottiglia, 480 mL |
| Binding Buffer B (Tampone di legame B) | 2 bottiglie, 550 mL |
| Wash Buffer BB (Tampone di lavaggio BB) | 1 bottiglia, 700 mL |
| Wash Buffer BA (Tampone di lavaggio BA) | 1 bottiglia, 700 mL |
| Wash Buffer E (Tampone di lavaggio E) | 1 bottiglia, 700 mL |
| Wash Buffer H (Tampone di lavaggio H) | 1 bottiglia, 700 mL |
| Elution Buffer (Tampone di eluizione) | 1 bottiglia, 240 mL |
| Proteinase K (Proteinasi K) | 5 bottiglie (in forma liofilizzata) |
| Poly(A)RNA (Poli(A)RNA) | 10 provette (essiccate) |
| Poly(A)RNA buffer (Tampone poli(A)RNA) | 10 provette, 0.5 mL |
| Disposable Tips (96 ea) (Puntali monouso (96 ciascuno)) | 10 x 96 ciascuno |

Reagenti

| Componente | Stabilità e conservazione |
|-------------------------|--|
| Microsfere magnetiche B | Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C. |

Sospensione di particelle contenenti ossido di ferro in nanoparticelle incapsulate in una matrice di alcol polivinilico. Le microsfere magnetiche (28.0 ± 0.5 mg/mL) si legano al DNA durante il processo di estrazione.

Tampone per lisi P



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Conservare al buio. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso contenente guanidina tiocianato (50–75%). Il tampone per lisi viene utilizzato per sottoporre a lisi le cellule o altre fonti del DNA presenti nel campione per ottenere il DNA in soluzione.

Il tampone per lisi P contiene guanidina tiocianato:

H302+H312+H332 Nocivo se ingerito, toccato o inalato.

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P260 Non respirare la polvere/la nebbia.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P362+P364 Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

P405 Conservare sotto chiave.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

EUH032 A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Tampone di legame P



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone Tris-HCl pronta all'uso (pH 5.0–5.9) con sodio perclorato (25–50%), acido acetico (1–2.5%) ed etanolo (25–50%). Il tampone di legame viene utilizzato per creare le condizioni appropriate per ottenere il legame di DNA con le microsferi magnetiche.

Il tampone di legame P contiene sodio perclorato ed etanolo:

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H302 Nocivo se ingerito.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. È vietato fumare.

P241 Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P403+P235 Conservare in luogo ben ventilato Conservare in luogo fresco.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Tampone per lisi B



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Non esporre alla luce del sole. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

AVVERTENZA

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso (pH 6.9–7.4) contenente cloridrato di guanidina (15–25%) e detergente. Il tampone per lisi viene utilizzato per sottoporre a lisi le cellule del sangue per ottenere il DNA in soluzione.

Il tampone per lisi B contiene cloridrato di guanidina:

H315 Provoca irritazione cutanea

H319 Provoca grave irritazione oculare.

P264 Lavare accuratamente dopo l'uso.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P332+P313 In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.

P362+P364 Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

P337+P313 Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.

Tampone di legame B



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone Tris-HCl pronta all'uso (pH 5.0–5.9) con sodio perclorato (15–25 %) ed etanolo (25–50 %). Il tampone di legame viene utilizzato per creare le condizioni appropriate per ottenere il legame di DNA con le microsfele magnetiche.

Il tampone di legame B contiene sodio perclorato ed etanolo:

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. È vietato fumare.

P241 Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P403+P235 Conservare in luogo ben ventilato Conservare in luogo fresco.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Tampone di lavaggio BB



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone Tris-HCl pronta all'uso (pH 5.0–5.6) con sodio perclorato (15–25 %) ed etanolo (25–50 %). Viene utilizzata per rimuovere contaminanti non-DNA durante la fase di lavaggio.

Il tampone di lavaggio BB contiene sodio perclorato ed etanolo:

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. È vietato fumare.

P241 Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P403+P235 Conservare in luogo ben ventilato Conservare in luogo fresco.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Tampone di lavaggio BA



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione tampone Tris-HCl pronta all'uso (pH 5.0–5.6) con sodio perclorato (15–25 %) ed etanolo (25–50 %). Viene utilizzata per rimuovere contaminanti non-DNA durante la fase di lavaggio.

Il tampone di lavaggio BA contiene sodio perclorato ed etanolo:

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H373 Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. È vietato fumare.

P241 Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P403+P235 Conservare in luogo ben ventilato Conservare in luogo fresco.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Tampone di lavaggio E



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

PERICOLO

Soluzione pronta all'uso contenente etanolo al 50–75 %. Viene utilizzata per rimuovere le tracce residue di contaminanti non-DNA durante la fase di lavaggio.

Il tampone di lavaggio E contiene etanolo:

H225 Liquido e vapori facilmente infiammabili.

P210 Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. È vietato fumare.

P241 Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P403+P235 Conservare in luogo ben ventilato Conservare in luogo fresco.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Tampone di lavaggio H

Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

Soluzione acquosa ultrafiltrata pronta all'uso. Viene utilizzata per rimuovere eventuali residui di etanolo.

