

## MANUEL D'UTILISATION

# chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96

<b>Numéro de produit:</b>	<b>IVD-1033-S</b> Réactifs pour 960 extractions.
<b>UDI-DI:</b>	4260543364151
<b>Version:</b>	V231023 FR  
<b>Fabricant:</b>	Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Allemagne <a href="http://www.revvity.com">www.revvity.com</a>

CE

DESTINÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

## 1. TABLE DES MATIERES













1.	Table des matières .....	1
2.	Explication des mots de signalisation dans cette instructions d'utilisation .....	3
3.	Symboles utilisés dans l'instructions d'utilisation et sur les étiquettes .....	3
4.	Application .....	5
5.	Résumé et principe.....	5
6.	Signalement des incidents.....	6
7.	Informations générales et de stockage .....	7
8.	Manuel d'utilisation électronique.....	8
9.	Avertissements et précautions.....	8
10.	Réactifs du kit et informations de sécurité .....	10
10.1	Magnetic Beads .....	10
10.2	Lysis Buffer 1 .....	10
10.3	Binding Buffer 2 .....	12
10.4	Wash Buffer 3 .....	13
10.5	Wash Buffer 4 .....	14
10.6	Wash Buffer 5 .....	15
10.7	Elution Buffer 6 .....	15
10.8	Proteinase K .....	16
10.9	Poly(A) RNA .....	17
10.10	Poly(A) RNA Buffer .....	17
10.11	Autres composants du kit.....	18
11.	Fichiers de protocoles requis .....	19
12.	Matériel nécessaire mais non fourni avec le kit .....	20
12.1	Articles de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	20
12.2	Autres éléments requis .....	20
12.3	Autres articles optionnels de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	20
12.4	Autres éléments optionnels supplémentaires .....	20
13.	Collecte et manipulation des échantillons.....	21
14.	Description détaillée du protocole de 60 minutes.....	22
14.1	Procédure Protocole de 60 minutes (diverses espèces) .....	22
14.2	Étapes de traitement.....	23
14.3	Description succincte/ Guide rapide.....	26
15.	Caractéristiques de performance.....	29
15.1	LoD utilisant l'instrument chemagic 360-D pour l'extraction et de l'Applied Biosystems™ 7500 PCR system.....	29









15.2	Vérification de la LoD à l'utilisation de l'instrument chemagic 360-D pour l'extraction et de l'Applied Biosystems 7500 PCR system .....	30
15.3	Vérification de la LoD à l'utilisation de l'instrument chemagic 360-D et d'autres systèmes de PCR (équivalence des systèmes PCR) .....	31
15.4	Vérification de la LoD dans la matrice de salive en arrière-plan .....	34
15.5	LoD - Sensibilité analytique sur différentes PCR .....	34
16.	Description détaillée du protocole de 31 minutes.....	36
16.1	Procédure Protocole de 31 minutes (testé uniquement avec l'isolement du SARS-CoV-2) .....	36
16.2	Étapes de traitement.....	37
16.3	Description succincte/ Guide rapide.....	40
16.4	Notes Protocole de 31 minutes (uniquement testé avec l'isolement du SARS-CoV-2) .....	43
17.	Description détaillée du protocole de 18 minutes.....	44
17.1	Procédure Protocole de 18 minutes (uniquement testé avec l'isolement du SARS-CoV-2) .....	44
17.2	Étapes de traitement.....	45
17.3	Description succincte/ Guide rapide.....	48
17.4	Notes de performance du Protocole de 18 minutes (uniquement testé avec l'isolement du SARS-CoV-2) .....	51
18.	Nettoyage et entretien .....	52
19.	Applications en aval.....	53
19.1	Applications en aval testées avec l'extraction du SARS-CoV-2 .....	53
19.2	Application en aval testée avec l'extraction du SARS-CoV-2, de la grippe A et B et du VRS .....	56
20.	Autres questions .....	57
21.	Limites de la procédure .....	57
22.	Garantie.....	58

## 2. EXPLICATION DES MOTS DE SIGNALISATION DANS CETTE INSTRUCTIONS D'UTILISATION

Mot signal	Description
<b>PRUDENCE!</b>	Risque potentiel pouvant entraîner des dommages légers ou moyens.
<b>ATTENTION!</b>	Une mauvaise manipulation peut endommager l'instrument.
<b>REMARQUE:</b>	Des erreurs commises par l'opérateur peuvent faire que les performances optimales du kit ne soient pas garanties.

## 3. SYMBOLES UTILISES DANS L'INSTRUCTIONS D'UTILISATION ET SUR LES ETIQUETTES

Symbole	Titre du symbole	Symbole	Titre du symbole
	Marque CE Conformité européenne		Limite de température
	Dispositif médical <i>in vitro</i>		Contient des informations suffisantes pour <n> tests
	Consulter le mode d'emploi ou le mode d'emploi de l'appareil		Quantité
	Fabricant		ne pas réutiliser
	Code du lot		Traduction
	Numéro de catalogue		Date limite d'utilisation

Symbole	Titre du symbole	Symbole	Titre du symbole
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi		Par ici
	GHS02		GHS08
	GHS05		Marchandises dangereuses : Classe 3 Liquide
	GHS07		Marchandises dangereuses : Classe 8 Matières

chemagic™ est une marque déposée de Revvity chemagen Technologie GmbH.

## 4. APPLICATION

Le kit 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.

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 et spécialement formé pour le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 et l'instrument chemagic 360-D.

Pour plus d'informations, veuillez-vous référer aux sections "REACTIFS DU KIT ET INFORMATIONS DE SECURITE" et "AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS" dans ce document.

## 5. RESUME ET PRINCIPE

Le kit chemagic 300 Viral DNA/RNA Kit H96 est basé sur une plateforme d'extraction par billes magnétiques reposant sur une technologie exclusive à Revvity 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 avec un instrument chemagic 96 Rod Head Set 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.

