

Manuel d'utilisation – Réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET

1 Composition

1.1 Composant des kits

REF	Réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET
740750.50 / .500	Réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET, à remplir dans ses propres contenants de transport ou de stockage, flacon de 50 mL / 500 mL, manuel d'utilisation

Il est vivement recommandé de lire le protocole détaillé de ce manuel lors de la première utilisation du réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET.

Toute la documentation technique est disponible en ligne sur www.mn-net.com.

1.2 Consommables et équipement nécessaires

- Selon le type d'échantillon à prélever, tubes avec bouchons à vis étanches appropriés, écouvillons, tubes de prélèvement sanguin ou canules.
- Équipement de protection individuelle (par exemple : blouse de laboratoire, gants, lunettes de protection).

2 Description du produit

2.1 Principe général

Le réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET est conçu pour le prélèvement d'échantillons de sang ou d'écouvillons sur des animaux. Il permet d'inactiver les agents pathogènes viraux et de préserver les acides nucléiques viraux (ADN et ARN) en dénaturant les nucléases. Le réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET permet de conserver et de transporter en toute sécurité des échantillons de sang total ou d'écouvillons vétérinaires du site de prélèvement jusqu'au laboratoire d'analyse.

Le réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET permet de collecter et de transporter en toute sécurité des échantillons de sang total ou d'écouvillons provenant d'animaux, puis d'extraire les acides nucléiques viraux (ARN/ADN) pour les utiliser dans des analyses ultérieures telles que la RT-PCR ou la RT-qPCR.

2.2 Caractéristiques du produit

Le réactif NucleoProtect® VET a été testé avec du sang animal prélevé avec des tubes NucleoProtect® VET Blood Tubes (REF 740755) et du sang animal traité à l'EDTA. L'utilisateur est responsable de la validation des autres anticoagulants utilisés en association avec le réactif NucleoProtect® VET. Le réactif a également été testé avec différents matériaux d'écouvillons, notamment des écouvillons à embout en mousse, à fibres de coton, à fibres synthétiques et des écouvillons floqués. L'utilisateur est responsable de la validation de l'écouvillon individuel utilisé avec le réactif NucleoProtect® VET. Le produit n'est pas destiné à usage humain.

Inactivation des virus

L'inactivation des virus à haut risque a été testée dans différentes matrices (voir tableau ci-dessous) en utilisant le test de la dose infectieuse en culture tissulaire (DICT). Les virus ont été ensemencés dans les différentes matrices avec des titres compris entre 10^6 et 10^7 particules virales par mL et incubés pendant 30 minutes dans le réactif NucleoProtect® VET. Les échantillons ont été dilués pour prévenir les effets toxiques du réactif NucleoProtect® VET sur les cultures cellulaires. Les cellules spécifiques aux virus ont ensuite été infectées avec les virus traités avec le réactif NucleoProtect® VET. Les cellules en culture ont été incubées pendant plusieurs jours et analysées pour détecter les effets cytopathiques (ECP). Enfin, une aliquote de chaque surnageant de culture cellulaire a été transvasée dans une culture cellulaire fraîche. En cas d'absence de croissance virale dans les deux tests d'infection sur culture cellulaire, les virus ont été considérés comme complètement inactivés. La réduction du titre viral a été calculée à partir du titre de départ et du facteur de dilution.

Le niveau de réduction du titre viral est indiqué dans le tableau ci-dessous (données aimablement fournies par le Friedrich-Loeffler-Institut, Institut fédéral de recherche sur la santé animale en Allemagne).

Virus	Matrices testées	Réduction du titre viral
Virus de la fièvre aphteuse (FMDV)	Épithélium de la langue bovine Sang total Lait cru Salive	> 10^4 (correspond à une capacité d'inactivation > 99,99 %)
Virus de la fièvre catarrhale du mouton (BTV-5)		
Virus de la peste des petits ruminants (PPRV)		
Virus de la dermatose nodulaire contagieuse (LSDV)		
Coronavirus Bovin (BCoV)	Salive	

La capacité d'inactivation du réactif NucleoProtect® VET a été démontrée pour diverses matrices et des virus connus pour avoir des structures d'enveloppe ainsi que des sensibilités différentes aux désinfectants : FMDV (petit virus non enveloppé), BTV-5 (grand virus non enveloppé), LSDV (grand virus enveloppé), PPRV et BCoV (virus enveloppé). Aucune revendication d'inactivation d'autres virus ou matrices ne peut être faite. Les échantillons doivent être incubés pendant au moins 30 minutes pour une inactivation complète.