Tampone di eluizione

Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

Soluzione tampone Tris-HCl 10 mM (pH 7.8–8.4) pronta all'uso.

Proteinasi K



Da +2 a +25 °C, la scadenza è indicata sull'etichetta della bottiglia. Dopo la ricostituzione, è stabile per 28 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +8 °C.

PERICOLO

La proteinasi K (proteinasi 50–90%) viene ricostituita aggiungendo 2.5 mL di acqua molecolare. La proteinasi K viene aggiunta per migliorare l'efficacia della fase di lisi.

La proteinasi K contiene proteinasi, una proteasi di serina da Tritirachium album:

H315 Provoca irritazione cutanea

H319 Provoca grave irritazione oculare.

H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato

H335 Può irritare le vie respiratorie.

P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.

P284 [Quando la ventilazione del locale è insufficiente] indossare un apparecchio di protezione respiratoria.

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P405 Conservare sotto chiave.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

Poli(A)RNA

Da +2 a +25 °C, la data di scadenza è indicata sull'etichetta della provetta. Dopo la ricostituzione, è stabile per 30 giorni ad una temperatura compresa tra +2 e +8 °C.

Il poli(A)RNA viene ricostituito aggiungendo 440 µL di tampone poli(A)RNA. Il poli(A)RNA funge da portatore di DNA per migliorare l'efficacia del processo di estrazione.

Tampone poli(A)RNA

Da +2 a +25 °C, la data di scadenza è indicata sull'etichetta della provetta.



PERICOLO

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso contenente guanidina tiocianato (25–50%). Il tampone poli(A)RNA viene utilizzato per la ricostituzione del poli(A)RNA.

Il tampone poli(A)RNA contiene guanidina tiocianato:

H302+H332 Nocivo se ingerito o inalato.

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

P260 Non respirare la polvere/la nebbia.

P303+P361+P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P310 Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P405 Conservare sotto chiave.

P501 Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione nazionale.

EUH032 A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Puntali monouso (96 ciascuno) Da +2 a +25 °C, la data di scadenza è indicata sull'etichetta.

MATERIALI RICHIESTI E NON FORNITI CON IL KIT

Il kit chemagic DNA CS200 richiede i seguenti accessori forniti da Wallac Oy o Revvity, Inc. e i suoi distributori:

- chemagic 360-D (prod. n. 2024-0010) con chemagic 360 96 Rod Head Set (prod. n. CMG-370) o chemagic Prime Jr-D (prod. n. 2029-0010)
- consumabili per estrazione del DNA chemagic (piastre per pozzetti bassi, piastre per pozzetti profondi, prod. n. 4148-0010)

Accessori aggiuntivi richiesti:

- pipette e puntali per pipette con barriere aerosol
- acqua molecolare

Accessori aggiuntivi opzionali:

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

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

È necessario utilizzare campioni di plasma umano (200 µL), freschi o conservati di norma per non oltre cinque giorni a +2 – +8 °C oppure conservati in congelatore a una temperatura compresa tra -20 e -80 °C. I campioni conservati in congelatore non devono essere scongelati per più di una volta. Gli stabilizzatori per campioni raccomandati sono EDTA o citrato. L'uso di campioni di plasma stabilizzati con eparina può causare problemi di inibizione in PCR e, pertanto, non è raccomandato.

È necessario utilizzare campioni di sangue intero umano (200 µL), freschi o conservati di norma per non oltre una settimana a +2–+8 °C. Gli stabilizzatori per sangue raccomandati sono EDTA o citrato. L'uso di campioni di sangue stabilizzati con eparina può causare problemi di inibizione in PCR e, pertanto, non è raccomandato. La conta leucocitaria nel campione di sangue intero si riduce durante la conservazione.

La conta leucocitaria nel campione di sangue intero si riduce durante la conservazione. La conservazione dei campioni può provocare una scarsa resa dell'estrazione del DNA.

L'efficacia dell'estrazione mediante l'uso di altri tipi di materiale campione non è stata determinata.

Stabilità dei campioni di plasma

L'influenza del tempo e della temperatura di conservazione è stata studiata¹ utilizzando diversi campioni di plasma confermati negativi e positivi per citomegalovirus (CMV), raccolti in apposite provette contenenti EDTA o citrato come anticoagulante. I campioni sono stati conservati a -20 °C; il DNA estratto è stato analizzato con un kit con registrazione IVD CE a valle per la diagnosi del CMV in singlicato ed è stato categorizzato come positivo per CMV e negativo per CMV. Nessuna deviazione significativa è stata osservata in termini di risultato rispetto al metodo di estrazione di confronto.

Stabilità dei campioni di sangue intero

L'influenza del tempo e della temperatura di conservazione è stata studiata² utilizzando diversi campioni di sangue intero raccolti da donatori sani in apposite provette contenenti EDTA o citrato come anticoagulante. I campioni sono stati conservati a temperatura compresa tra +2 e +8 °C per un massimo di 7 giorni. I campioni di DNA estratto sono stati replicati in un test PCR con registrazione IVD CE e analizzati con l'uso di un kit per dosaggio a valle disponibile in commercio per la rilevazione della sindrome dell'X Fragile impiegando campioni di riferimento raccomandati dal National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Non sono state riscontrate deviazioni significative in termini di risultati.

