



MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit

 **version 06**

Version du document : Août 2021

Réactifs pré-remplis à utiliser avec le MagNA Pure 24 Instrument (n° de réf. 07 290 519 001) pour l'isolation d'ADN génomique et des acides nucléiques viraux à partir d'un volume maximum de 1 000 µL de sang total, plasma ou sérum, à partir de tissus frais/congelés jusqu'à un maximum de 5 mg, à partir de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine jusqu'à un maximum de 6 mm³ ou à partir d'un maximum de 1 × 10⁶ cellules en culture, et pour l'isolation d'acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux à partir d'un volume maximum de 1 000 µL d'échantillon d'origine humaine ou d'acides nucléiques libres circulants humains à partir d'un maximum de 4 000 µL de plasma.

REF 07 658 036 001 Kit prévu pour 96 isolations maximum (200 µL)



Conserver entre +15 et +25 °C

-  Conserver le kit à l'abri de la lumière.
-  Conserver le kit à l'abri de toute source magnétique.

Table des matières

1.	USAGE PRÉVU	3
2.	RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU KIT	3
3.	PRINCIPE DE LA PROCÉDURE	4
4.	RÉACTIFS	5
4.1	Nombre d'isolations	5
4.2	Matériel fourni	5
5.	PRÉCAUTIONS ET EXIGENCES LIÉES À LA MANIPULATION	7
5.1	Avertissements et précautions	7
5.2	Manipulation des réactifs	7
5.3	Bonnes pratiques de laboratoire	8
5.4	Traitement des déchets	8
6.	STOCKAGE ET STABILITÉ	9
6.1	Kit et réactifs	9
6.2	Collecte de spécimens et stockage des échantillons	10
6.3	Stockage des acides nucléiques purifiés et des éluats	10
7.	MATÉRIEL	11
7.1	Matériel et dispositifs requis mais non fournis	11
7.2	Matériel optionnel	12
8.	PROCÉDURES	13
8.1	Protocoles de purification	13
8.2	Types d'échantillon et procédures de prétraitement	17
8.3	Procédure d'isolation	27
8.4	Fin d'un run	28
8.5	Contrôle qualité	29
9.	LIMITES ET INTERFÉRENCES	30
10.	INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES	31
10.1	Symboles	31
10.2	Modifications de la version précédente	31
11.	MARQUES	32
12.	AVIS DE NON RESPONSABILITÉ	32
13.	RÉFÉRENCES	32

1. USAGE PRÉVU

Le MagNA Pure 24 System est un système de purification des acides nucléiques automatisé qui comprend le MagNA Pure 24 Instrument, le logiciel, les consommables et les réactifs. Le MagNA Pure 24 System doit être utilisé par des professionnels pour la purification des acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques dans le cadre du diagnostic *in vitro*.

Le MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit doit être utilisé avec le MagNA Pure 24 System.

2. RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU KIT

Le MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit est conçu pour isoler les acides nucléiques à partir des différents échantillons et des différents volumes d'échantillon indiqués dans le tableau suivant.

Matériel cible	Échantillon
ADN génomique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 200, 500 ou 1 000 µL de sang total ▪ Jusqu'à 1×10^6 cellules en culture ▪ Jusqu'à 5 mg de tissus frais/congelés ▪ Jusqu'à 6 mm³ de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine (FFIP)
Acides nucléiques bactériens, fongiques ou viraux	200, 500 ou 1 000 µL de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles et urine.
Acides nucléiques libres circulants d'origine humaine	2 000 ou 4 000 µL de plasma

Les acides nucléiques isolés et purifiés répondent aux normes de qualité requises pour une analyse quantitative de PCR/RT-PCR haute sensibilité et un séquençage de nouvelle génération.

3. PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

La procédure d'isolation de l'acide nucléique est basée sur la technologie éprouvée MagNA Pure de particules de verre magnétiques (PVM).

Les étapes principales d'une procédure d'isolation de l'acide nucléique sont les suivantes :

1. L'échantillon est lysé, les acides nucléiques sont libérés et les nucléases sont dénaturées.
2. Les acides nucléiques se lient à la surface de verre (silice) des particules magnétiques de verre ayant été ajoutées, en raison des conditions de sels chaotropiques et de la concentration ionique élevée du réactif de lyse/de liaison.
3. Le complexe de particules magnétiques de verre et d'acides nucléiques liés est séparé du reste de l'échantillon lysé.
4. Les substances non liées, comme les protéines, débris cellulaires et inhibiteurs de PCR sont supprimées lors de plusieurs étapes de lavage.
5. Les acides nucléiques purifiés sont élués des particules magnétiques de verre.

4. RÉACTIFS

Le kit est conçu pour effectuer jusqu'à 96 isolations de l'acide nucléique selon le volume d'échantillon traité.

4.1 Nombre d'isolations

Nombre d'isolations	Échantillon
3 × 32 isolations	<p>Volume faible : Jusqu'à 200 µL de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles, urine, jusqu'à 5×10^5 cellules en culture et jusqu'à 5 mg de tissus frais/congelés.</p>
3 × 24 isolations	<p>Volume élevé : 500 ou 1 000 µL de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles, urine et jusqu'à 1×10^6 cellules en culture. Jusqu'à 6 mm³ de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine, correspondant à 6 coupes de tissus FFPE de 4 ou 5 µm.</p>
3 × 24 isolations	<p>Volume très élevé : 2 000 µL ou 4 000 µL de plasma.</p> <p>Ⓜ Pour traiter des volumes d'échantillon très élevés, des réactifs supplémentaires sont requis.</p>

4.2 Matériel fourni

Le kit est composé de 3 cassettes de réactifs (chacune contenant 6 réservoirs de réactifs) et 12 tubes MGP. Tous les composants du kit sont prêts à l'emploi.

3 cassettes de réactifs	Contenu/fonction	Composition
Réservoir de réactifs 1	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampon de lavage I ▪ Pour éliminer les impuretés. 	70 mL Chlorhydrate de guanidine, éthanol, Tris-HCl
Réservoir de réactifs 2	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Protéinase K ▪ Pour digérer les protéines. 	12 mL Protéinase K, glycérol

Réservoir de réactifs 3	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Lysis Buffer ▪ Pour la lyse des cellules/ agents pathogènes et la liaison des acides nucléiques. 	30 mL Thiocyanate de guanidine, polidocanol, Tris-HCl
Réservoir de réactifs 4	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampon de lavage II ▪ Pour éliminer les impuretés. 	34 mL Éthanol, acétate de sodium
Réservoir de réactifs 5	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampon d'éluion ▪ Pour éluer les acides nucléiques. 	15 mL Tris-HCl
Réservoir de réactifs 6	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tampon de lavage III ▪ Pour éliminer les impuretés. 	60 mL Acétate de sodium
12 tubes MGP	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Particules magnétiques de verre ▪ Pour lier les acides nucléiques. 	1,8 mL Particules magnétiques de verre, isopropanol

⚠ Ne retirez pas les réservoirs de réactifs individuels des cassettes de réactifs. Pour obtenir des informations sur les symboles et les avertissements, consultez la fiche de sécurité (SDS) correspondante.



