

3207-0010

chemagic™ DNA CS200 kit

Instruções de utilização. Reagentes para 960 extrações.

Fabricante:

Wallac Oy

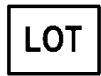
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlândia

Telefone: +358 2 2678 111

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE

revvity

SÍMBOLOSDispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

Código do lote



Número de embalagem



Número de catálogo



Prazo de validade



Limites de temperatura



Armazenar no escuro



Conteúdo suficiente para “n” ensaios



Consulte as instruções de utilização



Fabricante



GHS02



GHS08



GHS07



GHS05



Este lado para cima



Reciclável



Frágil, manusear com cuidado



Conservar seco

ÍNDICE

SÍMBOLOS	2
UTILIZAÇÃO PREVISTA	5
RESUMO E PRINCÍPIOS	5
CONTEÚDO DO KIT	5
Reagentes	6
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT	13
COLHEITA E MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS	13
Estabilidade das amostras de plasma	14
Estabilidade das amostras de sangue total	14
Influência de substâncias interferentes	14
AVISOS E PRECAUÇÕES	15
PROCEDIMENTO	16
Protocolo de extração que utiliza o instrumento chemagic 360-D	16
Fases do processamento em detalhe	16
Protocolo de extração que utiliza o instrumento chemagic Prime Jr-D	20
OBSERVAÇÕES À TÉCNICA	20
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	21
CARACTERÍSTICAS DO ENSAIO	21
Amostras de sangue	21
Amostras de Plasma	23
GARANTIA	25

chemagic™ DNA CS200 kit

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O kit chemagic™ DNA CS200 destina-se à extração e purificação de ADN de sangue total ou plasma humano para análise através de sistemas de teste de diagnóstico *in vitro* baseado em PCR. O transtorno e determinação dos analitos dependem do ensaio a jusante baseado em PCR. O produto destina-se a ser utilizado com um fluxo de trabalho automatizado por funcionários de laboratórios com formação.

RESUMO E PRINCÍPIOS

O kit chemagic DNA CS200 é baseado numa plataforma tecnológica de partículas magnéticas proprietária da Revvity chemagen Technologie GmbH. As células ou outra fonte de ADN presentes em amostras de sangue total ou plasma são lisadas durante o processo de extração. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se a pequenas partículas magnetizáveis, sendo portanto magneticamente separadas do material de amostra. Durante as fases seguintes, os contaminantes são removidos e os ácidos nucleicos purificados são transferidos para um tampão de eluição. O processamento automatizado da amostra é executado utilizando o instrumento chemagic 360-D (2024-0010) com o chemagic 360 96 Rod Head Set (CMG-370) ou o chemagic Prime™ Jr-D (2029- 0010).

CONTEÚDO DO KIT

O kit contém reagentes suficientes para realizar 960 extrações.

O prazo de validade do kit intacto é indicado no rótulo exterior. Não utilizar nenhum dos componentes depois do fim da data de validade. Armazenar a +2 - +25 °C.

Depois de abertos, os componentes do kit têm uma estabilidade limitada. A estabilidade após a abertura é indicada individualmente no quadro abaixo para cada componente no reagente. Nota: Volte a tapar hermeticamente os frascos imediatamente após a utilização para impedir 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 (Partículas 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 (liofilizado)
Poly(A)RNA (Poli-A do RNA)	10 tubos (seco)
Poly(A)RNA buffer (Tampão de Poli-A do RNA)	10 tubos, 0.5 mL
Disposable Tips (96 ea) (Pontas descartáveis (96 cada))	10 x 96 cada

Reagentes

Componente	Estabilidade e armazenamento
Partículas magnéticas B	+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

Suspensão de partículas contendo nanopartículas de óxido de ferro encapsuladas em matriz de álcool polivinílico. As Partículas Magnéticas (28.0 ± 0.5 mg/mL) ligam o ADN durante o processo de extração.

Tampão de Lise P



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Armazenar no escuro. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução tampão aquosa pronta a utilizar contendo tiocianato de guanidina (50–75%). O Tampão de Lise é utilizado para lisar as células ou outra fonte de ADN presente na amostra, de modo a obter o ADN em solução.

O Tampão de Lise P contém tiocianato de guanidina:

H302+H312+H332 Tóxico por ingestão, em contacto com a pele ou por inalação.

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P260 Não respirar as poeiras ou névoas.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P310 Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

P362+P364 Retirar a roupa contaminada e lavar antes de a voltar a usar.

P405 Armazenar em local fechado à chave.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

EUH032 Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

Tampão de Ligação P



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução tamponada de Tris-HCl (pH 5.0–5.9) pronta a utilizar com perclorato de sódio (25–50%), ácido acético (1–2.5%) e etanol (25–50%). O Tampão de Ligação é utilizado para criar as condições adequadas para manter o ADN ligado às Partículas Magnéticas.

O Tampão de Ligação P contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

H302 Nocivo por ingestão.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Utilizar equipamento [elétrico/de ventilação/de iluminação] à prova de explosão.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P403+P235 Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Tampão de Lise B



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Proteger da luz solar. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

ATENÇÃO

Solução tampão aquosa (pH 6.9–7.4) pronta a utilizar contendo cloreto de guanidina (15–25%) e detergente. O Tampão de Lise é utilizado para lisar células do sangue de modo a obter o ADN em solução.

