

MACHEREY-NAGEL

Mode d'emploi



Extraction de l'ADN et de l'ARN viraux

■ NucleoMag® Dx Pathogen



IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

REF 744215.4

 MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Allemagne

 384 prép.

 Juillet 2025 / Rév. 04

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener 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


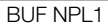

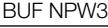
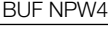
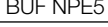





MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Table des matières

1	Détail des composants	4
1.1	Contenu du kit	4
1.2	Réactifs, consommables et matériel à fournir par l'utilisateur	5
1.3	À propos de ce mode d'emploi	6
2	Description du produit	7
2.1	Usage prévu	7
2.2	Limites d'utilisation du produit	7
2.3	Contrôle qualité	7
2.4	Principes généraux	8
2.5	Spécifications du kit	8
2.6	Qualité et préparation des échantillons	9
2.7	Évaluation des performances sur les systèmes automatisés	9
2.8	Procédures d'éluion	12
2.9	Performances analytiques et cliniques	13
3	Conditions de conservation et préparation des solutions de travail	15
4	Consignes de sécurité	17
4.1	Élimination	17
5	Mode opératoire pour l'extraction d'ARN viral dans des échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et des échantillons de salive et d'ARN et d'ADN viraux dans des échantillons de selles humaines.	18
5.1	Préparation du matériel d'échantillonnage	18
5.2	Mode opératoire résumé	19
5.3	Mode opératoire détaillé	21
6	Annexe	24
6.1	Guide de résolution des problèmes	24
6.2	Exigence de notification	25
6.3	Bibliographie générale	25
6.4	Références	26
6.5	Explication des pictogrammes	27
6.6	Limites d'utilisation du produit et garantie	27

1 Détail des composants

1.1 Contenu du kit

NucleoMag® Dx Pathogen		
RÉF	Symbole	4 × 96 préparations 744215.4
NucleoMag® B-Beads		10 mL
Lysis Buffer NPL1		100 mL
Binding Buffer NPB2		3 × 110 mL
Wash Buffer NPW3		300 mL
Wash Buffer NPW4		300 mL
Elution Buffer NPE5		125 mL
Carrier RNA*		4 × 400 µg
Carrier RNA Buffer		4 × 500 µL
Proteinase K (lyophilized)*		3 × 75 mg
Proteinase Buffer PB		15 mL
User manual		1

* Pour la préparation des solutions de travail et les conditions de stockage, consultez le paragraphe 3.

1.2 Réactifs, consommables et matériel à fournir par l'utilisateur

Le matériel nécessaire peut varier en fonction du traitement (manuel ou automatisé, par exemple) et de la configuration des instruments. Veuillez vérifier auprès du fabricant de votre plateforme pour savoir quels sont les consommables spécifiques requis par celle-ci. Consultez également le paragraphe 2.7 pour en savoir plus sur l'automatisation du kit NucleoMag® Dx Pathogen.

Produit	RÉF	Quantité
Aimant pour la séparation des billes magnétiques, NucleoMag® SEP	744900	1
Plaque de séparation pour la séparation des billes magnétiques, Square-well Block (bloc de 96 puits carrés de 2,1 mL)	740481 740481.24	4 24
Plaque d'éluion pour le recueil des acides nucléiques purifiés, Elution Plate U-bottom (plaque de microtitration 0,3 mL, 96 puits de 300 µL, à fond en U)	740486.24	24

Réactifs :

- Éthanol à 80 % (v/v) (éthanol absolu ou non dénaturé)

Consommables :

- Embouts de pipette à usage unique (idéalement exempts de RNase et avec barrière contre les aérosols, pour éviter les contaminations inter-échantillons)

Matériel requis pour la préparation manuelle des échantillons

- Pipeteurs manuels, de préférence des pipettes électroniques à 8 canaux.
- Agitateur adapté (voir le paragraphe 2.7)
- Équipement de protection individuelle (p. ex. : blouse de laboratoire, gants, lunettes de sécurité)

1.3 À propos de ce mode d'emploi

Il est fortement conseillé de lire les modes opératoires détaillés figurant dans le présent mode d'emploi. La version résumée du mode opératoire est uniquement destinée à servir d'aide-mémoire pendant la procédure de purification.

Contactez le service d'assistance technique pour en savoir plus sur les modifications du présent mode d'emploi par rapport aux versions antérieures.

Coordonnées de contact

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valenciener Str. 11

52355 Düren

Allemagne

Tél. : +49 24 21 969-0

Numéro vert : 0800 26 16 000 (depuis l'Allemagne uniquement)

E-mail : info@mn-net.com

Assistance technique Bioanalyse

Tél. : +49 24 21 969-333

E-mail : support@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Downloads-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Téléchargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas están disponibles en la sección de descargas de la página del producto.

Podręczniki użytkownika w innych językach są dostępne w obszarze pobierania na stronie produktu.

Uživatelské příručky v jiných jazycích jsou k dispozici v sekci Ke stažení na stránce produktu.

Más nyelvű felhasználói kézikönyvek a termékoldalán található letöltési területen érhetők el.

I manuali d'uso in altre lingue sono disponibili nell'area download della pagina del prodotto.



2 Description du produit

2.1 Usage prévu

NucleoMag® Dx Pathogen est un kit pour l'extraction de l'ARN viral d'échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et de salive d'origine humaine, ainsi que pour l'extraction de l'ARN et de l'ADN viraux d'échantillons de selles brutes d'origine humaine en vue d'une analyse *in-vitro* ultérieure à des fins diagnostiques.

Le produit fournit de l'ARN et de l'ADN viraux purifiés à utiliser pour des analyses aval ultérieures, telles que la qRT-PCR ou le séquençage. Le produit est réservé aux utilisateurs professionnels dans les laboratoires de diagnostic. Le kit est adapté à un traitement automatisé sur les plateformes d'automatisation de laboratoire. Le kit NucleoMag® Dx Pathogen n'est pas adapté à l'autosurveillance ni aux essais au chevet du patient. L'utilisateur doit avoir une certaine expérience des techniques de biologie moléculaire, notamment la manipulation d'écouvillons, d'échantillons de salive, de selles et d'autres échantillons d'origine humaine potentiellement infectieux. Il est recommandé d'utiliser les contrôles appropriés tels que des contrôles internes, des témoins d'extraction, et des contrôles positifs/négatifs.

2.2 Limites d'utilisation du produit

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen convient aux échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage, aux échantillons de salive et aux échantillons de selles brutes d'origine humaine. Il n'a été validé pour aucun autre type d'échantillon. Les échantillons prélevés par écouvillonnage nasopharyngé (NP) peuvent être employés pour tester les personnes asymptomatiques dans les établissements de santé. D'autres systèmes de prélèvement peuvent être nécessaires pour tester les patients symptomatiques. L'emploi d'écouvillons en fibres synthétiques à tige plastique est recommandé. Les écouvillons en alginate de calcium, les écouvillons à tige en bois ou les échantillons de selles d'origine humaine stabilisés sont déconseillés, car ils peuvent contenir des substances qui inhibent les tests par PCR.

Les performances du produit ont été démontrées dans les procédures de diagnostic du SARS-CoV-2 à partir d'échantillons respiratoires frais et non traités prélevés par écouvillonnage et de salive d'origine humaine, ainsi que dans les procédures de diagnostic de routine des affections gastro-intestinales. Toutefois, les caractéristiques de performance pour chaque espèce de virus dans les échantillons cliniques ou avec les réactifs de stabilisation des échantillons respectifs n'ont pas été établies, et il appartient à l'utilisateur de les valider. L'utilisateur doit également valider l'extraction d'acides nucléiques viraux à l'aide du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur les différentes plateformes d'automatisation.