Fig. 1 : exemple d'une image de produit : cassette de réactifs avec réservoirs de réactifs 1 à 6.

5. PRÉCAUTIONS ET EXIGENCES LIÉES À LA MANIPULATION

5.1 Avertissements et précautions

- Toutes les substances d'origine humaine et tous les déchets qui en résultent doivent être traités comme étant infectieux, en utilisant les procédures de laboratoire adéquates comme indiqué dans le document « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » et dans le document du CLSI M29-A4^{1) 2)}.
- Seul le personnel qualifié pour traiter les matériels présentant un risque biologique et pour utiliser le MagNA Pure 24 System doivent suivre les procédures décrites dans les instructions d'utilisation.
- La sensibilité et le titre d'éventuels pathogènes dans l'échantillon étant variables, l'opérateur doit optimiser l'inactivation des pathogènes et suivre les mesures appropriées conformément aux réglementations en vigueur.
- Respectez scrupuleusement les procédures et directives fournies afin de vous assurer que l'isolation de l'acide nucléique et la purification s'effectuent correctement. Toute déviation par rapport aux procédures et directives risque d'affecter les performances de purification.
- N'utilisez que les réactifs fournis dans ce kit et les tampons recommandés dans les instructions d'utilisation. L'utilisation de substituts risque d'introduire des RNases.
- N'utilisez que des consommables fournis ou spécifiés comme étant requis afin de garantir des performances d'isolation de l'acide nucléique et de purification optimales.

5.2 Manipulation des réactifs

- Plusieurs tampons du MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit contiennent des composants dangereux ou présentant un risque biologique. Évitez que les réactifs entrent en contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincez immédiatement et abondamment à l'eau la zone affectée. En cas de projection de réactifs, diluez avec de l'eau avant d'essuyer.
- Ne laissez pas les réactifs contenant du thiocyanate de guanidine (Lysis Buffer) entrer en contact avec une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) ou des acides. Ces mélanges peuvent produire un gaz hautement toxique. Cette précaution doit être notamment prise en compte lors du nettoyage de l'adaptateur pour la station de traitement, de la base de déchets liquides, du réservoir à embouts usagés et du support des embouts réactifs. Pour obtenir plus de détails sur le nettoyage et la maintenance, consultez l'Assistance Utilisateur MAGna Pure 24.
- Avant de les utiliser, inspectez visuellement les cassettes de réactifs afin de déceler toutes traces de fuites. Si une fuite est détectée, n'utilisez pas ce matériel pour l'isolation de l'acide nucléique et la purification.
- Évitez toute contamination microbienne et toute contamination aux nucléases des réactifs après leur ouverture.
- Immédiatement après utilisation, fermez tous les flacons de réactifs au moyen de leurs bouchons respectifs spécialement conçus pour une réutilisation sur le même instrument et stockez-les conformément aux instructions d'utilisation.

5.3 Bonnes pratiques de laboratoire

- Portez des gants de protection jetables, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons ou de réactifs. Il convient de changer de gants entre la manipulation des échantillons et des réactifs pour éviter toute contamination.
- Des risques de résultats faussement positifs peuvent survenir si la contamination des échantillons n'est pas suffisamment contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Évitez de manger, de boire ou de fumer dans la zone de travail du laboratoire.
- Ne pipetez jamais de substances à la bouche.
- Nettoyez-vous soigneusement les mains suite à la manipulation des échantillons et réactifs et après avoir retiré vos gants.

Les tubes de réaction et les réactifs contaminés par des RNases dégraderont les matrices ARN. Suivez les instructions suivantes pour minimiser le risque de contamination :

- Évitez tout contact avec les surfaces ou substances risquant de causer une interférence par RNase.
- Jetez les embouts de pipetage dans des conteneurs fermés hermétiquement afin d'éviter toute contamination atmosphérique.
- Nettoyez, désinfectez et décontaminez les instruments et zones de travail, notamment les pipettes, à l'aide des réactifs adéquats disponibles dans le commerce.
- Utilisez une zone de travail spécifiquement conçue pour travailler avec de l'ARN. Si possible, utilisez des tubes de réaction et systèmes de pipetage spécialement conçus pour la matrice d'ARN.
- En cas de déversement sur l'instrument, suivez les instructions de nettoyage de l'Assistance Utilisateur du MagNA Pure 24.

5.4 Traitement des déchets

- Les fiches de sécurité des produits (SDS) sont disponibles en ligne sur le site www.dialog.roche.com ou sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Jetez tout le matériel entré en contact avec des échantillons et des réactifs conformément aux réglementations nationales, régionales et locales.
- Portez des gants de protection jetables, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection lors de l'élimination d'échantillons et de réactifs de kit.
- Pour éliminer les réactifs des réservoirs, suivez la procédure ci-dessous :
 1. Percez le film dans le coin d'un réservoir de réactifs de la cassette de réactifs à l'aide d'un consommable en plastique rigide, tel qu'une pipette sérologique.
 2. Repliez le film et éliminez le liquide dans un conteneur prévu pour les déchets.
 3. Répétez les étapes 1 et 2 jusqu'à ce que tous les réservoirs soient vides.

6. STOCKAGE ET STABILITÉ

6.1 Kit et réactifs

- Le kit est conditionné à température ambiante.
- Conservez le kit à l'abri de la lumière et de toute source magnétique.

Cassettes de réactifs

- Lorsqu'elles sont stockées entre +15 et +25 °C, les cassettes de réactifs qui ne sont pas ouvertes restent stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
- Stabilité à bord : les cassettes de réactifs peuvent être utilisées jusqu'à 12 heures après +15 et +25 °C sur le plateau de l'instrument après le premier perçage.
- Une cassette de réactifs peut être utilisée pour jusqu'à 6 runs individuels sur le même instrument sur une période de 28 jours. Pour le stockage, scellez les cassettes de réactifs à l'aide du MagNA Pure Sealing Foil. Stockez les cassettes de réactifs rescellées entre +2 et +8 °C en position verticale. Équilibrez les cassettes de réactifs entre +15 et +25 °C pendant 60 minutes avant de les utiliser.

⚠ Vous ne pouvez réutiliser les cassettes de réactifs partiellement usagées que sur le même instrument. Le logiciel trace l'inventaire de chaque instrument à l'aide des codes-barres de réactifs, reconnaît les cassettes de réactifs partiellement usagées pour permettre un traitement adéquat lors du run suivant.

