



IVD-1033-S

chemagic™

Viral DNA/RNA 300 Kit H96

Manuel d'utilisation. Réactifs pour 960 extractions.









Fabricant :









PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (BAE),
Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Baesweiler, Allemagne
www.chemagen.com, www.perkinelmer.com
Téléphone : +49 (0) 2401805500

CE

DESTINÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*. VERSION 220914 FR

SYMBOLES

Symbole	Titre du symbole
CE	Symbole CE
	Code de lot
	Référence catalogue
	Date de péremption
	Limite de température
	Contient une quantité suffisante pour <n> tests
	Fabricant
	GHS02
	GHS05

Symbole	Titre du symbole
	GHS07
	GHS08
	Marchandises dangereuses : Liquide inflammable de
	Marchandises dangereuses : Substances corrosives
	Haut
	Recyclable
	Fragile, manipuler avec précaution
	Maintenir au sec

chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96

APPLICATION

Le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sert à l'extraction et la purification automatisées d'ADN et d'ARN à partir d'échantillons de plasma et de salive humains et d'échantillons nasopharyngés ou oropharyngés humains sur écouvillons à l'aide de l'instrument chemagic™ 360-D (réf. 2024-0010).

Le kit est conçu pour être utilisé dans le cadre d'applications de diagnostic *in vitro* en aval qui utilisent l'amplification enzymatique et la détection de l'ADN et de l'ARN (par ex. PCR, RT-PCR, NGS). Ce produit est destiné à être utilisé par un personnel de laboratoire formé. Pour plus d'informations, veuillez vous reporter à la section « RÉACTIFS » et à la section « AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS » de ce document.

RÉSUMÉ ET PRINCIPE

Le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 est basé sur une plateforme d'extraction par billes magnétiques reposant sur une technologie exclusive à PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH. Les cellules ou autres sources d'ADN/ARN présentes dans le plasma, le sérum et les échantillons nasopharyngés ou oropharyngés sur écouvillons sont lysées pendant le processus d'extraction. Les acides nucléiques libérés se lient à de petites particules magnétisables qui sont ensuite séparées magnétiquement de l'échantillon. Au cours des étapes suivantes, les contaminants sont éliminés et les acides nucléiques purifiés sont transférés dans un tampon d'élution. Le traitement automatisé des échantillons est effectué à l'aide de l'instrument chemagic™ 360-D (réf. 2024-0010) avec un instrument chemagic™ 96 Rod Head Set (réf. CMG-370) ou un instrument équivalent.

Pour réduire au minimum les irrégularités dans les résultats de diagnostic, le produit est destiné à être utilisé avec un contrôle interne ainsi que des contrôles positifs et négatifs tout au long du processus de préparation de l'échantillon, ainsi que d'amplification et de détection de l'échantillon en fonction du test utilisé en aval.

Pour un patient/utilisateur/tiers dans l'Union européenne et dans les pays ayant un régime réglementaire identique (IVDR ; UE 2017/746) ; s'il s'est produit un incident grave pendant l'utilisation de ce dispositif ou à la suite de son utilisation, il doit être signalé à votre autorité nationale et au fabricant et à PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH au numéro +49 (0) 2401805500 ou à l'adresse support.chemagen@perkinelmer.com ou à ses représentants légaux.

CONTENU DU KIT

Le kit contient une quantité de réactifs suffisante pour effectuer 960 extractions.

La date de péremption du kit non ouvert est indiquée sur l'étiquette extérieure. Ne pas utiliser de composant au-delà de la date de péremption. Conserver à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Une fois le kit ouvert, les composants du kit ont une stabilité limitée. La stabilité après ouverture est indiquée pour chaque composant séparément dans la liste des réactifs ci-dessous. Remarque : refermer fermement les flacons immédiatement après utilisation pour éviter l'évaporation.

Les flacons peuvent se décolorer pendant le stockage. La décoloration des flacons n'a aucun effet sur la fonctionnalité du dosage.

MANUEL D'UTILISATION ÉLECTRONIQUE

Le manuel d'utilisation électronique (eIFU) est disponible en plusieurs langues sur notre site Web.

Pour télécharger ce manuel d'utilisation électronique, veuillez consulter le site

<https://chemagen.com/ivd-1033-s-chemagic-viral-dna-rna-300-kit-h96/>.

Le manuel d'utilisation électronique est disponible en anglais (EN), français (FR), espagnol (ES) et italien (IT).

En cas de questions concernant le téléchargement ou le manuel d'utilisation électronique, veuillez nous contacter à l'adresse support.chemagen@perkinelmer.com ou au numéro +49 (0) 2401805500.

FICHIERS DE PROTOCOLE

Les fichiers de protocole liés au kit sont disponibles sur la page Web ou seront fournis par le service clientèle (voir ci-dessus).

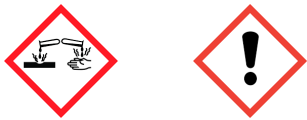
chemagic™ est une marque déposée de PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH.

REACTIFS

IVD-1033-S - chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Magnetic Beads	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Suspension de particules contenant de l'oxyde de fer nanoparticulaire encapsulé dans une matrice d'alcool polyvinylique. Les Magnetic Beads fixent l'ADN/ARN pendant le processus d'extraction.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Lysis Buffer 1  DANGER	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Conserver à l'abri de la lumière. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Solution tampon aqueuse prête à l'emploi contenant du thiocyanate de guanidine (50-70 %). Le Lysis Buffer est utilisé pour lyser les cellules ou toute autre source d'ADN/ARN présente dans l'échantillon afin d'obtenir l'ADN/ARN en solution.

LYSIS BUFFER 1 CONTIENT DU THIOCYANATE DE GUANIDINIUM :

H302+H312 Nocif en cas d'ingestion ou de contact cutané.

H314 Provoque de graves brûlures de la peau et de graves lésions des yeux.

P101 En cas de consultation d'un médecin, garder à disposition le récipient ou l'étiquette.

P102 Tenir hors de portée des enfants.

P103 Lire attentivement et bien respecter toutes les instructions.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.



P310 Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.

P321 Traitement spécifique (voir sur cette étiquette).

P405 Garder sous clef.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
<p>Binding Buffer 2</p>   <p>DANGER</p>	<p>1 bidon (volume : voir étiquette)</p>	<p>+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.</p> <p>Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.</p>

Solution tamponnée au Tris-HCl (pH 5,2-6,1) prête à l'emploi, contenant du perchlorate de sodium (20-40 %) et de l'éthanol (40-60 %). Binding Buffer 2 est utilisé pour créer les conditions appropriées pour que l'ADN/ARN se lie aux Magnetic Beads.

BINDING BUFFER 2 CONTIENT DE L'ETHANOL ET DU PERCHLORATE DE SODIUM :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

H302 Nocif en cas d'ingestion.

P210 Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.


P240 Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/une protection auditive.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Wash Buffer 3  DANGER	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Solution tamponnée au Tris-HCl (pH 4,8-5,6) prête à l'emploi, contenant du perchlorate de sodium (20-30 %) et de l'éthanol (20-40 %). Utilisé pour éliminer les contaminants non-ADN/non-ARN pendant l'étape de lavage.

WASH BUFFER 3 CONTIENT DE L'ETHANOL ET DU PERCHLORATE DE SODIUM :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

P210 Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.


P240 Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/une protection auditive.

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Wash Buffer 4  DANGER	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Solution prête à l'emploi contenant de l'éthanol à 50-70 %. Utilisé pour éliminer les derniers résidus de contaminants non-ADN/non-ARN pendant l'étape de lavage.

LE WASH BUFFER 4 CONTIENT DE L'ETHANOL :

H225 Liquide et vapeurs très inflammables.

P210 Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.

P240 Mise à la terre et liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241 Utiliser du matériel [électrique/de ventilation/d'éclairage] antidéflagrant.

P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage

P303+P361+P353 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau [ou se doucher].



P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Wash Buffer 5	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Solution d'eau ultra-filtrée prête à l'emploi. Utilisée pour éliminer les éventuels résidus d'éthanol.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Elution Buffer 6	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois ouvert, stable pendant 60 jours à une température comprise entre +2 et +25 °C.

Solution tamponnée au Tris-HCl 10 mM (pH 7,8-8,4) prête à l'emploi.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Proteinase K   DANGER	1 flacon (lyophilisé)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois reconstitué, stable pendant 28 jours à une température comprise entre +2 et +8 °C.