Influenza delle sostanze interferenti

L'effetto delle sostanze contenute nel sangue intero o plasma umano e potenzialmente interferenti con l'estrazione del DNA è stato testato³ sia nei campioni di sangue intero che di plasma. Le sostanze analizzate e le relative concentrazioni sono riportate nella tabella seguente. Sulla base dei risultati si conclude che le sostanze in esame non interferiscono con l'estrazione del DNA.

| Sostanza interferente | Concentrazione | Interferenza |
|--------------------------|----------------|--------------|
| Bilirubina coniugata | 332 µg/mL | No |
| Bilirubina non coniugata | 200 µg/mL | No |
| Trigliceridi | 30 mg/mL | No |
| Siero albumina umana | 30 mg/mL | No |

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto deve essere usato da personale di laboratorio esperto.

Al fine di ridurre al minimo le irregolarità nei risultati diagnostici, il prodotto è destinato a essere utilizzato con un controllo interno, nonché con controlli positivi e negativi durante l'intero processo di preparazione del campione, e con l'amplificazione e la rilevazione del campione sulla base del dosaggio a valle utilizzato.

¹ Studio eseguito presso l'Ospedale Universitario di Turku, Turku, Finlandia.

² Studio eseguito presso Wallac Oy, Turku, Finlandia.

³ Studio svolto presso Revvity chemagen Technologie GmbH, Baesweiler, Germania.

Maneggiare tutti i campioni incogniti come potenzialmente infettivi. La manipolazione di emoderivati richiede comunque le dovute precauzioni. Far riferimento alla pubblicazione "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" del U.S. Department of Health and Human Services o ai regolamenti locali o nazionali.

Il tampone per lisi P contiene guanidina tiocianato, è nocivo se ingerito, toccato o inalato, provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari ed è nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. **Il tampone di legame P contiene sodio perclorato ed etanolo**, è un liquido e vapore altamente infiammabile ed è nocivo se ingerito, provoca grave irritazione oculare e può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta. **Il tampone poli(A)RNA contiene guanidina tiocianato**, è nocivo se ingerito o inalato, provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari ed è nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. **Il tampone di lavaggio BB, il tampone di lavaggio BA e il tampone di legame B contengono sodio perclorato ed etanolo**, sono liquidi e vapori altamente infiammabili, provocano grave irritazione oculare e possono provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta. **Il tampone per lisi B contiene cloridrato di guanidina**, provoca irritazione cutanea e grave irritazione oculare. **Il tampone di lavaggio E contiene etanolo**, è un liquido e vapore facilmente infiammabile. **La proteinasi K contiene proteinasi, una proteasi di serina da Tritirachium album**, provoca irritazione cutanea e grave irritazione oculare, può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalata e può irritare le vie respiratorie. Si vedano le precauzioni specifiche di cui alla sezione "CONTENUTO DEL KIT".

Per evitare lesioni durante l'uso dei componenti del kit, indossare sempre occhiali protettivi, guanti monouso e indumenti di protezione. Per informazioni dettagliate, fare riferimento alla scheda di sicurezza (SDS) corrispondente.

Attenersi alle normative locali per la manipolazione delle soluzioni di etanolo.

Per lo smaltimento dei rifiuti, fare riferimento alle normative locali.

Per pazienti/utenti/terzi nell'Unione Europea e in Paesi con un regime normativo identico (IVDR; UE 2017/746/UE): se, durante l'uso di questo dispositivo o in conseguenza del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e all'autorità nazionale. I recapiti del produttore di questo dispositivo per la segnalazione di un incidente grave sono riportati sulla copertina di queste istruzioni per l'uso.

PROCEDURA

Protocollo di estrazione mediante lo strumento chemagic 360-D

La durata del protocollo di estrazione automatizzata è di circa 75 minuti.

Il protocollo è adatto per l'elaborazione di fino a 96 campioni in parallelo (vedere i passaggi del protocollo di seguito). Per informazioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic 360-D, fare riferimento al suo manuale d'uso.

Campioni e reagenti devono raggiungere la temperatura ambiente (+19—+25°C) prima del loro uso.

NOTA: ritappare correttamente le bottiglie subito dopo l'uso oppure tenere le bottiglie fermamente collegate allo strumento chemagic 360-D. Il tampone di legame P, il tampone di legame B, il tampone di lavaggio BB, il tampone di lavaggio BA e il tampone di lavaggio E contengono etanolo. Se l'etanolo evapora, non è possibile garantire la resa e la sensibilità di rilevamento ottimali.