Veillez vous référer aux directives applicables pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons cliniques et autres prérequis aux analyses.

2.3 Contrôle qualité

Conformément au système d'assurance qualité en vigueur chez MACHEREY-NAGEL, chaque lot de kit NucleoMag® Dx Pathogen est testé par rapport à des spécifications prédéfinies, afin d'assurer une qualité de produit constante.

2.4 Principes généraux

Le kit NucleoMag[®] Dx Pathogen est destiné à l'extraction de l'ARN viral d'échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et de salive d'origine humaine, ainsi que pour l'extraction de l'ARN et de l'ADN viraux d'échantillons de selles brutes d'origine humaine. Le kit fournit les réactifs et les billes magnétiques nécessaires pour isoler 384 échantillons. La procédure repose sur l'adsorption réversible d'acides nucléiques sur des billes paramagnétiques dans des conditions tampons appropriées. Les échantillons sont lysés par incubation avec un tampon de lyse NPL1 contenant des ions chaotropiques, soutenue par une digestion par la protéinase K. La fixation des acides nucléiques sur les billes paramagnétiques est assurée par ajout du tampon de fixation NPB2 et des billes NucleoMag[®] B-Beads au lysat. Une fois séparées, les billes paramagnétiques sont lavées avec les tampons de lavage NPW3 et NPW4 et de l'éthanol à 80 % pour éliminer les sels et les contaminants. L'éthanol résiduel provenant des étapes de lavage est éliminé par séchage à l'air. Enfin, les acides nucléiques viraux de haute pureté sont élués avec le tampon d'éluion NPE5 à faible teneur en sels, ou avec de l'eau. Les acides nucléiques viraux ainsi purifiés peuvent être utilisés tels quels dans les applications aval. Le kit NucleoMag[®] Dx Pathogen peut être utilisé dans des procédures manuelles ou automatiques sur des instruments de manipulation des liquides ou des séparateurs magnétiques automatiques standard.

Carrier RNA

Pour des performances optimales, le kit contient un Carrier RNA. Le Carrier RNA améliore la liaison des acides nucléiques viraux aux billes magnétiques et réduit le risque de dégradation de l'ARN viral. Il est à noter que les éluats obtenus avec le kit NucleoMag[®] Dx Pathogen contiennent à la fois des acides nucléiques viraux et de le Carrier RNA, ce dernier pouvant être présent en plus grande quantité que les acides nucléiques viraux. De ce fait, il n'est pas possible de quantifier les acides nucléiques extraits avec le kit par des méthodes photométriques ou fluorométriques lorsque l'on utilise le Carrier RNA. L'emploi de méthodes de quantification telles que les systèmes spécifiques de PCR quantitative ou de PCR en temps réel (RT-PCR) est donc recommandé. En outre, le Carrier RNA peut dans de rares cas inhiber les réactions de PCR. Il convient donc d'optimiser avec soin la quantité de Carrier RNA ajoutée en fonction du système de PCR utilisé.

2.5 Spécifications du kit

Tableau 1: Résumé des spécifications du kit

Paramètre	NucleoMag [®] Dx Pathogen
Technologie	Billes magnétiques
Matériau échantillonné	Échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et échantillons de salive (d'origine humaine) et selles non stabilisées/brutes (d'origine humaine)
Volume d'échantillon	200 µL
Volume d'éluion	50 à 100 µL
Temps de préparation	Environ 40 à 120 min/96 prép. *
Traitement	Manuel ou automatisé

* Selon la configuration des instruments

2.6 Qualité et préparation des échantillons

Des écouvillons pour prélèvements nasopharyngés (NP) et d'autres systèmes de prélèvement peuvent être utilisés. L'emploi d'écouvillons en fibres synthétiques à tige plastique est recommandé. Les écouvillons en alginate de calcium, les écouvillons à tige en bois ou les échantillons de selles d'origine humaine stabilisés sont déconseillés, car ils peuvent contenir des substances qui inhibent les tests par PCR. Les échantillons de selles peuvent être frais et conservés à une température de 2 à 8 °C, ou congelés (-20 °C).

Veillez vous référer aux directives applicables pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons cliniques et autres prérequis aux analyses.

2.7 Évaluation des performances sur les systèmes automatisés

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen peut être automatisé sur diverses plateformes de manipulation de liquides ou séparateurs magnétiques automatiques. Toutefois, l'extraction d'ARN viral ou d'ADN viral au moyen du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur différentes plateformes d'automatisation doit être validée par l'utilisateur en association avec un test de diagnostic *in vitro* en aval selon le pathogène cible, avec des témoins adaptés aux applications aval (par ex. : témoins internes, témoins d'extraction, témoins positifs/négatifs).

Il est fortement conseillé d'utiliser des témoins d'extraction, des témoins positifs/négatifs et des témoins internes, et d'effectuer des tests de contamination croisée lors du déploiement du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur les plateformes automatisées.

Les chapitres ci-après fournissent des directives pour l'automatisation du kit NucleoMag® Dx Pathogen et l'évaluation de ses performances sur un système automatique.

2.7.1 Manipulation des billes magnétiques

Répartition des billes

Il est essentiel de répartir les billes magnétiques de façon homogène dans les différents puits de la plaque de séparation, pour garantir une cohérence élevée entre puits. Avant de répartir les billes, assurez-vous qu'elles sont entièrement en suspension. Agitez vigoureusement le flacon de stockage, ou placez-le brièvement sur un agitateur vortex. Pendant le traitement automatisé, il est conseillé d'effectuer une étape de prémélange avant d'aspirer les billes depuis le réservoir ou le tube, afin d'assurer que les billes demeurent en suspension.

2.7.2 Systèmes de manipulation de liquides

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen peut être automatisé sur diverses plateformes de manipulation de liquides au moyen du kit NucleoMag® SEP (réf. MN : 744900) utilisé conjointement au bloc à puits carrés Square-well Block (réf. MN : 740481), avec un agitateur adéquat pour une remise en suspension optimale pendant les étapes de fixation, de lavage et d'éluion. Un outil de préhension est également nécessaire pour une automatisation complète sur la station de manipulation de liquides. L'outil de préhension assure le transfert de la plaque vers le séparateur magnétique pour la séparation des billes, puis vers le module d'agitation pour la remise en suspension des billes. La resuspension totale des billes magnétiques pendant l'extraction est essentielle pour des performances fiables et constitue un point à vérifier pendant la validation sur les plateformes de manipulation des liquides. Les billes peuvent également être remises en suspension dans le tampon par pipetages répétés.

Le schéma suivant présente les principes généraux d'extraction au moyen d'un séparateur magnétique statique, à partir de l'étape de fixation, avec l'ajout des billes magnétiques et du tampon de fixation.