## 6. SIGNALEMENT DES INCIDENTS

Pour un 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 Revvity chemagen Technologie GmbH au numéro +49 (0) 2401805500 ou à l'adresse [support.chemagen@revvity.com](mailto:support.chemagen@revvity.com) ou à ses représentants légaux.

L'autorité compétente en Allemagne est l'Institut fédéral des médicaments et des dispositifs médicaux (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM). Les coordonnées actuelles sont disponibles sur le site web du BfArM: <https://www.bfarm.de>.

## 7. INFORMATIONS GÉNÉRALES ET DE STOCKAGE

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 ouverts, 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 (section "REACTIFS DU KIT ET INFORMATIONS DE SECURITE").

Si le Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou le stockage), la solution doit être chauffée à 50-60 °C et soigneusement mélangée jusqu'à ce que la solution soit claire. La limpidité du Lysis Buffer 1 doit toujours être confirmée visuellement avant utilisation.

**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 de l'essai.

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) 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.

Dans cet IFU, nous nous référons au manuel d'utilisation du chemagic 360-D (chemagic 360-D User Manual). Ce manuel est fourni avec l'instrument chemagic 360-D.

Les fichiers de protocole relatifs au kit sont disponibles sur la page web ou seront fournis par le service clientèle (voir la section "FICHIERS DE PROTOCOLES REQUIS").



## 8. MANUEL D'UTILISATION ELECTRONIQUE

Des instructions d'utilisation électroniques (eIFU) en différentes langues sont disponibles sur notre page web.

Pour télécharger ces instructions d'utilisation électroniques, veuillez consulter le site:

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

Les eIFU sont fournis au moins en anglais (EN), en français (FR), en espagnol (ES) et en italien (IT) et, sur demande, dans d'autres langues requises.

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

## 9. AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Destiné à un usage diagnostique *in vitro*.

Le produit est destiné aux utilisateurs professionnels formés à l'instrument chemagic 360-D.

Une compréhension approfondie de cet IFU et du manuel de l'utilisateur chemagic 360-D est une condition préalable et nécessaire pour une utilisation réussie du kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96.

Les réactifs fournis avec ce kit sont destinés à être utilisés en tant qu'unité intégrale. Ne pas mélanger des réactifs identiques provenant de kits portant des numéros de lot différents.

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 cet IFU.

Tout écart par rapport au protocole peut affecter les résultats.

Les réactifs sont automatiquement distribués par rangées entières et, par conséquent, les pointes jetables du chemagic Tips 96 Tray doivent également être utilisées par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution de réactif.

Il convient également de noter que si des plaques partielles sont réalisées, les solutions peuvent ne pas être suffisantes pour 960 extractions.

Vérifiez l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contactez votre fournisseur.

Manipuler tous les échantillons comme étant 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" (sécurité biologique dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux) 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 inflammable. 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 "REACTIFS DU KIT ET INFORMATIONS DE SECURITE".

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 (safety data sheets, SDS) correspondantes.

Suivre les réglementations locales pour la manipulation des solutions éthanoliques.

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

## 10. REACTIFS DU KIT ET INFORMATIONS DE SECURITE


Le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 contient les réactifs suivants.

### 10.1 MAGNETIC BEADS

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Magnetic Beads	1 bouteille (volume voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la bouteille.  Une fois ouvert, il reste 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.

### 10.2 LYSIS BUFFER 1

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Lysis Buffer 1  DANGER	1 bouteille (volume voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la bouteille.  Conserver à l'abri de la lumière.  Une fois ouvert, il reste 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 1 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.

**PRUDENCE! Le Lysis Buffer 1 contient du thiocyanate de guanidinium.**


---

**Phrases de danger, de précaution et EUH**


---

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.

### 10.3 BINDING BUFFER 2

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


Solution tamponnée Tris-HCl (pH 5.2-6.1) prête à l'emploi, contenant du perchlorate de sodium (20-40 %) et de l'éthanol (40-60 %). Le Binding Buffer 2 est utilisé pour créer les conditions appropriées pour que l'ADN/ ARN se lie aux Magnetic Beads.

**PRUDENCE! Le Binding Buffer 2 contient de l'éthanol et du perchlorate de sodium.**

#### Phrases de danger, de précaution et EUH

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.

### 10.4 WASH BUFFER 3

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


Solution tamponnée Tris-HCl (pH 4.8-5.6) prête à l'emploi, contenant du perchlorate de sodium (20-30 %) et de l'éthanol (20-40 %). Utilisée pour éliminer les contaminants non-ADN/ non-ARN pendant l'étape de lavage.

**PRUDENCE! Le Wash Buffer 3 contient de l'éthanol et du perchlorate de sodium.**

#### Phrases de danger, de précaution et EUH

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.

## 10.5 WASH BUFFER 4

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

La solution prête à l'emploi contient de l'éthanol à 50-70 %. Utilisée pour éliminer les derniers résidus de contaminants non-ADN/ non-ARN pendant l'étape de lavage.

**PRUDENCE! Le Wash Buffer 4 contient de l'éthanol.**

### Phrases de danger, de précaution et EUH

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.

## 10.6 WASH BUFFER 5

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

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



## 10.7 ELUTION BUFFER 6

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

Solution tamponnée Tris-HCl 10 mM (pH 7.8-8.4) prête à l'emploi.



## 10.8 PROTEINASE K

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

La Proteinase K est reconstituée en ajoutant 11 mL d'eau purifiée. La Proteinase K est ajoutée accroître l'efficacité de l'étape de lyse.

**PRUDENCE! La Protéinase K contient de la Protéinase, de la sérine de Tritirachium album et de l'acétate de calcium hydraté.**

### Phrases de danger, de précaution et EUH

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.

