



## Protocole rapide : Isolement de l'ADN à partir des échantillons d'urine avec le *chemagic Prepito*

utilisant le coffret *Prepito NA EU Kit (ZM 9101-0168)*  
en combinaison avec le protocole *Prepito EU\_PAT300-nt (no tubes)*

### Préparation des réactifs

- Dissoudre la **protéinase K** lyophilisée dans de l'eau exempté de nucléase (voir les instructions sur le tube).
- Après la dissolution, stocker la solution de **protéinase K** entre 2 et 8°C. Elle est utilisable pendant 6 semaines au maximum.
- Pour une conservation longue durée nous recommandons de diviser la solution de **protéinase K** en portions aliquotées et de la stocker à une température de -20°C.

### Notes

- La concentration des agents pathogènes peut varier fortement selon le volume de l'échantillon.
- L'échantillon d'urine doit être prélevé au moins 45 minutes après la dernière miction.
- Les premiers 30 ml du **premier flux** doivent être collectés au maximum.
- Ne pas congeler les échantillons d'urine, mais les stocker entre 2 et 8°C. La congélation peut provoquer une perte de matériel cellulaire et entraîner des résultats invalides.

### Préparation des échantillons

- Mélanger complètement l'échantillon (par retournement).
- Transférer 1,3 ml d'urine dans un tube de réaction\* de 1,5 ml.
- Centrifuger à environ 17,000xg pendant 20 minutes.
- Enlever 1.000 µl de surnageant et le jeter.
- Remettre en suspension le culot dans le surnageant restant.
- Utiliser 300 µl de l'échantillon préparé pour l'analyse (voir étape n° 13).

\* Tube de réaction avec couvercle «joint sûr» recommandé

### Protocole de travail

1. Allumer le chemagic Prepito et attendre jusqu'à ce que l'auto-test soit terminé.
2. Vérifier la présence de bulles d'air dans les tuyaux. En cas de bulles d'air, entrer le code d'accès [1111], confirmer avec [Enter] et sélectionner [Maintenance]. Si les bouteilles de tampon sont correctement connectées, entrez [20] dans le champ *Priming Unit* (ou [100] si un nouveau 8-pack est connecté), démarrer les pompes l'une après l'autre [Prime Pumps] et répéter l'opération jusqu'à ce que toutes les tuyaux soient complètement remplis de tampon.
3. Appuyer sur [Change Protocol].
4. Sélectionner [Body Fluid] dans la fenêtre *Select Protocol Group*.
5. Pour sélectionner le protocole *Prepito NA EU Kit*, appuyer sur [EU\_PAT300-nt] et confirmer avec [OK].
6. Confirmer votre sélection dans la fenêtre *Select Protocol Group* en appuyant sur [OK].
7. Pour l'autorisation, entrer le code d'accès à quatre chiffres [3004] et confirmer avec [Enter].
8. Appuyer sur [Start Process].
9. Lire les informations de protocole dans la fenêtre d'informations et confirmer avec [Continue].



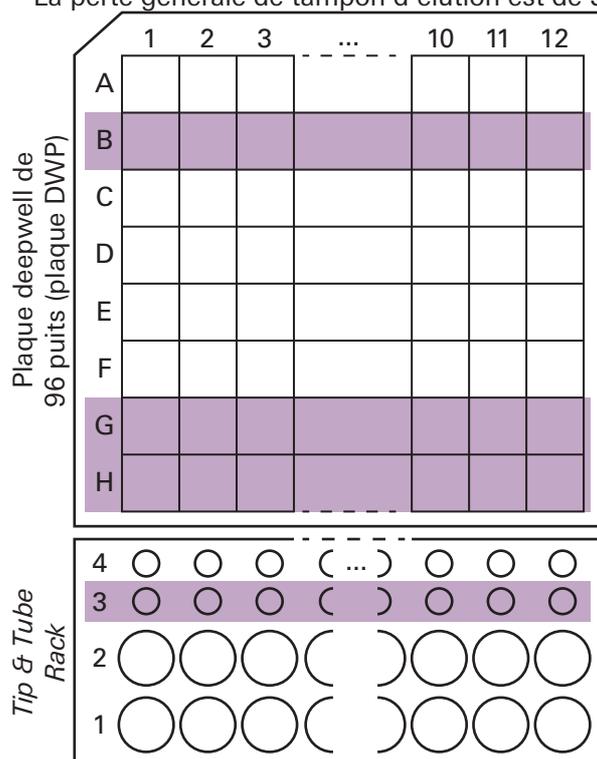
### UNIQUEMENT À DES FINS INFORMATIVES !

Pour effectuer la procédure, veuillez suivre la version actuelle des instructions de Chemagen.



## Protocole de travail

10. Sélectionner les positions d'échantillons et confirmer avec **[OK]**.
11. Enregistrer le code-barre du coffret utilisant le lecteur de code-barres et confirmer avec **[OK]**.
12. Si des codes-barres sont utilisés pour enregistrer les échantillons et tubes de stockage, appuyer sur **[Yes]** et suivre les instructions sur l'écran tactile pour lire les code-barres. Si les code-barres ne sont pas utilisés, appuyer sur **[No]**.
13. Remplir la plaque deepwell de 96 puits (plaque DWP) et le *chemagic Tip & Tube Rack* pour chaque position d'échantillon utilisée comme suit (voir rangée G de la plaque DWP) :
  - ▶ Placer un embout jetable à chaque position respective de la rangée 3 du *chemagic Tip & Tube Rack*.
  - ▶ Déposer 10 µl de solution protéinase K dans chaque puits de la rangée G (plaque DWP).
  - ▶ Agiter fermement le tube contenant les particules magnétiques (*magnetic beads*) jusqu'à ce que toutes les particules soient remises en suspension complètement. Déposer 150 µl de particules magnétiques dans chaque puits de la rangée B (plaque DWP).
  - ▶ Ajouter 300 µl d'échantillon préparé dans chaque puits de la rangée G (plaque DWP).
  - ☑ 50 µl de tampon d'éluion sont ajoutés automatiquement aux puits de la rangée H (plaque DWP). La perte générale de tampon d'éluion est de 5 à 10 µl par série.



Rangée B : 150 µl de particules magnétiques (*magnetic beads*)

Rangée G : 300 µl d'échantillon + 10 µl de protéinase K

Rangée H : puits vides pour 50 µl de tampon d'éluion

Rangée 3 : embouts jetables

14. Les positions d'échantillons sélectionnées au début s'affichent dans une fenêtre d'informations. Les positions d'échantillons sur la plaque DWP doivent correspondre aux positions sélectionnées. Placer la plaque DWP à sa position de défaut sur le système de suivi et appuyer sur **[Continue]**.
15. Placer le *chemagic Tip & Tube Rack* à sa position de défaut sur le système de suivi. Vérifier le positionnement correcte de la plaque DWP et du *chemagic Tip & Tube Rack* et les verrouiller dans leurs positions respectives en utilisant le levier de sécurité.
16. Fermer le capot de l'instrument et immédiatement initier la procédure d'isolation d'ADN automatique en appuyant sur **[Start]**.

**UNIQUEMENT À DES FINS INFORMATIVES !**

Pour effectuer la procédure, veuillez suivre la version actuelle des instructions de Chemagen.