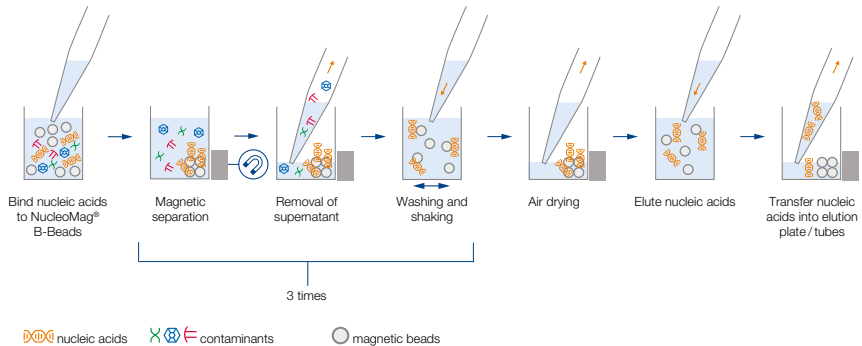


Figure 1 Principes généraux de l'extraction par billes magnétiques au moyen d'un séparateur magnétique statique

2.7.3 Réglage des paramètres de l'agitateur

Une bonne remise en suspension des billes NucleoMag® B-Beads est essentielle pour une extraction fiable et repose sur les caractéristiques de l'agitateur employé, parmi lesquels la vitesse et l'excentration. Lorsqu'un agitateur à plateau est utilisé pour les étapes de fixation, de lavage et d'éluion, la vitesse doit être réglée avec soin pour le bloc à puits carrés Square-well Block et l'agitateur spécifique, afin d'éviter une contamination inter-échantillons entre puits. Procédez comme indiqué ci-après.

Réglage de la vitesse d'agitation pour les étapes de fixation et de lavage :

Introduire 1030 µL (volume total de l'étape de fixation) ou 600 µL (volume des étapes de lavage) d'eau colorée dans les puits d'une plaque de séparation. Placer la plaque sur l'agitateur et agiter à vitesse modérée pendant 30 secondes. Arrêter l'agitateur et examiner la surface de la plaque pour détecter la présence de gouttelettes d'eau colorée.

Augmenter la vitesse, agiter pendant 30 secondes supplémentaires, puis examiner de nouveau la surface de la plaque.

Continuer à augmenter la vitesse jusqu'à l'apparition de gouttelettes sur la surface de la plaque de séparation. Réduire la vitesse d'agitation, examiner de nouveau la surface de la plaque et utiliser ce réglage pour l'étape de lavage.

Réglage de la vitesse d'agitation pour l'étape d'éluion :

Introduire 100 µL d'eau colorée dans les puits d'une plaque de collecte et procéder comme indiqué ci-dessus.

Le tableau suivant présente des réglages testés sur différentes plateformes et peut servir de guide pendant la mise en place de l'automatisation. Il est fortement conseillé d'utiliser des témoins internes, des témoins d'extraction et des témoins positifs et négatifs pendant la validation. Pour faciliter la remise en suspension des billes magnétiques, placer l'amas de billes sur l'agitateur pendant 30 secondes pour le défaire avant d'ajouter le tampon. En fonction

de l'efficacité de la remise en suspension, une étape de mélange à la pipette pourra s'avérer nécessaire.

Système de manipulation de liquides / Agitateur	Vitesse	Durée
Thermomixer confort (Eppendorf)	Lyse : 600 tr/min	15 min
	Fixation : 1000 tr/min	5 min
	Lavage : 1000 tr/min	2 min
	Élution : 1000 tr/min	5 min
epMotion® 5075t TMX (Eppendorf)	Lyse : 1200 tr/min	15 min
	Fixation : 1000 tr/min	5 min
	Lavage : 1200 tr/min	2 min
	Élution : 1200 tr/min	5 min
Te-Shake™ (Tecan)	Lyse 1400 tr/min	15 min
	Fixation : 1400 tr/min*	5 min
	Lavage : 1400 tr/min **	3 min
	Élution : 1000 tr/min	5 min
Hamilton Heater Shaker HHS (Hamilton)	Lyse : 1200 tr/min	15 min
	Fixation : 1200 tr/min	5 min
	Lavage : 1200 tr/min	2 min
	Élution : 1200 tr/min	5 min

Il est fortement conseillé de réaliser au préalable un test de contamination inter-échantillons (par exemple au moyen d'échantillons positifs et négatifs disposés en damier) pendant la mise en œuvre et l'adaptation du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur les plateformes automatiques.

Les différentes étapes du mode opératoire peuvent varier en fonction des consommables, du matériel, de la plateforme et de la configuration des instruments. La séquence de travail automatique ou le script employés pour l'extraction d'acides nucléiques viraux à l'aide du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur différentes plateformes d'automatisation doivent être validés par l'utilisateur en lien avec l'analyse aval correspondante.

2.7.4 Systèmes de séparation magnétique automatiques

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen peut être automatisé sur différentes plateformes de séparation magnétiques automatisées en utilisant les consommables spécifiques de l'instrument concerné. Les billes magnétiques sont habituellement remises en suspension par le mouvement de la gaine en plastique (peigne) qui recouvre les barreaux magnétiques. Après les étapes de fixation, de lavage et d'éluion, les billes sont récupérées au moyen des barreaux magnétiques. Dans la plupart des cas, les tampons et les composants doivent être ajoutés individuellement avant que le mode opératoire de purification ne puisse commencer. Veiller à ne pas dépasser le volume de

* Y compris les étapes de mélange à la pipette

** Directions alternées

remplissage maximal par cuve réactionnelle indiqué par le fabricant. Tous les réglages doivent être validés par l'utilisateur en lien avec la configuration spécifique de la plateforme employée et l'analyse aval. Il est fortement conseillé d'utiliser des témoins internes, des témoins d'extraction et des témoins positifs et négatifs pendant la validation des réglages des paramètres de la plateforme.

Le schéma suivant présente les principes généraux de l'extraction sur systèmes de séparation magnétique automatique.

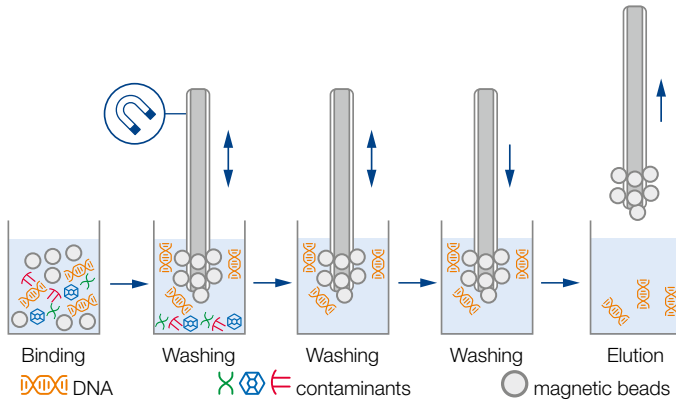


Figure 2 Principes généraux de l'extraction par billes magnétiques sur systèmes de séparation magnétique automatique.

2.8 Procédures d'élution

L'ARN viral ou l'ADN viral purifiés peuvent être élués directement avec le tampon d'élution fourni. L'élution peut être réalisée dans un volume de 50 à 100 µL. Le tampon d'élution doit recouvrir entièrement les billes NucleoMag® B-Beads pendant l'étape d'élution. Pour une élution efficace, l'amas de billes magnétiques doit être entièrement remis en suspension dans le tampon d'élution.

Conservation des acides nucléiques

Recommandation :

Conservation à court terme (jusqu'à 24 h) : 2 à 8 °C

Conservation à long terme (plus de 24 h) : -20 °C.