O Tampão de Lise B contém cloreto de guanidina:

H315 Provoca irritação cutânea.

H319 Provoca irritação ocular grave.

P264 Lavar cuidadosamente após manuseamento.

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

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P332+P313 Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

P362+P364 Retirar a roupa contaminada e lavar antes de a voltar a usar.

P337+P313 Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

Tampão de Ligação B



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução tamponada de Tris-HCl (pH 5.0–5.9) pronta a utilizar com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). O Tampão de Ligação é utilizado para criar as condições adequadas para manter o ADN ligado às Partículas Magnéticas.

O Tampão de Ligação B contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Utilizar equipamento [elétrico/de ventilação/de iluminação] à prova de explosão.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P403+P235 Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Tampão de Lavagem BB



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução tamponada de Tris-HCl (pH 5.0–5.6) pronta a utilizar com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). Utilizada para remover contaminantes não ADN durante a fase de lavagem.

O Tampão de Lavagem BB contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Utilizar equipamento [elétrico/de ventilação/de iluminação] à prova de explosão.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P403+P235 Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Tampão de Lavagem BA



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução tamponada de Tris-HCl (pH 5.0–5.6) pronta a utilizar com perclorato de sódio (15–25 %) e etanol (25–50 %). Utilizada para remover contaminantes não ADN durante a fase de lavagem.

O Tampão de Lavagem BA contém perclorato de sódio e etanol:

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H373 Pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Utilizar equipamento [elétrico/de ventilação/de iluminação] à prova de explosão.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P403+P235 Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Tampão de Lavagem E



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

PERIGO

Solução pronta a utilizar contendo etanol a 50–75 %. Utilizada para remover os últimos vestígios de contaminantes não ADN durante a fase de lavagem.

O Tampão de Lavagem E contém etanol:

H225 Líquido e vapor facilmente inflamáveis.

P210 Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.

P241 Utilizar equipamento [elétrico/de ventilação/de iluminação] à prova de explosão.

P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P403+P235 Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Tampão de Lavagem H

+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

Solução de água ultrafiltrada pronta a utilizar. Utilizada para remover possíveis resíduos de etanol.

Tampão de Eluição

+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de aberto, estável durante 60 dias a +2 - +25 °C.

Solução tamponada de Tris-HCl (pH 7.8–8.4) a 10 mM pronta a utilizar.

Proteinase K



+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco. Depois de reconstituída, estável durante 28 dias a +2 - +8 °C.

PERIGO

A Proteinase K (proteínase 50–90%) é reconstituída adicionando 2.5 mL de água de grau molecular. A Proteinase K é adicionada para aumentar a eficiência da fase de lise.

A Proteinase K contém proteinase, serina de *Tritirachium album*:

H315 Provoca irritação cutânea.

H319 Provoca irritação ocular grave.

H334 Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.

H335 Pode provocar irritação das vias respiratórias.

P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

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

P284 [Em caso de ventilação inadequada] usar proteção respiratória.

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P405 Armazenar em local fechado à chave.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

Poli-A do RNA

+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do tubo. Depois de reconstituído, estável durante 30 dias a +2 - +8 °C.

O Poli-A do RNA é reconstituído adicionando 440 µL de tampão de Poli-A do RNA. O Poli-A do RNA funciona como um portador de ADN para aumentar a eficácia do processo de extração.

Tampão de Poli-A do RNA

+2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo do tubo.



PERIGO

Solução tampão aquosa pronta a utilizar contendo tiocianato de guanidina (25–50%). O Tampão de Poli-A do RNA é utilizado para a reconstituição de Poli-A do RNA.

O Tampão de Poli-A do RNA contém tiocianato de guanidina:

H302+H332 Nocivo por ingestão ou por inalação.

H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

P260 Não respirar as poeiras ou névoas.

P303+P361+P353 SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P305+P351+P338 SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.

P310 Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.

P405 Armazenar em local fechado à chave.

P501 Eliminar o conteúdo/recipiente em conformidade com os regulamentos locais.

EUH032 Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

Pontas descartáveis (96 cada) +2 - +25 °C até ao fim da validade indicada no rótulo.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT

O kit chemagic DNA CS200 necessita dos seguintes itens, que podem ser obtidos através da Wallac Oy ou Revvity, Inc. e seus distribuidores:

- chemagic 360-D (prod. n.º 2024-0010) com chemagic 360 96 Rod Head Set (prod. n.º CMG-370) ou chemagic Prime Jr-D (prod. n.º 2029-0010)
- consumíveis para extração de ADN do chemagic (placas de poço baixo, placas de poço profundo, prod. n.º 4148-0010)

Itens adicionais requeridos:

- pipetas e pontas de pipeta com barreiras de aerossóis
- água de grau molecular

Itens adicionais opcionais:

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

COLHEITA E MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

Devem ser utilizadas amostras de plasma humano (200 µL), frescas ou armazenadas geralmente durante um máximo de cinco dias entre +2 e +8 °C ou armazenadas congeladas entre -20 e -80 °C. Amostras congeladas não podem ser descongeladas mais do que uma vez. Os estabilizadores de amostras recomendados são EDTA ou citrato. A utilização de amostras de plasma estabilizadas com heparina pode provocar problemas de inibição em PCR e portanto não é recomendada.

