

MANUEL D'UTILISATION

Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit

**Numéro de
produit:**

IVD-2017

Réactifs pour 180 extractions.

UDI-DI:

4260543364281

Version:

V231024 FR 

Fabricant:

Revvity chemagen Technologie GmbH

Arnold-Sommerfeld-Ring 2

52499 Baesweiler, Allemagne

www.revvity.com

CE

DESTINÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

1. TABLE DES MATIERES

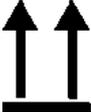
1.	Table des matières	1
2.	Explication des mots de signalisation dans cette instructions d'utilisation	3
3.	Symboles utilisés dans l'IFU et sur les étiquettes	3
4.	Application	5
5.	Résumé et principe.....	5
6.	Signalement des incidents.....	6
7.	Informations générales et de stockage	7
8.	Manuel d'utilisation 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.	Fichier des protocoles requis	19
12.	Matériel nécessaire mais non fourni avec le kit	19
12.1	Articles de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	19
12.2	Autres éléments requis	19
12.3	Autres articles optionnels de Revvity chemagen Technologie GmbH.....	19
12.4	Autres éléments optionnels supplémentaires	20
13.	Collecte et manipulation des échantillons.....	21
14.	Description détaillée du protocole.....	22
14.1	Procédure de protocole.....	22
14.2	Positionnement	23
14.3	Étapes de traitement.....	23
14.4	Description succincte/ Guide rapide.....	26
15.	Caractéristiques de performance.....	28

15.1	LoD utilisant l'instrument chemagic Prepito pour l'extraction et les systèmes Roche lightcycler 480 II, Applied Biosystems™ 7500 FAST, Bio-Rad cfx touch et analytik jena qtower ³ PCR Systems.	28
16.	Nettoyage et entretien	29
17.	Applications en aval	30
18.	Autres questions	31
19.	Limites de la procédure	31
20.	Garantie	32

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

Mot signal	Description
PRUDENCE!	Risque potentiel pouvant entraîner des dommages légers ou moyens.
REMARQUE:	Des erreurs commises par l'opérateur peuvent faire que les performances optimales du kit ne soient pas garanties.

3. SYMBOLES UTILISES DANS L'IFU 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 électronique		Quantité
	Fabricant		Ne pas réutiliser
	Code du lot		Traduction
	Numéro de catalogue		Date limite d'utilisation
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter le mode d'emploi		Par ici

Symbole	Titre du symbole	Symbole	Titre du symbole
	GHS02		Marchandises dangereuses: Classe 3 Liquide inflammable
	GHS07		Marchandises dangereuses: Classe 8 Matières corrosives
	GHS08		

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

4. APPLICATION

Le Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit doit être utilisé pour l'extraction et la purification automatisées d'ADN et d'ARN à partir de plasma humain, de salive et d'écouvillons naso- ou oropharyngés à l'aide de l'instrument chemagic™ Prepito ou de l'instrument chemagic™ Prepito-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 Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit et l'instrument chemagic Prepito /-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 Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit 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 humain, de salive et d'écouvillons naso- 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 Prepito ou chemagic Prepito-D.

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 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 GENERALES ET DE STOCKAGE

Le kit contient une quantité de réactifs suffisante pour effectuer 180 extractions.

La date de péremption du kit non ouvert est indiquée sur l'étiquette extérieure. N'utiliser aucun 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.

Les bouteilles peuvent se décolorer pendant le stockage. La décoloration des bouteilles 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 2x12), 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 Prepito (chemagic Prepito User Manual). Ce manuel est fourni avec l'instrument chemagic Prepito/-D.

Le fichier de protocole relatifs au kit sera fourni par Revvity chemagen Technologie GmbH (voir la section "FICHER DES 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/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/>.

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, 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 Prepito/-D.

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

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.

Vérifier 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.