2.9 Performances analytiques et cliniques

La performance analytique du kit NucleoMag[®] Dx Pathogen a été évaluée en aval par RT-qPCR de l'ARN-MS2 extrait. La répétabilité intracycle a été calculée à partir de l'extraction parallèle de 96 échantillons. Avec $n = 96$, une valeur C_t moyenne de $27,92 \pm 0,118$ et un CV $< 1\%$ ont été obtenus. La répétabilité inter-cycles a été calculée lors de 3 cycles d'extraction indépendants de l'ARN-MS2. Pour 4 analyses d'ARN-MS2, chaque écart-type des 3 cycles était inférieur à 0,1 avec un CV de 0,26 %. Pour la répétabilité inter-lots, 3 lots du kit NucleoMag[®] Dx Pathogen ont été testés côte à côte. Pour 3 analyses d'ARN-MS2, chaque écart-type des 3 cycles était inférieur à 0,61 avec un CV de 1,49 %.

Pour l'évaluation de la reproductibilité inter-opérateurs, quatre extraits d'ARN-MS2 ont été isolés lors de deux cycles indépendants, par deux opérateurs différents. La valeur $\Delta\Delta C_t$ moyenne pour les 4 concentrations entre les différents opérateurs a été calculée et s'est avérée inférieure à 0,1.

Lors d'une étude portant sur des échantillons positifs au SARS-CoV-2, des séries de dilution logarithmique ont été produites à partir de matériel négatif constitué d'échantillons prélevés par écouvillonnage oral et nasal, et de salive. L'ARN extrait a été testé sur deux systèmes de PCR temps réel différents, avec deux mélanges maîtres différents combinés à deux systèmes témoins internes différents (beta-actin-DNA-mix 2 et IC2-RNA/EGFP-Mix 1).

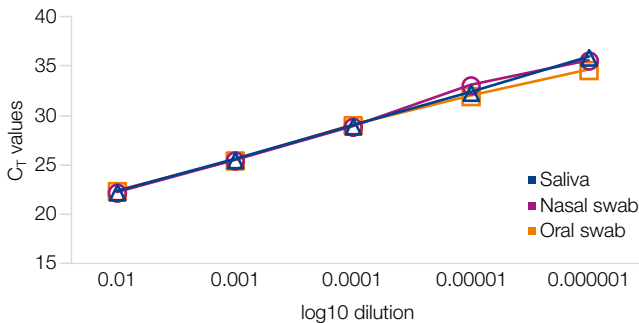


Figure 3 Série de dilution logarithmique du SARS-CoV-2 dans des échantillons issus d'écouvillonnage nasal, oral et de salive. Kit NucleoMag[®] Dx Pathogen sur KingFisher[™] Flex (Thermo Fisher Scientific), kit AgPath-ID[™] One-Step RT-PCR (Thermo Fisher Scientific), dosage nCoV-IP4 (Institut Pasteur, Paris). Données aimablement fournies par le Dr B. Hoffmann, Institut Friedrich-Löffler, Allemagne.

Pour l'évaluation de la performance clinique, de l'ARN de SARS-CoV2 a été extrait à partir d'écouvillons et amplifié dans des tests RT-qPCR de SARS-CoV2. Les contrôles positifs et négatifs ont été évalués. Dans 27 cycles menés sur 94 échantillons par cycle, les 27 contrôles positifs et les 27 contrôles négatifs ont été mesurés comme prévu. La sensibilité et la spécificité diagnostiques étaient de 100 %.

Les performances du NucleoMag® Dx Pathogen avec des échantillons de selles ont été démontrées pour le virus de la fièvre catarrhale ovine (virus à ARNdb).

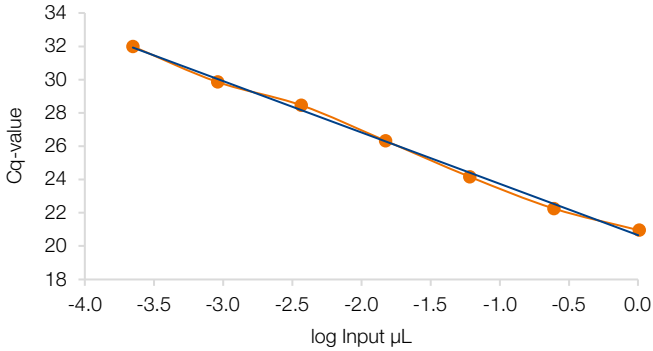


Figure 4 Analyse par qRT-PCR d'une série de dilutions à 1:4 sur sept étapes de dilution du virus de la fièvre catarrhale ovine (ARNdb) extraits d'un échantillon de selles humaines. Le volume d'entrée de l'échantillon est affiché sur une échelle logarithmique. Les valeurs Cq moyennes de la série de dilutions sont représentées par une ligne en pointillés orange. La courbe de régression linéaire (ligne bleue) présente une pente de -3,12 et une valeur R^2 de 0,99.

La sensibilité et la spécificité diagnostiques dans les échantillons de selles sont illustrées pour le norovirus (virus à ARNsb). L'ARN viral a été isolé à partir d'échantillons de selles résiduelles provenant d'une routine clinique dont le statut viral était connu. Les éluats ont été soumis à une analyse q(RT)-PCR à l'aide du RIDA Gene Viral Stool Panel I (R-Biopharm). Dans une étude avec 93 échantillons vrais positifs, la sensibilité diagnostique était de 94 %. Dans une seconde étude avec 96 échantillons vrais négatifs, la spécificité diagnostique était de 99 %.

3 Conditions de conservation et préparation des solutions de travail

Attention : Les réactifs NPL1, NPB2, NPW3, NPW4 et le tampon de Carrier RNA contiennent un sel chaotropique (p. ex. chlorhydrate de guanidine et/ou perchlorate de sodium) qui peut former des composés fortement réactifs en présence d'eau de Javel (hypochlorite de sodium). Ne versez PAS d'eau de Javel ni de solutions acides directement dans les déchets issus de la préparation des échantillons. Portez des vêtements de protection, des gants et des lunettes de sécurité adaptés.

- À réception, vérifier l'état des différents composants du kit. Si des flacons de tampon, des tubes fermés par bouchon à vis ou des flacons en verre sont endommagés, contactez l'assistance technique et le service client de MACHEREY-NAGEL, ou votre revendeur habituel.
- Ne pas utiliser les composants du kit s'ils sont endommagés.
- Utilisez du matériel sans RNase.
- Conservez tous les composants du kit **NucleoMag® Dx Pathogen** à température ambiante (entre 18 et 25 °C). N'utilisez pas le kit au-delà de sa date d'expiration.
- La protéinase K lyophilisée peut être conservée à température ambiante (entre 18 et 25 °C) jusqu'à la date d'expiration, sans perte de performances. La protéinase K reconstituée doit être conservée à -20 °C et utilisée dans un délai de 6 mois, sans dépasser la date d'expiration.
- L'Carrier RNA lyophilisé peut être conservé à température ambiante (entre 18 et 25 °C) jusqu'à la date d'expiration, sans perte de performances. L'Carrier RNA reconstitué doit être conservé à -20 °C et utilisé dans un délai de 6 mois, sans dépasser la date d'expiration.
- Tous les tampons sont livrés prêts à l'emploi.