Devem ser utilizadas amostras de sangue total humano (200 µL), frescas ou armazenadas geralmente durante o máximo de uma semana entre +2 e +8 °C. Os estabilizadores de sangue recomendados são EDTA ou citrato. A utilização de amostras de sangue estabilizadas com heparina pode provocar problemas de inibição em PCR e portanto não é recomendada. Durante o armazenamento, a contagem de glóbulos brancos do sangue na amostra de sangue total diminui.

Durante o armazenamento, a contagem de glóbulos brancos do sangue na amostra de sangue total diminui. Armazenar as amostras pode provocar uma baixa produtividade da extração do ADN.

Não foi determinada a eficiência da extração usando outros tipos de material de amostra.

Estabilidade das amostras de plasma

A influência do tempo e temperatura de armazenamento foi estudada¹ utilizando várias amostras de plasma negativas e positivas confirmadas de citomegalovírus (CMV), colhidas em tubos de recolha contendo EDTA ou citrato como anticoagulante. As amostras foram armazenadas a -20 °C. O ADN extraído foi analisado com DIV com marcação CE (CE-IVD) a jusante para o diagnóstico de CMV em análise única e foi categorizado como CMV-positivo e CMV-negativo. Não foi observado qualquer desvio clinicamente significativo nos resultados em comparação com o método de extração comparativo.

Estabilidade das amostras de sangue total

A influência do tempo e temperatura de armazenamento foi estudada² utilizando várias amostras de sangue total colhidas de doadores saudáveis em tubos de recolha contendo EDTA ou citrato como anticoagulante. As amostras foram armazenadas entre +2 e +8 °C durante um período de até 7 dias. As amostras de ADN extraído foram replicadas no ensaio PCR com registo DIV com marcação CE (CE-IVD) e as amostras foram testadas por um kit de ensaio a jusante disponível comercialmente, capaz de detetar síndrome do X frágil, utilizando as amostras de referência recomendadas pelo National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Não foi observado qualquer desvio clinicamente significativo nos resultados.

Influência de substâncias interferentes

Foi testado o efeito de substâncias contidas no plasma ou sangue total humano que interferem possivelmente com a extração de ADN,³ nas amostras de sangue total e nas amostras de plasma. As substâncias testadas e as respetivas concentrações são apresentadas na tabela abaixo. Com base nos resultados, concluiu-se que as substâncias testadas não interferem com a extração de ADN.

Substância interferente	Concentração	Interferência
Bilirrubina conjugada	332 µg/mL	Não
Bilirrubina não conjugada	200 µg/mL	Não
Triglicéridos	30 mg/mL	Não
Albumina sérica humana	30 mg/mL	Não

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.

AVISOS E PRECAUÇÕES

O produto destina-se a ser utilizado por funcionários de laboratórios com formação.

Para minimizar irregularidades nos resultados de diagnóstico, o produto destina-se a ser utilizado com um controlo interno, assim como controlos positivos e negativos ao longo do processo de preparação de amostras e amplificação e deteção de amostras, de acordo com o ensaio a jusante utilizado.

Manuseie todos os espécimes de doentes como potencialmente infecciosos. No entanto, devem ser observadas todas as precauções recomendadas para a manipulação de derivados de sangue. Consulte a publicação "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" do U.S. Department of Health and Human Services ou outras regulamentações locais ou nacionais.

O Tampão de Lise P contém tiocianato de guanidina e é nocivo por ingestão, em contacto com a pele ou por inalação, provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves e é nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. **O Tampão de Ligação P contém perclorato de sódio e etanol** e é um líquido e vapor altamente inflamável, é nocivo por ingestão, provoca irritação ocular grave e pode afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida. **O Tampão de Poli-A do RNA contém tiocianato de guanidina** e é nocivo por ingestão ou por inalação, provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves e é nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. **O Tampão de Lavagem BB, o Tampão de Lavagem BA e o Tampão de Ligação B contém perclorato de sódio e etanol** e são líquidos e vapores altamente inflamáveis, provocam irritação ocular grave e podem afetar os órgãos após exposição prolongada ou repetida. **O Tampão de Lise B contém cloreto de guanidina** e provoca irritação cutânea e irritação ocular grave. **O Tampão de Lavagem E contém etanol** e é um líquido e vapor facilmente inflamáveis. **A Proteinase K contém proteinase, serina de *Tritirachium album*** e provoca irritação cutânea e irritação ocular grave, quando inalada pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias e pode provocar irritação das vias respiratórias. Consulte os avisos específicos da secção "CONTEÚDO DO KIT".

Para evitar lesões ao trabalhar com os componentes do kit, utilize sempre óculos de proteção, luvas descartáveis e vestuário de proteção. Para informações mais detalhadas, consulte as respetivas fichas de dados de segurança (SDS).