Passaggi dell'elaborazione in dettaglio

Passaggi preparatori

1. Verificare l'integrità di tutti i componenti del kit. In caso di danni, contattare il fornitore.
2. Per i campioni di plasma: ricostituire i componenti proteinasi K e Poli(A)RNA.
 - a. Proteinasi K: aggiungere 2.5 mL di acqua molecolare nella bottiglia della proteinasi K e miscelare delicatamente fino alla dissoluzione.
 - b. Poli(A)RNA: aggiungere 440 µL di tampone Poli(A)RNA alla provetta del Poli(A)RNA e miscelare accuratamente fino alla dissoluzione.
3. Per i campioni di plasma: se il tampone per lisi P contiene precipitato (formatosi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione deve essere riscaldata a 50–60 °C e miscelata accuratamente finché non diventa trasparente. La trasparenza del tampone per lisi P deve essere sempre verificata visivamente prima dell'uso (l'ispezione visiva deve essere eseguita dopo la miscelazione e l'apertura del tappo della bottiglia).
4. Collegare le bottiglie di reagente allo strumento chemagic 360-D come indicato di seguito:
 - Collettore 1: nessuna bottiglia collegata
 - Collettore 2: nessuna bottiglia collegata
 - Collettore 3: tampone di lavaggio BB
 - Collettore 4: tampone di lavaggio BA
 - Collettore 5: tampone di lavaggio E
 - Collettore 6: tampone di lavaggio H
5. Riempire ed eseguire il priming della tubazione del chemagic 360-D con reagenti scegliendo il protocollo "**prime manifolds H96 all 360 V150116**". Premere il pulsante [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite nel software e iniziare il priming premendo il pulsante [OK]. Se le funzioni che consentono l'immissione di dati ID sono disattivate, avviare il priming direttamente premendo il pulsante [Start]. Il priming deve essere eseguito quando le bottiglie di reagente vengono collegate allo strumento chemagic 360-D per la prima volta, oppure quando i tubi dello strumento non sono ancora riempiti dai reagenti menzionati sopra.
6. Assicurarsi che i campioni siano omogenei al momento del pipettamento sulla piastra miscelandoli delicatamente.

Passaggi del protocollo

Le **microsfere magnetiche B** (piastra per pozzetti bassi sulla posizione 2 della piastra nello strumento chemagic 360-D) vengono risospese miscelando accuratamente e pipettando manualmente (150 µL / pozzetto) per ciascun pozzetto del campione corrispondente in uso.

Il **tampone di eluizione** (piastra per pozzetti profondi sulla posizione 8 della piastra nello strumento chemagic 360-D) viene pipettato manualmente (100 µL / pozzetto) per ciascun pozzetto del campione corrispondente in uso.

I passaggi di preparazione del campione vengono eseguiti manualmente. I reagenti impiegati nella preparazione del campione dipendono dal tipo di campione (sangue intero/plasma). Una volta completati i passaggi di preparazione del campione (fare riferimento all'apposita tabella), la piastra dei campioni viene posizionata sullo strumento chemagic 360-D e il processo di estrazione del DNA automatizzato viene avviato.

NOTA: la seduta di estrazione automatizzata deve essere avviata immediatamente dopo aver aggiunto il tampone di legame P e/o il tampone di legame B ai pozzetti dei campioni sottoposti a lisi. L'esitazione può comportare resa e purezza ridotte.

Si rimanda alla tabella sottostante per informazioni più dettagliate circa la posizione della piastra e i passaggi del protocollo.

Seduta di estrazione del DNA automatizzata nello strumento chemagic 360-D

| Posizione sul sistema di rilevamento* | Materiale in posizione | Passaggi del protocollo in dettaglio |
|--|---|---|
| | | <p>Selezionare il protocollo “check manifolds H96 all 360 V150116” per sciacquare la tubazione prima di iniziare la seduta di estrazione automatizzata.</p> <p>Premere il pulsante [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite nel software e iniziare il risciacquo premendo il pulsante [OK].</p> <p>Se le funzioni che consentono l'immissione di dati ID sono disattivate, avviare il risciacquo direttamente premendo i pulsanti [OK] e [Start].</p> |
| | | <p>Quando si utilizzano le funzioni che consentono l'immissione di dati ID, selezionare il protocollo “---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che” e premere il pulsante [Insert IDs]. Seguire le istruzioni fornite nel software per inserire i dati richiesti.</p> <p>Caricare le piastre nel sistema di rilevamento alle posizioni da 1 a 8. Una volta posizionate tutte le piastre, premere il pulsante [OK].</p> |
| 1 | Rack con puntali monouso | Utilizzare i puntali monouso secondo le posizioni dei campioni. Nota: i puntali devono essere presenti nel rack in file complete. |
| 2 | Piastra per pozzetti bassi 150 µL di microsfere magnetiche B | Pipettare accuratamente le microsfere magnetiche B risospese per ciascun pozzetto di campioni in uso. Posizionare la piastra dei campioni nella posizione 2 del rack. |
| Preparare i campioni secondo le procedure descritte nelle tabelle separate. I campioni devono essere preparati una volta completati tutti gli altri passaggi preparatori e dopo aver posizionato le piastre sul sistema di rilevamento alle posizioni 1-2 e 4-8. | | |
| 3 | Piastra dei campioni (Piastra per pozzetti profondi) | Posizionare la piastra con i campioni preparati nella posizione 3 del rack e controllare il posizionamento accurato di tutte le piastre. Chiudere lo sportello frontale e avviare il processo di estrazione del DNA immediatamente . |
| 4 | Piastra per pozzetti profondi | Posizionare la piastra vuota nella posizione 4 del rack. Il tampone di lavaggio BB viene dispensato automaticamente nella piastra. |
| 5 | Piastra per pozzetti profondi | Posizionare la piastra vuota nella posizione 5 del rack. Il tampone di lavaggio BA viene dispensato automaticamente nella piastra. |
| 6 | Piastra per pozzetti profondi | Posizionare la piastra vuota nella posizione 6 del rack. Il tampone di lavaggio E viene dispensato automaticamente nella piastra. |
| 7 | Piastra per pozzetti profondi | Posizionare la piastra vuota nella posizione 7 del rack. Il tampone di lavaggio H viene dispensato automaticamente nella piastra. |
| 8 | Piastra per pozzetti profondi 100 µL di tampone di eluizione | Posizionare la piastra del tampone di eluizione precedentemente riempita nella posizione 8 del rack. |
| | | <p>Quando si utilizzano le funzioni che consentono l'immissione di dati ID, la seduta di estrazione si avvia premendo il pulsante [Start] al termine del dialogo.</p> <p>Se le funzioni che consentono l'immissione di dati ID sono disattivate, caricare le piastre nel sistema di rilevamento alle posizioni da 1 a 8.</p> <p>Una volta posizionate tutte le piastre, selezionare il protocollo “---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che”, segnare le colonne in uso sulla mappa della piastra nel dialogo e avviare la seduta di estrazione direttamente premendo il pulsante [Start].</p> |