---

**Phrases de danger, de précaution et EUH**


---

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

---

**10.9 POLY(A) RNA**


---


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

---

Le Poly(A) RNA est reconstitué en ajoutant 440 µL de Poly(A) RNA Buffer. Le Poly(A) RNA fonctionne comme un support d'ADN/ ARN pour accroître l'efficacité du processus d'extraction.

**10.10 POLY(A) RNA BUFFER**


---

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

**AVERTISSEMENT**


---

Solution tampon aqueuse prête à l'emploi contenant du thiocyanate de guanidine (20-40 %). Le Poly(A) RNA Buffer est utilisé pour la reconstitution du Poly(A) RNA.

**PRUDENCE! Le Poly(A) RNA Buffer contient du thiocyanate de guanidinium.**

---

**Phrases de danger, de précaution et EUH**


---

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.

---

**10.11 AUTRES COMPOSANTS DU KIT**

Le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 contient le matériel plastique suivant.

<b>Composant</b>	<b>Quantité</b>	<b>Stockage</b>
chemagic Tips 96 Tray	10	+2 à +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	50	+2 à +25 °C
chemagic Low Well Plate	10	+2 à +25 °C

---

## 11. FICHIERS DE PROTOCOLES REQUIS

Les fichiers de protocole suivants seront fournis par le service clientèle de Revvity chemagen Technologie GmbH et sont disponibles sur la page web.

<b>Protocole (fichier.che)</b>	<b>Type de protocole/ objectif</b>
chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che	Fichier d'extraction lié au kit pour l'instrument chemagic 360-D (protocole de 60 minutes)
chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che	Fichier d'extraction lié au kit pour l'instrument chemagic 360-D (protocole de 31 minutes)
chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che	Fichier d'extraction lié au kit pour l'instrument chemagic 360-D (protocole de 18 minutes)
prime manifolds H96 all 360 V150116.che	Remplissage et amorçage de la tubulure de l'instrument chemagic 360-D avec des réactifs
check manifolds H96 all 360 V150116.che	Vérification de la fonctionnalité des pompes
regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che	Nettoyage régulier de l'instrument chemagic 360-D (une fois par semaine)
intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che	Nettoyage intensif de l'instrument chemagic 360-D (une fois par mois)

## 12. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC LE KIT

Le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 nécessite les éléments suivants.

### 12.1 ARTICLES DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Objet	Numéro de produit
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 96 Rod Head Set	CMG-370

### 12.2 AUTRES ELEMENTS REQUIS

Objet	Objectif
Pipettes et embouts de pipettes avec barrières anti-aérosols	Remplissage préalable des Magnetic Beads, Elution Buffer 6, Proteinase K et Poly(A) RNA
Eau de qualité biologie moléculaire	Reconstitution de la Proteinase K
Éthanol à 70 %	Nettoyage de l'instrument chemagic 360-D

### 12.3 AUTRES ARTICLES OPTIONNELS DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Produit	Numéro de produit
chemagic Stand 96 (fourni avec le chemagic 96 Rod Head Set)	CMG-301

### 12.4 AUTRES ÉLÉMENTS OPTIONNELS SUPPLÉMENTAIRES

Produit	Objectif
Solution saline isotonique, stérile	Liquéfaction du matériel d'écouvillonnage avant utilisation
Tube de Sarstedt (cat. No. 72.693 ou 72.694)	Tube de réaction pour l'inactivation du matériel d'échantillonnage

### 13. COLLECTE ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 est utilisable 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. 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 11 du protocole d'extraction et passer à l'étape 12.

## 14. DESCRIPTION DÉTAILLÉE DU PROTOCOLE DE 60 MINUTES

### 14.1 PROCÉDURE PROTOCOLE DE 60 MINUTES (DIVERSES ESPECES)

La procédure suivante décrit la préparation et l'exécution du protocole d'extraction à l'aide de 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 la section "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.

**REMARQUE: 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	Tampon
Pompe 1	Pas de flacon connectée
Pompe 2	Binding Buffer 2
Pompe 3	Wash Buffer 3
Pompe 4	Wash Buffer 4
Pompe 5	Wash Buffer 5
Pompe 6	Pas de flacon connectée

**REMARQUE: Refermer fermement les flacons immédiatement après utilisation ou maintenir les flacons fermement connectés à l'instrument chemagic 360-D. Le Binding Buffer 2, le Wash Buffer 3 et le Wash Buffer 4 contiennent de l'éthanol. Si l'éthanol s'évapore, le rendement optimal ou la sensibilité de détection ne peuvent être garantis.**

## 14.2 ÉTAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifiez l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contactez votre fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque avec le matériel en position (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A) RNA:

Composant	Reconstitution
Proteinase K	Ajouter 11 mL d'eau de qualité biologie moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à dissolution.
Poly(A) RNA	Ajouter 440 µL de Poly(A) RNA Buffer au tube de Poly(A) RNA et mélanger soigneusement jusqu'à dissolution.

4. Si le Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou le stockage), 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 [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer 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].

**REMARQUE: 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, sélectionnez le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" et appuyez 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. Lorsque vous effectuez plusieurs cycles par jour, il n'est nécessaire de vérifier les pompes qu'une seule fois au début de la journée.



7. Sélectionner le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**" et appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic QA.
8. S'assurer que le chemagic Tips 96 Tray contient suffisamment de pointes et qu'il est aligné sur les positions des échantillons et placer le chemagic Tips 96 Tray 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: Veillez à ce que tous les flacons de 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. Sélectionnez le nombre d'échantillons à pré-remplir à l'aide du menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons sera affiché après la sélection. Veillez à utiliser les positions données. Confirmez 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 échantillons provenant d'écouvillons séchés doivent être liquéfiés avant utilisation.**

12. Remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads soigneusement remises en suspension en pipetant manuellement en fonction de chaque puits correspondant utilisé.