Para o manuseamento das soluções etanólicas siga os regulamentos locais.

A eliminação dos resíduos deve ser realizada de acordo com as regulamentações locais.

Para um paciente/utilizador/terceiro na União Europeia e em países com um regime regulamentar idêntico (Regulamento DIV; 2017/746/UE); se, durante a utilização deste dispositivo, ou como resultado da respetiva utilização, ocorrer um incidente grave, é favor notificá-lo ao fabricante e à sua autoridade nacional. As informações de contacto do fabricante deste dispositivo para notificar um incidente grave estão indicadas na capa das presentes instruções de utilização.

PROCEDIMENTO

Protocolo de extração que utiliza o instrumento chemagic 360-D

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

O protocolo é indicado para processar até 96 amostras em simultâneo (ver fases do protocolo a seguir). Para obter instruções detalhadas sobre a utilização do instrumento 360-D chemagic, consulte o Manual do utilizador do chemagic 360-D.

Os reagentes e as amostras devem estar à temperatura ambiente (+19 - +25 °C) no momento de utilização.

NOTA: Volte a tapar hermeticamente os frascos imediatamente após a utilização ou manter os frascos hermeticamente conectados ao instrumento chemagic 360-D. O Tampão de Ligação P, o Tampão de Ligação B, o Tampão de Lavagem BB e o Tampão de Lavagem E contêm etanol. Se o etanol evaporar, não podem ser garantidas a produtividade ótima nem a sensibilidade de deteção.

Fases do processamento em detalhe

Fases de preparação

1. Verifique a integridade de todos os componentes do kit. Caso estejam danificados, contacte o seu fornecedor.
2. Para amostras de plasma: Reconstitua os componentes Proteinase K e Poli-A do RNA
 - a. Proteinase K: Adicione 2.5 mL de água de grau molecular ao frasco de Proteinase K e misture suavemente até dissolver.
 - b. Poli-A do RNA: Adicione 440 µL de Tampão de Poli-A do RNA no tubo de Poli-A do RNA e misture bem até dissolver.
3. Para amostras de plasma: Se o Tampão de Lise P contém precipitado (formado durante a transferência ou o armazenamento), a solução deve ser aquecida a 50–60 °C e bem misturada até ficar transparente. A clareza do Tampão de Lise P deve ser sempre confirmada visualmente antes da utilização (deve ser efetuada uma inspeção visual seguida da mistura e abertura da tampa do frasco).
4. Conecte os frascos de reagente ao instrumento chemagic 360-D da seguinte forma:
 - Manifold 1: Nenhum frasco conectado
 - Manifold 2: Nenhum frasco conectado
 - Manifold 3: Tampão de Lavagem BB
 - Manifold 4: Tampão de Lavagem BA
 - Manifold 5: Tampão de Lavagem E
 - Manifold 6: Tampão de Lavagem H
5. Encha e efetue o priming do tubo do chemagic 360-D com reagentes, escolhendo o protocolo '**prime manifolds H96 all 360 V150116**'. Prima o botão [Insert IDs], siga as instruções dadas pelo software e inicie o priming premindo o botão [OK]. Se as funções de ativação da entrada de dados de identificação forem desativadas, comece diretamente o priming pressionando o botão [Start]. Deve-se efetuar o priming quando

os frascos de reagente estão conectados ao instrumento 360-D chemagic pela primeira vez ou quando o tubo do instrumento não tenha ficado ainda preenchido com os acima mencionados reagentes.

6. Certifique-se de que as amostras são homogêneas no momento da pipetagem das amostras numa placa, misturando delicadamente.

Fases de protocolo

As **Partículas magnéticas B** (placa de poço baixo na posição 2 da placa no instrumento 360-D chemagic) são ressuspensas misturando bem e pipetadas manualmente (150 µL/poço) para cada poço de amostra correspondente em uso.

O **Tampão de Eluição** (placa de poço profundo na posição 8 da placa no instrumento chemagic 360-D) é pipetado manualmente (100 µL/poço) para cada poço de amostra correspondente em uso.

As fases de preparação de amostra são realizadas manualmente. Os reagentes utilizados na preparação das amostras dependem do tipo de amostra (sangue total/plasma). Após a conclusão das fases de preparação de amostras (consulte a tabela das fases de preparação de amostras), a placa de amostras é colocada no instrumento chemagic 360-D e inicia-se o processo automatizado de extração de ADN.

NOTA: O ensaio automático de extração deve ser iniciado imediatamente após adicionar o Tampão de Ligação P e/ou o Tampão de Ligação B aos poços de amostra lisada. A hesitação pode resultar em produtividade e pureza reduzidos.

Consulte a tabela a seguir para informações mais detalhadas relativas aos dados de fases de protocolo e posição das placas.