⚠ Lorsque les cassettes de réactifs ne sont pas correctement scellées ou qu'elles sont stockées pendant plus de 28 jours, l'évaporation risque d'affecter négativement les performances des processus d'isolation et de purification.

⚠ Lorsque vous stockez ou transportez des cassettes de réactifs précédemment ouvertes, celles-ci ne doivent pas être penchées pour éviter les fuites.

Tubes MGP

- Lorsqu'ils sont stockés entre +15 et +25 °C, les tubes MGP restent stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Les tubes MGP sont destinés à un usage unique.
- Une fois qu'ils ont été soigneusement mélangés, les tubes MGP peuvent être stockés ouverts sur le plateau de l'instrument jusqu'à 1 heure avant le démarrage d'un run.

6.2 Collecte de spécimens et stockage des échantillons

Pour une détection sensible des acides nucléiques, il est important de garantir un stockage approprié des échantillons. La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées. Décongelez les échantillons congelés en les agitant légèrement, par exemple à l'aide d'une roue de laboratoire.

- ⚠ Les conditions de stockage (c'est-à-dire, température, durée) d'un échantillon spécifique doivent être validées en fonction des paramètres IVD individuels.
- ⚠ Ne conservez pas d'échantillons dans les plaques de traitement des échantillons scellées.
- ⚠ N'utilisez pas de plasma ou de sang contenant de l'héparine car cela peut avoir un impact négatif sur les performances de l'application en aval.

6.3 Stockage des acides nucléiques purifiés et des éluats

Pour obtenir des résultats optimaux, procédez immédiatement à l'application en aval.

- ⚠ Ne stockez pas les éluats sur le plateau de l'instrument.
- ⚠ Les conditions de stockage (c'est-à-dire, température, durée) des éluats doivent être validées en fonction des paramètres IVD individuels.
- ⚠ Si vous stockez les éluats en barrette de 8 tubes, retirez les barrettes de 8 bouchons avec précaution pour éviter toute contamination. Pour la même raison, si les barrettes de 8 tubes doivent être rescellées, utilisez toujours une nouvelle barrette de 8 bouchons.

Si les éluats ont été stockés congelés, mélangez-les doucement après décongélation en pipetant dix fois avant d'effectuer toute autre étape en aval, notamment des PCR/RT-PCR ou des mesures de D.O. Le volume de mélange doit correspondre au moins à la moitié du volume d'éluat. Si les acides nucléiques ne sont pas pré-mélangés et distribués de façon homogène dans la solution, il se peut que les résultats ne soient pas reproductibles pour des applications ultérieures.

7. MATÉRIEL

7.1 Matériel et dispositifs requis mais non fournis

Matériel	Descripteur	Numéro de catalogue
MagNA Pure 24 Instrument	instrument	07 290 519 001
MagNA Pure 24 Processing Cartridge	cartouche de traitement	07 345 577 001
MagNA Pure 24 Processing Tip Park / Piercing Tool	support d'embouts de traitement / perceur de cassette de réactifs	07 345 585 001
MagNA Pure 24 Piercing Tool	perceur de cassette de réactifs	07 534 205 001
MagNA Pure Tip 1 000 µL	Embout de pipetage de 1 000 µL	06 241 620 001
MagNA Pure Tip Waste Tray	plateau d'embouts usagés	08 185 492 001
MagNA Pure Tube 2,0 mL	tube de 2,0 mL	07 857 551 001
MagNA Pure Sealing Foil	film de scellage	06 241 638 001
FrameStrip® with flat caps-Low Profile	Barrette de 8 tubes (basse) Barrette de 8 bouchons	07 345 593 001
FrameStrip® with flat caps-High Profile	Barrette de 8 tubes (haute) Barrette de 8 bouchons	07 652 275 001

- Équipement de laboratoire standard : pipettes et embouts de pipetage anti-aérosol exempts de nucléases.

7.2 Matériel optionnel

Matériel	Utilisation	Numéro de catalogue
MagNA Pure 24 MGP Set	Pour les isolations supplémentaires des acides nucléiques à partir de volumes d'échantillon faibles, élevés et très élevés.	07 806 361 001
MagNA Pure cfNA Buffer Set	Pour l'isolation des acides nucléiques libres circulants à partir d'échantillons de plasma.	07 794 398 001
MagNA Pure External Lysis Buffer	Pour les protocoles de lyse externe.	06 374 913 001
MagNA Pure Bacterial Lysis Buffer	Pour l'isolation des acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux.	06 374 921 001
MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer	Pour l'isolation d'acides nucléiques à partir de tissus frais/congelés.	06 640 702 001
MagNA Pure FFPET Buffer Set	Pour la déparafinisation et la lyse de tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine.	08 447 144 001
Protéinase K, niveau de PCR, activité (+37 °C) ≥ 0,6 U/μL	Pour la dégradation des protéines.	03 115 828 001 03 115 844 001
S.T.A.R. buffer (Stool Transport and Recovery Buffer)	Pour la stabilisation, le transport et la récupération d'acides nucléiques dans les échantillons de selles.	03 335 208 001
MagNA Lyser Instrument	Pour l'homogénéisation des tissus.	03 358 968 001 à partir de SN 40467540 03 358 976 001 à partir de SN 40405218
MagNA Lyser Green Beads	Pour l'homogénéisation des tissus.	03 358 941 001

- Solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pour diluer les échantillons et pour le prétraitement des échantillons.

8. PROCÉDURES

8.1 Protocoles de purification

Isolez les acides nucléiques à l'aide des différents protocoles optimisés pour les échantillons spécifiques.

Un protocole défini doit uniquement être utilisé pour les échantillons spécifiés. L'isolation des acides nucléiques à partir d'autres types d'échantillon peut affecter les performances. Une utilisation inappropriée risque d'occasionner la formation d'amas et la perte de particules magnétiques de verre, une contamination des échantillons, voire un endommagement de l'instrument. Combinez différents échantillons dans le même run, seulement si cela est indiqué. Suivez toujours les procédures de prétraitement recommandées.

