

Mode d'emploi

MagSi-DX Pathogen



MDDX00010096
MDDX00010960
MDDX0001005K
MDDX0001025K



96 Préps
960 Préps
5000 Préps
25000 Préps



Pour diagnostic
in-vitro



Rev. 2.1,
23/11/2021



magtivio B.V.
Daelderweg 9
6361 HK Nuth
Pays-Bas

Historique des révisions

Révision	Date de publication	Remarques
1	29/09/2021	Version initiale
2	23/11/2021	Corrections mineures du texte, correction du tableau section 2.2, mise en page du chapitre 5
2.1	04/01/2022	Marque CE ajoutée

Informations de contact

magtivio B.V.

Daelderweg 9 - 6163 HK - Nuth

Tél.: +31 (0) 45 208 4810

Fax: +31 (0) 45 208 4817

E-mail: info@magtivio.com

Assistance: support@magtivio.com

Commande: order@magtivio.com

Site Web: www.magtivio.com








Table des matières

1. Composants.....	1
1.1 Contenu du kit.....	1
1.2 Réactifs, consommables et équipements fournis par l'utilisateur.....	1
1.3 À propos du présent mode d'emploi.....	2
2. Description du produit.....	2
2.1 Usage prévu.....	2
2.2 Caractéristiques du produit.....	3
2.3 Restrictions d'utilisation.....	3
2.4 Principe de fonctionnement.....	3
2.5 Contrôle qualité.....	3
2.6 Collecte, manipulation et stockage des échantillons.....	4
2.6.1 Échantillons sur écouvillon.....	4
2.6.2 Salive.....	4
2.7 Utilisation sur des systèmes automatisés.....	4
2.7.1 Manipulation des billes magnétiques.....	4
2.7.2 Systèmes de manipulation de fluides.....	4
2.7.3 Paramètres de l'agitateur.....	4
2.7.4 Systèmes de traitement par particules magnétiques.....	5
2.8 Conditions d'éluion.....	5
2.9 Caractéristiques de performance.....	5
2.9.1 Caractéristiques de performance analytique.....	5
2.9.2 Caractéristiques de performance de diagnostic.....	6
3. Conservation et durée de vie après la première ouverture.....	7
4. Avertissements et précautions.....	8
5. Préparation du réactif.....	10
5.1 Reconstitution de la Proteinase K.....	10
5.2 Reconstitution du Poly-A-RNA.....	10
5.3 Préparation du Lysis Master Mix.....	11
5.4 Préparation du Binding Buffer / Beads premix (facultatif).....	11
6. Protocole d'extraction de l'ARN viral.....	12
7. Procédure de contrôle.....	13
8. Interprétation des résultats.....	13
9. Compatibilité.....	13
10. Annexe.....	14
10.1 Dépannage.....	14
10.2 Références bibliographiques.....	15
10.3 Exigences de signalement.....	15
10.4 Explication des symboles.....	15
10.5 Restrictions d'usage du produit / Garantie.....	16

1. Composants

1.1 Contenu du kit

Nom du composant	MagSi-DX Pathogen			
	Conditionnement : 96 préps Réf. art. : MDDX00010096	Conditionnement : 960 préps Réf. art. : MDDX00010960	Conditionnement : 5 000 préps Réf. art. : MDDX0001005K	Conditionnement : 25 000 préps Réf. art. : MDDX0001025K
Lysis Buffer PA1 	20 mL	200 mL	1 000 mL	5 000 mL
Binding Buffer U1 	40 mL	400 mL	2 x 1 000 mL	2 x 5 000 mL
Wash Buffer I 	2 x 80 mL	2 x 800 mL	8 x 1 000 mL	8 x 5 000 mL
Wash Buffer II 	80 mL	800 mL	4 x 1 000 mL	4 x 5 000 mL
Elution Buffer 	20 mL	200 mL	1 000 mL	5 000 mL
Proteinase K	20 mg (pour 1,1 mL de solution de travail)	200 mg (pour 11 mL de solution de travail)	1 x 1 000 mg (pour 55 mL de solution de travail)	5 x 1 000 mg (pour 5 x 55 mL de solution de travail)
Poly-A-RNA	0,3 mg (pour 120 µl de solution de travail)	3 mg (pour 1,2 mL de solution de travail)	15 mg (pour 6 mL de solution de travail)	3 x 25 mg (pour 3 x 10 mL de solution de travail)
Poly-A-RNA Buffer	0,5 mL	5 mL	20 mL	3 x 20 mL
MagSi-PA VII	2 mL	20 mL	100 mL	5 x 100 mL

1.2 Réactifs, consommables et équipements fournis par l'utilisateur

Les équipements nécessaires peuvent varier selon la méthode de traitement et l'installation ou la configuration de l'instrument. Veuillez consulter le fabricant du système automatisé pour les consommables spécifiques à la plateforme. Consultez également la section 2.7 pour plus de détails sur l'automatisation du MagSi-DX Pathogen.