Ensaio de extração de ADN automático no instrumento chemagic 360-D

Posição no sistema de rastreio*	Material na posição	Fases do protocolo em detalhe
		<p>Selecione o protocolo 'check manifolds H96 all 360 V150116' para enxaguar o tubo antes de iniciar o ensaio da extração automática.</p> <p>Pressione o botão [Insert IDs], siga as instruções dadas pelo software e inicie o enxaguamento premindo o botão [OK].</p> <p>Se as funções de ativação da entrada de dados de identificação forem desativadas, comece diretamente o enxaguamento premindo o botão [OK] e o botão [Start].</p>
		<p>Quando utilizar as funções de ativação da entrada de dados de identificação, selecione o protocolo '---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che' e prima o botão [Insert IDs]. Siga as instruções dadas pelo software para preencher os dados necessários.</p> <p>Coloque as placas nas posições 1-8 do sistema de rastreio. Depois de colocar todas as placas, prima o botão [OK].</p>
1	Suporte com Pontas Descartáveis	Utilize Pontas Descartáveis de acordo com as posições das amostras. Nota: As pontas devem estar dispostas no suporte em filas completas.
2	Placa de poço baixo 150 µL Partículas Magnéticas B	Pipete cuidadosamente as Partículas Magnéticas B ressuspensas em cada poço de amostra em uso. Coloque a placa na posição 2 do suporte.
Prepare as amostras de acordo com os procedimentos descritos em tabelas separadas. As amostras devem ser preparadas depois de todas as outras fases de preparação estarem prontas e as placas colocadas nas posições 1-2 e 4-8 do sistema de rastreio.		
3	Placa de amostra (Placa de poço profundo)	Coloque a placa com as amostras preparadas na posição 3 do suporte e verifique que todas as placas estejam exatamente montadas e posicionadas. Feche a porta da frente e inicie imediatamente o processo de extração do ADN.
4	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na Posição 4 do suporte. O Tampão de Lavagem BB é distribuído automaticamente na placa.
5	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na Posição 5 do suporte. O Tampão de Lavagem BA é distribuído automaticamente na placa.
6	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na Posição 6 do suporte. O Tampão de Lavagem E é distribuído automaticamente na placa.
7	Placa de poço profundo	Coloque a placa vazia na Posição 7 do suporte. O Tampão de Lavagem H é distribuído automaticamente na placa.
8	Placa de poço profundo 100 µL de Tampão de Eluição	Coloque a placa do Tampão de Eluição previamente preenchida na Posição 8 do suporte.
		<p>Quando utilizar as funções de ativação da entrada de dados de identificação, inicia-se o ensaio de extração premindo o botão [Start], no fim da caixa de diálogo.</p> <p>Se as funções de ativação da entrada de dados de identificação forem desativadas, coloque as placas nas posições 1-8 do sistema de rastreio. Depois de colocar todas as placas, selecione o protocolo '---chemagic CS200 IVD prefilling V141203.che', marque as Colunas em uso no mapa da placa presente na caixa de diálogo e inicie a extração premindo diretamente o botão [Start].</p>

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

Preparação de amostra, Amostras de Sangue Total

Material	Fases do protocolo em detalhe
Placa de poço profundo 200 µL de sangue (amostra) 450 µL de Tampão de Lise B	Distribua 200 µL de sangue total num máximo de 96 poços da Placa de Amostra. Adicione Tampão de Lise B nos poços que contêm amostra e incube a placa durante 10 minutos.
1050 µL de Tampão de Ligação B	Adicione o Tampão de ligação B a cada poço de amostra de sangue total lisado. Coloque a placa de amostra na posição 3 do suporte e inicie imediatamente o ensaio.

Preparação de amostra, Amostras de Plasma

Material	Fases do protocolo em detalhe
Placa de poço profundo 4 µL de Poli-A RNA reconstituído 10 µL de Proteinase K reconstituída 200 µL de plasma (amostra) 450 µL de Tampão de Lise P	Adicionar Poli-A RNA e Proteinase K reconstituídos nos poços da amostra. Distribua 200 µL de plasma num máximo de 96 poços da Placa de Amostra. Adicione Tampão de Lise P nos poços que contêm amostra e incube as amostras a 50–60 °C durante 10 minutos. A atividade da Proteinase K irá diminuir após uma incubação superior a 10 minutos em Tampão de Lise P. Certifique-se de que todas as amostras são misturadas com Poli(A)RNA/Proteinase K/Tampão de Lise P durante a incubação.
1050 µL de Tampão de Ligação P	Adicione o Tampão de Ligação P em cada poço de amostra de plasma lisado. Coloque a placa de amostra na posição 3 do suporte e inicie imediatamente o ensaio.

Depois de finalizado o processo de isolamento, colha ADN eluído e utilize o botão [Turn Table] para descarregar o sistema de rastreio. Cada clique no [Turn Table] move o sistema de rastreio (mesa) uma posição no sentido horário. Nunca mova manualmente o sistema de rastreio (mesa). Observação: não rode o eixo X à mão porque pode provocar danos no equipamento. Todos os movimentos devem ser efetuados com a função [Turn Table].

Protocolo de extração que utiliza o instrumento chemagic Prime Jr-D

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

O protocolo é indicado para processar até 48 amostras por ciclo e proporciona um processamento de amostras automatizado. Para obter instruções detalhadas sobre a utilização do instrumento chemagic Prime Jr-D, consulte o Manual de Instrumento do chemagic Prime Jr-D.