Nom du protocole	Cible	Échantillon ¹⁾	Volume d'éluion [μL] ²⁾
Protocoles pour les volumes d'échantillon faibles			
Pathogen 200 ³⁾	Acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux	200 μL de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles et urine. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μL , diluez à l'aide de PBS.	50, 100
Fast Pathogen 200 ^{3), 5)}	Acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux	200 μL de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles et urine. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μL , diluez à l'aide de PBS.	50, 100
External Lysis Pathogen 200	Acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux	450 μL de lysat de 200 μL de plasma, sérum, sang total. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μL , diluez à l'aide de PBS.	50, 100

Nom du protocole	Cible	Échantillon ¹⁾	Volume d'élution [μ L] ²⁾
hgDNA 200	ADN génomique	200 μ L de sang total (2×10^6 de leucocytes), jusqu'à 5×10^5 de cellules en culture et jusqu'à 5 mg de tissus frais/congelés. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μ L, diluez à l'aide de PBS.	50, 100
hgDNA ds 200	ADN génomique	200 μ L de sang total (2×10^6 de leucocytes), jusqu'à 5×10^5 de cellules en culture. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μ L, diluez à l'aide de PBS.	50, 100 Ⓢ Recommandé lorsqu'un ADN à prédominance bicaténaire est requis.
Fast hgDNA 200 ⁵⁾	ADN génomique	200 μ L de sang total (2×10^6 de leucocytes), jusqu'à 5×10^5 de cellules en culture. Si un volume d'échantillon est inférieur à 200 μ L, diluez à l'aide de PBS.	50, 100
Protocole pour les échantillons de tissus FFIP			
DNA FFPET 1000	ADN génomique	Jusqu'à 6 coupes de tissus FFPE (de 4 ou 5 μ m chacun)	50, 100
Protocoles pour les volumes d'échantillon élevés			
Pathogen 1000 ³⁾	Acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux	500 μ L ou 1 000 μ L de plasma, sérum, sang total, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons nasopharyngés/nasaux, selles et urine.	50, 100

Nom du protocole	Cible	Échantillon ¹⁾	Volume d'éluion [μL] ²⁾
External Lysis Pathogen 500	Acides nucléiques bactériens, fongiques et viraux	1 450 μL de lysat de 500 μL de plasma, sérum, sang total. Si un volume d'échantillon est inférieur à 500 μL , diluez à l'aide de PBS.	50, 100
hgDNA 1000	ADN génomique	500 μL de sang total (5×10^6 de leucocytes) ou 1 000 μL de sang total (1×10^7 de leucocytes), jusqu'à 1×10^9 de cellules en culture.	100, 200  Pour une meilleure performance ou lors de l'utilisation de cellules en culture à haute concentration en ADN, éluez dans 200 μL .

Protocoles pour les volumes d'échantillon très élevés

cfNA ss 2000	Acides nucléiques libres circulants, ADN à prédominance monocaténaire.	2 000 μL de plasma ⁴⁾	50, 100
cfNA ss 4000	Acides nucléiques libres circulants, ADN à prédominance monocaténaire.	4 000 μL de plasma ⁴⁾	50, 100
cfNA ds 2000	Acides nucléiques libres circulants, ADN à prédominance bicaténaire.	2 000 μL de plasma ⁴⁾	100, 150, 200 Pour l'éluion d'ADN à prédominance bicaténaire.

Nom du protocole	Cible	Échantillon ¹⁾	Volume d'élu- tion [µL] ²⁾
cfNA ds 4000	Acides nucléiques libres circulant, ADN à prédominance bicaténaire.	4 000 µL de plasma ⁴⁾	100, 150, 200 ③ Pour l'élu- tion d'ADN à prédomi- nance bicaténaire.
cfNA ds 4000 hp	Acides nucléiques libres circulant, ADN à prédominance bicaténaire.	4 000 µL de plasma ⁴⁾	60, 150 ③ Pour l'élu- tion d'ADN à prédomi- nance bicaténaire. Recom- mandé lorsqu'une meilleure perfor- mance est requis, par exemple, quant au rendement et/ou à la pureté.

¹⁾Le volume d'échantillon/lysate pipeté manuellement dans les plaques de traitement des échantillons doit correspondre exactement au volume d'échantillon spécifié dans les paramètres de run généraux.

²⁾Vous pouvez augmenter la concentration en acides nucléiques dans l'éluat et, par conséquent, la sensibilité d'applications en aval en sélectionnant un faible volume d'éluat. Cependant, l'efficacité de l'éluat et le rendement global d'acide nucléique risquent d'être inférieurs par rapport à une analyse utilisant un volume d'éluat plus élevé.

³⁾Les protocoles Pathogen sont conçus pour l'isolation de l'acide nucléique bactérien, fongique et viral à partir de différents types d'échantillons d'origine humaine. Ces protocoles peuvent être utilisés directement pour les volumes d'échantillon indiqués ou les volumes indiqués peuvent être compris dans le lysat.

⁴⁾Plasma d'ADN libres circulants Roche, K2-EDTA, ou tubes de prélèvement sanguin Streck Cell Free DNA BCT. Le prétraitement à l'aide du MagNA Pure cfNA Buffer Set est obligatoire.

⁵⁾Les protocoles Fast sont conçus pour l'isolation des acides nucléiques à partir de 8 échantillons seulement.

③ Un protocole de contrôle de l'instrument est disponible pour le dépannage. Contactez votre représentant Roche pour obtenir des informations supplémentaires.

8.2 Types d'échantillon et procédures de prétraitement

Pour obtenir un résultat optimal lors des applications en aval, notamment dans le cadre de dosages de RT-PCR en temps réel, par exemple à l'aide des Light-Cycler® Instruments, ne traitez pas les échantillons avec un volume supérieur à celui que le protocole de purification sélectionné est capable de manipuler. Cela aurait un effet négatif sur les performances des procédures d'isolation et de purification et occasionnerait la formation d'amas et la perte de particules magnétiques de verre, une contamination des échantillons, voire un endommagement de l'instrument.

I. Sang total

Utilisez du sang total frais/congelé sans aucun traitement préalable. Veillez à ce que l'échantillon soit entièrement homogénéisé.

- ⚠ Si la formule leucocytaire dépasse 1×10^7 cellules sanguines/mL, diluez le sang total à l'aide d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) avant l'utilisation afin d'éviter la formation d'un amas de particules magnétiques de verre.
- ⚠ Assurez-vous que les échantillons de sang total avec anticoagulant ne présentent pas de caillots.

II. Plasma/sérum

Utilisez du plasma ou sérum frais/congelé sans aucun traitement préalable, sauf pour les protocoles cfNA.

- ⚠ S'il y a eu formation de précipités, une brève étape de centrifugation est requise pendant 5 à 10 minutes à $1\ 900 \times g$; cette étape de centrifugation est recommandée pour les protocoles cfNA. N'utilisez que le surnageant comme échantillon.

III. Lysats pour les protocoles de lyse externe

Sang total, plasma ou sérum mélangé à du tampon de lyse externe MagNA Pure External Lysis Buffer.

- Ⓢ Assurez-vous que le réactif de lyse/de liaison est équilibré à une température comprise entre +15 et +25 °C avant toute utilisation.

Ajoutez 200 µL ou 500 µL de sang total, plasma ou sérum à 250 µL ou 950 µL de MagNA Pure External Lysis Buffer.