* I numeri nel sistema di rilevamento si riferiscono al posizionamento della piastra nello strumento chemagic 360-D

Preparazione dei campioni, campioni di sangue intero

| Materiale | Passaggi del protocollo in dettaglio |
|--|---|
| Piastra per pozzetti profondi 200 µL di sangue (campione) 450 µL di tampone per lisi B | Dispensare 200 µL di sangue intero nei pozzetti (fino a 96) della piastra dei campioni. Aggiungere il tampone per lisi B ai pozzetti contenenti il campione e incubare la piastra per 10 minuti. |
| 1050 µL di tampone di legame B | Aggiungere il tampone di legame B a ciascun pozzetto con campione di sangue intero sottoposto a lisi. Posizionare la piastra dei campioni nella posizione 3 del rack e avviare immediatamente la seduta . |

Preparazione dei campioni, campioni di plasma

| Materiale | Passaggi del protocollo in dettaglio |
|---|---|
| Piastra per pozzetti profondi 4 µL di poli(A)RNA ricostituita 10 µL di proteinasi K ricostituita 200 µL di plasma (campione) 450 µL di tampone per lisi P | Aggiungere la poli(A)RNA e la proteinasi K ricostituite ai pozzetti dei campioni. Dispensare 200 µL di plasma nei pozzetti (fino a 96) della piastra dei campioni. Aggiungere il tampone per lisi P ai pozzetti contenenti il campione e incubare i campioni a 50–60 °C per 10 minuti. L'attività della proteinasi K diminuisce dopo un'incubazione superiore a 10 minuti nel tampone per lisi P. Assicurarci che tutti i campioni siano miscelati con poli(A)RNA/proteinasi K/tampone per lisi P durante l'incubazione. |
| 1050 µL di tampone di legame P | Aggiungere il tampone di legame P a ciascun pozzetto con campione di plasma sottoposto a lisi. Posizionare la piastra dei campioni nella posizione 3 del rack e avviare immediatamente la seduta . |

Una volta terminata la procedura di isolamento, raccogliere gli eluati di DNA e utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il sistema di rilevamento. Ogni clic sul pulsante [Turn Table] sposta il sistema di rilevamento (piastra) di una piastra in senso orario. Non muovere mai il sistema di rilevamento (piastra) manualmente. Nota: non ruotare manualmente l'asse X in quanto ciò può danneggiare l'apparecchiatura. Tutti i movimenti devono essere eseguiti con la funzione [Turn Table].

Protocollo di estrazione mediante lo strumento chemagic Prime Jr-D

La durata del protocollo di estrazione automatizzata è di circa 3 ore e 10 minuti.

Il protocollo è adatto per l'elaborazione di fino a 48 campioni per seduta e fornisce l'elaborazione automatizzata dei campioni. Per informazioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic Prime Jr-D, fare riferimento al relativo manuale.

Campioni e reagenti devono raggiungere la temperatura ambiente (+19—+25°C) prima del loro uso.