Os reagentes e as amostras devem estar à temperatura ambiente (+19 - +25 °C) no momento de utilização.

OBSERVAÇÕES À TÉCNICA

1. A compreensão total destas instruções e do Manual de Instrumento chemagic 360-D é indispensável para uma utilização correta do kit chemagic DNA CS200.
2. Não utilize os reagentes do kit depois do fim da data de validade indicada no rótulo do kit. Depois de abertos, os reagentes podem ser usados para o período de tempo indicado na listagem de reagentes deste folheto informativo do kit.
3. Qualquer desvio do protocolo pode afetar os resultados.
4. Os reagentes são distribuídos automaticamente em filas completas e, por conseguinte, as coberturas da ponta (incluídas no kit) devem ser usadas também em filas completas em cada barra em contacto com qualquer solução de reagente. Note-se também que se forem analisadas placas incompletas, as soluções podem não ser suficientes para 960 extrações.
5. A abertura da porta do instrumento chemagic 360-D enquanto estiver a decorrer a extração automática irá interromper a análise e as amostras a serem processadas podem perder-se.
6. A limpeza e a manutenção do sistema é descrita detalhadamente no Manual do Utilizador do chemagic 360-D.
 - A limpeza do sistema é realizada uma vez por semana: Limpe o Distribuidor do chemagic. Selecione o protocolo '**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**' e prima o botão [Insert IDs] ou o botão [Start], se as funções avançadas estiverem desativadas. Siga as instruções dadas pelo software.
 - Antes de passar para a utilização seguinte do Distribuidor chemagic execute o protocolo de priming adequado.
 - É recomendada a limpeza do Distribuidor chemagic com etanol a 70%, uma vez por mês. Para esse fim, em vez de utilizar um procedimento normal, utilize simplesmente o '**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**'.
 - Se o Distribuidor do chemagic não for utilizado durante um longo período de tempo é obrigatório executar o "procedimento de limpeza regular" para manter o desempenho do instrumento quando voltar a ser utilizado.
7. A quantidade de ADN proveniente da amostra de sangue total obtida pode ser quantificada recorrendo a um método independente, por ex.: medição por UV.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Em alguns casos podem permanecer no eluído vestígios de Partículas magnéticas B. Embora tais partículas geralmente não interfiram com a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) ou com a maioria das aplicações a jusante, recomenda-se uma fase de separação adicional utilizando um separador magnético (chemagic Stand 96, fornecido com o chemagic 360 96 Rod Head Set prod. n.º CMG-370) ou por centrifugação, a fim de separar quaisquer vestígios de partículas. Para a medição por UV de ADN eluído proveniente de amostras de sangue total, vestígios de Partículas magnéticas podem provocar um valor de base mais alto e deve ser realizada uma fase de separação antes da quantificação.

O ADN extraído deve ser utilizado imediatamente após a extração no teste de diagnóstico *in vitro* pretendido.

O kit não se destina a ser utilizado para extração e purificação do genoma humano ou de ADN livre (cfDNA, na sigla inglesa) humano proveniente da amostra de plasma, nem de cfDNA humano proveniente da amostra de sangue total.

A quantidade de ADN depende em larga escala das características do sangue, por ex.: uma contagem de leucócitos baixa resulta numa diminuição da quantidade de ADN.

CARACTERÍSTICAS DO ENSAIO

Amostras de sangue

O desempenho do kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 e do instrumento 2024-0010 chemagic 360-D que utiliza amostras de sangue total foi estabelecido através da realização de extrações de ADN de doadores saudáveis. A produtividade média de cada amostra foi calculada e traçada em relação à contagem de células brancas do sangue. A tabela 1 mostra as estatísticas descritivas das médias do espécime e as produtividades do ADN são apresentadas nas figuras 1 e 2, utilizando tubos de amostra quer de EDTA, quer de citrato. Nota: A produtividade do ADN é também afetada pela diluição da amostra causada pelo tubo de amostra usado (o volume de conservante é diferente nos tubos de amostra de EDTA e de citrato).

Os resultados sobre a pureza do ADN extraído são apresentados na Figura 3.