Proteinase K est reconstitué en ajoutant 11 mL d'eau purifiée. Proteinase K est ajouté pour accroître l'efficacité de l'étape de lyse.

PROTEINASE K CONTIENT DE LA PROTEINASE, DE LA SERINE DE TRITIRACHIUM ALBUM ET DE L'ACETATE DE CALCIUM HYDRATE :

H315 Provoque une irritation cutanée.

H319 Provoque une sévère irritation des yeux.

H334 Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

H335 Peut irriter les voies respiratoires.

P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/ aérosols.

P280 Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

P284 [Lorsque la ventilation du local est insuffisante] porter un équipement de protection respiratoire.

P305 + P351 + P338 EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.


P405 Garder sous clef.

P501 Éliminer le contenu/réceptacle conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Poly(A)RNA	10 tubes (séchés)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. Une fois reconstitué, stable pendant 30 jours à une température comprise entre +2 et +8 °C.

Poly(A)RNA est reconstitué en ajoutant 440 µL de Poly(A)RNA Buffer. Poly(A)RNA

fonctionne comme un support d'ADN/ARN pour accroître l'efficacité du processus d'extraction.

Composant	Quantité	Durée de vie et conservation
Poly(A)RNA Buffer 	1 flacon (volume : voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.

DANGER

Solution tampon aqueuse prête à l'emploi contenant du thiocyanate de guanidine (20-40 %). Poly(A)RNA Buffer sert à reconstituer Poly(A)RNA.

POLY(A)RNA BUFFER CONTIENT DU THIOCYANATE DE GUANIDINIUM :

H302 Nocif en cas d'ingestion.

P264 Se laver soigneusement après la manipulation.

P270 Ne pas manger, boire ou fumer pendant l'utilisation de ce produit.

P301+P312 EN CAS D'INGESTION : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise.

P330 Rincer la bouche.

P501 Éliminer le contenu/récipient conformément aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

EUH032 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Composant	Quantité	Stockage
Disposable Tips (96 chacun)	10 x 96 chacun	+2 à +25 °C
Deep Well Plates (5 chacun)	10 x 5 chacun	+2 à +25 °C
Low Well Plates (5 chacun)	2 x 5 chacun	+2 à +25 °C

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI AVEC LE KIT

Le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 nécessite les articles suivants qui sont disponibles auprès de PerkinElmer®, Inc. et de ses distributeurs :

- Instrument chemagic™ 360-D (réf. 2024-0010) avec chemagic™ 96 Rod Head Set (réf. CMG-370)

Autres articles supplémentaires requis :

- Fichier de protocole lié au kit (fichier .che) fourni par PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (voir la section « FICHIERS DE PROTOCOLE », p. 4)
- pipettes et embouts de pipettes avec barrières anti-aérosols
- eau de qualité biologie moléculaire

Autres articles supplémentaires facultatifs :

- chemagic™ Stand 96 (réf. CMG-301)
- solution saline isotonique stérile
- Tube Sarstedt (n° de cat. 72.693 ou 72.694)

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

Le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 peut être utilisé avec du plasma humain frais et congelé, stabilisé avec de l'EDTA ou du citrate provenant de systèmes de prélèvement sanguin courants, de la salive stabilisée (tubes de prélèvement Oragene™ et Spectrum™) et des milieux de transport provenant d'écouvillons (par ex eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) sous forme d'aliquotes directes de 300 µL par isolement.

Après le prélèvement et la centrifugation, le plasma peut être conservé à 2-8 °C pendant un maximum de 6 heures. Pour un stockage à long terme, il est recommandé de congeler des aliquotes à -20 °C ou -80 °C. Les échantillons de plasma ou de sérum congelés ne doivent pas être soumis à un plus d'un cycle de congélation-décongélation. La congélation-décongélation répétée entraîne la dénaturation et la précipitation des protéines, ce qui réduit le rendement des acides nucléiques.

Les échantillons provenant d'écouvillons séchés doivent être transférés dans une solution saline isotonique. Ajouter donc 350 µL de solution saline isotonique et l'incuber pendant 5 min à 15-25 °C avant utilisation. Une quantité de 300 µL d'échantillon de solution saline isotonique incubée doit être utilisé par isolement.

REMARQUE : NE PAS UTILISER DE TAMPONS CONTENANT DU PHOSPHATE POUR LA REMISE EN SUSPENSION.

L'efficacité d'extraction de types d'échantillon autres que les types d'échantillons énumérés ci-dessus n'a pas été déterminée.

Pour une manipulation sûre, les échantillons destinés aux tests viraux (par ex. l'extraction de l'ARN viral du SARS-CoV-2) doivent être inactivés avant d'être utilisés. Pipeter 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1 dans un tube Sarstedt de 2 mL (réf. 72.693 ou 72.694). Remarque : lorsque plus d'un échantillon doit être traité pour l'inactivation, une solution mère de cette solution peut être préparée. Il suffit de multiplier les volumes nécessaires pour un échantillon par le nombre total d'échantillons à traiter et d'inclure le volume supplémentaire à l'équivalent de 3 échantillons supplémentaires. Retourner le tube plusieurs fois pour mélanger, transférer 314 µL dans un tube Sarstedt de 2 mL pour chaque échantillon, puis continuer pour chaque échantillon en ajoutant 300 µL d'échantillon dans chaque tube, fermer le couvercle et mélanger au vortex pendant 10 secondes. Incuber le tube à 68 °C pendant 15 minutes (± 2 minutes) pour l'inactivation. Transférer complètement le lysat inactivé dans la plaque à puits profonds pour échantillons à l'étape 3 du protocole d'extraction et passer à l'étape 4.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Destiné à un usage diagnostique *in vitro*.

Le produit est destiné aux utilisateurs professionnels formés à l'instrument chemagic™ 360-D (réf. 2024-0010).

Manipuler tous les échantillons comme potentiellement infectieux. Les échantillons potentiellement infectieux doivent être inactivés. Se reporter à cet effet à la publication du ministère américain de la santé et des services sociaux intitulée « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » ou à toute autre réglementation locale ou nationale.

Lysis Buffer 1 contient du thiocyanate de guanidinium et est nocif en cas d'ingestion, de contact avec la peau ou d'inhalation. Binding Buffer 2 et Wash Buffer 3 contiennent du perchlorate de sodium et de l'éthanol et forment des liquides et des vapeurs inflammables qui sont nocifs en cas d'ingestion. Wash Buffer 4 contient de l'éthanol et forme un liquide et une vapeur inflammables. Proteinase K contient de la protéinase de sérine de Tritirachium album et provoque une irritation de la peau et une grave irritation des yeux, peut provoquer des symptômes d'allergie ou d'asthme ou des difficultés respiratoires en cas d'inhalation et une irritation des voies respiratoires. Poly(A)RNA Buffer contient du thiocyanate de guanidinium et est nocif en cas d'ingestion ou d'inhalation. Voir les précautions spécifiques pour tous les composants dans la section « RÉACTIFS ».

Pour éviter les blessures lors des tâches avec les composants du kit, toujours porter des lunettes de sécurité, des gants jetables et des vêtements de protection. Pour des informations détaillées, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes.

Suivre les réglementations locales pour la manipulation des solutions éthanoliques.

L'élimination de tous les déchets doit être conforme aux réglementations locales.

PROCÉDURE PROTOCOLE DE 60 MIN (DIVERSES ESPECES)

Protocole d'extraction utilisant l'instrument chemagic™ 360-D

La durée du protocole d'extraction automatisé est d'environ 60 minutes.

Le protocole permet de traiter jusqu'à 96 échantillons en parallèle (voir « DÉTAIL DES ÉTAPES DE TRAITEMENT » ci-dessous). Pour des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic™ 360-D, se reporter au manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.