Le Lysis Buffer 1 contient du thiocyanate de guanidinium et est nocif en cas d'ingestion, de contact avec la peau ou d'inhalation. Le Binding Buffer 2 et le Wash Buffer 3 contiennent du perchlorate de sodium et de l'éthanol et sont des liquides et des vapeurs inflammables et nocifs en cas d'ingestion. Le Wash Buffer 4 contient de l'éthanol et est un liquide et une vapeur inflammable. La Proteinase K contient de la sérine protéinase 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. Le 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 Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit 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 bouteille contenue dans le chemagic 8-Pack	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du 8-Pack. 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 contenue dans le chemagic 8-Pack	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du 8-Pack. 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 contenue dans le chemagic 8-Pack	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du 8-Pack. 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 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 contenue dans le chemagic 8-Pack	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du 8-Pack. 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 flacon en verre (lyophilisée)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon. 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 2.5 mL d'eau purifiée. La Proteinase K est ajoutée accroître l'efficacité de l'étape de lyse.

PRUDENCE! La Proteinase 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	2 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	2 tubes (volume voir étiquette)	+2 à +25 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du tube.

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 Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit contient le matériel plastique suivant.

Composant	Quantité	Stockage
chemagic Tips S	180	+2 à +25 °C
Prepito Tubes M	360	+2 à +25 °C
Prepito Tubes M Cap Stripes (8 bouchons/ bande)	23	+2 à +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	15	+2 à +25 °C

11. FICHER DES PROTOCOLES REQUIS

Le fichier de protocole suivant sera fourni par Revvity chemagen Technologie GmbH et est déjà préinstallé sur le chemagic Prepito/-D, disponible sur la page web ou sera fourni par le service d'assistance à la clientèle.

Protocole (fichier.che)	Type de protocole/ objectif
031.che (nom du protocole: Viral DNA/RNA dipping, VD 230515)	Fichier d'extraction lié au kit pour l'instrument chemagic Prepito/-D

12. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI AVEC LE KIT

Le Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit nécessite les éléments suivants.

12.1 ARTICLES DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Objet	Numéro de produit
chemagic Prepito instrument	2022-0030
chemagic Prepito-D instrument	2022-0020

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 Prepito/-D

12.3 AUTRES ARTICLES OPTIONNELS DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Produit	Numéro de produit
chemagic Stand 2x12	CMG-300

12.4 AUTRES ELEMENTS OPTIONNELS SUPPLEMENTAIRES

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 chemagic Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit est utilisable avec du plasma humain frais et congelé, stabilisé avec de l'EDTA ou du citrate à provenir 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 exemple 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 6 heures maximum. Pour une conservation à long terme, il est recommandé de congeler les 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 utilisée 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 19 du protocole d'extraction et passer à l'étape 20.

14. DESCRIPTION DÉTAILLÉE DU PROTOCOLE

14.1 PROCÉDURE DE PROTOCOLE

La procédure suivante décrit la préparation et l'exécution du protocole d'extraction à l'aide de l'instrument chemagic Prepito/-D.

La durée du protocole d'extraction automatisé est d'environ 39 minutes.

Le protocole permet de traiter jusqu'à 12 échantillons en parallèle (voir "ÉTAPES DE TRAITEMENT").

Pour des instructions détaillées sur l'utilisation de l'instrument chemagic Prepito/-D, se reporter au manuel d'utilisation du chemagic Prepito/-D.