Composant	Position de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D	Volume/ puits
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50-100 µL

**REMARQUE: La suspension de Magnetic Beads doit être mélangée vigoureusement avant d'être distribuée, sinon la suspension n'est pas homogène et le rendement en ADN/ ARN pourrait être faible.**

13. Ajouter les réactifs suivants aux puits contenant l'échantillon:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL de Proteinase K et ensuite
- 300 µL Lysis Buffer 1.

Il est possible de pré-mélanger de Poly(A) RNA, la Proteinase K et le 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'activité de la Proteinase K diminue après une incubation de plus de 10 minutes dans Lysis Buffer 1. S'assurer que tous les échantillons sont mélangés avec le Poly(A) RNA/ Lysis Buffer 1/ Proteinase K dans cet intervalle de temps.**

14. Placer les chemagic Deep Well Plates 2 mL sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic QA.

15. Placer la plaque d'échantillon en position 3 sur le tracking system.

16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.

17. Fermez la porte avant et démarrez le processus en appuyant sur [Start].

18. Le processus automatisé d'extraction de l'ADN/ ARN est lancé.

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

**ATTENTION! Ne jamais déplacer le tracking system (table) manuellement. Cela peut endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués avec la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: 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.**

Pour plus d'informations sur le nettoyage de l'instrument, voir la section "NETTOYAGE ET ENTRETIEN".

### 14.3 DESCRIPTION SUCCINCTE/ GUIDE RAPIDE

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

- Sélectionner le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" pour rincer la tubulure avant de commencer l'extraction automatisée.
- Appuyer sur [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer le rinçage en appuyant sur [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 [Insert IDs]. Suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA pour saisir les données requises.
- Charger les plaques et le chemagic Tips 96 Tray sur les positions 1-7 du tracking system 1-7 comme suit.  
(Les numéros sur le tracking sytem font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D).

Position sur le tracking system	Matériel en position	Détails de l'étape du protocole
1	chemagic Tips 96 Tray	Utiliser les embouts jetables en fonction de la position des échantillons et placer les chemagic Tips 96 Tray.  <b>REMARQUE: Les embouts doivent être présentes dans le plateau en rangées complètes.</b>
2	chemagic Low Well Plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter 150 µL de Magnetic Beads soigneusement remises en suspension dans chaque puits utilisé conformément à la plaque d'échantillons et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Le Binding Buffer 2 est distribué automatiquement dans la plaque.
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 3 est distribué automatiquement dans la plaque.
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 4 est distribué automatiquement dans la plaque.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 5 est distribué automatiquement dans la plaque.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL avec 50-100 µL de Elution Buffer 6	Pipeter (50-100 µL) l'Elution Buffer 6 dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.

- Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
- Lorsque toutes les plaques sont en place, appuyez sur [OK].
- Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon sera ensuite mélangé automatiquement.
- Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1-7 du tracking system.
- Une fois que toutes les plaques sont en place, sélectionnez le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**", marquez les colonnes utilisées sur la carte des plaques dans le dialogue et lancez directement le cycle d'extraction en appuyant sur [Start].
- Une fois la procédure d'isolement terminée, utilisez le bouton [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

**ATTENTION! Ne jamais déplacer le tracking system (table) manuellement. Cela pourrait endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués à l'aide de la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic 360-D pendant que l'extraction automatisée est en cours met fin à l'opération et les échantillons en cours de traitement peuvent être perdus.**

## 15. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Lors de l'utilisation de ce kit d'extraction avec le Revvity SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay (numéro de catalogue : COVID-19-PCR-AUS-C), les données de limite de détection (limit of detection ; LoD) suivantes (voir ci-dessous, sections 15.1 à 15.4) ont été rapportées (données générées par Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. No. 115, North Taiping Road, Taicang, Jiangsu Province, China).

Lors de l'utilisation de ce kit d'extraction avec le EURORealTime SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay (REF MP 2606-0110), les données LoD suivantes (voir ci-dessous, section 15.5) ont été rapportées par EUROIMMUN (une société Revvity).

### 15.1 LOD UTILISANT L'INSTRUMENT 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 Revvity 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.

Facteur de dilution	Échantillon oropharyngé						
	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:** Taux de détection de 95 % prédit par Probit à l'aide d'écouvillons oropharyngés contaminés par le SARS-CoV-2 (isolat 2/231/humain/2020/CHN) sur l'instrument chemagic 360-D.

Probit prédit 95% taux de détection (copies/mL)	
N	ORF1ab
19.08 (95% CI: 14.50 - 37.12)	7.14 (95% CI: 5.34 - 24.00)

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

Écouvillon nasopharyngé							
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:** Taux de détection de 95 % prédit par Probit à l'aide d'écouvillons nasopharyngés contaminés par le SARS-CoV-2 (isolat 2/231/humain/2020/CHN) sur l'instrument chemagic 360-D.

Probit prédit 95% taux de détection (copies/mL)	
N	ORF1ab
26.44 (95% CI: 18.34 – 69.51)	8.32 (95% CI: 5.83 – 20.69)

## 15.2 VERIFICATION DE LA 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 répliquats 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 Revvity 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 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

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

Afin d'étendre l'utilisation du test Revvity SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay aux Applied Biosystems 7500 Fast / QuantStudio™ 3 / QuantStudio™ 5 Real-Time PCR systèmes et au qTOWER3 / qTower3 84 Real-Time PCR système 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 réplicats individuels d'extraction ont été testés sur chaque plateforme d'instrument PCR conformément au manuel d'utilisation. Les tests sur le original Applied Biosystems 7500 PCR système 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 du 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)	
qTour <sup>3</sup>	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 <sup>3</sup> 84	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)	

## 15.4 VERIFICATION DE LA LOD DANS LA MATRICE DE SALIVE EN ARRIERE-PLAN

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 réplicats 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

## 15.5 LOD - SENSIBILITE ANALYTIQUE SUR DIFFERENTES PCR

Les études sur la limite de détection déterminent la plus faible concentration détectable de SARS-CoV-2 à laquelle environ 95 % de tous les réplicats (vrais positifs) se révèlent positifs.