Les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant utilisation. Connecter les flacons de réactifs à l'instrument chemagic™ 360-D comme suit :

- Pompe 1 : aucun flacon connecté
- Pompe 2 : Binding Buffer 2
- Pompe 3 : Wash Buffer 3
- Pompe 4 : Wash Buffer 4
- Pompe 5 : Wash Buffer 5
- Pompe 6 : aucun flacon connecté

REMARQUE : REFERMER FERMEMENT LES FLACONS IMMEDIATEMENT APRES UTILISATION OU MAINTENIR LES FLACONS FERMEMENT CONNECTES A L'INSTRUMENT CHEMAGIC™ 360-D. BINDING BUFFER 2, WASH BUFFER 3 ET WASH BUFFER 4 CONTIENNENT DE L'ETHANOL. SI L'ETHANOL S'EVAPORE, LE RENDEMENT OPTIMAL OU LA SENSIBILITE DE DETECTION NE PEUVENT ETRE GARANTIS.

DETAIL DES ETAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifier l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contacter le fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque du matériau en position (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A)RNA.
 - Proteinase K : ajouter 11 mL d'eau de qualité biologique moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à sa dissolution.
 - Poly(A)RNA : ajouter 440 µL de Poly(A)RNA Buffer au tube Poly(A)RNA et mélanger soigneusement jusqu'à sa dissolution.
4. Si Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou la conservation), la solution doit être chauffée à 50-60 °C et mélangée soigneusement jusqu'à ce que la solution soit claire. La clarté de Lysis Buffer 1 doit toujours être confirmée visuellement avant utilisation.
5. Remplir et amorcer la tubulure chemagic™ 360-D avec des réactifs en choisissant le protocole « **prime manifolds H96 all 360 V150116.che** ». Appuyer sur la touche [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et lancer l'amorçage en appuyant sur la touche [OK]. Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, démarrer directement l'amorçage en appuyant sur [Start]. L'amorçage doit être effectué lorsque les flacons de réactifs sont connectés à l'instrument chemagic™ 360-D pour la première fois ou lorsque le tube de l'instrument ne contient pas encore de réactifs mentionnés ci-dessus.

6. Si l'amorçage n'est pas nécessaire, choisir le protocole « **check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou, si les fonctions avancées sont désactivées, [Start]. Un petit volume de tampon sera distribué séquentiellement par chaque pompe en commençant par la première pompe utilisée pour cette application. Si l'une des pompes ne distribue pas de tampon par toutes les buses, appliquer le protocole d'amorçage correspondant à cette pompe. Si plusieurs cycles sont effectués chaque jour, un seul contrôle des pompes en début de journée suffit.
7. Sélectionner le protocole « **chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che** », appuyer sur la touche [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
8. Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau d'embouts en position 1 sur le tracking system.
9. Vérifier les volumes dans les récipients d'approvisionnement en tampon et confirmer en appuyant sur [OK].

REMARQUE : VEILLER À CE QUE TOUS LES FLACONS D'APPROVISIONNEMENT EN TAMPON CONTIENNENT SUFFISAMMENT DE TAMPON. II N'EST POSSIBLE D'EFFECTUER 96 ISOLATIONS QUE SI LE NIVEAU DE LIQUIDE DE TOUS LES TAMPONS EST SUPÉRIEUR À 125 ML.

10. Sélectionner le nombre d'échantillons à pré-remplir à l'aide du menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons sera affiché après la sélection. Veiller à utiliser les positions données. Confirmer en appuyant sur [OK].
11. Remplir préalablement les puits sélectionnés de la plaque d'échantillonnage avec 300 µL d'échantillon. Pour garantir l'homogénéité des échantillons, mélanger doucement les échantillons avant de les pipeter dans les puits de la plaque d'échantillonnage.

REMARQUE : LES ECHANTILLONS PROVENANT D'ECOUVILLONS SECHES DOIVENT ETRE LIQUEFIES AVANT UTILISATION.

12. Pré-remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads bien remises en suspension en fonction des positions des échantillons :
 - Les Magnetic Beads (en position de plaque 2 dans l'instrument chemagic™ 360-D) sont remises en suspension en mélangeant bien et pipetées à la main (150 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.

REMARQUE : LA SUSPENSION DE BILLES MAGNÉTIQUES DOIT ÊTRE MÉLANGÉE VIGOREUSEMENT AVANT D'ÊTRE DISTRIBUÉE, SINON LA SUSPENSION N'EST PAS HOMOGÈNE ET LE RENDEMENT EN ADN/ARN POURRAIT ÊTRE FAIBLE.

- L'Elution Buffer 6 (en position de plaque 7 dans l'instrument chemagic™ 360-D) est pipeté à la main (50-100 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.
13. Ajouter 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K, puis 300 µL de Lysis Buffer 1 dans les puits contenant un échantillon. Il est possible de pré-mélanger Poly(A)RNA, Proteinase K et Lysis Buffer 1 (choisir le volume approprié de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 pour s'assurer d'avoir un volume suffisant pour le nombre d'isolations).

REMARQUE : L'ACTIVITE DE PROTEINASE K DIMINUE APRES UNE INCUBATION DE PLUS DE 10 MINUTES DANS LYSIS BUFFER 1. S'ASSURER QUE TOUS LES ECHANTILLONS SONT MELANGES AVEC POLY(A)RNA/PROTEINASE K/ LYSIS BUFFER 1 DANS CET INTERVALLE DE TEMPS.

14. Placer les plaques sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
15. Placer la plaque d'échantillonnage en position 3 sur le tracking system.
16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
17. Fermer la porte avant et lancer le processus en appuyant sur [Start]. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ARN est lancé.

Extraction automatisée d'ADN/ARN sur l'instrument Chemagic™ 360-D (protocole de 60 minutes) :

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
		Sélectionner le protocole « check manifolds H96 all 360 V150116.che » pour rincer le tube avant de commencer l'extraction automatisée. Appuyer sur la touche [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et lancer le rinçage en appuyant sur la touche [OK].
		Lors de l'utilisation de fonctions permettant l'entrée de données d'identification, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che » et appuyer sur la touche [Insert IDs]. Suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA pour saisir les données requises. Charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system.
1	Plateau avec Disposable Tips	Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau avec les Disposable Tips. REMARQUE : LES TIPS DOIVENT ETRE PRESENTS DANS LE PLATEAU EN RANGEES COMPLETES.
2	Low well plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter soigneusement les Magnetic Beads remises en suspension dans chaque puits utilisé en fonction de la plaque d'échantillonnage et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (Deep well plate)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Binding Buffer 2 est distribué automatiquement sur la plaque.
4	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 3 est distribué automatiquement sur la plaque.

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
5	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 4 est distribué automatiquement sur la plaque.
6	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 5 est distribué automatiquement sur la plaque.
7	Deep Well Plate pré-remplie avec 50-100 µL d'Elution Buffer 6	Pipeter l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.
		<p>Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques. Une fois toutes les plaques en place, appuyer sur [OK].</p> <p>Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon est ensuite mélangé automatiquement.</p> <p>Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system. Une fois toutes les plaques en place, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che », marquer les colonnes utilisées sur le plan de plaques dans le dialogue et lancer le cycle d'extraction directement en appuyant sur [Start].</p>

Les chiffres sur le tracking system font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Une fois la procédure d'isolation terminée, utiliser la touche [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur le bouton [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

REMARQUE : NE JAMAIS DEPLACER LE TRACKING SYSTEM (TABLE) MANUELLEMENT. CELA PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT. TOUS LES MOUVEMENTS DOIVENT ETRE EFFECTUES AVEC LA FONCTION [TURN TABLE].

NOTES PROCÉDURALES PROTOCOLE DE 60 MIN (DIVERSES ESPECES)

1. Une compréhension approfondie de ce manuel d'utilisation et du manuel de l'instrument chemagic™ 360-D est nécessaire pour assurer le succès de l'utilisation du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Les réactifs fournis avec ce kit sont destinés à être utilisés comme une unité intégrale. Ne pas mélanger des réactifs identiques provenant de kits portant des numéros de lot différents.
2. Ne pas utiliser les réactifs du kit après la date de péremption imprimée sur l'étiquette du kit. Une fois ouverts, les réactifs peuvent être utilisés pendant la période indiquée dans la liste des réactifs de ce manuel d'utilisation.
3. Toute déviation du protocole peut affecter les résultats.
4. Les réactifs sont distribués automatiquement par rangées entières et les couvre-pointes (Disposable Tips) doivent donc être utilisés par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution réactive. Il faut également noter que si des plaques partielles sont réalisées, les solutions pourraient ne pas suffire pour 960 extractions.
5. L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic™ 360-D alors que le cycle d'extraction automatisé est en cours met fin au cycle et les échantillons en cours peuvent être perdus.
6. Le nettoyage et la maintenance du système sont décrits en détail dans le manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.
 - a) Le nettoyage du système est effectué une fois par semaine : nettoyer le chemagic™ Dispenser. Sélectionner le protocole « **regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou sur [Start] si les fonctions avancées sont désactivées. Suivre les instructions données dans le logiciel.
 - b) Avant l'utilisation suivante du chemagic™ Dispenser, exécuter le protocole d'amorçage approprié.