NOTE PROCEDURALI

1. Per un uso corretto del kit chemagic DNA CS200 è necessario attenersi strettamente alle istruzioni d'uso specifiche e ai manuali d'uso dello strumento chemagic 360-D.
2. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sulla confezione. Una volta aperti, i reagenti possono essere utilizzati per il periodo indicato nell'elenco dei reagenti contenuto in queste istruzioni del kit.
3. Qualsiasi deviazione dal protocollo può influenzare i risultati.
4. I reagenti vengono dispensati automaticamente nelle file complete, pertanto anche i coperchi dei puntali (inclusi nel kit) devono essere utilizzati nelle file complete su tutte le bacchette in contatto con soluzione reagente. È inoltre necessario notare che, in caso di sedute con piastre parziali, le soluzioni potrebbero non essere sufficienti per 960 estrazioni.
5. L'apertura dello sportello dello strumento chemagic 360-D durante la seduta di estrazione automatizzata, comporta l'interruzione della seduta e i campioni in lavorazione possono andare perduti.
6. La pulizia e la manutenzione del sistema è descritta dettagliatamente nel manuale d'uso chemagic 360-D.
 - La pulizia del sistema viene eseguita una volta a settimana: pulire il dispenser chemagic. Selezionare il protocollo "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" e premere il pulsante [Insert IDs] o il pulsante [Start] se le funzioni avanzate sono disattivate. Seguire le istruzioni fornite nel software.
 - Prima del prossimo utilizzo del dispenser chemagic eseguire il protocollo di priming appropriato.
 - La pulizia del dispenser chemagic con etanolo 70 % è consigliata una volta al mese. A questo scopo, utilizzare il protocollo di pulizia "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**", invece di quello per la pulizia normale.
 - Se il dispenser chemagic non viene utilizzato per un periodo prolungato, è necessario eseguire la "procedura di pulizia normale" per assicurare le prestazioni dello strumento quando questo verrà rimesso in funzione.
7. La quantità di DNA proveniente dal campione di sangue intero ottenuto può essere quantificata con l'utilizzo di un metodo indipendente, ad esempio la misurazione UV.

LIMITI DELLA PROCEDURA

In alcuni casi, nell'eluato potrebbero rimanere tracce delle microsfere magnetiche B. Nonostante tali particelle non interferiscano con PCR e gran parte delle applicazioni a valle, si consiglia un passaggio ulteriore di separazione utilizzando un separatore magnetico (chemagic Stand 96, fornito in dotazione con chemagic 360 96 Rod Head Set prod. n. CMG-370) o di centrifugazione, allo scopo di separare eventuali tracce di particelle. Per la misurazione UV di eluati di DNA da campioni di sangue intero, tracce di microsfere magnetiche possono comportare uno sfondo di intensità maggiore, per cui prima della quantificazione è opportuno eseguire un passaggio di separazione.

Il DNA estratto deve essere utilizzato immediatamente dopo l'estrazione nel test diagnostico *in vitro* desiderato.

Il kit non è destinato all'uso per l'estrazione e la purificazione del cfDNA genomico umano o umano da un campione di plasma o del cfDNA umano da un campione di sangue intero.

La resa del DNA è fortemente influenzata dalle caratteristiche ematiche: ad esempio, può essere ridotta in presenza di bassa conta leucocitaria.

PRESTAZIONI TIPICHE

Campioni di sangue

Le prestazioni del kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 e dello strumento 2024-0010 chemagic 360-D con campioni di sangue intero sono state stabilite attraverso l'esecuzione di estrazioni di DNA da campioni da donatori sani. La resa media per ciascun campione è stata calcolata e tracciata rispetto alla conta leucocitaria. La tabella 1 illustra le statistiche descrittive delle medie dei campioni, mentre le rese del DNA sono presentate nelle figure 1 e 2 utilizzando provette dei campioni di EDTA e di citrato. Nota: la resa del DNA è inoltre influenzata dalla diluizione del campione causata dalla provetta del campione che viene impiegata (il volume dell'agente conservante è differente nelle provette dei campioni di EDTA e citrato).

I risultati della purezza del DNA estratto sono presentati nella figura 3.

Tabella 1. Statistiche descrittive dei risultati del campione

| Variabile | N | Mediana | Media | Minimo | Massimo |
|--|----|---------|-------|--------|---------|
| Resa citrato (µg/campione di 200 µL) | 41 | 4.6 | 4.6 | 3.0 | 6.6 |
| Resa EDTA (µg/campione di 200 µL) | 41 | 5.1 | 5.2 | 2.8 | 7.9 |