Protocole	External Lysis Pathogen 200	External Lysis Pathogen 500
Échantillon [µL]	200	500
Lysis/Binding Buffer [µL]	250	950
Volume total de lysat [µL]	450	1 450

Transférez le volume total de lysat sur la cartouche de traitement.

IV. Divers lysats et échantillons pour les protocoles Pathogen

Procédez à la lyse des agents pathogènes sur différents types d'échantillon d'origine humaine.

Les types d'échantillons suivants peuvent être utilisés pour les protocoles Pathogen 200, Fast Pathogen 200 et Pathogen 1 000 :

urine, lavage broncho-alvéolaire, écouvillons, selles, sang total, plasma, sérum et cultures bactériennes.

- ⚠ Étant donné la grande diversité des échantillons, il n'existe pas de procédure unique applicable de façon universelle. Le prétraitement d'un échantillon semi-liquide (lavage broncho-alvéolaire, selles, etc.) pour l'isolation de l'acide nucléique dépend du type de l'échantillon, de sa viscosité, du type de particule et de la teneur en particules.
- ⚠ Tout échantillon utilisant cette procédure de préparation des échantillons conjointement à un test en aval d'acides nucléiques IVD quel qu'il soit doit être validé en fonction des paramètres IVD individuels.
- ⚠ N'utilisez pas un volume de 1 000 µL d'échantillon de départ pour les échantillons très visqueux et riches en cellules, comme des échantillons de selles.
- 🕒 Selon la viscosité de l'échantillon et en fonction du type de particule et de la teneur en particules, certains échantillons peuvent être utilisés sans aucun traitement préalable.

Protocole de lyse à l'aide de MagNA Pure Bacterial Lysis Buffer (BLB)

① **Liquéfaction (facultatif)**

- 🕒 La liquéfaction est recommandée pour les échantillons très visqueux et constitue une étape obligatoire pour l'isolation des acides nucléiques des échantillons de lavage broncho-alvéolaire.
 - Préparez une solution de base fraîche de DTT (dithiothréitol) (*par ex.* 5× conc. = 0,75 %).
 - Ajustez la concentration finale de DTT dans l'échantillon à 0,15 % en ajoutant la solution de base de dithiothréitol.
 - Incubez l'échantillon sous agitation à 850 rpm pendant 30 minutes à +37 °C jusqu'à permettre un pipetage facile.

② **Ajout de réactif de lyse bactérienne (BLB)**

Transférez le volume d'échantillon approprié dans un tube frais de 1,5 mL.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
Volume d'échantillon [µL]	100	250
		500

- ③ Pré-mélangez les volumes appropriés de BLB et de protéinase K :

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000	
BLB [μL]	100	250	500
Protéinase K [μL]	20	50	100
Mélange BLB/PK [μL]	120	300	600

- Ajoutez ce mélange au tube de 1,5 mL contenant l'échantillon et mélangez soigneusement à l'aide d'un agitateur vortex.
- Incubez sous agitation à 450 rpm pendant 10 minutes à +65 °C.

- ④ **Incubation à +95 °C (pour les échantillons difficiles)**

Pour inactiver les organismes pathogènes et pour améliorer la lyse des cellules pour certaines espèces bactériennes dans les échantillons difficiles tels que les échantillons de selles, incubez l'échantillon à +95 °C. Pour éviter les fuites, utilisez des tubes fermés par des bouchons à vis.

- Incubez les échantillons à +95 °C pendant 10 minutes.
- ④ En cas d'isolation d'ARN, ignorez l'étape d'incubation à +95 °C, la procédure risquant d'affecter l'intégrité de l'ARN.
- Laissez refroidir les échantillons sur de la glace. Centrifugez brièvement afin de prélever le volume d'échantillon total au fond du tube.

- ⑤ Transférez le volume indiqué de lysat dans la cartouche de traitement.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000	
Lysat pipeté sur la cartouche de traitement [μL]	200	500	1 000

Prétraitement des échantillons de selles

- ① Utilisez une quantité d'échantillon de selles de la taille d'un petit pois que vous suspendez dans 550 μL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS).
- ④ Pour éviter que des particules solides ne bouchent les embouts de pipetage, centrifugez pendant 5 secondes à 500 $\times g$.
 - ④ Autrement, pour l'isolation d'ARN viral, utilisez un mélange de solution saline tamponnée au phosphate et de tampon S.T.A.R (Stool Transport and Recovery) (mélange 1:1) pour suspendre les échantillons de selles. Cela peut réduire le risque d'inhibition dans les applications en aval.

- ② Transférez le volume de surnageant approprié dans un tube frais de 1,5 mL.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
Surnageant [μ L]	100	250

- ③ Pré-mélangez les volumes appropriés de BLB et de protéinase K :

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [μ L]	100	250
Protéinase K [μ L]	20	50
Mélange BLB/PK [μL]	120	300

- Ajoutez ce mélange au tube de 1,5 mL contenant l'échantillon et mélangez soigneusement à l'aide d'un agitateur vortex.

- ④ Incubez pendant 10 minutes à +65 °C sous agitation à 850 rpm, puis 10 minutes à +95 °C.

⚠ En cas d'isolation d'ARN, ignorez l'étape d'incubation à +95 °C, la procédure risquant d'affecter l'intégrité de l'ARN.

- ⑤ Transférez le volume indiqué de lysat dans la cartouche de traitement.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lysat pipeté sur la cartouche de traitement [μ L]	200	500

Prétraitement des écouvillons

- ① Procédez à la suspension d'un écouvillon sec dans un volume approprié de réactif de lyse bactérienne pré-mélangée à la protéinase K.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [μ L]	200*	500* 1 000*
Protéinase K [μ L]	20	50 100
Mélange BLB/PK [μL]	220	550 1 100

* Pour les écouvillons en milieu de transport, utilisez une moitié du volume de réactif de lyse bactérienne, l'autre moitié étant composée de l'échantillon en milieu de transport ; le volume final doit correspondre au volume du tableau. Pré-mélangez le réactif de lyse bactérienne avec le volume de protéinase K et ajoutez ce mélange à l'échantillon en milieu de transport.

- ② Pressez et retirez l'écouvillon.
- ③ Mélangez soigneusement à l'aide d'un agitateur vortex. Incubez l'échantillon liquide pendant 10 minutes à +65 °C sous agitation à 450 rpm, puis 10 minutes à +95 °C.
 ⚠ En cas d'isolation d'ARN, ignorez l'étape d'incubation à +95 °C, la procédure risquant d'affecter l'intégrité de l'ARN.
- ④ Laissez refroidir les échantillons sur de la glace. Centrifugez brièvement afin de prélever le volume d'échantillon total au fond du tube.
- ⑤ Transférez le volume indiqué de lysat dans la cartouche de traitement.