Tout d'abord, une LD provisoire a été déterminée en testant 5 à 7 dilutions en série préparées en dopant un virus recombinant contenant l'ARN du SARS-CoV-2 (Seracare, AccuPlex™ SARS-CoV-2 Reference Material ; 5000 copies/mL) dans une matrice d'écouvillon oropharyngé négative pour le SARS-CoV-2. Chaque dilution a été testée avec 3 réplicats d'extraction individuels. La LD provisoire a été déterminée comme étant de 150 copies/mL.

La LD provisoire a été confirmée en testant 21 réplicats de matrice d'écouvillon oropharyngé négative dopée indépendamment avec le matériau de référence AccuPlex et extraite avec le kit CMG-1033 chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sur l'instrument chemagic 360-D. Les réplicats ont été testés sur le LightCycler 480 II de Roche. Les réplicats ont été testés sur le LightCycler 480 II de Roche. La LD finale pour toutes les méthodes d'extraction a été déterminée comme étant de 150 copies/mL. La LD 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 qTOWER<sup>3</sup> cyclers en utilisant la même procédure que celle décrite ci-dessus. La LD a été confirmée en testant 21 réplicats 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 %
Analytik Jena qTOWER <sup>3</sup>	21	20	37.25	21	28.49	95 %

## 16. DESCRIPTION DÉTAILLÉE DU PROTOCOLE DE 31 MINUTES

### 16.1 PROCÉDURE PROTOCOLE DE 31 MINUTES (TESTÉ UNIQUEMENT AVEC L'ISOLEMENT DU SARS-COV-2)

La procédure suivante décrit la préparation et l'exécution du protocole d'extraction à l'aide de 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 la section "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.

**REMARQUE: Les échantillons et les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+19 à +25 °C) avant d'être utilisés.**

Connecter les flacons de réactifs à l'instrument chemagic 360-D comme suit:

Pompe	Tampon
Pompe 1	Pas de flacon connectée
Pompe 2	Binding Buffer 2
Pompe 3	Pas de flacon connectée
Pompe 4	Wash Buffer 4
Pompe 5	Wash Buffer 5
Pompe 6	Pas de flacon connectée

**REMARQUE: Refermer fermement les flacons immédiatement après utilisation ou maintenir les flacons fermement connectés à l'instrument chemagic 360-D. Le Binding Buffer 2 et le Wash Buffer 4 contiennent de l'éthanol. Si l'éthanol s'évapore, le rendement optimal ou la sensibilité de détection ne peuvent être garantis.**

## 16.2 ÉTAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifiez l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contactez votre fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque avec le matériel en place (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A) RNA:

Composant	Reconstitution
Proteinase K	Ajouter 11 mL d'eau de qualité biologie moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à dissolution.
Poly(A) RNA	Ajouter 440 µL de Poly(A) RNA Buffer au tube de Poly(A) RNA et mélanger soigneusement jusqu'à dissolution.

4. Si le Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou le stockage), 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 [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer 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].

**REMARQUE: 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, sélectionnez le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" et appuyez 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. Lorsque vous effectuez plusieurs cycles par jour, il n'est nécessaire de vérifier les pompes qu'une seule fois au début de la journée.

7. Sélectionner le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**" et appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic QA.
8. S'assurer que le chemagic Tips 96 Tray contient suffisamment de pointes et qu'il est aligné sur les positions des échantillons et placer le chemagic Tips 96 Tray en position 1 sur le système de repérage.
9. Vérifier les volumes dans les récipients d'approvisionnement en tampon et confirmer en appuyant sur [OK].

**REMARQUE: Veillez à ce que tous les flacons de 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. Sélectionnez le nombre d'échantillons à pré-remplir à l'aide du menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons sera affiché après la sélection. Veillez à utiliser les positions données. Confirmez 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 échantillons provenant d'écouvillons séchés doivent être liquéfiés avant utilisation.**

12. Remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads soigneusement remises en suspension en pipetant manuellement en fonction de chaque puits correspondant utilisé.

Composant	Position de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D	Volume/ puits
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50-100 µL

**REMARQUE: La suspension de Magnetic Beads doit être mélangée vigoureusement avant d'être distribuée, sinon la suspension n'est pas homogène et le rendement en ADN/ ARN pourrait être faible.**

13. Ajouter les réactifs suivants aux puits contenant l'échantillon:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL de Proteinase K et ensuite
- 300 µL Lysis Buffer 1.

Il est possible de pré-mélanger de Poly(A) RNA, la Proteinase K et le 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'activité de la Proteinase K diminue après une incubation de plus de 10 minutes dans Lysis Buffer 1. S'assurer que tous les échantillons sont mélangés avec le Poly(A) RNA/ Lysis Buffer 1/ Proteinase K dans cet intervalle de temps.**

14. Placer les chemagic Deep Well Plates 2 mL sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic QA.

15. Placer la plaque d'échantillon en position 3 sur le tracking system.

16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.

17. Fermez la porte avant et démarrez le processus en appuyant sur [Start].

18. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ ARN est lancé.

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

**ATTENTION! Ne jamais déplacer le tracking system (table) manuellement. Cela peut endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués avec la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: 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.**

Pour plus d'informations sur le nettoyage de l'instrument, voir la section "NETTOYAGE ET ENTRETIEN".