Produit	Réf.	Quantité
MM-Separator 96 Deepwell	MDMG0013	1 unité

Réactifs :

- Eau de qualité biologie moléculaire

Consommables :

- Microplaques 96 puits à fond rond (U) et puits carrés (2 mL) pour le traitement des échantillons (suggestion : Riplate®SW 96, PP, 2 mL, Ritter, 43001-0020)
- Microplaques 96 puits à fond rond (U) (300 µL) pour le transfert de l'échantillon traité (suggestion : Nunc 96-Well Microplates, Round, Nonsterile, Thermo Scientific, 267245)
- Embouts de pipette (avec barrière pour aérosol et sans nucléases recommandés)

Équipements :

- Micropipettes, simples et 8 ou 12 canaux (10-100 µL et 100-1 000 µL)
- Agitateur de microplaque (suggestion : ThermoMixer C, Eppendorf)

1.3 À propos du présent mode d'emploi

Il est recommandé de lire attentivement le présent mode d'emploi avant d'utiliser le produit.

2. Description du produit

2.1 Usage prévu

Le MagSi-DX Pathogen est destiné à être utilisé dans le cadre de l'isolation et la purification de l'ARN viral à des fins de diagnostic in vitro. Le kit peut être utilisé avec des écouvillonnages nasopharyngés et de la salive provenant d'humains. Le kit est conçu pour être utilisé avec une application en aval d'amplification et de détection de l'ARN viral (en particulier le séquençage RT-qPCR). Le kit a été spécifiquement validé pour les flux de diagnostic du SARS-CoV-2.

Le MagSi-DX Pathogen ne fournit pas un résultat de diagnostic. Il relève de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser et de valider le kit avec un test de diagnostic in vitro en aval, en fonction de l'agent pathogène ciblé, et d'utiliser des contrôles adaptés pour les applications en aval (par ex. contrôles internes, contrôles d'extraction, contrôles positifs / négatifs). Les résultats de diagnostic obtenus à l'aide d'acides nucléiques isolés par le biais du MagSi-DX Pathogen et associés à un test de diagnostic in vitro doivent être interprétés au vu d'observations cliniques ou de laboratoire supplémentaires.

Le MagSi-DX Pathogen est destiné à être utilisé par des professionnels, tels que des techniciens et médecins expérimentés et formés aux techniques de biologie moléculaire, jouissant d'une expérience avec les écouvillons et autres supports d'échantillons humains potentiellement infectieux.

Le MagSi-DX Pathogen n'est pas adapté à l'auto-test ni au test aux côtés du patient.

2.2 Caractéristiques du produit

Paramètre	MagSi-DX Pathogen
Technologie	Chimie de liaison de l'acide nucléique par billes magnétiques et agent chaotrope
Support d'échantillon	Écouvillonnages nasopharyngés et salive
Volume de l'échantillon	200 µL
Volume d'élution	50 - 100 µL
Durée de traitement	~35 min pour 96 échantillons (selon la méthode de travail)
Méthode de traitement	Manuelle ou automatisée

2.3 Restrictions d'utilisation

Le MagSi-DX Pathogen est adapté à une utilisation avec des écouvillonnages nasopharyngés et de la salive provenant d'humains. Le MagSi-DX Pathogen n'a pas été validé pour d'autres supports d'échantillon. Les performances du produit ont été testées dans des flux de diagnostic du SARS-CoV-2. Les caractéristiques de performance pour chaque espèce de virus à ARN dans les échantillons cliniques respectifs ou l'agent de stabilisation échantillonné n'ont pas été établies et doivent être validées par l'utilisateur. En outre, l'extraction de l'ARN viral à l'aide du MagSi-DX Pathogen sur différents systèmes automatisés doit être validée par l'utilisateur. Le mode d'emploi doit être suivi à la lettre pour la purification de l'acide nucléique. Il est essentiel d'appliquer les bonnes pratiques de laboratoire pour permettre l'utilisation réussie du produit. Une manipulation appropriée des réactifs est indispensable pour éviter toute contamination ou impureté.