Protocole	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lysat pipeté sur la cartouche de traitement [µL]	200	500 ou 1 000

V. Cellules en culture

Utilisez les cellules en culture resuspendues dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) pour isoler les acides nucléiques à l'aide des protocoles hgDNA 200 et hgDNA 1000.

- ① Pour l'isolation d'ADN à partir de cellules en culture cultivées en suspension, centrifugez doucement les cellules en culture pendant 5 minutes à 300 × g. Au besoin, lavez le culot cellulaire à l'aide de solution saline tamponnée au phosphate.
 Ⓞ Le culot cellulaire peut être conservé à une température comprise entre -15 et -25 °C pendant plusieurs semaines.
- ② Retirez le milieu de culture (ou la solution saline tamponnée au phosphate, PBS) et procédez à une remise en suspension des cellules dans une solution saline tamponnée au phosphate froide en pipétant ou en agitant le tube jusqu'à ce que le culot cellulaire soit resuspendu.
- ③ Transférez le volume approprié de suspension sur la cartouche de traitement.
 ⚠ Pour le protocole hgDNA 200, n'utilisez pas plus de 5 × 10⁵ cellules/200 µL. Pour le protocole hgDNA 1000, n'utilisez pas plus de 1 × 10⁶ cellules. Toute déviation risquerait d'affecter les performances.

**VI. Tissus frais/
congelés**

Utilisez jusqu'à 5 mg de tissus frais/congelés homogénéisés pour isoler les acides nucléiques à l'aide du protocole hgDNA 200.

Homogénéisation de tissus par digestion de protéinase K

- ① Ajoutez jusqu'à 5 mg d'échantillon de tissus dans un tube de 1,5 mL.
- ② Ajoutez 180 µL de MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer et 20 µL de protéinase K à l'échantillon de tissus.
- ③ Incubez à +55 °C jusqu'à dissolution complète des tissus (le plus souvent entre 3 heures et une nuit entière).
 - Ⓢ Cette méthode d'homogénéisation permet d'obtenir une intégrité et un rendement élevés de l'ADN.
- ④ Transférez le volume approprié de lysat sur la cartouche de traitement.
- ⑤ Le lysat peut être stocké à une température comprise entre -80 et -20 °C si une purification immédiate n'est pas souhaitée.

Homogénéisation de tissus à l'aide de l'instrument MagNA Lyser

- ① Transférez jusqu'à 5 mg d'échantillon de tissus dans un tube de MagNA Lyser Green Beads.
- ② Ajoutez 200 µL de MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer.
- ③ Procédez à l'homogénéisation des tissus dans l'instrument MagNA Lyser pendant 30 à 40 secondes. Si l'homogénéisation n'est pas terminée, recommencez cette étape. Pour obtenir plus de détails, consultez le manuel de l'opérateur du MagNA Lyser Instrument.
 - Ⓢ Cette méthode est rapide. Cependant, en raison de la casse mécanique, il se peut que l'ADN se trouve partiellement fragmenté.
- ④ Transférez le volume approprié de lysat sur la cartouche de traitement.

VII. Tissus fixés au formol et inclus dans la paraffine

Utilisez le MagNA Pure FFPET Buffer Set pour purifier les acides nucléiques à partir d'un maximum de 6 coupes de tissus FFPE d'une épaisseur de 4 ou 5 µm. Cela correspond à une quantité de tissus maximale de 6 mm³.

- ⚠ N'utilisez pas plus que la quantité spécifiée d'échantillon de tissu FFIP, sans quoi les performances du processus de purification des acides nucléiques risquent d'être affectées de manière négative. Le rendement et la qualité des acides nucléiques isolés dépendent largement du type de tissu, de l'âge de l'échantillon et du protocole de fixation utilisés.
- ⚠ N'utilisez jamais de flacons de réactifs partiellement usagés issus de flux de travail manuels dans des flux de travail automatisés.

Préparation des échantillons et des réactifs pour le protocole DNA FFPET 1000

- ① Pour chaque isolation, ajoutez jusqu'à 6 coupes de tissus FFPE de 4 ou 5 µm (≤6 mm³ de tissus) au fond d'un tube de 2,0 mL.
 - ⚠ Retirez tout excès de paraffine du bloc de tissus FFPE ou de la lame de tissus FFPE avant toute collecte de coupes de tissus FFPE.
 - ⚠ Pour garantir une récupération maximale des acides nucléiques, les échantillons de tissu FFIP doivent être le plus proche possible du fond du tube de 2,0 mL avant la centrifugation.
- ② Centrifugez le tube de 2,0 mL à 5 000 × *g* pendant 30 secondes à une température de +15 à +25 °C afin de prélever les échantillons au fond des tubes.
- ③ Chargez les tubes d'échantillon centrifugés dans les adaptateurs de tubes de 2,0 mL déjà insérés dans le rack d'échantillons.
 - ⚠ Insérez correctement les adaptateurs de tubes d'échantillons et les tubes de 2,0 mL dans le rack d'échantillons.
 Chargez le rack d'échantillons dans la position de chargement du rack d'échantillons de l'instrument et continuez la création de la demande.
- ④ Préparez le Deparaffinization Reagent :

Immédiatement avant utilisation, transférez 25 mL de Deparaffinization Reagent fourni avec le MagNA Pure FFPET Buffer Set dans l'un des flacons de réactifs vides de 25 mL disposant d'un code-barres.

-
- ⑤ Chargez les stations de l'instrument mises en surbrillance dans le logiciel avec les ressources requises.
 En dernier lieu, chargez le rack de réactifs avec :
- le Deparaffinization Reagent dans un flacon de réactif de 25 mL disposant d'un code-barres
 - le ou les flacons de Lysis Buffer
 - le ou les flacons d'isopropanol
 - le ou les tubes MGP agités au vortex
- ⚠ Ne chargez que les flacons de réactifs et les tubes MGP débouchés.
- ⚠ Prenez soin d'éviter l'introduction de mousse/bulles aux réactifs du kit de réactifs FFPET. En cas de formation de bulles, vous pouvez les retirer au moyen d'un embout de pipetage.
- ⚠ Vous pouvez réutiliser uniquement les flacons de réactifs partiellement usagés provenant de flux de travail automatisés sur le **même** instrument. Le logiciel trace l'inventaire de chaque instrument à l'aide des codes-barres de réactifs, reconnaît les flacons de réactifs partiellement usagés pour permettre un traitement adéquat lors du run suivant. Tous les flacons de réactifs présentent une stabilité à bord de 16 heures et sont stables pendant 28 jours suivant la première utilisation.

Une fois toutes les ressources correctement vérifiées, lancez le run.