Tabela 1. A estatística descritiva dos resultados da amostra

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

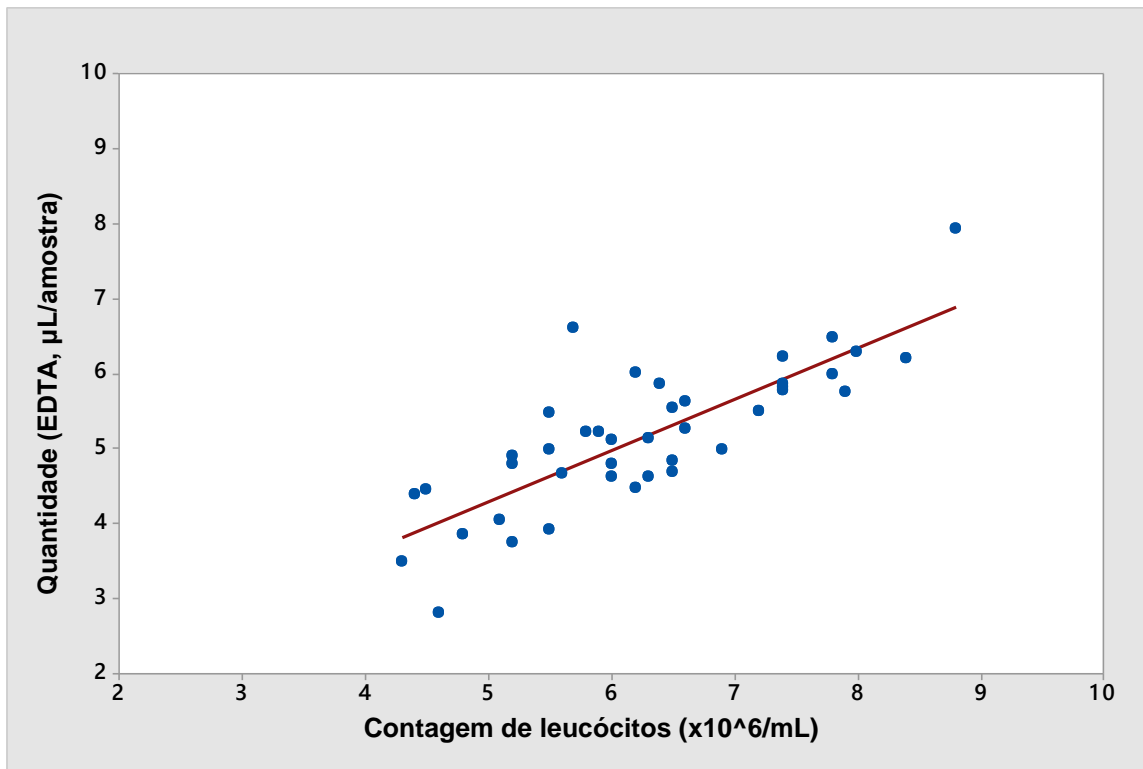


Figura 1. A produtividade do ADN (tubos de EDTA, 41 amostras) resultante de um volume de amostra de 200 µL. As contagens de células brancas do sangue de doadores saudáveis foram determinadas e encontravam-se no intervalo de 4.3 – 8.8 x 10e6 células/mL.

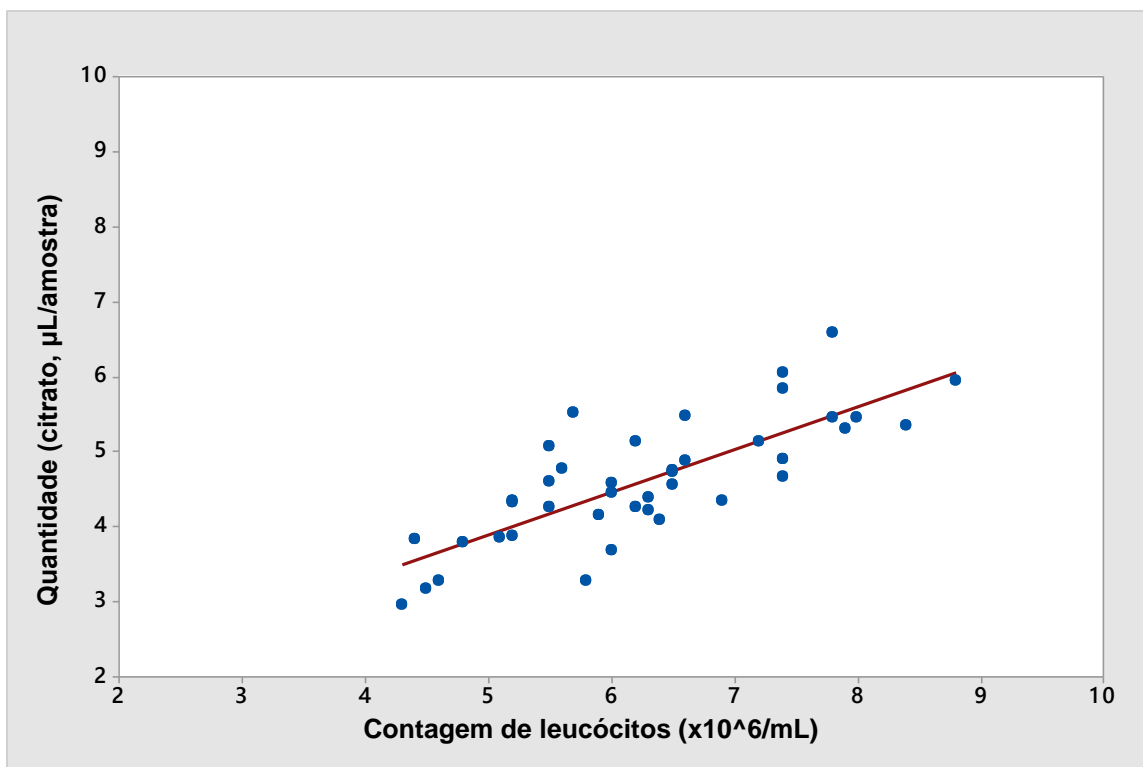


Figura 2. A produtividade do ADN (tubos de citrato, 41 amostras) resultante de um volume de amostra de 200 µL. As contagens de células brancas do sangue de doadores saudáveis foram determinadas e encontravam-se no intervalo de 4.3 – 8.8 x 10e6 células/mL.