- c) Le nettoyage du chemagic™ Dispenser avec de l'éthanol à 70 % est recommandé une fois par mois. Pour ce faire, utiliser tout simplement le protocole « **intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che** » plutôt que le protocole standard.
- d) Si le chemagic™ Dispenser n'est pas utilisé pendant une longue période, il est obligatoire d'appliquer le protocole « regular cleaning procedure » pour maintenir les performances de l'instrument lors de sa remise en service.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Lors de l'utilisation de ce kit d'extraction avec le test PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay (réf. COVID-19-PCR-AUS-C), les données de LoD suivantes ont été rapportées (données générées par Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. No. 115, North Taiping Road, Taicang, Jiangsu Province, Chine).

LIMITE DE DETECTION (LOD) A L'UTILISATION DU CHEMAGIC™ 360-D POUR L'EXTRACTION ET DE L'APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR SYSTEM

Les échantillons ont été préparés à l'aide d'une matrice d'échantillons poolés oropharyngés cliniques sur écouvillons ou échantillons nasopharyngés sur écouvillons. La matrice poolée a été testée à l'aide du test PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay et confirmée négative. Au total, six dilutions au facteur 2 de concentrations connues de virus SARS-CoV-2 inactivé (isolat 2/231/human/2020/CHN) ont été préparées dans la matrice clinique négative et traitées à l'aide du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sur l'instrument chemagic™ 360-D. Six réplicats d'extraction individuels par dilution ont été testés. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Tableau 1 : étude de LoD préliminaire avec des échantillons oropharyngés sur écouvillons sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Échantillon oropharyngé sur écouvillon							
Facteur de dilution	N		ORF1ab		Ct moyen		
	Conc. (copies/mL)	Taux de détection	Conc. (copies/mL)	Taux de détection	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,48	36,82	32,18
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	37,04	37,98	32,14
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	39,10	38,88	32,21
1,6E+05	17,13	5/6	5,23	4/6	38,89	39,77	32,35
3,2E+05	8,56	3/6	2,62	2/6	39,35	39,85	32,28
6,4E+05	4,28	0/6	1,31	0/6	/	/	32,41
Négatif	0	0/6	0	0/6	/	/	32,23

Tableau 2 : Probit a prédit un taux de détection de 95 % avec des échantillons oropharyngés sur écouvillons enrichis avec SARS-CoV-2 (isolat 2/231/human/2020/CHN) sur l'instrument chemagic™ 360.

Probit a prédit un taux de détection de 95 % (copies/mL)	
N	ORF1ab
19,08 (IC à 95 % : 14,50-37,12)	7,14 (IC à 95 % : 5,34-24,00)

Tableau 3 : étude de LoD préliminaire avec des échantillons nasopharyngés sur écouvillons sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Échantillon nasopharyngé sur écouvillon							
Facteur de dilution	N		ORF1ab		Ct moyen		
	Conc. (copies/mL)	Taux de détection	Conc. (copies/mL)	Taux de détection	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,65	36,55	32,32
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	38,17	36,78	32,38
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	38,55	38,24	32,60
1,6E+05	17,13	4/6	5,23	6/6	39,40	40,50	32,59
3,2E+05	8,56	2/6	2,62	1/6	39,59	40,53	32,86
6,4E+05	4,28	2/6	1,31	2/6	39,50	39,70	32,28
Négatif	0	0/6	0	0/6	/	/	32,33

Tableau 4 : Probit a prédit un taux de détection de 95 % avec des échantillons nasopharyngés sur écouvillons enrichis avec SARS-CoV-2 (isolat 2/231/human/2020/CHN) sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Probit a prédit un taux de détection de 95 % (copies/mL)	
N	ORF1ab
26,44 (IC à 95 % : 18,34-69,51)	8,32 (IC à 95 % : 5,83-20,69)

VERIFICATION DE LA LIMITE DE DETECTION (LOD) A L'UTILISATION DE L'INSTRUMENT CHEMAGIC™ 360-D POUR L'EXTRACTION ET DE L'APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR SYSTEM

Pour l'étude de vérification de la LoD, la matrice d'échantillons oropharyngés sur écouvillons négative poolée et la matrice d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons négative poolée ont été enrichies avec le virus du SARS-CoV-2 inactivé à la LoD provisoire prédite parmi les deux cibles du SARS-CoV-2 pour chaque matrice (7,14 copies/mL d'ORF1ab pour la matrice d'échantillons oropharyngés sur écouvillons et 8,32 copies/mL d'ORF1ab pour la matrice d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons). Vingt réplicats par matrice d'échantillons ont été préparés et extraits à l'aide du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sur l'instrument chemagic™ 360-D et testés à l'aide du test PerkinElmer®

SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay. Vingt répliquats supplémentaires préparés à 1,5x la LOD provisoire ont également été testés. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Tableau 5 : résultats de la vérification de la LoD de l'instrument chemagic™ 360-D pour les échantillons oropharyngés sur écouvillons.

Concentration (copies/mL)			Taux de détection		Ct moyen		
LOD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	23,38	7,14	95 % (19/20)	95 % (19/20)	38,44	38,76	33,13
1,5X	35,07	10,71	100 % (20/20)	100 % (20/20)	38,74	38,11	33,09

Tableau 6 : résultats de la vérification de la LoD de l'instrument chemagic™ TM 360-D pour les échantillons nasopharyngés sur écouvillons.

Concentration (copies/mL)			Taux de détection		Ct moyen		
LOD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	27,25	8,32	95 % (19/20)	95 % (19/20)	38,53	38,44	33,81
1,5X	40,87	12,49	100 % (20/20)	100 % (20/20)	38,50	37,79	32,72

VERIFICATION DE LA LOD A L'AIDE DE L'INSTRUMENT CHEMAGIC™ 360-D ET D'AUTRES SYSTEMES DE PCR (EQUIVALENCE DES SYSTEMES PCR)

Afin d'étendre l'utilisation du test PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay aux systèmes PCR en temps réel Applied Biosystems™ 7500 Fast / QuantStudio™ 3 / QuantStudio™ 5 et au système PCR en temps réel qTOWER3 / qTower3 84 d'Analytik Jena, une étude a été menée à l'aide d'échantillons nasopharyngés cliniques factices sur écouvillons. Des échantillons poolés nasopharyngés sur écouvillons négatifs ont été enrichis de deux ou trois concentrations connues de matériel de référence ARN SeraCare contenant le génome viral complet du SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Molecular-Controls-Kit--Full-Genome-0505-0159/>). Les acides nucléiques ont été extraits à l'aide du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sur l'instrument chemagic™ 360-D et jusqu'à 20 répliquats individuels d'extraction ont été testés sur chaque plateforme d'instrument PCR conformément au manuel d'utilisation. Les tests sur le système PCR original Applied Biosystems™ 7500 ont été inclus dans cette étude pour une comparaison d'équivalence. Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants. La LoD a été confirmée à 20 copies/mL pour ABI7500, ABI 7500 Fast Dx, QuantStudio™ 3, QuantStudio™ 5 et qTower3 84, et à 10 copies/mL pour qTower3. La sensibilité de détection des six instruments est considérée comme équivalente.

Tableau 7 : vérification de la LoD sur d'autres plateformes PCR d'Applied Biosystems™.