Stabilité de l'échantillon

La capacité de stabilisation du réactif NucleoProtect® VET a été testée avec toutes les structures génomiques virales naturelles : ARN sb (+ / -), ARN db et ADN db (sb : simple brin ; db : double brin). En particulier, les virus suivants ont été testés :

Virus	Structure génomique
Virus de la fièvre aphteuse (FMDV) Entérovirus porcine (PEV) Virus de la diarrhée virale bovine (BVDV)	ARN sb (+)
Peste des petits ruminants virus (PPRV) Virus de la maladie de Carré (CDV)	ARN sb (-)
Virus de la fièvre catarrhale du mouton (BTV sérotypes 5 et 8)	ARN db
Virus de la dermatose nodulaire contagieuse (LSDV) Virus de la vaccine (VV) Virus de l'herpès bovin (BoHV)	ADN db

La stabilisation de l'ARN et de l'ADN viraux a été testée avec des échantillons de sang ou d'écouvillons enrichis en utilisant des tests RT-qPCR spécifiques au virus. Les échantillons stabilisés NucleoProtect® VET (écouvillons / sang) peuvent être stockés et expédiés dans les conditions suivantes sans perte de sensibilité* :

Conditions de stockage	Temps de stockage*
15 – 25 °C	7 jours
4 °C	7 jours
37 °C	2 jours
-20 °C	30 jours

* la durée de stockage spécifiée indique la durée pendant laquelle les échantillons peuvent être conservés dans les conditions spécifiées avec une variation de la valeur Ct < à 1 en moyenne, comme démontré dans des analyses RT-qPCR comparant les échantillons entre le moment du prélèvement et après les temps de stockage.

Le réactif NucleoProtect® VET n'est pas destiné à préserver la morphologie ou la viabilité des micro-organismes. En raison de son activité lytique et dénaturante, le réactif NucleoProtect® VET ne convient pas aux tests sérologiques.

2.3 Traitement de l'échantillon

Le réactif NucleoProtect® VET est destiné à la collecte et au transport sécurisés d'échantillons de sang total ou d'écouvillons d'animaux uniquement.

Le réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET est incolore et transparent. Ne pas utiliser le réactif NucleoProtect® VET si la solution semble trouble ou contient des précipités.

Ne pas utiliser si le produit ou l'emballage est endommagé ou s'il y a des signes de fuite.

Volume de réactif NucleoProtect® VET recommandé pour différents types d'échantillons.

Echantillon	Volume recommandé
Sang total animal	Ajouter 2.5 volume de réactif NucleoProtect® VET par volume de sang total animal. Calculer le volume de réactif NucleoProtect® VET requis en fonction du volume de sang utilisé, par exemple : Pour 100 µL de sang, ajouter 250 µL de réactif NucleoProtect® VET Pour 500 µL de sang, ajouter 1250 µL de réactif NucleoProtect® VET Pour 1.0 mL de sang total, ajouter 2.5 mL de réactif NucleoProtect® VET Pour 1.5 mL de sang, ajouter 3.75 mL de réactif NucleoProtect® VET
Écouvillon	La quantité de réactif NucleoProtect® VET nécessaire pour une conservation et une inactivation efficaces de l'échantillon dépend de la taille et du matériau de l'écouvillon (matériau de la tête de l'écouvillon, comme le coton ou fibres synthétiques / inertes). Nous recommandons d'ajouter suffisamment de réactif NucleoProtect® VET pour immerger l'écouvillon. Veiller à ce que le matériau de l'écouvillon est compatible avec le réactif NucleoProtect® VET.

L'utilisateur est tenu d'utiliser un contenant étanche en association avec le réactif NucleoProtect® VET.

Le NucleoProtect® VET Blood Tube et le NucleoProtect® VET Swab sont destinés à un usage professionnel uniquement. Les procédures standards du vétérinaire et du laboratoire pour le prélèvement d'échantillons de sang ou d'écouvillons sur les animaux doivent être appliquées tout en appliquant les procédures de sécurité appropriées qui s'imposent.

Prélèvement d'échantillons sur écouvillon

Insérer l'écouvillon dans le réactif NucleoProtect® VET après avoir recueilli l'échantillon vétérinaire. Ne pas insérer l'écouvillon dans le réactif NucleoProtect® VET avant de collecter l'échantillon !

Prélèvement d'échantillons de sang

Suivre les procédures vétérinaires et de laboratoires standards pour le prélèvement de sang sur les animaux et appliquer les pratiques de sécurité appropriées lors du prélèvement de sang. Si des tubes de collecte de sang autres que des tubes EDTA sont utilisés pour collecter le sang des animaux, l'utilisateur est responsable de valider son utilisation en association avec le réactif NucleoProtect® VET.