2.4 Principe de fonctionnement

La procédure s'appuie sur l'adsorption réversible des acides nucléiques sur les billes magnétiques, dans des conditions de tampon appropriées. La lyse de l'échantillon est obtenue par incubation à l'aide du Lysis Buffer PA1 contenant des ions chaotropiques supportés par la digestion de la Proteinase K. Afin d'assurer la liaison des acides nucléiques aux billes magnétiques, le Binding Buffer U1 et des billes MagSi-PA VII sont ajoutés au lysat. Après la séparation magnétique, les billes magnétiques sont lavées à l'aide des tampons de lavage I et II en vue d'éliminer les polluants et sels. L'éthanol résiduel des précédentes étapes de lavage est éliminé par séchage à l'air. Enfin, l'ARN viral de haute pureté est élué à l'aide du Elution Buffer hyposodé ou d'eau. L'ARN viral purifié peut directement être utilisé pour des applications en aval. Le MagSi-DX Pathogen peut être utilisé manuellement ou de manière automatisée sur des instruments de manipulation de fluides standard ou des séparateurs magnétiques automatisés.

2.5 Contrôle qualité

Conformément au système de contrôle qualité du fabricant, chaque lot de kits et ses composants sont testés selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante.

2.6 Collecte, manipulation et stockage des échantillons

Le MagSi-DX Pathogen convient pour des écouvillonnages nasopharyngés humains non traités frais ou de la salive fraîche ou congelée dans des tampons de collecte d'échantillon. Il est fortement recommandé d'utiliser des dispositifs de collecte des échantillons validés pour l'inactivation complète des virus. Veuillez vous référer aux directives applicables et aux instructions de fabricant pour la collecte, la manipulation et le stockage des échantillons cliniques ainsi que les autres exigences pré-analytiques. Les échantillons doivent être soigneusement mélangés avant utilisation.

2.6.1 Échantillons sur écouvillon

Sortez l'écouvillon du tampon de collecte et transférez 200 µL de solution dans une microplaque pour extraction d'ARN. Si besoin, pressez l'écouvillon contre la paroi du tube pour en faire sortir le liquide. En cas d'écouvillons secs, incubez d'abord les écouvillons dans du tampon phosphate salin ou un milieu de culture cellulaire pendant 30 minutes avec agitation, en veillant à ce que la tête de l'écouvillon soit entièrement immergée.

2.6.2 Salive

La salive doit être collectée dans des dispositifs adaptés à la collecte et la préservation d'échantillons de salive. Mélangez en retournant l'échantillon puis transférez 200 µL de solution dans une microplaque pour extraction d'ARN.

2.7 Utilisation sur des systèmes automatisés

Le MagSi-DX Pathogen peut être utilisé sur différents systèmes de manipulation de fluides automatisés ou systèmes de traitement par particules magnétiques. Toutefois, les performances du MagSi-DX Pathogen associé à un système automatisé spécifique doivent être validées par l'utilisateur avec un test de diagnostic in vitro et les contrôles adaptés de l'application en aval.

2.7.1 Manipulation des billes magnétiques

Une suspension homogène des billes magnétiques est indispensable pour garantir la bonne quantité de billes magnétiques par échantillon et une qualité d'extraction constante. Agitez vigoureusement la bouteille de billes avant utilisation. En cas de procédures d'extraction automatisées, il convient d'intégrer une étape de mélange avant l'aspiration des billes.

2.7.2 Systèmes de manipulation de fluides

Le MagSi-DX Pathogen peut être utilisé sur des postes de manipulation de fluides avec du MM-Separator 96 Deepwell et des plaques 96 puits à fond rond (U) et puits carrés, en utilisant un agitateur pour remettre en suspension et mélanger les billes magnétiques ainsi qu'une pince pour transporter la plaque d'échantillons vers et depuis le séparateur magnétique.

2.7.3 Paramètres de l'agitateur

Les paramètres de vitesse de l'agitateur de microplaque décrits dans les protocoles qui suivent ont été déterminés à l'aide d'un instrument et d'une microplaque spécifiques. Lors de la première utilisation d'un agitateur de plaque pour les étapes d'incubation, les réglages de vitesse doivent être effectués avec précaution pour chaque plaque spécifique afin d'éviter une contamination croisée et un déversement accidentel. Le réglage de la vitesse de l'agitateur peut être effectué en chargeant une microplaque contenant un volume d'eau colorée égal au volume de solution de travail pour chaque étape, puis en augmentant la vitesse de l'agitateur par palier jusqu'à observer des gouttelettes sur la surface de la plaque. Réduisez ensuite à nouveau la vitesse de l'agitateur.

2.7.4 Systèmes de traitement par particules magnétiques

Le MagSi-DX Pathogen peut être utilisé sur des systèmes de traitement par particules magnétiques, tels que le système de purification d'acide nucléique PurePrep 96, à l'aide des consommables prévus pour le système en question. Les billes magnétiques sont remises en suspension et mélangées par un couvercle doté d'une tige magnétique (embout en peigne) qui monte et descend, puis collectées par des tiges magnétiques recouvertes par l'embout en peigne. Les composants du kit sont pré-distribués dans les consommables avant le démarrage du système, puis retirés du système par la suite. Il est important de ne pas dépasser les volumes de travail maximum des consommables.