-
- ⑥ Après la fin du run, déchargez l'instrument suivant les instructions décrites dans l'Assistance Utilisateur. Immédiatement après utilisation, fermez tous les flacons de réactifs au moyen de leurs bouchons respectifs spécialement conçus pour une réutilisation sur le même instrument et stockez-les conformément aux instructions d'utilisation.
-
- ⚠ Il arrive que des éluats translucides/colorés soient observés. Ils peuvent être utilisés pour des applications en aval.
- ⚠ Lors de l'élimination des déchets, prenez en compte le fait que les tubes d'échantillons de 2,0 mL contiennent des réactifs du kit de réactifs FFPET.

VIII. Plasma pour acides nucléiques libres circulants

Utilisez le MagNA Pure cfNA Buffer Set lors de l'isolation des acides nucléiques libres circulants (cfNA).

- ④ Avant de purifier les acides nucléiques libres circulants, centrifugez les échantillons pendant 5 à 10 minutes de 1 000 à 1 900 × *g*. Évitez de transférer l'un des culots.
- ⚠ Évitez d'introduire des bulles/de la mousse lors des étapes de pipetage.

- ① Dans un tube d'échantillon frais testé pour cette application (tube Sarstedt 55.466 et tube Sarstedt 55.495), placez le volume approprié de protéinase K. Ajoutez l'échantillon dans le tube contenant de la protéinase K, mélangez doucement et incubez à +37 °C pendant 20 minutes.

Protocole	cfNA ss 2000 cfNA ds 2000	cfNA ss 4000 cfNA ds 4000
Protéinase K [μL]	200	400
Volume d'échantillon [μL]	2 000	4 000

- ② En fonction du nombre d'échantillons à traiter, préparez le mélange tampon d'acides nucléiques libres circulants (cfNA) en grande quantité : pipetez le Cell-Free Nucleic Acid Enhancement Buffer (tampon d'enrichissement d'acides nucléiques libres circulants, CELB) et ajoutez l'isopropanol (IPA) dans un contenant ayant la taille appropriée. Fermez et mélangez doucement en retournant les tubes. La solution reste stable pendant 2 heures maximum.

Protocole	cfNA ss 2000 cfNA ds 2000	cfNA ss 4000 cfNA ds 4000
CELB [μL]	1 750	3 500
IPA [μL]	300	600
Mélange tampon d'acides nucléiques libres circulants (CELB + IPA) [μL]	2 050	4 100

- ③ Ajoutez la quantité appropriée du mélange tampon d'acides nucléiques libres circulants à chaque échantillon : 2 000 µL de mélange tampon d'acides nucléiques libres circulants à 2 000 µL d'échantillon ou 4 000 µL de mélange tampon d'acides nucléiques libres circulants à 4 000 µL d'échantillon. Mélangez soigneusement en distribuant et en aspirant le liquide approximativement 8 fois pour produire un mélange homogène.
- ⚠ Ne stockez pas le lysat.
- Ⓢ Si des bulles se forment, elles peuvent être retirées par aspiration dans un embout de pipetage tenu à proximité du côté du tube juste au-dessus de la surface du liquide. Autrement, les bulles peuvent être retirées en bouchant les tubes et en centrifugeant à 2 000 × *g* pendant 1 minute.
-
- ④ Chargez les tubes sur le rack d'échantillons. Déchargez le rack d'échantillons sur l'instrument.
-

8.3 Procédure d'isolation

Le MagNA Pure 24 Instrument est conçu pour traiter simultanément jusqu'à 24 échantillons. Pour obtenir une description détaillée de l'utilisation de l'instrument, consultez l'Assistance Utilisateur du MagNA Pure 24.

- ⚠ L'utilisateur est responsable de la validation des performances du système concernant toutes les procédures utilisées au sein du laboratoire.
- ⚠ Lors du mélange des tubes primaires contenant les échantillons, évitez d'introduire de la mousse/des bulles avant de procéder au chargement sur l'instrument. Pour garantir une détection correcte du niveau de liquide, évitez toute présence de gouttelettes au niveau des parois des tubes échantillons.
- ⚠ Veillez à ce que tous les tubes échantillons soient correctement placés dans le rack d'échantillons.
- ⚠ Les échantillons aqueux, comme les acides nucléiques dissous dans l'eau ou dans des liquides sans tampon biologique, risquent d'occasionner des performances de purification insuffisantes. Pour les échantillons aqueux, ajoutez 10× PBS à une concentration finale de 1× PBS.
- ⚠ Lorsque les cassettes de réactifs ont été stockées à une température inférieure à +15 °C, équilibrez-les à une température comprise entre +15 et +25 °C pendant au moins une heure avant toute utilisation.
- 🔍 Il est possible d'utiliser deux cassettes de réactifs, d'un même lot ou de lots différents, dans un run de purification.
- ⚠ Assurez-vous que tous les réservoirs ont été insérés complètement dans la cassette de réactifs avant de les placer sur la station de cassette de réactifs.
- ⚠ Avant de placer les tubes MGP sur le plateau de l'instrument, agitez les tubes individuels au vortex pendant 60 secondes. Chargez les tubes MGP débouchés avec précaution sur le plateau de l'instrument immédiatement avant de lancer le run. En cas de déversement, remplacez les tubes MGP.
- ⚠ Tous les éléments chargés sur l'instrument doivent être débouchés : les tubes contenant les échantillons, tubes MGP, tubes de contrôle interne, flacons de réactifs et consommables de sortie.
- ⚠ Pour éviter tout déversement de réactifs, soyez vigilant lors du chargement du rack de réactifs dans la position de chargement du rack de réactifs.
- 🔍 Pour les flux de travail FFPET : De faibles quantités de Deparaffinization Reagent transférées dans le tube de traitement d'échantillon n'affectent pas les performances de purification. Un reste de Lysis Buffer n'affectera pas non plus les résultats.

8.4 Fin d'un run

Une fois le run terminé, déchargez les consommables de sortie contenant les éluats.

