

MANUEL D'UTILISATION

chemagic™ BBS DNA Kit H24

Numéro de produit:	IVD-1074 Réactifs pour 240 extractions.
UDI-DI:	4260543364175
Version:	V240503 FR  
Fabricant:	Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Allemagne www.revvity.com

CE

DESTINÉ À USAGE DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*.

1. TABLE DES MATIERES










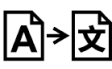


1.	Table des matières	1
2.	Explication des mots de signalisation dans cette instructions d'utilisation	3
3.	Symboles utilisés dans l'instructions d'utilisation et sur les étiquettes	3
4.	Objectiv prévu	5
5.	Résumé et principe	5
6.	Signalement des incidents	6
7.	Informations générales et de stockage	7
8.	Mode d'emploi 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	11
10.4	Wash Buffer 3	12
10.5	Wash Buffer 4	13
10.6	Wash Buffer 5	14
10.7	Wash Buffer 6	15
10.8	Elution Buffer 7	16
10.9	Proteinase K	16
10.10	Autres composants du kit	17
11.	Fichiers de protocoles requis	18
12.	Matériel nécessaire mais non fourni avec le kit	18
12.1	Articles de Revvity chemagen Technologie GmbH	18
12.2	Autres éléments requis	19
12.3	Autres articles optionnels de Revvity chemagen Technologie GmbH	19
12.4	Autres éléments optionnels supplémentaires	19
13.	Collecte et manipulation des échantillons	20
14.	Préparation d'échantillons de buffy coat	21
15.	Description détaillée du protocole	22
15.1	Procédure de protocole	22
15.2	Étapes de traitement	23
15.3	Description succincte/ Guide rapide	26
16.	Caractéristiques de performance	29
16.1	Linéarité et récupération avec un échantillon d'ADN enrichi	29
16.2	Rendement de l'ADN à partir d'échantillons de sang et de buffy coat	30
17.	Nettoyage et entretien	31


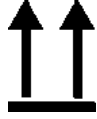





18. Applications en aval	32
19. Autres questions	33
20. Limites de la procédure	33
21. Influence des substances interférentes	33
22. Garantie	34

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

Mot signal	Description
PRUDENCE!	Risque potentiel pouvant entraîner des dommages légers ou moyens.
ATTENTION!	Une mauvaise manipulation peut endommager l'instrument.
REMARQUE:	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		Marchandises dangereuses : Classe 3 Liquide
	GHS07		Marchandises dangereuses : Classe 8 Matières
	GHS08	-	-

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

4. OBJECTIV PREVU

Le chemagic BBS DNA Kit H24 (IVD-1074) est un kit pour l'isolement et la purification automatisés de l'ADN du sang humain, des couches leucoplaquettaires (sang avec une quantité réduite de plasma) et de la salive stabilisée à des fins de diagnostic *in vitro*.

D'autres échantillons, tels que les écouvillons ou les lysats de tissus, peuvent être compatibles mais n'ont pas encore été validés. Pour ces matériaux, une validation doit être effectuée par l'utilisateur.

Le produit est utilisé sur l'instrument chemagic™ 360-D et est destiné au personnel de laboratoire formé pour l'instrument chemagic 360-D en combinaison avec les kits de purification d'acides nucléiques chemagic. 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 (par ex. PCR, RT-PCR, NGS).

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 BBS DNA Kit H24 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 présentes dans le sang humain, de couche leucocytaire et de salive 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 24 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 des contrôles appropriés 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 240 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").

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 12, fourni avec le chemagic 360 24 Rod Head Set) est recommandée afin d'éliminer toute trace de particules.

L'ADN 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. MODE D'EMPLOI 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/ce-ivd-chemagic-kits/ivd-1074-chemagic-bbs-dna-kit-h24/>.

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 au personnel de laboratoire formé à l'utilisation de l'instrument chemagic 360-D en combinaison avec les kits de purification d'acides nucléiques chemagic.

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 BBS DNA Kit H24.

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 chemagic Tips XL et les chemagic Elution Tubes 13 mL doivent également être utilisés 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 240 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.

Le Lysis Buffer 1 contient du chlorure de guanidinium et est nocif en cas d'ingestion, de contact avec la peau ou d'inhalation. Le Binding Buffer 2, le Wash Buffer 3 et le Wash Buffer 4 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 5 contient de l'éthanol et est un liquide et une vapeur inflammables. La Proteinase K contient de la sérine protéinase de *Tritirachium album* et provoque une irritation de la peau et une grave irritation des yeux. Elle peut provoquer des symptômes d'allergie ou d'asthme, des difficultés respiratoires ou une irritation des voies respiratoires en cas 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 disponibles sur notre page web.