2.8 Conditions d'élution

L'ARN cible peut être directement élué à l'aide du Elution Buffer entre 50 et 100 µL. Les billes magnétiques doivent être entièrement immergées et remises en suspension dans le Elution Buffer. L'élution peut être effectuée à 60 °C pour augmenter légèrement la récupération de l'ARN.

L'ARN élué peut être conservé à court terme (<24 heures) à 2-8 °C. Pour un stockage à long terme (>24 heures), la température de stockage doit être de -20 °C.

2.9 Caractéristiques de performance

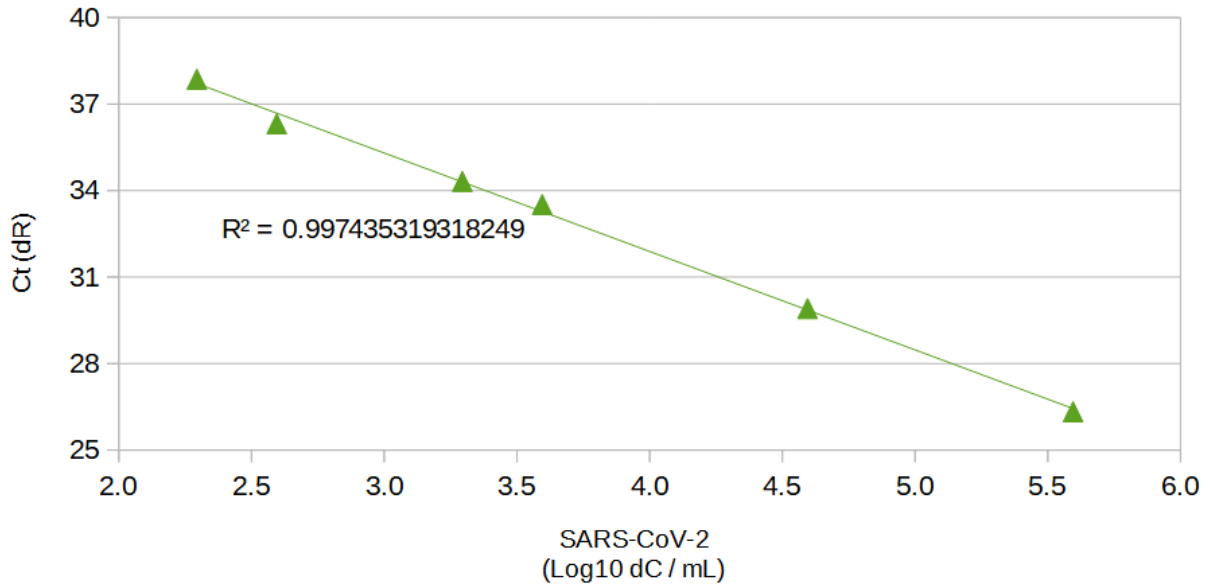
2.9.1 Caractéristiques de performance analytique

La répétabilité a été testée à l'aide d'un échantillon de patient positif et d'un échantillon commercial de SARS-CoV-2 inactivé par la chaleur insérés dans un échantillon négatif groupé, prélevé sur 15 donneurs sains.

Le score LOD et la linéarité de la procédure d'extraction combinée à l'analyse RT-qPCR ont été déterminés à l'aide d'un Analytical Q Panel (Qnostics) du virus SARS-CoV-2 inactivé par la chaleur disponible sur le marché composé de 8 échantillons positifs de différentes concentrations et 1 négatif. Chaque échantillon a été dilué dans le tampon de collecte de salive InActiv Blue, conformément aux instructions du fabricant du Kit de collecte de salive dans lequel le tampon est utilisé. L'ARN a été extrait de chaque échantillon dilué suivi de l'analyse RT-qPCR à l'aide du kit PCR en temps réel Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 pour le SARS-CoV-2 (COVID-19).

Paramètre	Échantillon de patient positif	Échantillon commercial inactivé par la chaleur
Coefficient de variation intra-essai	2,0 %	1,4 %
Coefficient de variation inter-essai	Non testé	3,2 %
LOD	-	2,3 Log 10 dC / mL
Linéarité	-	R ² = 0,997

Linéarité



2.9.2 Caractéristiques de performance de diagnostic

Le MagSi-DX Pathogen a été validé dans des flux de diagnostic SARS-CoV-2. Les performances cliniques sont illustrées à l'aide du panel LEQA produit et quantifié à l'Institut national de la santé publique et de l'environnement (RIVM) par dPCR. Les flux de travail, y compris MagSi-DX Pathogen, ont obtenu un score de 100 % sur le panel, composé de 10 simulations de spécimens cliniques contenant du SARS-CoV-2 inactivé par la chaleur, dont un variant préoccupant B.1.1.7; 20B/501Y.V1, ou d'autres virus respiratoires ou matériels génétiques [1].