Instrument	Concentration (copies/mL)	Gène cible	Ct moyen	Taux de détection pour le gène cible	Taux de détection global pour l'algorithme
ABI 7500	6,7	N	40,2	80 % (16/20)	90 % (18/20)
		ORF	39,4	75 % (15/20)	
	20	N	37,8	95 % (19/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,5	95 % (19/20)	
ABI 7500 Fast Dx	6,7	N	38,1	45 % (9/20)	90 % (18/20)
		ORF	39,0	85 % (17/20)	
	20	N	37,7	75 % (15/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,5	100 % (20/20)	
QS3	12	N	ND	0 % (0/3)	67 % (2/3)
		ORF	34,1	67 % (2/3)	
	20	N	35,7	30 % (6/20)	100 % (20/20)
		ORF	35,3	95 % (19/20)	
	60	N	35,8	45 % (9/20)	95 % (19/20)
		ORF	33,0	95 % (19/20)	
QS5	12	N	ND	0 % (0/3)	0 % (0/3)
		ORF	ND	0 % (0/3)	
	20	N	35,8	25 % (5/20)	95 % (19/20)
		ORF	37,0	95 % (19/20)	
	60	N	36,3	55 % (11/20)	100 % (20/20)
		ORF	35,1	100 % (20/20)	
qTower ³	6,7	N	39,3	30 % (6/20)	75 % (15/20)
		ORF	39,7	65 % (13/20)	
	10	N	38,2	65 % (13/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,8	95 % (19/20)	
	20	N	38,5	75 % (15/20)	100 % (20/20)
		ORF	36,9	100 % (20/20)	
40	N	37,9	95 % (19/20)	100 % (20/20)	
	ORF	36,1	100 % (20/20)		
qTower ³⁸⁴	10	N	38,5	35 % (7/20)	90 % (18/20)
		ORF	38,4	80 % (16/20)	
	20	N	39,0	55 % (11/20)	95 % (19/20)
		ORF	37,3	85 % (17/20)	
	40	N	38,0	80 % (16/20)	100 % (20/20)
		ORF	36,7	100 % (20/20)	

VERIFICATION DE LA LOD DANS UNE MATRICE SALIVAIRE

La LoD (20 copies/mL) déterminée sur QuantStudio™ 5 dans une matrice d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons (décrite dans la section ci-dessus) a été vérifiée de nouveau dans une matrice salivaire en utilisant le même instrument. Succinctement, le matériel de contrôle de référence de SARS-CoV-2 a été introduit dans une matrice salivaire négative pour préparer des échantillons positifs à 20 copies/mL. Au total, 20 répliquats d'extraction de cet échantillon positif ont été extraits sur l'instrument chemagic™ 360-D et amplifiés sur QuantStudio™ 5. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant et la LOD de 20 copies/mL a été vérifiée par un taux de détection de 20/20 dans la matrice salivaire.

Tableau 8 : résultats de la vérification de la LoD de l'instrument chemagic™ 360-D pour la salive.

Concentration (copies/mL)	Taux de détection		Ct moyen		
	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
20	100 % (20/20)	100 % (20/20)	35,53	35,14	30,70

Lors de l'utilisation de ce kit d'extraction avec le test RT-PCR en temps réel EURORealTime SARS-CoV-2 (RÉF MP 2606-0110), les données de LoD suivantes (voir ci-dessous) ont été rapportées par EUROIMMUN (une société PerkinElmer®).

LOD – SENSIBILITE ANALYTIQUE SUR DIFFERENTS SYSTEMES DE PCR

Les études de la LoD déterminent la plus faible concentration détectable de SARS-CoV-2 à laquelle environ 95 % de tous les répliquats (vrais positifs) sont positifs.

Tout d'abord, une LoD provisoire a été déterminée en testant 5 à 7 dilutions en série préparées en ajoutant du virus recombinant contenant l'ARN du SARS-CoV-2 (Seracare, matériel de référence AccuPlex™ SARS-CoV-2 ; 5 000 copies/mL) dans une matrice d'échantillons oropharyngés sur écouvillons négative pour le SARS-CoV-2. Chaque dilution a été testée avec 3 répliquats d'extraction individuels. La LoD provisoire a été déterminée à 150 copies/mL.

La LoD provisoire a été confirmée en testant 21 répliquats de matrice d'échantillons oropharyngés sur écouvillons négative, enrichie indépendamment avec le matériau de référence AccuPlex™ et extraite avec le CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sur l'instrument chemagic™ 360-D. Les répliquats ont été testés avec l'instrument Roche LightCycler 480 II. Il a été déterminé que la LOD finale pour toutes les méthodes d'extraction était de 150 copies/mL. La LoD de 150 copies/mL a ensuite été vérifiée pour les appareils Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR, Bio-Rad CFX 96 Touch et Analytik Jena qTOWER³ cyclers en utilisant la même procédure que celle décrite ci-dessus. La LoD a été confirmée en testant 21 répliquats d'extraction.

Tableau 9 : confirmation de LoD dans les échantillons oropharyngés sur écouvillons.

Instrument	Réplicats valides	SARS-CoV-2		IC		Taux de détection de l'ARN du SARS-CoV-2
		n	Ct moyen	n	Ct moyen	
CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96						
Roche LightCycler 480 II	21	20	37,68	21	30,39	95 %
Applied Biosystems™ 7500 Fast	21	21	36,87	21	29,97	100 %
Bio-Rad CFX 96 Touch	21	20	36,42	21	30,38	95 %
Analytic Jena qTOWER ³	21	20	37,25	21	28,49	95 %

PROCÉDURE DU PROTOCOLE DE 31 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

Protocole d'extraction utilisant l'instrument chemagic™ 360-D

La durée du protocole d'extraction automatisé est d'environ 31 minutes.

Le protocole permet de traiter jusqu'à 96 échantillons en parallèle (voir « DÉTAIL DES ÉTAPES DE TRAITEMENT » ci-dessous). Pour des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic™ 360-D, se reporter au manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.

Les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant utilisation. Connecter les flacons de réactifs à l'instrument chemagic™ 360-D comme suit :

- Pompe 1 : aucun flacon connecté
- Pompe 2 : Binding Buffer 2
- Pompe 3 : aucun flacon connecté
- Pompe 4 : Wash Buffer 4
- Pompe 5 : Wash Buffer 5
- Pompe 6 : aucun flacon connecté

REMARQUE : REFERMER FERMEMENT LES FLACONS IMMEDIATEMENT APRES UTILISATION OU MAINTENIR LES FLACONS FERMEMENT CONNECTES A L'INSTRUMENT CHEMAGIC™ 360-D. BINDING BUFFER 2 ET WASH BUFFER 4 CONTIENNENT DE L'ETHANOL. SI L'ETHANOL S'EVAPORE, LE RENDEMENT OPTIMAL OU LA SENSIBILITE DE DETECTION NE PEUVENT ETRE GARANTIS.

DETAIL DES ETAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifier l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contacter le fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque du matériau en position (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A)RNA.
 - Proteinase K : ajouter 11 mL d'eau de qualité biologique moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à sa dissolution.
 - Poly(A)RNA : ajouter 440 µL de Poly(A)RNA Buffer au tube Poly(A)RNA et mélanger soigneusement jusqu'à sa dissolution.
4. Si Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou la conservation), la solution doit être chauffée à 50-60 °C et mélangée soigneusement jusqu'à ce que la solution soit claire. La clarté de Lysis Buffer 1 doit toujours être confirmée visuellement avant utilisation.
5. Remplir et amorcer le tube chemagic™ 360-D avec des réactifs en choisissant le protocole « **prime manifolds H96 all 360 V150116.che** ». Appuyer sur [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et commencer l'amorçage en appuyant sur [OK]. Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, démarrer directement l'amorçage en appuyant sur [Start]. L'amorçage doit être effectué lorsque les flacons de réactifs sont connectés à l'instrument chemagic™ 360-D pour la première fois ou lorsque le tube de l'instrument ne contient pas encore de réactifs.
6. Si l'amorçage n'est pas nécessaire, choisir le protocole « **check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou, si les fonctions avancées sont désactivées, sur [Start]. Un petit volume de tampon sera distribué séquentiellement par chaque pompe en commençant par la première pompe utilisée pour cette application. Si l'une des pompes ne distribue pas de tampon par toutes les buses, appliquer le protocole d'amorçage correspondant à cette pompe. Si plusieurs cycles sont effectués chaque jour, un seul contrôle des pompes en début de journée suffit.
7. Sélectionner le protocole « **chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che** », appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
8. Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau d'embouts en position 1 sur le tracking system.
9. Vérifier les volumes dans les récipients d'approvisionnement en tampon et confirmer en appuyant sur [OK].