- Ⓢ Après la fin d'un run, les éluats ne doivent pas rester à bord de l'instrument plus de 2 heures, sans quoi les résultats correspondants sont associés à une alerte.
- Ⓢ Une fois que vous avez ouvert le capot de l'instrument, le refroidissement des éluats cessera.
- Ⓢ Les particules magnétiques présentes en faible quantité dans les tubes/barrettes de tubes de sortie n'affectent pas les dosages de PCR et de RT-PCR sur les LightCycler® Instruments ou les blocs thermiques traditionnels. Si vous souhaitez retirer les particules magnétiques de verre, placez les tubes/barres de tubes de sortie sur une plaque magnétique avant de retirer l'éluat.
 - Ne dépassez pas le délai de stabilité à bord de la cassette de réactifs ; déchargez la cassette de réactifs avec précaution pour éviter tout déversement. Scellez la cassette de réactifs à l'aide d'un film de scellage. En vue d'une utilisation ultérieure, stockez les cassettes de réactifs partiellement utilisées entre +2 et +8 °C en position verticale.
 - Terminez les tâches de déchargement en suivant les instructions fournies par l'instrument.
- ⚠ Les tubes MGP sont réservés à un usage unique et doivent être jetés après chaque run même lorsqu'ils n'ont été que partiellement utilisés.
- Jetez les déchets liquides et solides conformément aux réglementations locales.
- Inspectez soigneusement l'instrument et vérifiez qu'aucun liquide n'a été déversé. En cas de déversement, nettoyez l'instrument en suivant les instructions décrites dans l'Assistance Utilisateur du MagNA Pure 24.
- Nettoyez et décontaminez tous les accessoires en suivant les instructions décrites dans l'Assistance Utilisateur du MagNA Pure 24.
- ⚠ Ne laissez pas les réactifs contenant du thiocyanate de guanidine (Lysis Buffer) entrer en contact avec une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) ou des acides. Ces mélanges peuvent produire un gaz hautement toxique. Pour obtenir plus de détails sur le nettoyage et la maintenance, consultez l'Assistance Utilisateur MAGna Pure 24.

8.5 Contrôle qualité

⚠ Effectuez toujours les contrôles appropriés.

Pour une vérification de l'ensemble de la procédure, de la préparation des échantillons à l'analyse, effectuez les contrôles suivants :

- Contrôle positif à l'aide d'un échantillon positif à la cible.
- Contrôle négatif à l'aide d'un échantillon négatif à la cible.
- Contrôle interne en ajoutant une quantité définie de cible de contrôle à tous les échantillons devant être purifiés. Le contrôle interne est ajouté avant l'étape de purification, copurifié puis, par exemple, amplifié avec votre cible d'intérêt dans la même réaction PCR. Pour les applications risquant d'occasionner des résultats faussement négatifs, l'utilisation d'un contrôle interne approprié est indispensable.

Contrôles internes

L'instrument est capable d'ajouter automatiquement un contrôle interne (CI) à chaque échantillon lors d'un run de purification. Le volume de contrôle interne est fixé à 20 µL par échantillon. Jusqu'à 2 contrôles internes différents peuvent être chargés par run ; seul 1 contrôle interne peut être ajouté pour chaque échantillon. Pour utiliser cette fonction, sélectionnez le contrôle interne dans les paramètres de run généraux. La quantité appropriée de contrôle interne est calculée par le logiciel et affichée dans les paramètres de run dans l'écran *Overview*. Ajoutez le volume indiqué de contrôle interne à un tube de 2 mL à code-barres et chargez les tubes dans les positions correspondantes sur le rack de réactifs.

Ⓞ En raison de limites d'ordre mécanique, le volume de contrôle interne requis est supérieur à une simple multiplication du nombre d'échantillons par 20 µL.

⚠ Pour les protocoles d'acides nucléiques libres circulants (par exemple, 2 000 µL et 4 000 µL d'échantillon de démarrage), ajoutez le contrôle interne manuellement au lysat préparé. Notez que la fonction CI de l'instrument est disponible mais n'est pas activée.

⚠ Pour le protocole FFPET, aucun contrôle interne ne peut être ajouté par l'instrument.

9. LIMITES ET INTERFÉRENCES

1. Le MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au MagNA Pure 24 System.
2. Des résultats fiables dépendent de procédures appropriées de prélèvement, de transport, de stockage et de manipulation des échantillons.
3. Le MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit a été validé uniquement en fonction du matériel d'échantillon spécifié dans ces instructions d'utilisation. La purification des acides nucléiques à partir d'autres types d'échantillon peut affecter les performances.
4. Utilisez les protocoles uniquement en association avec les échantillons spécifiés. Toute déviation risquerait d'affecter les performances.
5. L'utilisation de ce produit doit être limitée au personnel formé aux techniques d'isolation de l'acide nucléique. Toute application de diagnostic in vitro utilisant la procédure de préparation des échantillons conjointement à un test en aval d'acides nucléiques IVD quel qu'il soit doit être validée en fonction des paramètres IVD individuels.
6. Pour réduire le risque d'un impact négatif sur les résultats, les contrôles appropriés doivent être utilisés pour les applications en aval.
7. Les conditions de stockage (température, durée) des échantillons, lysats, culots de cellules en culture et éluats doivent être validées en fonction des paramètres IVD individuels.
8. Les caractéristiques de performances appropriées doivent être établies par l'utilisateur, en particulier lors d'une utilisation conjointe avec une application en aval. Tout résultat doit être interprété dans le contexte de l'ensemble des conclusions cliniques et de laboratoires adéquates. Étant donné que la concentration d'analyte peut varier de façon significative selon les divers types de spécimens, nous recommandons d'établir les performances de contamination croisée par exemple à l'aide d'une méthode dite de damier (hauts positifs comparés aux échantillons négatifs), avant de passer aux tests de routine.
9. En raison de différences inhérentes entre les technologies, nous recommandons aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, d'effectuer des études de corrélation dans leur laboratoire pour qualifier les différences en matière de technologie. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
10. L'influence des substances interférentes a été évaluée à l'aide d'une série à concentration croissante des substances prévalentes suivantes : hémoglobine humaine, bilirubine et lipides (à l'aide du protocole Pathogen 200).

10. INFORMATIONS SUPPLÉMENTAIRES

10.1 Symboles

Symboles utilisés dans cette publication et sur ce produit :

Symbole	Description
	Remarque importante
	Remarque informative
IVD	Utilisation destinée au diagnostic <i>in vitro</i> .
CE	Le réactif répond aux exigences du règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> .
REF	Numéro de catalogue
GTIN	Code article international
UDI	Identifiant unique des dispositifs
LOT	Code du lot
	Date limite d'utilisation
	Date de fabrication
CONTENT	Contenu du kit
	Limite de température
	Consulter les instructions d'utilisation
D	Distribué par
	Fabricant
EC REP	Représentant autorisé dans la Communauté européenne
	Importateur

10.2 Modifications de la version précédente

- Mise à jour pour conformité aux exigences du règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.
- Mise à jour des kits facultatifs.

11. MARQUES

MAGNA PURE, MAGNA LYSER et LIGHTCYCLER sont des marques de Roche.

Les autres noms de produits et marques sont détenues par leur propriétaire respectif.

12. AVIS DE NON RESPONSABILITÉ

Utilisation destinée au diagnostic *in vitro*.

13. RÉFÉRENCES

¹⁾ Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5ème édition. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, révisé en décembre 2009.

²⁾ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Directive approuvée - quatrième édition. Document CLSI M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
Manufactured in Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116,
68305 Mannheim, Germany
+49 621 759 0



Distributed in USA by Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA
US Customer Technical Support: 1-800-526-1247