3. Conservation et durée de vie après la première ouverture

Tous les composants du kit, y compris la Proteinase K (lyophilisée), le Poly-A-RNA (lyophilisé) et le MagSi-PA VII, peuvent être conservés à 18-25 °C. Lorsque le kit est conservé dans les conditions indiquées, il reste stable jusqu'à la date d'expiration figurant sur l'étiquette.

Stocker les solutions prêtes de Proteinase K dans des aliquotes à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant 3 mois.

Stocker les solutions prêtes de Poly-A-RNA -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant 3 mois.

Les billes MagSi-PA VII peuvent être prémélangées au Binding Buffer U1 pour un ajout simultané dans les échantillons. En revanche, le mélange doit être préparé chaque jour d'utilisation et bien mélangé par tourbillon avant le transfert dans les échantillons.

Attention :

- Vérifiez la présence de dommages sur les composants dans l'emballage. En cas de dommages ou de fuites, contactez l'assistance technique et le service clients de magtivio.
- N'utilisez pas les composants endommagés.
- Utilisez des équipements sans ribonucléase
- Tous les tampons sont prêts à l'emploi.
- Ne congelez pas le produit.







4. Avertissements et précautions

Les composants suivants du MagSi-DX Pathogen contiennent des substances dangereuses.

Portez des vêtements, gants et lunettes de protection adaptés et respectez les consignes de sécurité fournies dans cette section.

Classification GHS

Les substances nocives n'ont pas besoin d'arborez les phrases H et P sur l'étiquette jusqu'à 125 mL ou 125 g.

Component	Hazardous ingredients	GHS Symbol	Hazard phrases	Precaution phrases
Lysis Buffer PA1	Chlorhydrate de guanidine (20-25 %) CAS 50-01-1	 AVERTISSEMENT	H302 H319 H315	P264, P280, P302+P352 P305+P351+P338 P337+P313, P501
Binding Buffer U1	Perchlorate de sodium (50-55 %) 2-Propanol (20-25 %) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 DANGER	H225 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer I	Perchlorate de sodium (35-40 %) 2-Propanol (50-55 %) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 DANGER	H225 H302 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer II	Éthanol (70-75 %) CAS 64-17-5	 DANGER	H225 H319	P210, P233, P305+P351+P338 P403+P235, P501
Proteinase K	Protéinase K (100 %) CAS 39450-01-6	 DANGER	H315 H319 H334 H335	P261, P280 P284, P304+P340 P342+P311, P501
Poly-A-RNA Buffer	Thiocyanate de guanidine (30-35 %) CAS 593-84-0	 DANGER	H302+H332 H314 H412	P260, P264 P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310

Phrases de danger :

H225	Liquide et vapeurs très inflammables.
H302+332	Nocif en cas d'ingestion.
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.
H336	Peut provoquer somnolence ou vertiges.
H373	Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées

ou d'une exposition prolongée.

Phrases de précaution :

P210	Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
P233	Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
P260	Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
P261	Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols.
P264	Se laver soigneusement les mains après manipulation.
P280	Porter des gants de protection/vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/une protection auditive.
P284	Porter un équipement de protection respiratoire.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : Laver abondamment à l'eau et au savon.
P303+P361+P353	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher.
P304+P340	EN CAS D'INHALATION : Transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.
P305+P351+P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
P310	Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.
P337+P313	Si l'irritation oculaire persiste : Consulter un médecin.
P342+P311	En cas de symptômes respiratoires : Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.
P403+P235	Stocker dans un endroit bien ventilé. Tenir au frais.
P501	Éliminer les déchets conformément à la législation en vigueur.



Le symbole figurant sur les étiquettes fait référence à d'autres informations relatives à la sécurité dans cette section.

Lorsque vous travaillez avec le MagSi-DX Pathogen, portez des vêtements de protection adaptés (par ex. blouse de laboratoire, gants jetables et lunettes de protection). Pour plus d'informations, consultez les Fiches de données de sécurité correspondantes (disponibles via support@magtivio.com).

PRUDENCE :

Le Lysis Buffer PA1, le Binding Buffer U1, le Wash Buffer I et le Poly-A-RNA Buffer contiennent des sels chaotropiques (par ex. chlorhydrate de guanidine et/ou perchlorate de sodium) qui peuvent former des composés hautement réactifs au contact de la javel (hypochlorite de sodium) ! Ne mettez JAMAIS de la javel en contact direct avec des matériaux exposés aux tampons susmentionnés. Portez des vêtements, gants et lunettes de protection !