Réalisez les opérations préparatoires suivantes avant de commencer à utiliser le kit NucleoMag® Dx Pathogen :

- **Protéinase K** : avant d'utiliser le kit pour la première fois, ajoutez 3,35 mL de tampon protéinase PB dans chaque flacon de **protéinase K lyophilisée pour dissoudre la protéinase K**. La protéinase K dissoute doit être conservée à -20 °C et utilisée dans un délai de 6 mois, sans dépasser la date d'expiration.
- **Carrier RNA** : avant d'utiliser le kit pour la première fois, ajoutez 500 µL de tampon de Carrier RNA dans chaque flacon de **Carrier RNA lyophilisé** pour dissoudre le Carrier RNA. La solution de Carrier RNA dissous doit être conservée sous forme d'aliquotes à -20 °C et utilisée dans un délai de 6 mois, sans dépasser la date d'expiration.
Note : En raison du mode de production et de la faible quantité de Carrier RNA dans le flacon, le Carrier RNA peut ne pas être visible.
- L'Carrier RNA reconstitué ne doit pas être congelé et décongelé ou réchauffé de manière répétée. Les cycles de congélation-décongélation répétés, les chauffages fréquents, les températures supérieures à 80 °C et les incubations à la chaleur prolongées accélèrent la dégradation de le Carrier RNA. Il est conseillé de conserver la protéinase K reconstituée et le Carrier RNA sous forme d'aliquotes.

NucleoMag® Dx Pathogen

RÉF	4 x 96 prép. 744215.4
Proteinase K (lyophilized)	3 flacons (75 mg/flacon) Ajouter 3,35 mL de tampon PB avant la première utilisation.
Carrier RNA (lyophilized)	4 flacons (400 µg/flacon) Dissoudre dans 500 µL de tampon de Carrier RNA avant la première utilisation.

4 Consignes de sécurité

Lors de l'utilisation du kit **NucleoMag® Dx Pathogen**, portez des vêtements de protection appropriés (blouse de laboratoire, gants à usage unique et lunettes de sécurité, par exemple). Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) disponibles en ligne sur www.mn-net.com/msds.



Attention : le chlorhydrate de guanidine présent dans le tampon de lyse NPL1, le perchlorate de sodium dans les tampons NPB2, NPW3, NPW4 et le thiocyanate de guanidinium dans le tampon de Carrier RNA peuvent former des composés très réactifs en présence d'eau de Javel. En conséquence, ne versez pas d'eau de Javel ou de solutions acides directement dans les déchets issus de la préparation des échantillons.

*Les déchets produits lors de l'utilisation du kit **NucleoMag® Dx Pathogen** n'ont pas été testés pour vérifier la présence de résidus de matières infectieuses. Une contamination des déchets liquides par des matières infectieuses est fortement improbable en raison de l'action puissante de dénaturation du tampon de lyse et du traitement par la protéinase K, mais on ne peut totalement l'exclure. Les déchets liquides doivent donc être considérés comme infectieux et ils doivent être manipulés et éliminés conformément aux règles de sécurité en vigueur localement.*

4.1 Élimination

Éliminer les matériaux dangereux, infectieux ou contaminés par des agents biologiques d'une manière sûre et acceptable et conformément à toutes les exigences locales et réglementaires.

5 Mode opératoire pour l'extraction d'ARN viral dans des échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et des échantillons de salive et d'ARN et d'ADN viraux dans des échantillons de selles humaines.

Les différentes étapes du mode opératoire peuvent varier en fonction des consommables, du matériel, de la plateforme et de la configuration des instruments. La séquence de travail automatique ou le script employés pour l'extraction d'ARN et d'ADN viraux à l'aide du kit NucleoMag® Dx Pathogen sur différentes plateformes d'automatisation doivent être validés par l'utilisateur en lien avec l'analyse aval correspondante.

La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement manuel d'un échantillon unique dans un bloc à puits carrés Square-well Block avec un agitateur Eppendorf Thermomixer comfort. Il est toutefois possible de traiter simultanément plusieurs échantillons (jusqu'à 96 pour un Square-well Block) en mode manuel ou automatisé. Veuillez lire attentivement le paragraphe 2 avant de commencer l'extraction ou la mise en œuvre sur une plateforme automatique.

5.1 Préparation du matériel d'échantillonnage

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen est adapté aux échantillons respiratoires prélevés par écouvillonnage et salivaires frais et non traités d'origine humaine et aux échantillons de selles brutes d'origine humaine. Les échantillons prélevés par écouvillonnage nasopharyngé (NP) peuvent être employés pour tester les personnes asymptomatiques dans les établissements de santé. D'autres systèmes de prélèvement peuvent être nécessaires pour tester les patients symptomatiques. L'emploi d'écouvillons en fibres synthétiques à tige plastique est recommandé. Les écouvillons en alginate de calcium, les écouvillons à tige en bois ou les échantillons de selles d'origine humaine stabilisés sont déconseillés, car ils peuvent contenir des substances qui inhibent les tests par PCR. Veuillez vous référer aux directives applicables pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons cliniques et autres prérequis aux analyses.

Veuillez vous référer aux directives applicables pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons cliniques et autres prérequis aux analyses.

A) Échantillons prélevés par écouvillonnage

Incubez les échantillons prélevés par écouvillonnage dans du PBS, du chlorure de sodium ou un milieu de culture cellulaire pendant 30 minutes, sous agitation. La tête de l'écouvillon doit être complètement immergée. Transférez 200 µL de la solution pour la suite du traitement. Si nécessaire, pressez l'écouvillon contre la paroi du tube pour en extraire le liquide.

b) Salive

Les échantillons de salive récents et non traités peuvent être soumis directement à la procédure d'extraction. Il est conseillé de diluer les échantillons très visqueux avec du PBS stérile. Transférez 100 µL ou 200 µL de la solution pour la suite du traitement. Lorsque le volume de l'échantillon est inférieur à 200 µL, complétez avec du tampon PBS pour obtenir un volume final de 200 µL.

c) Selles

Mélanger 1 volume de selles (par exemple, 500 µL ou une quantité de la taille d'un petit pois) avec un volume égal de tampon PBS ou de ddH₂O stérile exempt de RNase. Mélanger

vigoureusement en vortexant pendant 10 secondes. Centrifuger à faible vitesse pendant 3 min à 500 x g. Transférer 200 µL du surnageant nettoyé pour la suite du traitement.

Avant de commencer la procédure :

- Vérifiez que la protéinase K a été préparée conformément aux instructions du paragraphe 3.
- Vérifiez que le Carrier RNA a été préparé conformément aux instructions du paragraphe 3.
- Assurez-vous de disposer d'éthanol à 80 % (non dénaturé).
- Vérifiez que la plateforme automatique ou l'agitateur est correctement paramétré.
- Équilibrez les échantillons à la température ambiante (18 à 25 °C). Assurez-vous de bien mélanger les échantillons.
- En règle générale, ne mélangez pas des réactifs de kits ou de lots différents.
- N'ajoutez pas directement la protéinase K au tampon de lyse NPL1. L'échantillon doit être mélangé au tampon de lyse NPL1 avant l'ajout de la protéinase K.
- Toutes les étapes du traitement doivent être effectuées à température ambiante (18 à 25 °C).

5.2 Mode opératoire résumé

En complément du mode opératoire résumé :

Lisez attentivement le mode opératoire détaillé (paragraphe 5.3) et le paragraphe 2 avant de commencer la procédure. La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement manuel d'un échantillon unique dans un bloc à puits carrés Square-well Block avec un agitateur Eppendorf Thermomixer comfort.

Ne pas humidifier les bords des puits.