REMARQUE : VEILLER À CE QUE TOUS LES FLACONS D'APPROVISIONNEMENT EN TAMPON CONTIENNENT SUFFISAMMENT DE TAMPON. IL N'EST POSSIBLE D'EFFECTUER 96 ISOLATIONS QUE SI LE NIVEAU DE LIQUIDE DE TOUS LES TAMPONS EST SUPÉRIEUR À 125 mL.

10. Sélectionner le nombre d'échantillons à pré-remplir à l'aide du menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons sera affiché après la sélection. Veiller à utiliser les positions données. Confirmer en appuyant sur [OK].
11. Remplir préalablement les puits sélectionnés de la plaque d'échantillonnage avec 300 µL d'échantillon. Pour garantir l'homogénéité des échantillons, mélanger doucement les échantillons avant de les pipeter dans les puits de la plaque d'échantillonnage.

REMARQUE : LES ECHANTILLONS PROVENANT D'ECOUVILLONS SECHES DOIVENT ETRE LIQUEFIES AVANT UTILISATION.

12. Pré-remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads bien remises en suspension en fonction des positions des échantillons :
 - Les Magnetic Beads (en position de plaque 2 dans l'instrument chemagic™ 360-D) sont remises en suspension en mélangeant bien et pipetées à la main (150 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.

REMARQUE : LA SUSPENSION DE BILLES MAGNÉTIQUES DOIT ÊTRE MÉLANGÉE VIGOREUSEMENT AVANT D'ÊTRE DISTRIBUÉE, SINON LA SUSPENSION N'EST PAS HOMOGÈNE ET LE RENDEMENT EN ADN/ARN POURRAIT ÊTRE FAIBLE.

- L'Elution Buffer 6 (en position de plaque 7 dans l'instrument chemagic™ 360-D) est pipeté à la main (50-100 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.
13. Ajouter 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K, puis 300 µL de Lysis Buffer 1 dans les puits contenant un échantillon. Il est possible de pré-mélanger Poly(A)RNA, Proteinase K et Lysis Buffer 1 (choisir le volume approprié de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 pour s'assurer d'avoir un volume suffisant pour le nombre d'isolations).

REMARQUE : L'ACTIVITE DE PROTEINASE K DIMINUE APRES UNE INCUBATION DE PLUS DE 10 MINUTES DANS LYSIS BUFFER 1. S'ASSURER QUE TOUS LES ECHANTILLONS SONT MELANGES AVEC POLY(A)RNA/PROTEINASE K/ LYSIS BUFFER 1 DANS CET INTERVALLE DE TEMPS.

14. Placer les plaques sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
15. Placer la plaque d'échantillonnage en position 3 sur le tracking system.

16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
17. Fermer la porte avant et lancer le processus en appuyant sur [Start]. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ARN est lancé.

Extraction automatisée d'ADN/ARN sur l'instrument Chemagic™ 360-D (protocole de 31 minutes) :

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
		Sélectionner le protocole « check manifolds H96 all 360 V150116.che » pour rincer le tube avant de commencer l'extraction automatisée. Appuyer sur la touche [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et lancer le rinçage en appuyant sur la touche [OK].
		Lors de l'utilisation de fonctions permettant l'entrée de données d'identification, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che » et appuyer sur [Insert IDs]. Suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA pour saisir les données requises. Charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system.
1	Plateau avec Disposable Tips	Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau avec les Disposable Tips. REMARQUE : LES TIPS DOIVENT ETRE PRESENTS DANS LE PLATEAU EN RANGEES COMPLETES.
2	Low well plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter soigneusement les Magnetic Beads remises en suspension dans chaque puits utilisé en fonction de la plaque d'échantillonnage et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (Deep well plate)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Binding Buffer 2 est distribué automatiquement sur la plaque.

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
4	Vide	-
5	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 4 est distribué automatiquement sur la plaque.
6	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 5 est distribué automatiquement sur la plaque.
7	Deep Well Plate pré-remplie avec 50-100 µL d'Elution Buffer 6	Pipeter l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.
		<p>Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques. Une fois toutes les plaques en place, appuyer sur [OK].</p> <p>Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon est ensuite mélangé automatiquement.</p> <p>Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system. Une fois toutes les plaques en place, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che », marquer les colonnes utilisées sur le plan de plaques dans le dialogue et lancer le cycle d'extraction directement en appuyant sur [Start].</p>

Les chiffres sur le tracking system font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Une fois la procédure d'isolation terminée, utiliser la touche [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur le bouton [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

REMARQUE : NE JAMAIS DEPLACER LE TRACKING SYSTEM (TABLE) MANUELLEMENT. CELA PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT. TOUS LES MOUVEMENTS DOIVENT ETRE EFFECTUES AVEC LA FONCTION [TURN TABLE].

NOTES PROCÉDURALES DU PROTOCOLE DE 31 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

1. Une compréhension approfondie de cette notice d'emballage et du manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D est nécessaire pour assurer le succès de l'utilisation du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Les réactifs fournis avec ce kit sont destinés à être utilisés comme une unité intégrale. Ne pas mélanger des réactifs identiques provenant de kits avec des numéros de lot différents.
2. Ne pas utiliser les réactifs du kit après la date de péremption imprimée sur l'étiquette du kit. Une fois ouverts, les réactifs peuvent être utilisés pendant la période indiquée dans la liste des réactifs de ce manuel d'utilisation.
3. Toute déviation du protocole peut affecter les résultats.
4. Les réactifs sont distribués automatiquement par rangées entières et les couvre-pointes (Disposable Tips) doivent donc être utilisés par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution réactive. Il faut également noter que si des plaques partielles sont réalisées, les solutions pourraient ne pas suffire pour 960 extractions.
5. L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic™ 360-D alors que le cycle d'extraction automatisé est en cours met fin au cycle et les échantillons en cours peuvent être perdus.
6. Le nettoyage et la maintenance du système sont décrits en détail dans le manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.
 - a. Le nettoyage du système est effectué une fois par semaine : nettoyer le chemagic™ Dispenser. Sélectionner le protocole « **regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou sur [Start] si les fonctions avancées sont désactivées. Suivre les instructions données dans le logiciel.
 - b. Avant l'utilisation suivante du chemagic™ Dispenser, exécuter le protocole d'amorçage approprié.

- c. Le nettoyage du chemagic™ Dispenser avec de l'éthanol à 70 % est recommandé une fois par mois. Pour ce faire, utiliser tout simplement le protocole « **intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che** » plutôt que le protocole standard.
- d. Si le chemagic™ Dispenser n'est pas utilisé pendant une longue période, il est obligatoire d'appliquer le protocole « regular cleaning procedure » pour maintenir les performances de l'instrument lors de sa remise en service.

NOTES DE PERFORMANCES DU PROTOCOLE DE 31 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

Pour comparer le protocole de 60 minutes et celui de 31 minutes, des extractions ont été réalisées en utilisant le matériau de référence AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) ajouté au milieu de transport des dispositifs de prélèvement eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) comme échantillon. Les performances de la qPCR ont été testées avec la qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, une société PerkinElmer® ; kit utilisé selon les instructions du fabricant) exécutée sur un système de PCR en temps réel QuantStudio™ 5 (96 puits, 0,2 mL, desktop, Applied Biosystems™, A28574). Le protocole de 31 minutes pour le SARS-CoV-2 (« **chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che** ») permet aux utilisateurs de doubler leurs capacités quotidiennes de test COVID. Ce protocole plus court peut être utilisé sans aucune modification ou calibration sur l'instrument chemagic™ 360-D. Il y a juste un décalage de la valeur de Ct de 0,5 à 1 Ct par rapport au protocole standard de 60 minutes. Ainsi, la sensibilité est à peine réduite alors que les avantages en termes de temps d'exécution et de débit sont considérables.

PROCÉDURE DU PROTOCOLE DE 18 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

Protocole d'extraction utilisant l'instrument chemagic™ 360-D

La durée du protocole d'extraction automatisé est d'environ 18 minutes.

Le protocole permet de traiter jusqu'à 96 échantillons en parallèle (voir « DÉTAIL DES ÉTAPES DE TRAITEMENT » ci-dessous). Pour des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic™ 360-D, se reporter au manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.