Les déchets produits avec le MagSi-DX Pathogen n'ont pas été testés quant à la présence de matériaux infectieux résiduels. Une contamination des rejets liquides par du matériel infectieux résiduel est peu probable en raison du Lysis Buffer fortement dénaturant et du traitement par Proteinase K, sans toutefois pouvoir être totalement exclue. Par conséquent, les rejets liquides doivent être considérés comme infectieux et traités et mis au rebut conformément aux réglementations locales en matière de sécurité.

Mise au rebut

Les matériaux dangereux, infectieux ou biologiquement contaminés doivent être éliminés de manière sûre et acceptable, conformément à toutes les exigences locales et réglementaires.

5. Préparation du réactif

5.1 Reconstitution de la Proteinase K

- MDDX00010096 (96 préps), ajoutez 1,1 mL d'eau de qualité biologie moléculaire dans le flacon de Proteinase K et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Stockez les solutions de Proteinase K dans des aliquotes à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.
- MDDX00010960 (10x96 préps), ajoutez 11 mL d'eau de qualité biologie moléculaire dans le flacon de Proteinase K et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Pour l'aliquotation par 96 échantillons, créez des aliquotes de 1,05 mL et stockez les solutions à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.
- MDDX0001005K (5 000 préps) et MDDX0001025K (25 000 préps), ajoutez 55 mL d'eau de qualité biologie moléculaire dans chaque flacon de Proteinase K et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Pour l'aliquotation par 96 échantillons, créez des aliquotes de 1,05 mL et stockez les solutions à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.

5.2 Reconstitution du Poly-A-RNA

- MDDX00010096 (96 préps), ajoutez 120 µL de Poly-A-RNA Buffer dans le flacon de Poly-A-RNA (0,3 mg) et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Stockez les solutions de Poly-A-RNA -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.
- MDDX00010960 (10x96 préps), ajoutez 1,2 mL de Poly-A-RNA Buffer dans le flacon de Poly-A-RNA (3 mg) et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Pour l'aliquotation par 96 échantillons, créez des aliquotes de 110 µL et stockez les solutions à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.
- MDDX0001005K (5 000 préps), ajoutez 6 mL de Poly-A-RNA Buffer dans le flacon de Poly-A-RNA (15 mg) et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Pour l'aliquotation par 96 échantillons, créez des aliquotes de 110 µL et stockez les solutions à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.
- MDDX0001025K (25 000 préps), ajoutez 10 mL de Poly-A-RNA Buffer dans chaque flacon de Poly-A-RNA (25 mg) et mélangez par tourbillon pour dissoudre le tout. Pour l'aliquotation par 96 échantillons, créez des aliquotes de 110 µL et stockez les solutions à -20 °C. Évitez les congélations et décongélations répétées. Lorsque les solutions sont stockées de la sorte, elles restent stables pendant au moins 3 mois.

Si les tampons présentent un précipité, chauffez le tampon à 25-37 °C pour dissoudre le précipité avant utilisation.

5.3 Préparation du Lysis Master Mix

- Pour chaque échantillon, préparez le Lysis Master Mix:

Lysis Buffer PA1	200 µL
Solution Poly-A-RNA	1 µL
Solution Proteinase K	10 µL
Total	211 µL

- Préparez une quantité supplémentaire de Lysis Master Mix pour compenser les imprécisions dues au pipetage, surtout en cas d'utilisation de pipettes multicanaux. Utilisez le Lysis Master Mix immédiatement après utilisation.

5.4 Préparation du Binding Buffer / Beads premix (facultatif)

Les billes MagSi-PA VII peuvent être prémélangées au Binding Buffer U1 pour un ajout simultané dans les échantillons. Pour chaque échantillon, préparez le Binding Buffer / Beads premix:

Binding Buffer U1	400 µL
MagSi-PA VII	20 µL
Total	420 µL

Le mélange doit être utilisé le jour même de la préparation et bien mélangé par tourbillon avant le transfert dans les échantillons.

6. Protocole d'extraction de l'ARN viral

Avant de commencer :

- Préparez Lysis Master Mix selon les instructions de la section 5.
- Prétraitez les échantillons (le cas échéant) conformément à la section 2.6
- Mélangez vigoureusement les billes magnétiques par tourbillon pour créer une suspension homogène.

Ce protocole s'applique à une utilisation manuelle du kit. Il ne peut servir de directive pour configurer une procédure automatisée sur des instruments de manipulation de fluides. Dans ce cas, il convient d'utiliser des plaques 96 puits et accessoires adaptés. Assurez-vous que le système de manipulation de fluides est équipé des dispositifs nécessaires (agitateur, incubateur, séparateur magnétique, etc.).