- | | |
|----------|--|
| 1 | Obtention d'un échantillon et lyse des virus |
| 1 | 200 µL d'échantillon dans le Square-well Block |
| 2 | 180 µL de tampon de lyse NPL1 |
| 3 | 4 µL de solution mère de Carrier RNA |
| 4 | 20 µL de solution de protéinase K |
| 5 | Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois |
| 6 | Incuber à température ambiante pendant 15 min à 600 tr/min |
-

2 Fixation des acides nucléiques

- 7 20 µL de billes NucleoMag® B-Beads
 - 8 600 µL de tampon de fixation NPB2
 - 9 Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois, puis incuber pendant 5 min à 1000 tr/min.
 - 10 Séparer les billes magnétiques pendant 2 min
 - 11 Éliminer le surnageant
 - 12 Sortir le bloc Square-well Block du NucleoMag® SEP
-

3 Lavage des billes magnétiques

- 13 600 µL de tampon de lavage NPW3
 - 14 Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois, puis incuber pendant 2 min à 1000 tr/min.
 - 15 Séparer les billes magnétiques pendant 2 min
 - 16 Éliminer le surnageant
 - 17 Sortir le bloc Square-well Block du NucleoMag® SEP
 - 18 600 µL de tampon de lavage NPW4
 - 19 Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois, puis incuber pendant 2 min à 1000 tr/min.
 - 20 Séparer les billes magnétiques pendant 2 min
 - 21 Éliminer le surnageant
 - 22 Sortir le bloc Square-well Block du NucleoMag® SEP
 - 23 600 µL d'éthanol à 80 %
 - 24 Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois, puis incuber pendant 2 min à 1000 tr/min.
 - 25 Séparer les billes magnétiques pendant 2 min
 - 26 Éliminer le surnageant
-

4 Séchage

- 27 Sécher à l'air les billes magnétiques pendant 10 min à température ambiante
-

5 Élu­tion des acides nucléiques

- 28** Sortir le bloc Square-well Block du NucleoMag® SEP
 - 29** 100 µL de tampon d'élu­tion NPE5
 - 30** Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois
 - 31** Incuber pendant 5 min à 1000 tr/min
 - 32** Séparer les billes magnétiques pendant 2 min
 - 33** Transférer le surnageant de l'échantillon élué sur la plaque d'élu­tion
-

5.3 Mode opératoire détaillé

La procédure ci-dessous fournit des instructions pour le traitement manuel d'un échantillon unique dans un bloc à puits carrés Square-well Block avec le séparateur magnétique NucleoMag® SEP et un agitateur Eppendorf Thermomixer comfort. Les différentes étapes du mode opératoire peuvent varier en fonction des consommables disponibles, du matériel, de la plateforme et de la configuration des instruments, et elles doivent être validées par l'utilisateur.

En variante, l'ARN et l'ADN viraux peuvent être isolés dans des tubes à essai avec des séparateurs magnétiques adaptés. Ce mode opératoire concerne une procédure manuelle pouvant servir de guide lors de l'adaptation du kit sur des instruments de plateformes d'automatisation.

Ne pas humidifier les bords du puits.

-
- 1** Introduire **200 µL d'échantillon** dans chaque puits du Square-well Block.
 - 2** Ajouter **180 µL de tampon de lyse NPL1** à chaque échantillon.
 - 3** Ajouter **4 µL de Carrier RNA** en solution mère à chaque échantillon.
 - 4** Ajouter **20 µL de protéinase K** en solution à chaque échantillon.
 - 5** Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois.
Facultatif : sceller la plaque avec une feuille adhésive appropriée.
 - 6** Incuber pendant **15 min à température ambiante** à 600 tr/min.
Facultatif : lorsque la plaque est scellée ou fermée. Effectuer une rotation rapide vers le bas pour recueillir les échantillons éventuellement présents sur le couvercle.
 - 7** Ajouter **20 µL de billes NucleoMag® B-Beads remises en suspension** à chaque échantillon.
Note : Vérifier que les billes NucleoMag® B-Beads sont complètement remises en suspension avant de les sortir du flacon de stockage. Vortexer le flacon de stockage jusqu'à obtenir une suspension homogène des billes.
 - 8** Ajouter **600 µL de tampon de fixation NPB2** à chaque échantillon.
-

- 9 Bien mélanger, en agitant ou en pipetant plusieurs fois, puis incuber pendant 5 min à 1000 tr/min.

Note : la solution doit présenter un aspect homogène.

- 10 Placer le bloc Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 11 Attendre au moins 2 minutes, jusqu'à ce que l'aimant ait attiré toutes les billes.

Note : En fonction de l'échantillon, la solution doit être limpide.

- 12 Pipeter précautionneusement le surnageant et l'éliminer.

Note : Ne pas perturber les billes magnétiques collées à l'aimant lors de l'aspiration du surnageant.

- 13 Retirer le bloc Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 14 Ajouter **600 µL de tampon NPW3** à chaque échantillon.
-

- 15 Placer le bloc Square-well Block sur le Thermomixer.
-

- 16 Remettre les billes magnétiques en suspension en agitant à 1000 tr/min pendant 2 min, jusqu'à ce que les billes soient entièrement remises en suspension.
-

- 17 Placer le bloc Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 18 Attendre au moins 2 minutes, jusqu'à ce que l'aimant ait attiré toutes les billes.
-

- 19 Pipeter précautionneusement le surnageant et l'éliminer.
-

- 20 Retirer le bloc Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 21 Ajouter **600 µL de tampon NPW4** à chaque échantillon.
-

- 22 Placer le bloc Square-well Block sur le Thermomixer.
-

- 23 Remettre les billes magnétiques en suspension en agitant à 1000 tr/min pendant 2 min, jusqu'à ce que les billes soient entièrement remises en suspension.
-

- 24 Placer le bloc Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 25 Attendre au moins 2 minutes, jusqu'à ce que l'aimant ait attiré toutes les billes.
-

- 26 Pipeter précautionneusement le surnageant et l'éliminer.
-

- 27 Retirer le bloc Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

- 28 Ajouter **600 µL d'éthanol à 80 %** à chaque échantillon.
-

- 29 Placer le bloc Square-well Block sur le Thermomixer.
-

- 30 Remettre les billes magnétiques en suspension en agitant à 1000 tr/min pendant 2 min, jusqu'à ce que les billes soient entièrement remises en suspension.
-

- 31 Placer le bloc Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-

-
- 32** Attendre au moins 2 minutes, jusqu'à ce que l'aimant ait attiré toutes les billes.
-
- 33** Pipeter précautionneusement le surnageant et l'éliminer.
-
- 34** Sécher à l'air les billes magnétiques pendant 10 min à température ambiante
Note : Veiller à éliminer la totalité de la solution de lavage éthanolique à 80 % du lavage final avant l'étape de séchage.
-
- 35** Retirer le bloc Square-well Block du séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-
- 36** Ajouter **100 µL de tampon d'éluion NPE5** à chaque cuve réactionnelle.
-
- 37** Placer le bloc Square-well Block sur le Thermomixer.
-
- 38** Remettre les billes magnétiques en suspension par agitation à vitesse modérée, jusqu'à resuspension totale des billes, à 1000 tr/min pendant 5 minutes, à température ambiante.
-
- 39** Placer le bloc Square-well Block sur le séparateur magnétique NucleoMag® SEP.
-
- 40** Attendre au moins 2 minutes, jusqu'à ce que l'aimant ait attiré toutes les billes.
-
- 41** Transférer précautionneusement l'éluat sur une plaque d'éluion adaptée.
Note : Ne pas perturber l'amas de billes magnétiques.
-