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

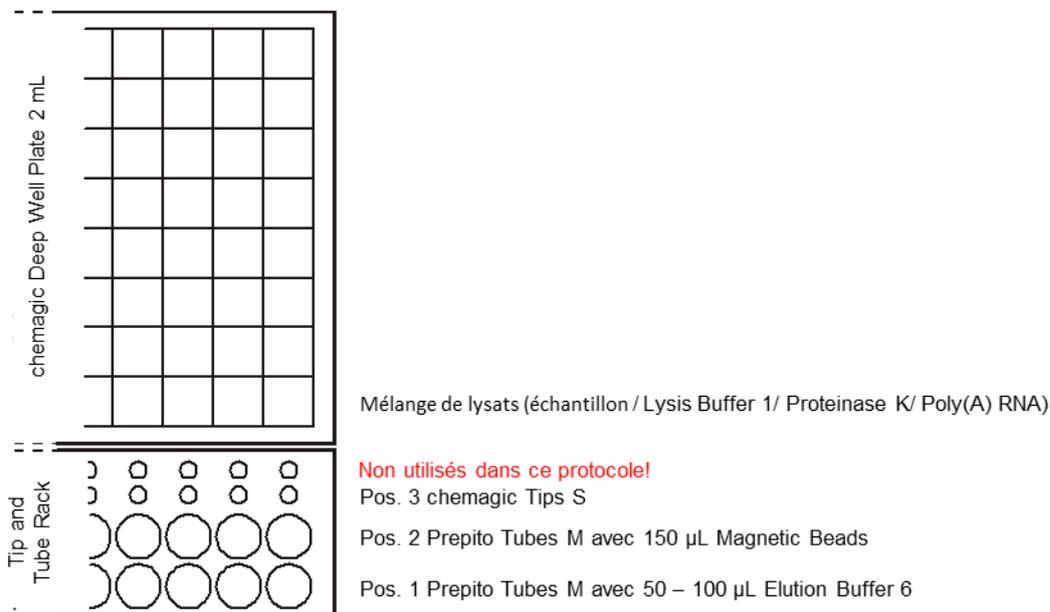
Connecter les tubes selon leur numérotation aux contreparties respectives (voir ci-dessous) dans le chemagic 8-Pack. Retirer les couvercles des différents flacons de tampon du chemagic 8-Pack et percer le septum à l'aide de la pointe placée à l'extrémité de chaque tube. Placer le chemagic 8-Pack à l'envers sur le support de réactifs et utiliser la fonction d'amorçage manuel pour un remplissage complet du système de distribution.

Connecter les tubes comme suit:

Pompe	Tampon	Numéro de 8-Pack
Pompe 1	Pas de bouteille connectée	-
Pompe 2	Binding Buffer 2	2
Pompe 3	Wash Buffer 3	3
Pompe 4	Wash Buffer 4	4
Pompe 5	Wash Buffer 5	5
Pompe 6	Pas de bouteille connectée	-

14.2 POSITIONNEMENT

Voir "ÉTAPES DE TRAITEMENT" pour des informations détaillées.



14.3 ÉTAPES DE TRAITEMENT

1. Vérifiez l'intégrité de tous les composants du kit. En cas de dommage, contactez votre fournisseur.
2. Reconstituer les composants Proteinase K et Poly(A) RNA:

Composant	Reconstitution
Proteinase K	Ajouter 2.5 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.

3. 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.
4. Allumer le chemagic Prepito/-D et attendre la fin de l'autotest.
5. Appuyer sur [Change Protocol].

6. Appuyez sur [Serum/Plasma] dans la fenêtre "Select Protocol Group".
7. Sélectionner le protocole du Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit en appuyant sur [Viral DNA/RNA300] et confirmer en appuyant sur [OK].
8. Confirmez la sélection du protocole dans la fenêtre "Select Protocol Group" en appuyant sur [OK].
9. Saisissez le code d'accès à 4 chiffres [2364] pour l'autorisation et confirmez en appuyant sur [enter].
10. Appuyez sur [Start process].
11. Lire les informations sur le protocole dans l'écran d'information sur l'apparition.
12. Confirmez en appuyant sur [continue].
13. Sélectionnez les positions de l'échantillon et confirmez en appuyant sur [continue].
14. Saisissez le code-barres du kit à l'aide du lecteur de codes-barres et confirmez en appuyant sur [OK].
15. Pour l'enregistrement des échantillons et des tubes d'élution, appuyez sur [yes] et suivez les instructions de l'écran tactile pour saisir les codes-barres correspondants.
16. Préparer le Prepito Tip and Tube Rack avec le matériel nécessaire et placer une chemagic Tip S en position 3 pour chaque échantillon conformément aux positions des échantillons (voir section "POSITIONNEMENT").
17. Placer deux Prepito Tubes M, un en position 1 et un en position 2, et pré-remplir le Elution Buffer 6 et les Magnetic Beads soigneusement remises en suspension en pipetant manuellement en fonction de chaque puits utilisé (voir aussi la section "POSITIONNEMENT") comme suit:

Composant	Position dans le rack de tubes et d'embouts	Volume/ tube
Elution Buffer 6	1	50 - 100 µL
Magnetic Beads	2	150 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.