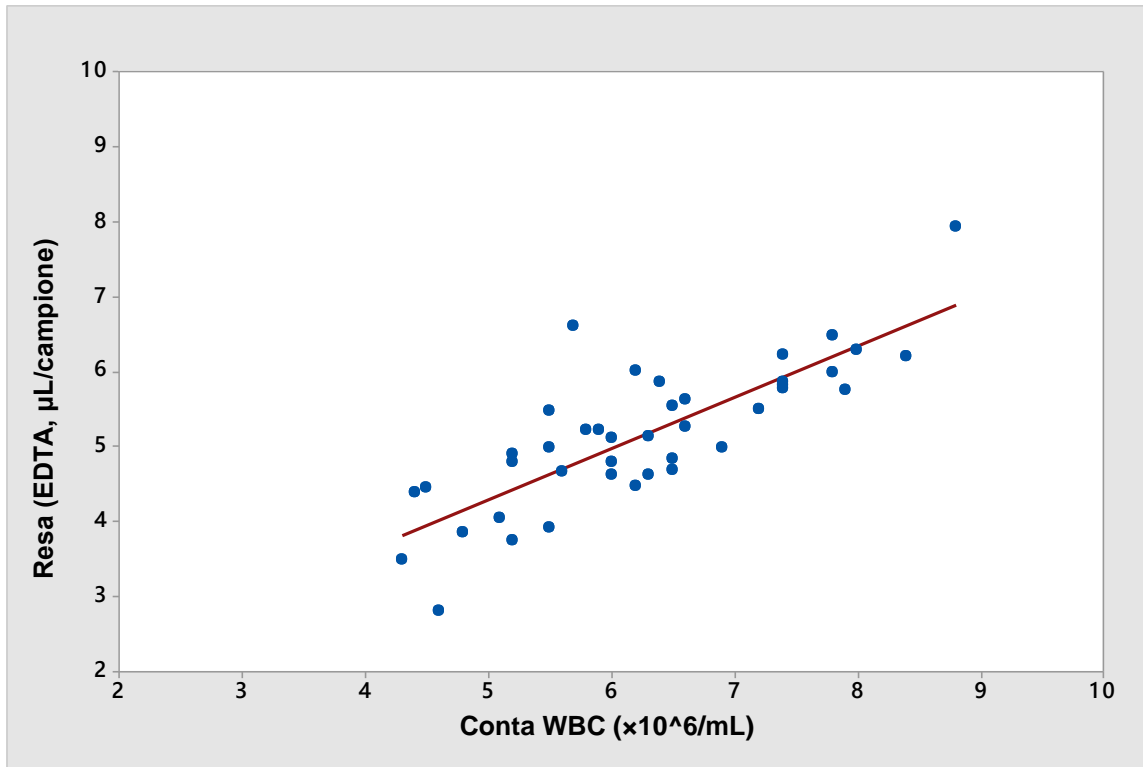


Figura 1. La resa del DNA (provette di EDTA, 41 campioni) da volume del campione di 200 µL. Le conte leucitarie nel sangue di donatori sani sono state determinate e sono risultate all'interno dell'intervallo $4.3 - 8.8 \times 10^6$ cellule/mL.

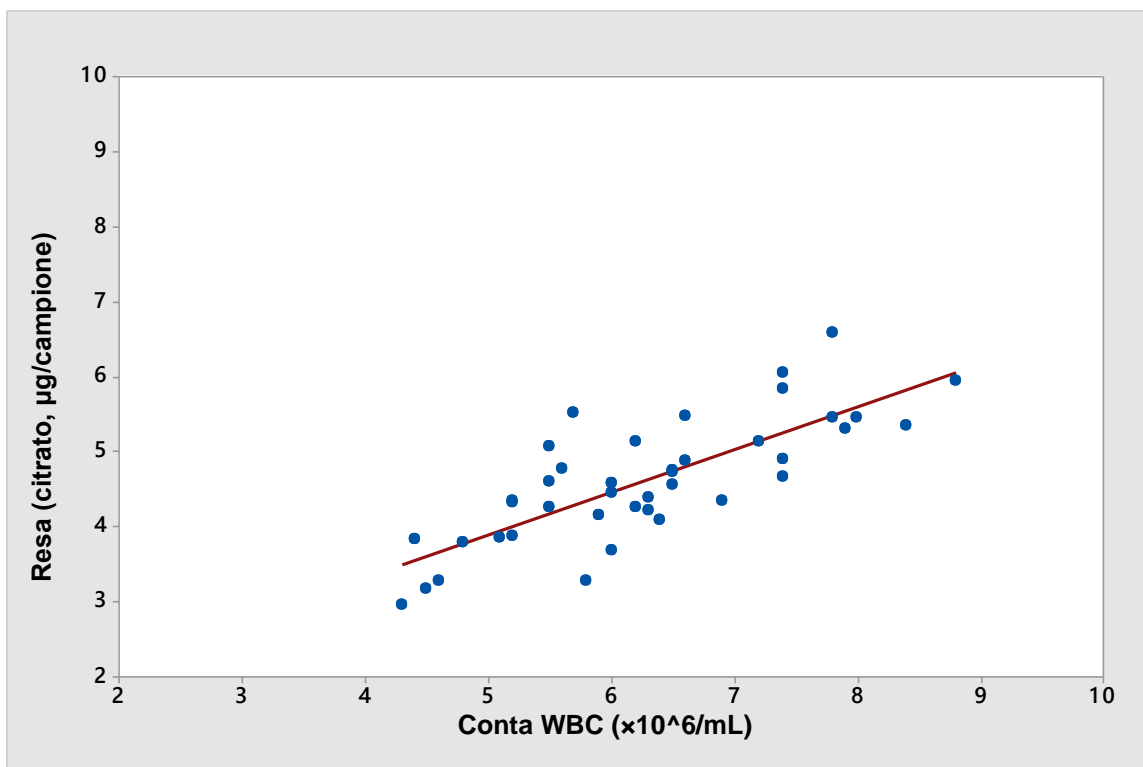


Figura 2. La resa del DNA (provette di citrato, 41 campioni) da volume del campione di 200 µL. Le conte leucitarie nel sangue di donatori sani sono state determinate e sono risultate all'interno dell'intervallo $4.3 - 8.8 \times 10^6$ cellule/mL.