### 16.3 DESCRIPTION SUCCINCTE/ GUIDE RAPIDE

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

- Sélectionner le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" pour rincer la tubulure avant de commencer l'extraction automatisée.
- Appuyer sur [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer le rinçage en appuyant sur [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 et le chemagic Tips 96 Tray sur les positions 1-7 du tracking system 1-7 comme suit.  
(Les numéros sur le tracking sytem font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D).

Position sur le tracking system	Matériel en place	Détails de l'étape du protocole
1	chemagic Tips 96 Tray	Utiliser les embouts jetables en fonction de la position des échantillons et placer les chemagic Tips 96 Tray.  <b>REMARQUE: Les embouts doivent être présentes dans le plateau en rangées complètes.</b>
2	chemagic Low Well Plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter 150 µL de Magnetic Beads soigneusement remises en suspension dans chaque puits utilisé conformément à la plaque d'échantillons et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Le Binding Buffer 2 est distribué automatiquement dans la plaque.
4	vide	-
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 4 est distribué automatiquement dans la plaque.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 5 est distribué automatiquement dans la plaque.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL avec 50-100 µL de Elution Buffer 6	Pipeter (50-100 µL) l'Elution Buffer 6 dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.

- Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
- Lorsque toutes les plaques sont en place, appuyez sur [OK].
- Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon sera ensuite mélangé automatiquement.
- Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1-7 du tracking system.
- Une fois que toutes les plaques sont en place, sélectionnez le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**", marquez les colonnes utilisées sur la carte des plaques dans le dialogue et lancez directement le cycle d'extraction en appuyant sur [Start].
- Une fois la procédure d'isolement terminée, utilisez le bouton [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

**ATTENTION ! Ne jamais déplacer le tracking system (table) manuellement. Cela pourrait endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués à l'aide de la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic 360-D pendant que l'extraction automatisée est en cours met fin à l'opération et les échantillons en cours de traitement peuvent être perdus.**

#### 16.4 NOTES PROTOCOLE DE 31 MINUTES (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC L'ISOLEMENT DU 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 Revvity; kit utilisé selon les instructions du fabricant) exécutée sur un système de Real-Time PCR 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.

## 17. DESCRIPTION DÉTAILLÉE DU PROTOCOLE DE 18 MINUTES

### 17.1 PROCÉDURE PROTOCOLE DE 18 MINUTES (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC L'ISOLEMENT DU SARS-COV-2)

La procédure suivante décrit la préparation et l'exécution du protocole d'extraction à l'aide de 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 la section "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.

**REMARQUE: 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	Tampon
Pompe 1	Pas de flacon connectée
Pompe 2	Binding Buffer 2
Pompe 3	Pas de flacon connectée
Pompe 4	Wash Buffer 4
Pompe 5	Wash Buffer 5
Pompe 6	Pas de flacon connectée

**REMARQUE: Refermer fermement les flacons immédiatement après utilisation ou maintenir les flacons fermement connectés à l'instrument chemagic 360-D. Le Binding Buffer 2 et le Wash Buffer 4 contiennent de l'éthanol. Si l'éthanol s'évapore, le rendement optimal ou la sensibilité de détection ne peuvent être garantis.**

## 17.2 ÉTAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifiez l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contactez votre fournisseur.
2. Avant de pré-remplir les plaques, marquer chaque plaque avec le matériel en place (échantillons, Magnetic Beads et tampons).
3. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A) RNA:

Composant	Reconstitution
Proteinase K	Ajouter 11 mL d'eau de qualité biologique moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à dissolution.
Poly(A) RNA	Ajouter 440 µL de Poly(A) RNA Buffer au tube de Poly(A) RNA et mélanger soigneusement jusqu'à dissolution.

4. Si le Lysis Buffer 1 contient un précipité (formé pendant le transfert ou le stockage), 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 [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer 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].

**REMARQUE: 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, sélectionnez le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" et appuyez 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. Lorsque vous effectuez plusieurs cycles par jour, il n'est nécessaire de vérifier les pompes qu'une seule fois au début de la journée.

7. Sélectionner le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**" et appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic QA.
8. S'assurer que le chemagic Tips 96 Tray contient suffisamment de pointes et qu'il est aligné sur les positions des échantillons et placer le chemagic Tips 96 Tray en position 1 sur le système de repérage.
9. Vérifier les volumes dans les récipients d'approvisionnement en tampon et confirmer en appuyant sur [OK].

**REMARQUE: Veillez à ce que tous les flacons de 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. Sélectionnez le nombre d'échantillons pour le pré-remplissage en utilisant le menu déroulant. Le schéma de positionnement des échantillons s'affiche après la sélection. Veillez à utiliser les positions données. Confirmez en appuyant sur [OK].
11. Remplir au préalable les puits sélectionnés de la plaque d'échantillon avec 300 µL d'échantillon. Pour assurer l'homogénéité des échantillons, mélanger doucement les échantillons avant de les pipeter sur la plaque d'échantillon.

**REMARQUE: Les échantillons provenant d'écouvillons séchés doivent être liquéfiés avant utilisation.**

12. Remplir l'Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads soigneusement remises en suspension en pipetant manuellement en fonction de chaque puits correspondant utilisé.

Composant	Position de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D	Volume/ puits
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50-100 µL

**REMARQUE: La suspension de Magnetic Beads doit être mélangée vigoureusement avant d'être distribuée, sinon la suspension n'est pas homogène et le rendement en ADN/ ARN pourrait être faible.**

13. Ajouter les réactifs suivants aux puits contenant l'échantillon:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL de Proteinase K et ensuite
- 300 µL Lysis Buffer 1.

Il est possible de pré-mélanger de Poly(A) RNA, la Proteinase K et le 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'activité de la Proteinase K diminue après une incubation de plus de 10 minutes dans Lysis Buffer 1. S'assurer que tous les échantillons sont mélangés avec le Poly(A) RNA/ Lysis Buffer 1/ Proteinase K dans cet intervalle de temps.**

14. Placer les chemagic Deep Well Plates 2 mL sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic QA.

15. Placer la plaque d'échantillon en position 3 sur le tracking system.

16. Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.