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 BBS DNA Kit H24 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 AVERTISSEMENT	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.


Tampon aqueux prêt à l'emploi (pH 6.7-7.2) solution contenant du chlorure de guanidinium (30-50 %) et de l'alcool isotridécyl (1-1.5 %). Le Lysis Buffer 1 est utilisé pour lyser les cellules ou toute autre source d'ADN présente dans l'échantillon afin d'obtenir l'ADN en solution.

PRUDENCE! Le Lysis Buffer 1 contient du chlorure de guanidinium et de l'alcool isotridécyl.

Phrases de danger, de précaution et EUH

H302	Nocif en cas d'ingestion.
H315	Provoque une irritation cutanée.
H319	Provoque une sévère irritation des yeux.
P280	Porter des gants de protection/ un équipement de protection des yeux/ du visage.
P301+P312	EN CAS D'INGESTION: appeler un CENTRE ANTIPOISON/ un médecin en cas de malaise.
P330	Rincer la bouche.
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.
P332+P313	En cas d'irritation de la peau: Consulter un médecin.
P501	Éliminer le contenu/ récipient conformément aux réglementations locales/ régionales/ nationales/ internationales.

10.3 BINDING BUFFER 2

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Binding Buffer 2  DANGER	2 bidons (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 5.2-5.9) prête à l'emploi, contenant du perchlorate de sodium (20-30 %), de l'éthanol (30-50 %) et de l'acide acétique (0.75-1.5 %). Le Binding Buffer 2 est utilisé pour créer les conditions appropriées pour que l'ADN se lie aux Magnetic Beads.

PRUDENCE! Le Bindnig Buffer 2 contient de l'éthanol et du perchlorate de

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

H226	Liquide et vapeur 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.

10.4 WASH BUFFER 3

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Wash Buffer 3  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 5.0-5.6) prête à l'emploi avec du perchlorate de sodium (10-20 %) et de l'éthanol (10-30 %). Utilisée pour éliminer les contaminants non-ADN 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

H226	Liquide et vapeur 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 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 5.0-5.6) prête à l'emploi avec du perchlorate de sodium (10-20 %) et de l'éthanol (10-30 %). Utilisée pour éliminer les derniers résidus de contaminants non-ADN pendant l'étape de lavage.

PRUDENCE! Le Wash Buffer 4 contient de l'éthanol et du perchlorate de sodium.

Phrases de danger, de précaution et EUH

H226	Liquide et vapeur 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  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.

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

PRUDENCE! Le Wash Buffer 5 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.

10.7 WASH BUFFER 6

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Wash Buffer 6	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 d'eau ultrafiltrée prête à l'emploi. Utilisée pour éliminer les éventuels résidus d'éthanol.

10.8 ELUTION BUFFER 7

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Elution Buffer 7	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.

10.9 PROTEINASE K

Composant	Quantité	Durée de vie et stockage
Proteinase K  DANGER	 4 flacons 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 1.25 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.

Phrases de danger, de précaution et EUH

P261	Éviter de respirer les poussières/ fumées/ gaz/ brouillards/ vapeurs/ aérosols.
P280	Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/ du visage.
P284	[Lorsque la ventilation du local est insuffisante] porter un équipement de protection respiratoire.
P305+P351+P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
P405	Garder sous clef.
P501	Éliminer le contenu/ récipient conformément aux réglementations locales/ régionales/ nationales/ internationales.

10.10 AUTRES COMPOSANTS DU KIT

Le chemagic BBS DNA Kit H24 contient le matériel plastique suivant.

Composant	Quantité	Stockage
chemagic Tips XL	250	+2 à +25 °C
chemagic Deep Well Plate 24 XL	50	+2 à +25 °C
chemagic Elution Tube 13 mL	288	+2 à +25 °C

11. FICHIERS DE PROTOCOLES REQUIS

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

Protocole (fichier.che)	Type de protocole/ objectif
chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13mL Tubes prefilling VD191213.che	Fichier d'extraction lié au kit pour l'instrument chemagic 360-D
prime manifolds H24 all 360 V150116.che	Remplissage et amorçage de la tubulure de l'instrument chemagic 360-D avec des réactifs
check manifolds H24 all 360 V150116.che	Vérification de la fonctionnalité des pompes
regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che	Nettoyage régulier de l'instrument chemagic 360-D (une fois par semaine)
intensive cleaning procedure H24 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 BBS DNA Kit H24 nécessite les éléments suivants.