18. Ajouter les réactifs suivants dans la position échantillon de la chemagic Deep Well Plate 2 mL définie comme puits échantillon (Pos. "Mélange de lysats", voir section "POSITIONNEMENT").
 - 4 µL Poly(A) RNA et
 - 10 µL Proteinase K.
19. Ajouter 300 µL d'échantillon et 300 µL de Lysis Buffer 1 dans le puits rempli de Poly(A) RNA et de Proteinase K.

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

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.

20. Un écran d'information indique les positions d'échantillon précédemment sélectionnées. Assurez-vous que les positions de l'échantillon dans la chemagic Deep Well Plates 2 mL correspondent aux positions sélectionnées.
21. Placer la chemagic Deep Well Plates 2 mL sur sa position par défaut sur le tracking system et appuyer sur [continue].
22. Placer le Prepito Tip and Tube Rack dans sa position par défaut sur le tracking system.
23. Vérifier l'orientation et l'ajustement exacts de la chemagic Deep Well Plate 2 mL et du Prepito Tip and Tube Rack et verrouiller les deux en fermant le loquet de sécurité.
24. Fermez la porte avant et démarrez le processus en appuyant sur [Start]. Le processus automatisé d'extraction d'ADN/ ARN est lancé.

14.4 DESCRIPTION SUCCINCTE/ GUIDE RAPIDE

Extraction automatisée d'ADN/ ARN sur l'instrument chemagic Prepito/-D :

- Appuyez sur [Change Protocol] et sélectionnez [Serum/Plasma] dans la fenêtre "Select Protocol Group".
- Sélectionner le protocole du Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit en appuyant sur [Viral DNA/RNA300].
- Confirmez en appuyant sur [OK] et saisissez le code d'accès à 4 chiffres [2364] pour l'autorisation et confirmez en appuyant sur [Enter].
- Appuyez sur [Start process], sélectionnez les positions des échantillons et confirmez en appuyant sur [OK].
- Saisissez le code-barres du kit à l'aide du lecteur de codes-barres et confirmez en appuyant sur [OK].
- Pour l'enregistrement des échantillons et des tubes d'élution, appuyez sur [Yes] et suivez les instructions de l'écran tactile pour saisir les codes-barres correspondants.
- Charger le Prepito Tip and Tube Rack et la plaque d'échantillon comme suit:

Matériau (position)	Les étapes du protocole en détail
Prepito Tip and Tube Rack position 1	Pipeter (50 - 100 µL) le Elution Buffer 6 dans chaque Prepito Tube M utilisé en fonction de la plaque d'échantillon.
Prepito Tip and Tube Rack position 2	Pipeter les Magnetic Beads remises en suspension dans chaque Prepito Tube M utilisé conformément à la plaque d'échantillon.
Prepito Tip and Tube Rack position 3	Utiliser les chemagic Tips S en fonction de la position des échantillons.
chemagic Deep Well Plate 2 mL (plaque d'échantillonnage)	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) dans l'instrument.

- Placer la plaque d'échantillon dans l'instrument.
- Placer le Tip and Tube Rack dans l'instrument.
- Vérifier l'orientation et l'ajustement exacts de la chemagic Deep Well Plate 2 mL et du Prepito Tip and Tube Rack.
- Verrouiller en fermant le loquet de sécurité.
- Fermer la porte avant et démarrer immédiatement le processus d'extraction d'ADN/ARN en appuyant sur [Start]. Le lysat de l'échantillon sera ensuite mélangé automatiquement.

15. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Lors de l'utilisation de ce kit d'extraction avec le test RT-PCR EURORealTime SARS-CoV-2 (numéro de catalogue: MP 2606-0125, MP 2606-0225, MP 2606-0425, MP 2606-0100, MP 2606-0200 et MP 2606-1000), les données suivantes relatives à la limite de détection (LoD), voir ci-dessous, ont été rapportées (données générées par EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG, Seekamp 31 , 23560 Lübeck).