17. Fermez la porte avant et démarrez le processus en appuyant sur [Start].

18. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ARN est lancé.

19. Une fois la procédure d'isolement terminée, utilisez le bouton [Turn Table] pour décharger le système de repérage. Chaque clic sur [Turn Table] déplace le système de suivi (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

**ATTENTION! Ne déplacez jamais le système de suivi (table) manuellement. Cela pourrait endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués à l'aide de la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic 360-D pendant que l'extraction automatisée est en cours met fin à l'opération et les échantillons en cours de traitement peuvent être perdus.**

Pour plus d'informations sur le nettoyage de l'instrument, voir la section "NETTOYAGE ET ENTRETIEN".



### 17.3 DESCRIPTION SUCCINCTE/ GUIDE RAPIDE

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

- Sélectionner le protocole "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" pour rincer la tubulure avant de commencer l'extraction automatisée.
- Appuyer sur [Insert IDs], suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA et lancer le rinçage en appuyant sur [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 et le chemagic Tips 96 Tray sur les positions 1-7 du tracking system 1-7 comme suit.  
(Les numéros sur le tracking sytem font référence au positionnement de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D).

Position sur le tracking system	Matériel en position	Détails de l'étape du protocole
1	chemagic Tips 96 Tray	Utiliser les embouts jetables en fonction de la position des échantillons et placer les chemagic Tips 96 Tray.  <b>REMARQUE: Les embouts doivent être présentes dans le plateau en rangées complètes.</b>
2	chemagic Low Well Plate avec 150 µL de Magnetic Beads	Pipeter 150 µL de Magnetic Beads soigneusement remises en suspension dans chaque puits utilisé conformément à la plaque d'échantillons et placer la plaque.
3	Plaque d'échantillonnage (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (300 µL d'échantillon, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL de Proteinase K et 300 µL de Lysis Buffer 1). Le Binding Buffer 2 est distribué automatiquement dans la plaque.
4	vide	-
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 4 est distribué automatiquement dans la plaque.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 5 est distribué automatiquement dans la plaque.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL avec 50-100 µL de Elution Buffer 6	Pipeter (50-100 µL) l' Elution Buffer 6 dans chaque puits utilisé en fonction de la position des échantillons et placer la plaque.

- Vérifier la bonne orientation et l'ajustement de toutes les plaques.
- Lorsque toutes les plaques sont en place, appuyez sur [OK].
- Fermer la porte avant et lancer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon sera ensuite mélangé automatiquement.
- Si les fonctions permettant la saisie des données d'identification sont désactivées, charger les plaques sur les positions 1-7 du tracking system.
- Une fois que toutes les plaques sont en place, sélectionnez le protocole "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**", marquez les colonnes utilisées sur la carte des plaques dans le dialogue et lancez directement le cycle d'extraction en appuyant sur [Start].
- Une fois la procédure d'isolement terminée, utilisez le bouton [Turn Table] pour décharger le tracking system. Chaque clic sur [Turn Table] déplace le tracking system (table) d'une position dans le sens des aiguilles d'une montre.

**ATTENTION ! Ne jamais déplacer le tracking system (table) manuellement. Cela pourrait endommager l'instrument. Tous les mouvements doivent être effectués à l'aide de la fonction [Turn Table].**

**REMARQUE: L'ouverture de la porte de l'instrument chemagic 360-D pendant que l'extraction automatisée est en cours met fin à l'opération et les échantillons en cours de traitement peuvent être perdus.**

#### **17.4 NOTES DE PERFORMANCE DU PROTOCOLE DE 18 MINUTES (UNIQUEMENT TESTÉ AVEC L'ISOLEMENT DU 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.). Les performances de la qPCR ont été testées avec la qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, une société Revvity; kit utilisé conformément aux instructions du fabricant) sur un système de Real-Time PCR QuantStudio 5 (96 puits, 0.2 ml, ordinateur de bureau, 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 Revvity. 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.

## 18. NETTOYAGE ET ENTRETIEN

Le nettoyage et l'entretien du système sont décrits en détail dans le manuel de l'utilisateur du chemagic 360-D. Le nettoyage du système est effectué une fois par semaine. Nettoyez le chemagic Dispenser comme suit.

- Sélectionnez le protocole "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" et appuyez sur [Insert ID] ou [Start] si les fonctions avancées sont désactivées. Suivez les instructions données dans le logiciel.
- Avant la prochaine utilisation du chemagic Dispenser, exécutez le protocole d'amorçage approprié.
- Le nettoyage du chemagic Dispenser avec de l'éthanol à 70 % est recommandé une fois par mois. Pour ce faire, utilisez la "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**" au lieu de la procédure habituelle.
- Si le chemagic Dispenser n'est pas utilisé pendant une période prolongée, il est obligatoire d'appliquer la "procédure de nettoyage régulière" pour maintenir les performances de l'instrument lors de sa remise en service.

## 19. APPLICATIONS EN AVAL

### 19.1 APPLICATIONS EN AVAL TESTEES AVEC L'EXTRACTION DU SARS-COV-2

Les applications en aval suivantes ont été réalisées avec succès et décrites dans la littérature après l'isolement des échantillons de SARS-CoV-2 à l'aide du kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033-S).