Les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant utilisation. Connecter les flacons de réactifs à l'instrument chemagic™ 360-D comme suit :

- Pompe 1 : aucun flacon connecté
- Pompe 2 : Binding Buffer 2
- Pompe 3 : aucun flacon connecté
- Pompe 4 : Wash Buffer 4
- Pompe 5 : Wash Buffer 5
- Pompe 6 : aucun flacon connecté

REMARQUE : REFERMER FERMEMENT LES FLACONS IMMEDIATEMENT APRES UTILISATION OU MAINTENIR LES FLACONS FERMEMENT CONNECTES A L'INSTRUMENT CHEMAGIC™ 360-D. BINDING BUFFER 2 ET WASH BUFFER 4 CONTIENNENT DE L'ETHANOL. SI L'ETHANOL S'EVAPORE, LE RENDEMENT OPTIMAL OU LA SENSIBILITE DE DETECTION NE PEUVENT ETRE GARANTIS.

DETAIL DES ETAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifier l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contacter le fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque du matériau en position (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A)RNA.
 - Proteinase K : ajouter 11 mL d'eau de qualité biologique moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à sa dissolution.
 - Poly(A)RNA : ajouter 440 µL de Poly(A)RNA Buffer au tube Poly(A)RNA et mélanger soigneusement jusqu'à sa dissolution.
4. Si Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou la conservation), la solution doit être chauffée à 50-60 °C et mélangée soigneusement jusqu'à ce que la solution soit claire. La clarté de Lysis Buffer 1 doit toujours être confirmée visuellement avant utilisation.
5. Remplir et amorcer le tube chemagic™ 360-D avec des réactifs en choisissant le protocole « **prime manifolds H96 all 360 V150116.che** ». Appuyer sur [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et commencer l'amorçage en appuyant sur [OK]. Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, démarrer directement l'amorçage en appuyant sur [Start]. L'amorçage doit être effectué lorsque les flacons de réactifs sont connectés à l'instrument chemagic™ 360-D pour la première fois ou lorsque le tube de l'instrument ne contient pas encore de réactifs.
6. Si l'amorçage n'est pas nécessaire, choisir le protocole « **check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou, si les fonctions avancées sont désactivées, sur [Start]. Un petit volume de tampon sera distribué séquentiellement par chaque pompe en commençant par la première pompe utilisée pour cette application. Si l'une des pompes ne distribue pas de tampon par toutes les buses, appliquer le protocole d'amorçage correspondant à cette pompe. Si plusieurs cycles sont effectués chaque jour, un seul contrôle des pompes en début de journée suffit.
7. Sélectionner le protocole « **chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che** », appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
8. Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau d'embouts en position 1 sur le tracking system.
9. Vérifier les volumes dans les récipients d'approvisionnement en tampon et confirmer en appuyant sur [OK].

REMARQUE : VEILLER À CE QUE TOUS LES FLACONS D'APPROVISIONNEMENT EN TAMPON CONTIENNENT SUFFISAMMENT DE TAMPON. II N'EST POSSIBLE D'EFFECTUER 96 ISOLATIONS QUE SI LE NIVEAU DE LIQUIDE DE TOUS LES TAMPONS EST SUPÉRIEUR À 125 mL.

10. Sélectionner le nombre d'échantillons à pré-remplir à l'aide du menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons sera affiché après la sélection. Veiller à utiliser les positions données. Confirmer en appuyant sur [OK].
11. Remplir préalablement les puits sélectionnés de la plaque d'échantillonnage avec 300 µL d'échantillon. Pour garantir l'homogénéité des échantillons, mélanger doucement les échantillons avant de les pipeter sur la plaque d'échantillonnage.

REMARQUE : LES ECHANTILLONS PROVENANT D'ECOUVILLONS SECHES DOIVENT ETRE LIQUEFIES AVANT UTILISATION.

12. Pré-remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads bien remises en suspension en fonction des positions des échantillons :
 - Les Magnetic Beads (en position de plaque 2 dans l'instrument chemagic™ 360-D) sont remises en suspension en mélangeant bien et pipetées à la main (150 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.

REMARQUE : LA SUSPENSION DE BILLES MAGNÉTIQUES DOIT ÊTRE MÉLANGÉE VIGOREUSEMENT AVANT D'ÊTRE DISTRIBUÉE, SINON LA SUSPENSION N'EST PAS HOMOGÈNE ET LE RENDEMENT EN ADN/ARN POURRAIT ÊTRE FAIBLE.

- L'Elution Buffer 6 (en position de plaque 7 dans l'instrument chemagic™ 360-D) est pipeté à la main (50-100 µL/puits) dans chaque puits à échantillon correspondant utilisé.
13. Ajouter 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K, puis 300 µL de Lysis Buffer 1 dans les puits contenant un échantillon. Il est possible de pré-mélanger Poly(A)RNA, Proteinase K et Lysis Buffer 1 (choisir le volume approprié de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 pour s'assurer d'avoir un volume suffisant pour le nombre d'isolations).

REMARQUE : L'ACTIVITE DE PROTEINASE K DIMINUE APRES UNE INCUBATION DE PLUS DE 10 MINUTES DANS LYSIS BUFFER 1. S'ASSURER QUE TOUS LES ECHANTILLONS SONT MELANGES AVEC POLY(A)RNA/PROTEINASE K/ LYSIS BUFFER 1 DANS CET INTERVALLE DE TEMPS.

14. Placer les plaques sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic™ QA.
15. Placer la plaque d'échantillonnage en position 3 sur le tracking system.

16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
17. Fermer la porte avant et lancer le processus en appuyant sur [Start]. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ARN est lancé.

Extraction automatisée d'ADN/ARN sur l'instrument Chemagic™ 360-D (protocole de 18 minutes) :

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
		Sélectionner le protocole « check manifolds H96 all 360 V150116.che » pour rincer le tube avant de commencer l'extraction automatisée. Appuyer sur la touche [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA et lancer le rinçage en appuyant sur la touche [OK].
		Lors de l'utilisation de fonctions permettant l'entrée de données d'identification, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che » et appuyer sur [Insert IDs]. Suivre les instructions données dans le logiciel chemagic™ QA pour saisir les données requises. Charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system.
1	Plateau avec Disposable Tips	Utiliser les Disposable Tips en fonction de la position des échantillons et placer le plateau avec les Disposable Tips. REMARQUE : LES TIPS DOIVENT ETRE PRESENTS DANS LE PLATEAU EN RANGEES COMPLETES.
2	Low well plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter soigneusement les Magnetic Beads remises en suspension dans chaque puits utilisé en fonction de la plaque d'échantillonnage et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (Deep well plate)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL de Poly(A)RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Binding Buffer 2 est distribué automatiquement sur la plaque.

Position sur le tracking system	Matériau en position	Détails de l'étape du protocole
4	Vide	-
5	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 4 est distribué automatiquement sur la plaque.
6	Deep well plate	Placer la plaque vide. Wash Buffer 5 est distribué automatiquement sur la plaque.
7	Deep Well Plate pré-remplie avec 50-100 µL d'Elution Buffer 6	Pipeter l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.
		<p>Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques. Une fois toutes les plaques en place, appuyer sur [OK].</p> <p>Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon est ensuite mélangé automatiquement.</p> <p>Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1 à 7 du tracking system. Une fois toutes les plaques en place, sélectionner le protocole « chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che », marquer les colonnes utilisées sur le plan de plaques dans le dialogue et lancer le cycle d'extraction directement en appuyant sur [Start].</p>

Les chiffres sur le tracking system font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic™ 360-D.

Une fois la procédure d'isolation terminée, utiliser la touche [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur le bouton [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

REMARQUE : NE JAMAIS DEPLACER LE TRACKING SYSTEM (TABLE) MANUELLEMENT. CELA PEUT ENDOMMAGER L'INSTRUMENT. TOUS LES MOUVEMENTS DOIVENT ETRE EFFECTUES AVEC LA FONCTION [TURN TABLE].