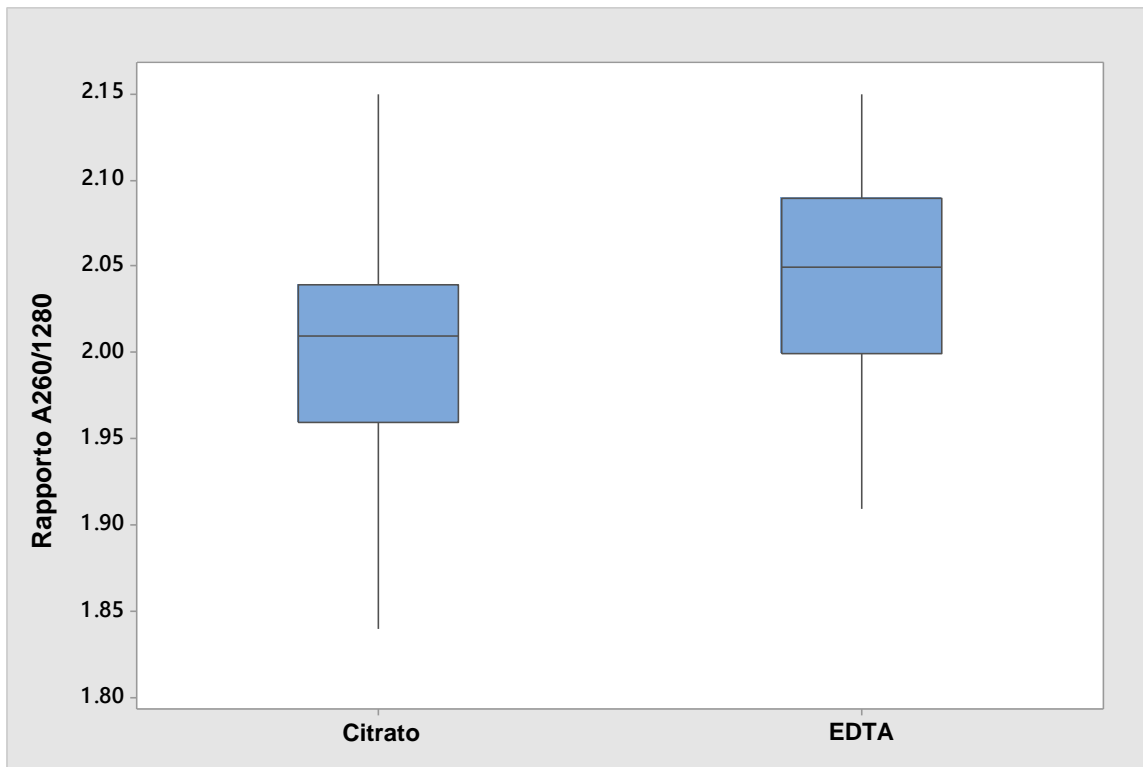


Figura 3. Purezza del DNA estratto (rapporto di assorbanza A260/A280) di 41 campioni di citrato e di 41 campioni di EDTA.

Campioni di plasma

Lo studio di valutazione delle prestazioni del kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 e dello strumento 2024-0010 chemagic 360-D con campioni di plasma è stato condotto presso un laboratorio di analisi con accreditazione FINAS (EN ISO/IEC 17025) utilizzando un'applicazione a valle con registrazione IVD CE per la diagnosi del Cytomegalovirus (CMV). I risultati dei campioni dei pazienti positivi con numero di copie CMV sono riportati nella tabella 2.

Tabella 2. Risultati dei campioni dei pazienti positivi a CMV

| ID campione | Dispositivo d'indagine (piattaforma di estrazione del DNA chemagic) | | Dispositivo di confronto (piattaforma di estrazione del DNA con registrazione IVD CE) | |
|-------------|--|-----------------------------|--|-----------------------------|
| | Risultato kit CMV (copie / mL) | Valutazione del rilevamento | Risultato kit CMV (copie / mL) | Valutazione del rilevamento |
| 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 | 6.8x10E6 | Positivo | 4.5x10E6 | 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 |

* Il numero di copia del virus nei campioni 017 e 035 è inferiore al limite di rilevamento del dosaggio a valle.

GARANZIA

Tutti i dati sopra esposti sono stati ottenuti seguendo la procedura indicata. Ogni cambiamento o modifica alla procedura non raccomandato dal produttore può inficiare i risultati. In tal caso Wallac Oy o le società ad essa affiliate declinano ogni responsabilità, implicita o statutaria, inclusa quella di commerciabilità e idoneità dei propri prodotti.

Wallac Oy, le società affiliate ed i suoi distributori autorizzati non saranno tenuti, in tal caso, a risarcire alcun danno indiretto o consequenziale.

Nessun cambiamento di contenuto tra la versione attuale e quella precedente. Nome e logo della società aggiornati.

Ultima revisione 10 maggio 2023