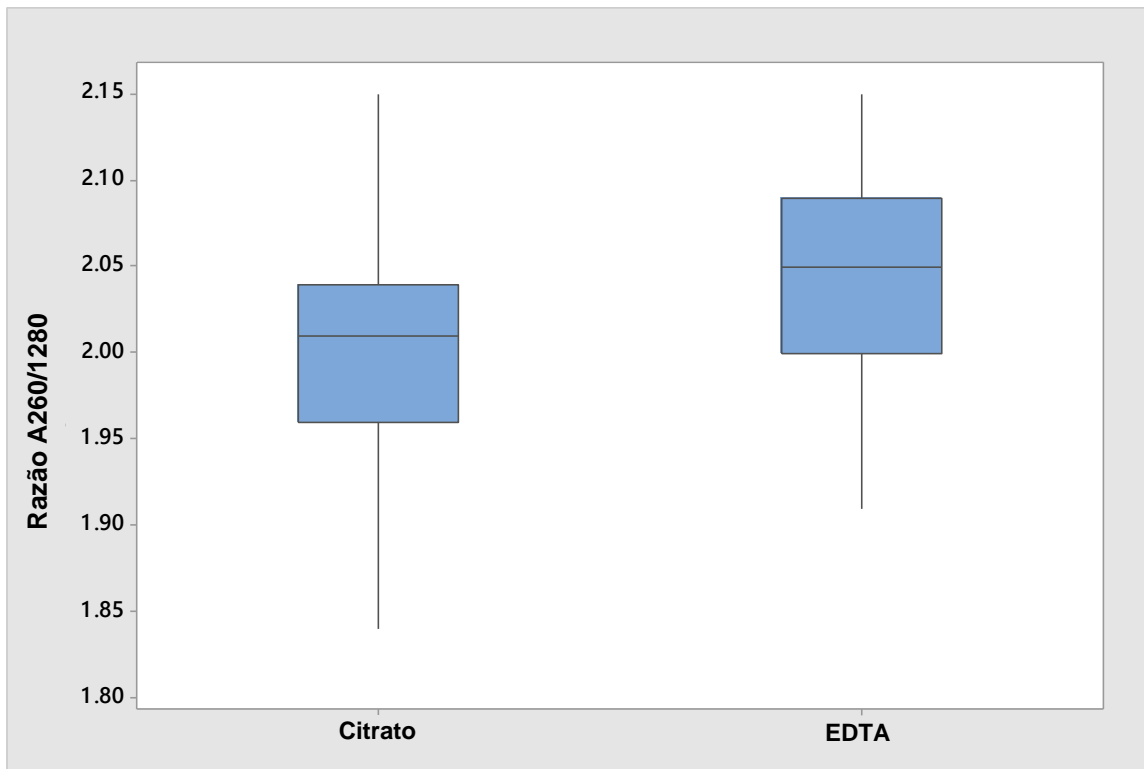


Figura 3. A pureza do ADN extraído (razão de absorvância A260/A280) de 41 amostras de citrato e 41 amostras de EDTA.

Amostras de plasma

O estudo de avaliação de desempenho do kit 3207-0010 chemagic DNA CS200 e do instrumento 2024-0010 chemagic 360-D que utiliza amostras de plasma foi realizado num laboratório de ensaios acreditado FINAS (EN ISO/IEC 17025) utilizando uma aplicação a jusante com marcação CE IVD para diagnóstico de Citomegalovírus (CMV). Na tabela 2 são apresentados os resultados das amostras positivas de pacientes com o número de cópias de CMV.

Tabela 2. Os resultados das amostras de doente CMV-positivo

ID da amostra	Dispositivo em fase experimental (plataforma de extração de ADN chemagic)		Dispositivo Comparador (plataforma de extração de ADN com marcação CE IVD)	
	Resultado do kit CMV (cópias / mL)	Avaliação de Detecção	Resultado do kit CMV (cópias / mL)	Avaliação de 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	6.8x10E6	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

* Os números de cópia do vírus das amostras 017 e 035 encontram-se abaixo do limite de deteção do ensaio a jusante.

GARANTIA

As características do ensaio aqui apresentadas foram obtidas utilizando a técnica indicada. Qualquer alteração da técnica, não recomendada pelo fabricante, pode afectar os resultados; neste caso a Wallac Oy e os seus afiliados não se responsabilizam por nenhuma garantia, expressa, implícita ou estatutária, incluindo a garantia implícita de venda ou adequação ao uso.

A Wallac Oy, os seus afiliados e distribuidores autorizados não serão, neste caso, responsáveis por danos indirectos ou consequentes.

Nenhuma alteração de conteúdo entre a versão atual e a anterior. Nome e logótipo da empresa atualizados.

Última revisão a 10 de maio de 2023