3 Conditions de stockage du produit

Stocker le réactif NucleoProtect® VET à température ambiante (15 - 25 °C).

Le produit peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette.

4 Instructions de sécurité

Portez toujours des vêtements de protection appropriés (par exemple: une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection), lorsque vous travaillez avec le réactif NucleoProtect® VET ou avec du matériel biologique potentiellement infectieux.

Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité appropriées (FDS disponibles en ligne sur www.mn-net.com/msds).



Évitez de mélanger le réactif NucleoProtect® VET avec de l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) ou d'autres acides et bases forts. Les mélanges pourraient former un composé hautement réactif lorsqu'ils sont combinés avec de l'eau de Javel !

Le réactif NucleoProtect® VET contient des additifs chimiques. Évitez tout contact avec l'animal.

Éliminez le réactif NucleoProtect® VET renversé par inadvertance avec un excès d'eau.

5 Extraction des acides nucléiques

Le réactif NucleoProtect® VET est compatible avec les systèmes d'extraction d'acides nucléiques MACHEREY NAGEL, le NucleoSpin® VET (kit d'extraction par centrifugation sur minicolonne unitaire à membrane de silice ; REF 740842.10 / .50 / .250) et le NucleoMag® VET (kit à base de billes magnétiques ; REF 744200.1 / .4).

Le réactif NucleoProtect® VET est également compatible avec d'autres solutions commerciales courantes d'extraction d'acides nucléiques. L'utilisateur est responsable de la validation d'extraction et de purification des acides nucléiques par des méthodes alternatives.

Extraction des acides nucléiques à l'aide du kit NucleoMag® VET* (voir les informations de commande ci-dessous) :

Pour une description détaillée de la procédure d'extraction des acides nucléiques à partir d'échantillons stabilisés par le réactif NucleoProtect® VET à l'aide du kit NucleoMag® VET, consulter le manuel d'utilisation.

Télécharger le manuel d'utilisation NucleoMag® VET* :



www.mn-net.com/NucleoMagVETmanual

Lire attentivement le manuel d'utilisation du kit NucleoMag® VET avant de commencer la procédure d'extraction des acides nucléiques.

Pour le traitement du sang prélevé avec le réactif NucleoProtect® VET à l'aide du kit NucleoMag® VET, un tampon supplémentaire VIA est nécessaire (REF 744206, voir les informations de commande).

Les échantillons non stabilisés et stabilisés avec le réactif NucleoProtect® VET peuvent être traités en parallèle. Pour une description détaillée, consulter le manuel d'utilisation.

*** Le kit d'extraction NucleoMag® VET a été automatisé sur une grande diversité de plateformes ouvertes de manipulation de liquides ou de tiges magnétiques. Contacter MACHEREY NAGEL pour une assistance technique en matière d'automatisation et de méthodologies appliquées : support@mn-net.com | +49 24 21 969-333**

Extraction des acides nucléiques à l'aide du kit NucleoSpin® VET (voir les informations de commande ci-dessous) :

Pour une description détaillée de la procédure d'extraction des acides nucléiques à partir d'échantillons stabilisés avec le réactif NucleoProtect® VET à l'aide du kit NucleoSpin® VET, consulter le manuel d'utilisation.

Télécharger le manuel d'utilisation NucleoSpin® VET :



www.mn-net.com/NucleoSpinVETmanual

Lire attentivement le manuel d'utilisation du kit NucleoSpin® VET avant de commencer la procédure d'extraction des acides nucléiques.

Pour le traitement des échantillons stabilisés avec le réactif NucleoProtect® VET à l'aide du kit NucleoSpin® VET, un tampon supplémentaire PFN est nécessaire (REF 740121.5, voir les informations de commande).

Les échantillons non stabilisés et stabilisés avec le réactif NucleoProtect® VET peuvent être traités en parallèle. Pour une description détaillée, consulter le manuel d'utilisation.

6 Élimination des déchets

Éliminer les substances dangereuses, potentiellement infectieuses ou contaminées par du matériel biologique de manière sûre et conforme aux dispositions réglementaires locales.

Jeter les dispositifs de prélèvement sanguin tels que les aiguilles dans des contenants à risque biologique approuvés pour leur élimination. Veuillez suivre les réglementations locales en matière de déchets.

7 Informations de contact

Pour plus de détails sur les restrictions d'utilisation / garantie, veuillez consulter le site : www.mn-net.com.