1. Transférez 200 μ L d'échantillon dans une microplaque de traitement. Si le volume est inférieur à 200 μ L, complétez jusqu'à 200 μ L à l'aide de 1 x tampon PBC ou d'eau de qualité biologique moléculaire.
2. Ajoutez 211 μ L de Lysis Master Mix à chaque échantillon. Incubez sur un agitateur pendant 10 minutes, à une vitesse de 1 000 tr/min.
3. Ajoutez 20 μ L de MagSi-PA VII et 400 μ L de Binding Buffer U1. Incubez sur un agitateur pendant 5 minutes, à une vitesse de 1 000 tr/min.
4. Placez la microplaque de traitement sur le séparateur magnétique et attendez au moins 1 minute avant de collecter les billes. Retirez les surnageants sans perturber les billes magnétiques attirées.
5. Enlevez la plaque d'échantillons du séparateur magnétique et ajoutez 800 μ L de Wash Buffer I dans les tubes. Remettez les billes en suspension par incubation des échantillons sur un agitateur pendant 1 minute, à 1 000 tr/min. Placez les échantillons dans un séparateur magnétique et attendez au moins 1 minute avant de collecter les billes. Retirez les surnageants sans perturber les billes attirées.
6. Répétez l'étape 5 en ajoutant 800 μ L de Wash Buffer I, puis une seconde fois en ajoutant 800 μ L de Wash Buffer II.
7. Séchez les billes à l'air pendant 10 minutes de manière à ce que l'éthanol s'évapore complètement. Si besoin, tournez brièvement vers le bas et retirez les résidus de tampon avant de sécher les billes magnétiques attirées.
8. Enlevez les échantillons du séparateur magnétique et ajoutez 100 μ L de Elution Buffer. Incubez sur un agitateur pendant 10 minutes, à 1 000 tr/min.
9. Placez les tubes dans un séparateur magnétique et attendez au moins 1 minute avant de collecter les billes. Transférez les éluats dans de nouveaux tubes. Les acides nucléiques purifiés dans l'éluat peuvent désormais être utilisés dans des applications en aval.

7. Procédure de contrôle

Le MagSi-DX Pathogen n'inclut pas de protocole de contrôle. Il relève de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser des contrôles adaptés pour les applications en aval. Il est recommandé d'utiliser des contrôles internes à base d'ARN pour les tests RT-qPCR afin d'écartier tout risque de résultats faux négatifs dus à une contamination potentielle par ribonucléase.

8. Interprétation des résultats

Le MagSi-DX Pathogen ne fournit pas un résultat de diagnostic. Il relève de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser et de valider le kit avec une application de diagnostic in vitro en aval, en fonction de l'agent pathogène ciblé.

9. Compatibilité

Le MagSi-DX Pathogen a été validé avec les dispositifs suivants :

- Saliva Collection Kit, REF: IB_COL, InActiv Blue
- eNAT®, REF: 608CS01R, Copan Italia
- Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR kit for SARS-CoV-2 (COVID-19), REF: 31469, Kylt
- SARS-CoV-2 Q Control 01, REF: SCV2QC01-A, Qnostics
- SARS-CoV-2 Analytical Q Panel 01, REF: SCV2AQP01-A, Qnostics

10. Annexe

10.1 Dépannage

Problème	Cause possible	Commentaires et suggestions
Rendement d'acide ARN faible	Dégradation de l'ARN	Utiliser et stocker le dispositif de collecte des échantillons conformément aux instructions du fabricant
	Liaison insuffisante aux particules magnétiques	Utiliser les réactifs en bonnes quantités Augmenter les étapes de mélange et la durée d'incubation pour la phase de liaison Mélanger l'échantillon pendant la lyse / l'incubation de liaison
	Procédure de lavage insuffisante	Vérifier que les billes sont bien remises en suspension dans les étapes de lavage.
	Élution incomplète	Le séchage du Wash Buffer II était peut-être incomplet, augmenter le temps de séchage Remettre complètement en suspension les billes durant l'étape d'élution
Problèmes dans les applications en aval / contamination de l'échantillon	Éthanol dans l'ADN élué	Augmenter le temps de séchage de 15 minutes
	Sel dans l'éluat	Utiliser les tampons dans le bon ordre S'assurer que tous les supernageants sont correctement éliminés. Éviter le transfert de mélange maître de lyse, Binding Buffer U1 ou tampons de lavage dans l'éluat.
	Quantité élevée de billes magnétiques restant dans l'éluat	Remettre les tubes d'éluat dans le séparateur magnétique et transférer le supernageant dans un nouveau contenant.