**Tableau 10:** Applications en aval testées avec l'extraction du SARS-CoV-2.

Application en aval	Kits	Référence
RT-qPCR	TaqPath COVID-19 Combo kit (Applied Biosystems™)	Barrett <i>et al.</i> BMC Infectious Diseases (2020) 20:853 <a href="https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2">https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2</a>
		Radbel <i>et al.</i> Journal of Molecular Diagnostics (2020) Volume 22, Issue 7, 871-875 <a href="https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209">https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209</a>
	SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ TaqDNA Polymerase (ThermoFisher)	Streeck <i>et al.</i> Nat Commun (2020) 11, 5829 <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y">https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y</a>
RT-qPCR	virella SARS-CoV-2 seqc rRT-PCR kit (Gerbion)	Wandernoth <i>et al.</i> Viruses (2020) 12:849 <a href="https://doi:10.3390/v12080849">https://doi:10.3390/v12080849</a>
	2019-nCoV CDC EUA kit (IDT)	Xie <i>et al.</i> Processes (2020) 8(11), 1425 <a href="https://doi.org/10.3390/pr8111425">https://doi.org/10.3390/pr8111425</a>
	SARS-CoV-2 real-time RT-PCR assay CE-IVD (Revvity)	Klussmeier <i>et al.</i> Biospektrum (2020) 26, 500-503 <a href="https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1">https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1</a>
	NeoPlex COVID-19 kit (Gene Matrix)	Senok <i>et al.</i> Infect Drug Resistance (2020) 13, 3393-3399 <a href="https://doi.org/10.2147/IDR.S275152">https://doi.org/10.2147/IDR.S275152</a>

Application en aval	Kits	Référence
RT-qPCR	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) <b>1</b> , 10-15 <a href="https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035">https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035</a>
	<ol style="list-style-type: none"> <li>1) TRUPCR SARS-CoV-2 (Black Bio Biotech)</li> <li>2) TaqPath RT-PCR COVID-19 kit (ThermoFisher)</li> <li>3) Allplex 2019-nCoV Assay (Seegene)</li> <li>4) Patho detect COVID-19 qualitative PCR kit (My Lab)</li> <li>5) LabGun COVID-19 RT-PCR Kit</li> <li>6) Fosun COVID-19 RT-PCR detection kit (Fosun Ltd)</li> <li>7) Realtime Fluorescent RT-PCR kit (BGI Genomics)</li> </ol>	Garg <i>et al.</i> Journal of Medical Virology (2021) <b>93</b> , 2281-2286 <a href="https://doi.org/10.1002/jmv.26691">https://doi.org/10.1002/jmv.26691</a>
	Ligh™ix® Sarbeco V E-gene plus controle EAV (TIB MolBiol) LightCycler® Multiplex RNA Virus Master (Roche)	Kriegshäuser <i>et al.</i> Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) (2021) <b>9</b> , 351-353 <a href="https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078">https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078</a>
Séquençage	ARTIC V3 protocol	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) <b>1</b> , 10-15 <a href="https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035">https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035</a>

Application en aval	Kits	Référence
Séquençage	ARTIC V3 protocol	Jonsson <i>et al.</i> Nature Communications (2021) <b>12</b> , 3633 <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6">https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6</a>
		Tegally <i>et al.</i> Nature Medicine (2021) <b>27</b> , 440-446 <a href="https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3">https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3</a>
	<p><b>Synthèse de l'ADNc:</b> LunaScript RT Super Mix kit (New England Biolabs), SuperScriptIV (ThermoFisher)</p> <p><b>Préparation de la bibliothèque:</b> SureSelectXT Low Input kit CoVHuman6X enrichment capture-based method (Agilent Technologies)</p> <p>ARTIC tiled amplicon multiplex PCR protocol (v3) + NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs)</p>	Ellingford <i>et al.</i> eLife (2021) <b>10</b> , 65453 <a href="https://doi.org/10.7554/eLife.65453">https://doi.org/10.7554/eLife.65453</a>



## 19.2 APPLICATION EN AVAL TESTEE AVEC L'EXTRACTION DU SARS-COV-2, DE LA GRIPPE A ET B ET DU VRS

L'application en aval suivante a été réalisée avec succès et décrite dans l'instruction d'utilisation après l'isolement des échantillons de SARS-CoV-2, d'Influenza A et B et de RSV avec le kit chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (IVD-1033-S).

**Tableau 11:** Application en aval testée avec l'extraction du SARS-CoV-2, de la grippe A et B et du VRS.

Application en aval	Kits	Référence
RT-qPCR	RT-PCR <i>direct</i> res4plex, FRIZ Biochem	Instruction d'utilisation, res4plex <i>direct</i> RT-PCR, FRIZ Biochem <a href="https://frizbiochem.de/wp-content/uploads/2022/07/FBC107_IFU_EN_V1.0.pdf">https://frizbiochem.de/wp-content/uploads/2022/07/FBC107_IFU_EN_V1.0.pdf</a>

## 20. AUTRES QUESTIONS

Pour d'autres applications, des questions techniques ou des informations supplémentaires sur la manière dont les données ont été générées, veuillez contacter [support.chemagen@revvity.com](mailto:support.chemagen@revvity.com) ou +49 (0) 2401805500.

## 21. LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les dispositifs de prélèvement suivants **ne sont pas recommandés** pour l'utilisation du chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Pour plus d'informations, veuillez contacter [support.chemagen@revvity.com](mailto:support.chemagen@revvity.com).

**Tableau 12:** Dispositifs de collecte dont l'utilisation est déconseillée.

Description	Marque	Numéro de 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 collecte et de conservation des virus inactivé	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co. Ltd.	KJ502-19C/D

Les caractéristiques de performance de ces produits n'ont pas été établies.

Le kit IVD-1033-S est validé pour l'extraction d'ADN et d'ARN à partir de plasma humain, de salive et d'écouvillons naso- ou oropharyngés. D'autres échantillons peuvent être compatibles mais n'ont pas été validés.



## 22. GARANTIE

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

Revvity chemagen Technologie GmbH, ses affiliés et ses distributeurs autorisés, dans un tel cas, ne seront pas responsables des dommages indirects ou consécutifs.

Novembre 2023

[www.revvity.com](http://www.revvity.com)

revvity