Veuillez contacter notre support technique pour toute question relative aux produits :

MACHEREY-NAGEL Germany

Tel.: +49 (0) 24 21 969-333

e-mail: support@mn-net.com

8 Informations de commande

Produit	Description	Conditionnement	REF
NucleoProtect® VET stabilization and inactivation reagent	Tubes de prélèvement de sang pré-remplis avec 4,0 mL de réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET, compatible avec les canules Luer standard, boîte de 50 tubes	50 / 500 mL	740750.50 / 500

Accessoires / produits associés

NucleoProtect® VET Blood Collection Tubes	Tubes de collecte d'écouvillons avec bouchons à vis, pré-remplis avec 1,5 mL de réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET, y compris les écouvillons.	50	740755
NucleoProtect® VET Swab Tube	Tubes de collecte d'écouvillons avec bouchons à vis, pré-remplis avec 1,5 mL de réactif de stabilisation et d'inactivation NucleoProtect® VET, y compris les écouvillons.	50	740760
Bouchons complémentaires pour les NucleoProtect® VET Blood Tubes	Bouchons d'étanchéité pour les tubes NucleoProtect® VET Blood Tubes	100	740756
Bouchons complémentaires pour les NucleoProtect® VET Swab Tubes	Bouchons d'étanchéité pour les tubes NucleoProtect® VET Swab Tubes	100	740761
NucleoMag® VET	Kit basé sur la technologie des billes magnétiques pour l'extraction d'ARN et d'ADN à partir d'échantillons vétérinaires, contenant des billes NucleoMag® B, des tampons, de l'ARN Carrier et de la Protéinase K	1 x 96 / 4 x 96	744200.1 / .4
Tampon VIA	Nécessaire pour l'extraction d'acides nucléiques à l'aide du kit NucleoMag® VET à partir d'échantillons de sang collectés avec le réactif NucleoProtect® VET	150 mL	744206
NucleoSpin® VET	Kit basé sur la technologie de membrane de silice pour l'extraction d'ARN et d'ADN à partir d'échantillons vétérinaires, contenant des minicolonnes à membrane de silice à centrifuger, des tubes de collecte (2 mL), des tubes de collecte pour la lyse et l'éluion (1,5 mL), des tampons, de la Protéinase K liquide, de l'ARN Carrier (lyophilisé)	10 / 50 / 250	740842.10 / .50 / .250

Produit	Description	Conditionnement	REF
Tampon PFN	Nécessaire pour l'extraction des acides nucléiques à l'aide du kit NucleoSpin® VET à partir d'échantillons collectés avec le réactif NucleoProtect® VET.	5 mL	740121.5

Visitez notre site web www.mn-net.com pour des informations plus détaillées

9 Restrictions d'utilisation / garantie

Tous les produits MACHEREY-NAGEL sont conçus pour l'usage auquel ils sont destinés. Ils ne sont pas destinés à être utilisés pour un autre usage. La description de l'usage prévu des produits est disponible dans les notices originales des produits MACHEREY-NAGEL. Avant d'utiliser nos produits, veuillez lire attentivement le mode d'emploi et les consignes de sécurité figurant dans la Fiche de Données de Sécurité du produit.

Ce produit MACHEREY-NAGEL comporte une documentation énonçant les spécifications et d'autres informations techniques. MACHEREY-NAGEL garantit la conformité du produit aux spécifications déclarées. La garantie fournie est limitée aux spécifications et descriptions des données indiquées dans la documentation originale de MACHEREY-NAGEL. Aucune autre déclaration, verbale ou écrite, par des employés, agents ou représentants de MACHEREY-NAGEL n'est autorisée, à l'exception des déclarations écrites signées par un représentant dûment habilité de MACHEREY-NAGEL. Le client ne doit pas s'y fier et elles ne font pas partie d'un contrat de vente ou de la présente garantie.

La responsabilité pour tous les dommages éventuels liés survenant en lien avec nos produits est limitée au strict minimum, comme indiqué dans les conditions générales de vente de MACHEREY-NAGEL dans leur dernière version, disponibles sur le site internet de la société. MACHEREY-NAGEL n'assume aucune autre garantie.

Les produits et leur application sont susceptibles de modifications. Par conséquent, veuillez contacter notre Equipe de Service Technique pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits MACHEREY-NAGEL. Vous pouvez également contacter votre revendeur local pour obtenir des informations scientifiques à caractère général. Les descriptions figurant dans la documentation MACHEREY-NAGEL sont fournies à titre d'information uniquement.

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valencienn Str. 11 · 52355 Düren · Germany

Tel.: +49 24 21 969-0

Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)

E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333

E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.

924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA

Toll-free: 888 321 6224 (MACH)

E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS

1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France

Tel.: +33 388 68 22 68

E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €

Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04

379 859 531

Switzerland

MACHEREY-NAGEL AG

Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland

Tel.: +41 62 388 55 00

E-mail: sales-ch@mn-net.com

www.mn-net.com