15.1 LOD UTILISANT L'INSTRUMENT CHEMAGIC PREPITO POUR L'EXTRACTION ET LES SYSTEMES ROCHE LIGHTCYCLER 480 II, APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 FAST, BIO-RAD CFX TOUCH ET ANALYTIK JENA QTOWER³ PCR SYSTEMS.

Une LoD provisoire a été déterminée à l'aide de 5 à 7 dilutions en série du virus recombinant 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 trois répétitions d'extraction individuelles. La LoD provisoire a été déterminée à 150 copies/mL (données non présentées).

La LoD provisoire a été validée avec 21 réplicats de matrice d'écouvillon oropharyngé négative dopée avec le matériel de référence AccuPlex, suivi d'une extraction avec le kit Prepito Viral DNA/RNA 300. Les réplicats ont ensuite été testés sur le LightCycler 480 II de Roche. La même procédure a été répétée pour les appareils Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR, Bio-Rad CFX Touch et Analytik Jena qTOWER³. La LoD a été déterminée comme étant de 150 copies/mL, les données correspondantes sont listées dans le tableau 1.

Tableau 1: Confirmation de la LoD dans les échantillons d'écouvillons oropharyngés.

Instrument	Répliques valables	SARS-CoV-2		IC		Taux de détection de l'ARN du SARS-CoV-2
		n	Moyenne Ct	n	Moyenne Ct	
Roche LightCycler 480 II	21	21	36.18	21	29.30	100 %
Applied Biosystems 7500 Fast	21	21	35.14	21	29.02	100 %
Bio-Rad CFX 96 Touch	21	21	34.94	21	27.85	100 %
Analytik Jena qTOWER ³	21	21	34.66	21	28.38	100 %

16. NETTOYAGE ET ENTRETIEN

Le nettoyage et l'entretien principal du système sont décrits en détail dans le manuel de l'utilisateur chemagic Prepito/-D.

17. APPLICATIONS EN AVAL

Les applications en aval suivantes ont été réalisées avec succès et décrites dans la littérature après isolement avec le Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit (CMG-2017).

Tableau 2: Applications en aval revues par des pairs et publiées (RT-qPCR).

Échantillon de matériel	Kit	Titre	Référence
Écouvillon nasopharyngé dans un milieu de transport viral	Coronavirus COVID-19 genesig® Real-Time PCR assay (Genesig)	Clinical features of 47 patients infected with COVID-19 admitted to a Regional Reference Center	Olivares et al. Rev. med. Chile (2020), Nov. 148, (11): 1577.1588. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33844763/
Écouvillon nasopharyngé dans un milieu de transport viral	Coronavirus COVID-19 genesig® Real-Time PCR assay (Genesig)	Clinical significance of viral loads in patients infected with SARS-CoV-2 in Fayoum University Hospitals	Hosam-Eldin et al. Egyptian Journal of Medical Microbiology (2022), Oct, 31 (4): 1-4 10.21608/EJMM.2022.262665
Plasma	RealStart HBV PCR Kit 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Plasma	Kit Real-Star HIV RT-PCR 1.0 (Altona)	Seroprevalence of HBV, HCV and HIV-1 and Correlation with Molecular Markers among Multi-Transfused Thalassemia Patients in Western India	Mishra et al. Mediterr J Hematol Infect Dis (2020), Juli, 12 (1):e2020038 https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7340250/
Écouvillons nasaux et oropharyngés	Kit de détection real-time PCR VIASURE SARS-CoV-2 (CerTest BIOTEC)	Faecal calprotectin in COVID-19 patients with intestinal symptoms	Ellakany et al. Gastroenterology Rev (2022), 17 (4) : 332-337 https://doi.org/10.5114/pg.2022.114685

18. 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 ou +49 (0) 2401805500.

19. LIMITES DE LA PROCEDURE

Les dispositifs de collecte suivants **ne sont pas recommandés** pour une utilisation avec le Prepito Viral DNA/RNA 300 Kit. Pour plus d'informations, veuillez contacter support.chemagen@revvity.com.

Tableau 3: 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-2017 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.



20. 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

revvity