6 Annexe

6.1 Guide de résolution des problèmes

Problème	Cause possible et suggestions
	<p><i>La lyse de l'échantillon est incomplète.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Lors de l'ajout du tampon de lyse et de la protéinase K, l'échantillon n'a pas été suffisamment bien mélangé et homogénéisé avec le tampon de lyse et la protéinase K. Le mélange doit être agité en continu. Autre solution : prolongez la durée d'incubation avec la protéinase K. <p><i>Volume insuffisant de tampon d'éluion</i></p> <ul style="list-style-type: none"> L'amas de billes magnétiques doit être entièrement recouvert de tampon d'éluion et les billes remises en suspension. <p><i>Performances insuffisantes du tampon d'éluion lors de l'étape d'éluion</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Retirez bien la totalité des tampons de l'amas de billes après les étapes de fixation et de lavage. Les restes de tampons réduisent l'efficacité des étapes ultérieures. <p><i>Aspiration de l'amas de billes attirées par l'aimant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Veillez à ne pas perturber les billes attirées par l'aimant lors de l'aspiration du surnageant. Vous devez procéder avec précaution lors de l'aspiration du lysat, car celui-ci est souvent trop opaque pour permettre un contrôle visuel des billes. <p><i>Aspiration et perte de billes</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Durée de séparation magnétique trop courte, ou vitesse d'aspiration trop élevée.
Rendement médiocre / faible sensibilité	
	<p><i>Procédure de lavage insuffisante</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Utilisez uniquement les combinaisons séparateur-plaque appropriées, par exemple le bloc Square-well Block avec le séparateur magnétique NucleoMag® SEP. Vérifiez que toutes les billes sont remises en suspension (indiqué par exemple par un liquide de couleur marron uniforme) pendant la procédure de lavage. Si l'agitation est insuffisante pour remettre toutes les billes en suspension, effectuez un pipetage répété pour assurer un mélange complet.
Faible pureté / faible sensibilité	

Problème	Cause possible et suggestions
Mauvaises performances de l'ARN/ADN dans les applications aval / inhibition de la (RT)-qPCR	<p data-bbox="348 209 837 231"><i>Présence de restes d'éthanol des tampons de lavage</i></p> <ul data-bbox="348 245 960 464" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="348 245 960 323">• Veillez à éliminer la totalité de la solution de lavage éthanolique à 80 % du lavage final. L'éthanol résiduel interfère avec les applications aval. <li data-bbox="348 336 960 464">• Aspirez complètement le surnageant après chaque séparation magnétique. Vérifiez qu'il ne reste aucun résidu de tampon de lavage après chaque aspiration du surnageant. Ajustez la hauteur d'aspiration s'il reste un volume excessif de tampon après l'élimination du surnageant. <p data-bbox="348 478 792 501"><i>Évaporation de l'éthanol des tampons de lavage</i></p> <ul data-bbox="348 515 960 616" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="348 515 960 616">• Fermez hermétiquement les flacons de tampons, évitez l'évaporation de l'éthanol des flacons de tampons ainsi que des tampons dans les réservoirs. Ne réutilisez pas les tampons des réservoirs.
Aspiration de billes	<p data-bbox="348 639 759 662"><i>Durée de séparation magnétique trop courte</i></p> <ul data-bbox="348 676 960 754" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="348 676 960 754">• Augmentez la durée de séparation pour permettre aux billes d'être totalement attirées par les barreaux magnétiques avant d'aspirer le liquide présent dans le puits. <p data-bbox="348 769 792 791"><i>Vitesse d'aspiration trop élevée (étape d'élution)</i></p> <ul data-bbox="348 805 983 906" style="list-style-type: none"> <li data-bbox="348 805 983 906">• Une vitesse d'aspiration élevée ou une hauteur d'aspiration non optimale pendant l'étape d'élution peuvent entraîner une aspiration des billes. Réduisez la vitesse d'aspiration et ajustez la hauteur d'aspiration pour l'étape d'élution.

6.2 Exigence de notification

Veillez noter que le fabricant et l'autorité compétente de l'État membre européen doivent être avisés immédiatement de tout incident sérieux en rapport avec le produit. Agences en charge de la matériovigilance en Europe : https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Bibliographie générale

Thiemann F. et al. (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik - Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, 1st ed., ISBN 3-527-31471-7.

Paysic J. et al- (2015). Standardization of Nucleic Acid Tests for Clinical Measurements of Bacteria and Viruses. J Clin Microbiol., 53(7), 2008 – 14.

Thiemann F. et al. (2016) Infectious Diseases, Elsevier, 4ème éd., ISBN : 9780702062858.

Vemula S. V. et a. (2016) Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans, Viruses 8(4), 96.

6.4 Références

Produit	RÉF	Quantité
<i>Kits marqués CE-IVD</i>		
NucleoMag [®] Dx Pathogen	744215.4	384 prép.
NucleoSpin [®] Dx Virus	740895.50	50 prép.
NucleoSpin [®] Dx Blood	740899.50 740899.250	50 prép. 250 prép.
NucleoSpin [®] Dx RNA Blood	740201.50	50 prép.
<i>Kits destinés à la recherche</i>		
NucleoMag [®] Pathogen (RUO)	744210.1 744210.4	1 x 96 prép. 4 x 96 prép.
NucleoMag [®] Pathogen Prefilled Plates (RUO)	744211	96 prép.
<i>Produits accessoires</i>		
NucleoMag [®] SEP	744900	1
Square-well Blocks	740481 740481.24	4 24

Pour des informations plus détaillées sur les produits, rendez-vous sur www.mn-net.com.

6.5 Explication des pictogrammes



Référence



Identification du lot



Fabricant



Produits de diagnostic *in vitro*



Consulter le mode d'emploi



Quantité suffisante pour <n> tests



Limites de température autorisées pour le stockage



Utiliser avant



Attention : pour plus d'informations, se reporter au mode d'emploi.



Ne pas réutiliser



384

6.6 Limites d'utilisation du produit et garantie

Le kit NucleoMag® Dx Pathogen est un système générique pour l'extraction et la purification d'ARN viral à partir d'échantillons respiratoires et salivaires d'origine humaine ou d'ARN et d'ADN viraux à partir d'échantillons de selles brutes d'origine humaine, à des fins de diagnostic *in vitro*.

Le kit est conçu pour être utilisé avec toute application aval d'amplification enzymatique et de détection d'ARN et d'ADN, par exemple l'amplification RT-PCR et qPCR.

Les éventuels résultats diagnostiques obtenus à partir des acides nucléiques extraits à l'aide du kit **NucleoMag® Dx Pathogen** en association avec un autre test diagnostique doivent être interprétés en tenant compte des autres résultats cliniques ou de laboratoire.

Le kit **NucleoMag® Dx Pathogen** ne donne pas de résultat diagnostique. Il incombe à l'utilisateur d'utiliser et de valider le kit utilisé en association avec un test de diagnostic *in vitro* en aval. SEULS les produits MACHEREY-NAGEL spécifiquement marqués IVD peuvent être employés pour un usage de diagnostic *in vitro*.