NOTES PROCÉDURALES DU PROTOCOLE DE 18 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

1. Une compréhension approfondie de cette notice d'emballage et du manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D est nécessaire pour assurer le succès de l'utilisation du chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Les réactifs fournis avec ce kit sont destinés à être utilisés comme une unité intégrale. Ne pas mélanger des réactifs identiques provenant de kits avec des numéros de lot différents.
2. Ne pas utiliser les réactifs du kit après la date de péremption imprimée sur l'étiquette du kit. Une fois ouverts, les réactifs peuvent être utilisés pendant la période indiquée dans la liste des réactifs de ce manuel d'utilisation.
3. Toute déviation du protocole peut affecter les résultats.
4. Les réactifs sont distribués automatiquement par rangées entières et les couvre-pointes (Disposable Tips) doivent donc être utilisés par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution réactive. Il faut également noter que si des plaques partielles sont réalisées, les solutions pourraient ne pas suffire pour 960 extractions.
5. L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic™ 360-D alors que le cycle d'extraction automatisé est en cours met fin au cycle et les échantillons en cours peuvent être perdus.
6. Le nettoyage et la maintenance du système sont décrits en détail dans le manuel d'utilisation du chemagic™ 360-D.
 - a. Le nettoyage du système est effectué une fois par semaine : nettoyer le chemagic™ Dispenser. Sélectionner le protocole « **regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che** » et appuyer sur [Insert IDs] ou sur [Start] si les fonctions avancées sont désactivées. Suivre les instructions données dans le logiciel.
 - b. Avant l'utilisation suivante du chemagic™ Dispenser, exécuter le protocole d'amorçage approprié.

- c. Le nettoyage du chemagic™ Dispenser avec de l'éthanol à 70 % est recommandé une fois par mois. Pour ce faire, utiliser tout simplement le protocole « **intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che** » plutôt que le protocole standard.
- d. Si le chemagic™ Dispenser n'est pas utilisé pendant une longue période, il est obligatoire d'appliquer le protocole « regular cleaning procedure » pour maintenir les performances de l'instrument lors de sa remise en service.

NOTES DE PERFORMANCES DU PROTOCOLE DE 18 MIN (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC DES ISOLATS DE SARS-COV-2)

Pour comparer le protocole de 60 minutes et celui de 18 minutes, des extractions ont été réalisées en utilisant le matériau de référence AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) ajouté au milieu de transport des dispositifs de prélèvement eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) comme échantillon. Les performances de la qPCR ont été testées avec la qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, une société PerkinElmer® ; kit utilisé selon les instructions du fabricant) exécutée sur un système de PCR en temps réel QuantStudio™ 5 (96 puits, 0,2 mL, desktop, Applied Biosystems™, A28574). Le protocole de 18 minutes pour le SARS-CoV-2 (« **chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che** ») permet aux utilisateurs de tripler leurs capacités quotidiennes de test COVID. Ce protocole plus court peut être utilisé sans aucune modification ou calibration sur l'instrument chemagic™ 360-D, toutefois la fonction X-offset Bead Collection sous Parameter Settings dans le logiciel chemagic™ doit être désactivée par un ingénieur de service de PerkinElmer®. Si la fonction X-offset Bead Collection est activée, la durée du cycle d'extraction est rallongée à 21 min. Il y a juste un décalage de la valeur de Ct de 0,5 à 1 Ct par rapport au protocole standard de 60 minutes. Ainsi, la sensibilité est à peine réduite alors que les avantages en termes de temps d'exécution et de débit sont considérables.

APPLICATIONS EN AVAL TESTÉES AVEC L'EXTRACTION DU SARS-COV-2

Les applications en aval suivantes ont été réalisées avec succès et décrites dans les publications après l'isolation des échantillons de SARS-CoV-2 avec le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033-S).

Application en aval	Kits	Références
RT-qPCR	TaqPath COVID-19 Combo Kit (Applied Biosystems™)	Barrett <i>et al.</i> BMC Infectious Diseases (2020) 20:853 https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2
		Radbel <i>et al.</i> Journal of Molecular Diagnostics (2020) Volume 22, Issue 7, 871-875 https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209
	SuperScript™ III One-Step RT-PCR System avec Platinum™ TaqDNA Polymerase (ThermoFisher)	Streeck <i>et al.</i> Nat Commun (2020) 11, 5829 https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y
	virella SARS-CoV-2 seqc rRT-PCR kit (Gerbion)	Wandernoth <i>et al.</i> Viruses (2020) 12:849 https://doi:10.3390/v12080849
	2019-nCoV CDC EUA Kit (IDT)	Xie <i>et al.</i> Processes (2020) 8(11), 1425 https://doi.org/10.3390/pr8111425
	SARS-CoV-2 real-time RT-PCR assay CE-IVD (PerkinElmer®)	Klussmeier <i>et al.</i> Biospektrum (2020) 26, 500-503 https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1
	NeoPlex COVID-19 kit (Gene Matrix)	Senok <i>et al.</i> Infect Drug Resistance (2020) 13, 3393-3399 https://doi.org/10.2147/IDR.S275152
	NxTAG® Respiratory Pathogen Panel (Luminex Corporation), Fast Virus 1-Step Master Mix (ThermoFisher)	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) 1, 10-15 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035

Application en aval	Kits	Références
RT-qPCR	1) TRUPCR SARS-CoV-2 (Black Bio Biotech) 2) TaqPath RT-PCR COVID-19 Kit (ThermoFisher) 3) Allplex 2019-nCoV Assay (Seegene) 4) Patho detect COVID-19 qualitative PCR kit (My Lab) 5) LabGun COVID-19 RT-PCR Kit 6) Fosun COVID-19 RT-PCR detection kit (Fosun Ltd) 7) Realtime Fluorescent RT-PCR kit (BGI Genomics)	Garg <i>et al.</i> Journal of Medical Virology (2021) 93 , 2281-2286 https://doi.org/10.1002/jmv.26691
	Ligh TM ix® Sarbeco V E-gene plus EAV control (TIB MolBiol) LightCycler® Multiplex RNA Virus Master (Roche)	Kriegshäuser <i>et al.</i> Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) (2021) 9 , 351-353 https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078

Application en aval	Kits	Références
Séquençage	Protocole ARTIC V3	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) 1 , 10-15 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035
		Jonsson <i>et al.</i> Nature Communications (2021) 12 , 3633 https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6
		Tegally <i>et al.</i> Nature Medicine (2021) 27 , 440-446 https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3
	<p>Synthèse de l'ADNc : LunaScript RT Super Mix kit (New England Biolabs), SuperScriptIV (ThermoFisher)</p> <p>Préparation de bibliothèque : SureSelectXT Low Input kit CoVHuman6X méthode d'enrichissement par capture (Agilent Technologies)</p> <p>Protocole PCR multiplex d'amplicons tuilés ARTIC (v3) + NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs)</p>	Ellingford <i>et al.</i> eLife (2021) 10 , 65453 https://doi.org/10.7554/eLife.65453

AUTRES QUESTIONS

Pour d'autres applications, des questions techniques ou de plus amples informations sur la façon dont les données ont été générées, veuillez contacter support.chemagen@Perkinelmer.com ou +49 (0) 2401805500.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

L'utilisation des dispositifs de prélèvement suivants **n'est pas recommandée** avec le chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96, pour toute question, contacter support.chemagen@perkinelmer.com.

Description	Marque	Référence
Tube d'échantillonnage de virus inactivé (10 mL), contenant 3 mL de milieu de conservation (inactivé), 1 échantillon oropharyngé sur écouvillon en rayonne.	Biocomma Limited	YMJ-TE
Système de prélèvement et de conservation de virus inactivés	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

Les caractéristiques de performance de ce produit n'ont pas été établies.

Dans certains cas, des traces de Magnetic Beads peuvent être laissées dans l'éluat. Bien que ces particules n'interfèrent généralement pas avec la PCR ou la plupart des applications en aval, une étape de séparation supplémentaire, par centrifugation ou par séparateur magnétique (chemagic™ Stand 96, fourni avec le chemagic™ 360 96 Rod Head Set, réf. CMG-370) est recommandée afin d'éliminer toute trace de particules.

L'ADN/ARN extrait doit être utilisé immédiatement après l'extraction dans le test de diagnostic *in vitro* souhaité.

GARANTIE

Tout changement ou modification de la procédure non recommandée par le fabricant peut affecter les résultats, auquel cas PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH et ses filiales déclinent toute garantie exprimée, implicite ou statutaire, y compris la garantie implicite de qualité marchande et d'aptitude à l'emploi.

Dans un tel cas, PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH, ses sociétés affiliées et ses distributeurs agréés ne seront pas responsables des dommages indirects ou consécutifs.

Septembre 2022