10.2 Références bibliographiques

1. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM). External Quality Assessment of laboratories Performing SARS-CoV-2 Diagnostics for the Dutch Population, February 2021. John Sluimer, Garbiel Goderski, Sharon van den Brink, Lisa Wijsman, Chantal Reusken, Marion Koopmans, Richard Molenkamp, Adam Meijer.
2. Fox, J. D. Nucleic Acid amplification tests for detection of respiratory viruses, Elsevier, Journal of Clinical Virology 40 Suppl. 1, S15 – S23 (2007).
3. Wang et al. An Overview of Nucleic Acid Testing for the Novel Coronavirus SARS-CoV-2, Frontiers in Medicine, Volume 7, Article 571709 (2021).
4. Mizoguchi, M. et al. Comparative performance and cycle threshold values of 10 nucleic acid amplification tests for SARS-CoV-2 on clinical samples, PloS ONE 16(6): e0252757 (2021).
5. Wölfel, R. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019, Nature, Vol. 581, 465-469 (2020).

10.3 Exigences de signalement

Veillez noter que tout incident grave qui surviendrait en lien avec le produit doit être immédiatement signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État-membre européen dans lequel l'incident s'est produit. Points de contact de la vigilance européenne : https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en.

10.4 Explication des symboles



Référence de l'article



Numéro de lot



Fabricant



Date de fabrication



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Consulter le mode d'emploi



Suffisant pour <n> tests



Limite de température



À utiliser avant



Prudence : Informations complémentaires dans le mode d'emploi



Ne pas réutiliser

10.5 Restrictions d'usage du produit / Garantie

Ce produit est livré accompagné d'une documentation reprenant les caractéristiques et autres informations techniques. magtivio garantit le respect des caractéristiques indiquées. La seule obligation de magtivio et le seul recours du client se limitent au remplacement gratuit des produits si ceux-ci ne fournissent pas les performances garanties. Une référence supplémentaire est faite aux conditions générales de vente de magtivio, imprimées sur la liste des tarifs. Veuillez nous contacter pour en obtenir une copie supplémentaire.

magtivio n'offre aucune garantie et n'accepte aucune responsabilité en cas de dommages ou défauts liés à l'expédition et la manipulation (à l'exclusion de l'assurance transport pour les clients) ou dus à un accident ou un usage abusif ou impropre de ce produit ; ainsi que tout défaut des produits ou composants non fabriqués par magtivio ou les dommages résultant de tels composants ou produits non magtivio.

magtivio n'offre aucune autre garantie, de quelque sorte que ce soit, et REJETTE ET EXCLUT SPÉCIFIQUEMENT TOUTES LES AUTRES GARANTIES DE QUELQUE SORTE OU NATURE QUE CE SOIT, DIRECTEMENT OU INDIRECTEMENT, EXPRESSE OU IMPLICITE, Y COMPRIS, SANS S'Y LIMITER, LE CARACTÈRE ADAPTÉ, LA REPRODUCTIBILITÉ, LA DURABILITÉ, L'ADÉQUATION AVEC UNE FINALITÉ OU UTILISATION DONNÉE, LA VALEUR COMMERCIALE, L'ÉTAT OU TOUT AUTRE ASPECT LIÉ AUX PRODUITS magtivio.

magtivio ne peut en aucun cas être tenu responsable de tout autre dommage, qu'il soit direct, indirect, accidentel, compensatoire, prévisible, consécutif ou spécifique (y compris, sans s'y limiter, la perte d'utilisation, de recettes ou de bénéfices), ou qu'il implique une garantie, un contrat, un acte délictuel (y compris la négligence) ou la responsabilité stricte découlant de la vente ou l'incapacité des produits magtivio à offrir des performances conformes aux spécifications fournies. La présente garantie est exclusive et magtivio ne fournit aucun autre garantie expresse ou implicite.

La garantie fournie ici et les données, caractéristiques et descriptions du présent produit magtivio apparaissant dans les catalogues et la documentation de produit publiés par magtivio sont les seules représentations du produit et de la garantie. Aucune autre déclaration ou représentation, écrite ou orale, de la part d'employés, d'agents ou de représentants de magtivio, à l'exception des accords écrits signés par un représentant dûment homologué de magtivio, n'est autorisée ; le client ne doit pas s'y fier ni les considérer comme faisant partie du contrat de vente ou de la présente garantie.

Les revendications de produit sont soumises à modification. Par conséquent, veuillez contacter notre assistance technique pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits magtivio. Vous pouvez également contacter votre distributeur local pour obtenir des informations scientifiques générales. Les applications mentionnées dans la documentation magtivio sont fournies à titre d'information uniquement. magtivio ne garantit pas que toutes les applications ont été testées dans les laboratoires magtivio à l'aide de produits magtivio. magtivio ne garantit pas la justesse de ces applications.