Pour plus d'informations sur la sécurité, consultez la section adéquate du présent mode d'emploi ou la FDS. Le kit **NucleoMag® Dx Pathogen** doit être utilisé exclusivement dans un environnement de test approprié, par exemple un laboratoire prévu à cet effet. L'utilisateur est responsable de tous les dommages résultant de l'emploi du kit **NucleoMag® Dx Pathogen** à des fins différentes de l'usage prévu décrit dans le présent mode d'emploi.

Ce produit MACHEREY-NAGEL est livré avec une documentation précisant les spécifications et d'autres informations techniques. MACHEREY-NAGEL garantit la conformité du produit aux

spécifications déclarées. La seule obligation de MACHEREY-NAGEL et le seul recours du client se limitent au remplacement à titre gratuit des produits qui n'offriraient pas les performances garanties. Il convient également de se référer aux conditions générales de MACHEREY-NAGEL, qui sont imprimées sur la liste tarifaire, et dont un exemplaire sera remis sur simple demande.

MACHEREY-NAGEL ne saurait être tenue pour responsable des dommages ou des défauts se produisant pendant le transport et la manipulation (hors assurance expédition au bénéfice du client), ou résultant d'un accident ou d'une utilisation impropre ou anormale du présent produit ; ni des défauts des produits ou des composants non fabriqués par MACHEREY-NAGEL ; ni des dommages résultant desdits produits et composants issus de fabricants autres que MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL n'accorde aucune autre garantie d'aucune sorte, et DÉCLINE ET EXCLUT SPÉCIFIQUEMENT TOUTE AUTRE GARANTIE DE TOUTE SORTE OU NATURE QUE CE SOIT, DIRECTEMENT OU INDIRECTEMENT, EXPLICITE OU IMPLICITE, Y COMPRIS CONCERNANT LE CARACTÈRE APPROPRIÉ, LA REPRODUCTIBILITÉ, DURABILITÉ, L'ADAPTATION À UN BUT OU UN USAGE PARTICULIER, LA QUALITÉ MARCHANDE, L'ÉTAT OU TOUT AUTRE SUJET, S'AGISSANT DES PRODUITS MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL ne saurait en aucun cas être tenue pour responsable en cas de plaintes pour tout autre dommage, qu'il soit direct, indirect, fortuit, compensatoire, prévisible, consécutif ou particulier (y compris la perte d'utilisation, de revenus ou de profits), fondées sur la garantie, la responsabilité contractuelle, la responsabilité délictuelle civile (y compris la négligence) ou la responsabilité stricte découlant de la vente ou de la non-conformité d'un produit MACHEREY-NAGEL aux spécifications énoncées. La garantie est exclusive et MACHEREY-NAGEL n'accorde aucune autre garantie explicite ou implicite.

La garantie fournie dans le présent document et les données, spécifications et descriptions de ce produit MACHEREY-NAGEL figurant dans les catalogues publiés et la documentation sur le produit de MACHEREY-NAGEL constituent les seuls engagements de MACHEREY-NAGEL concernant le produit et la garantie. Aucun autre engagement ou déclaration, écrit ou oral, par des employés, agents ou représentants de MACHEREY-NAGEL n'est autorisé, à l'exception des déclarations écrites signées par un agent dûment agréé par MACHEREY-NAGEL ; le client ne doit pas se fier à de tels engagements ou déclarations, qui ne font pas partie du contrat de vente ou de la présente garantie.

Les allégations relatives au produit sont susceptibles d'être modifiées. Nous vous invitons par conséquent , à contacter notre service d'assistance technique pour obtenir les informations les plus récentes sur les produits MACHEREY-NAGEL. Vous pouvez également contacter votre revendeur habituel, pour obtenir des informations scientifiques à caractère général. Les applications mentionnées dans la documentation fournie par MACHEREY-NAGEL le sont uniquement à titre informatif. MACHEREY-NAGEL ne garantit pas que toutes les applications ont été testées dans les laboratoires de MACHEREY-NAGEL, avec des produits MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL ne garantit en aucun cas l'exactitude de ces applications.

Dernière mise à jour : Juillet 2025 / Rév. 04

Motifs de la révision :

- Référence aux nouvelles langues du manuel d'utilisation.
- Extension de l'usage prévu à l'ARN et l'ADN viraux provenant d'échantillons de selles non stabilisées/brutes d'origine humaine. Les sections suivantes ont donc été mises à jour : Limites d'utilisation du produit (2.2), Principes généraux (2.4), Qualité et préparation des échantillons (2.6), Performances analytiques et cliniques (2.9), Préparation du matériel

d'échantillonnage (5.1). Récapitulation des modifications : L'utilisation d'échantillons de selles a été ajoutée et « ARN viral » a été remplacé par « ARN et ADN viraux » afin de corriger le contexte.

- Dans le Mode opératoire résumé (5.2), « Fixation/élution de l'ARN » a été remplacé par « Fixation/Élution des acides nucléiques ».
- Les coordonnées de contact de MACHEREY NAGEL ont été mises à jour. Les informations pour les commandes ont été mises à jour avec NucleoSpin® Dx RNA Blood et NucleoMag® Pathogen Prefilled Plates (RUO). « Échantillons de selles » a été ajouté au matériel d'échantillonnage.

Contact :

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Tél. : +49 24 21 969-333

support@mn-net.com

Marques commerciales :

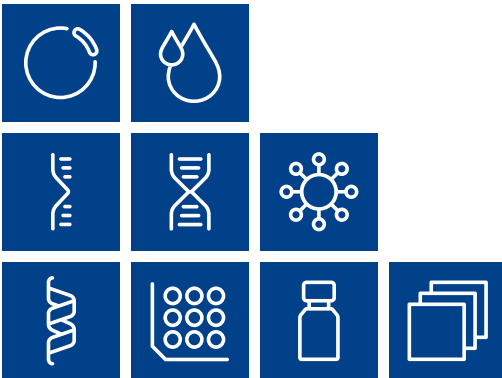
NucleoMag® et NucleoSpin® sont des marques déposées de MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Allemagne

KingFisher et AgPath-ID sont des marques commerciales de Thermo Fisher Scientific, USA

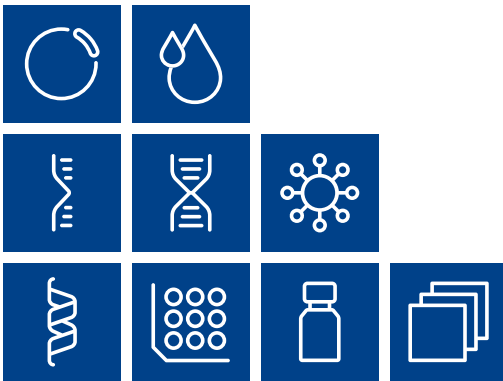
Te-Shake est une marque commerciale de Tecan Group Ltd., Suisse

epMotion est une marque commerciale d'Eppendorf AG, Allemagne

Tous les noms et toutes les appellations employés peuvent être des marques, des marques commerciales ou des marques déposées appartenant à leur propriétaire respectif – y compris en l'absence d'appellation particulière. Les produits et les marques cités le sont uniquement à titre informatif (c'est-à-dire sans volonté de nuire à la marque ou à la marque déposée, ni intention de la recommander ou de l'évaluer). Nous n'accordons aucune garantie de sélection, d'efficacité ou de fonctionnement de ces produits ou services.



Plasmid DNA
Clean up
RNA
DNA
Viral RNA and DNA
Protein
High throughput
Accessories
Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com