12.1 ARTICLES DE REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Objet	Numéro de produit
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 24 Rod Head Set	CMG-376
Rack pour chemagic Elution Tubes 13 mL (fournis avec le chemagic 24 Rod Head Set)	-

12.2 AUTRES ELEMENTS REQUIS

Objet	Objectif
Pipettes et embouts de pipettes avec barrières anti-aérosols	Remplissage préalable des Magnetic Beads, Elution Buffer 7 et Proteinase K
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 12 (fourni avec le chemagic 24 Rod Head Set)	CMG-308
Red Cell Lysis Buffer	CMG-848

12.4 AUTRES ELEMENTS OPTIONNELS SUPPLEMENTAIRES

Produit	Objectif
Solution saline isotonique, stérile	Remise en suspension des buffy coat

13. COLLECTE ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Le kit chemagic BBS DNA Kit H24 est utilisable avec du sang humain, de la couche leucocytaire (buffy coat) et de la salive dans des aliquotes de 2 à 4 mL par isolement.

Il convient d'utiliser du sang total humain (2-4 mL) ou des échantillons de buffy coat (jusqu'à 4 mL) frais, congelés ou conservés pendant un maximum de 10 jours à une température comprise entre +2 et +8 °C. Pour une conservation à long terme, il est recommandé de congeler les aliquots à -20 °C ou -80 °C. Les stabilisateurs sanguins recommandés sont l'EDTA ou le citrate.

REMARQUE: L'utilisation d'échantillons de sang stabilisés à l'héparine peut entraîner une inhibition dans les applications en aval et n'est donc pas recommandée.

Le nombre de globules blancs dans l'échantillon de sang total diminue au cours du stockage. Un stockage prolongé des échantillons peut entraîner un mauvais rendement de l'ADN après extraction.

Il convient d'utiliser de la salive humaine (4 mL) conservée conformément aux instructions du fournisseur du tube de prélèvement. Les tubes de prélèvement stabilisés recommandés sont ceux de DNAgenotek®, Isohelix™ et Spectrum Solutions. L'incubation des tubes de prélèvement avant l'extraction pendant > 2 h à 50 °C permet d'obtenir des rendements d'ADN plus élevés et est donc recommandée.

Les échantillons de buffy coat conservés pendant une semaine au maximum à une température comprise entre +2 et +8 °C doivent être utilisés. Pour une conservation à long terme, il est recommandé de les congeler à -20°C ou -80°C en aliquotes. Les buffy coats doivent provenir de tubes de sang stabilisés (suivre les recommandations concernant les tubes ci-dessus pour les échantillons de sang). Avant l'extraction, les buffy coats doivent être décongelés à 37 °C. Nous recommandons la procédure suivante pour la préparation des buffy coat.

14. PREPARATION D'ECHANTILLONS DE BUFFY COAT

- Ajouter jusqu'à 5 mL de sang total frais dans un tube stérile de 50 mL.
- Ajouter 40 mL de Red Cell Lysis Buffer (RCLB) au sang et inverser le tube 4 fois.
- Incuber pendant 5 minutes ou jusqu'à ce que la suspension devienne translucide.
- Centrifuger à 4,000 tours/minute pendant 10 minutes pour recueillir les globules blancs.
- Décanter le surnageant et aspirer soigneusement le surnageant restant au sommet de l'échantillon à l'aide d'une pipette.

REMARQUE: Veiller à ne pas perturber le culot cellulaire. Faire attention lors du pipetage pour éviter de perdre le culot de globules blancs.

- Ajouter 20 mL de Red Cell Lysis Buffer et laver et éliminer avec précaution les globules rouges restants sur le culot blanc sans le perturber.
- Décanter le surnageant et aspirer soigneusement le surnageant restant au sommet de l'échantillon à l'aide d'une pipette.
- Remettre en suspension la buffy coat dans un maximum de 2 mL de solution saline isotonique (0.9 % NaCl).
- Si le volume initial de sang est inférieur ou supérieur à 6 mL, modifier proportionnellement le volume de Red Cell Lysis Buffer.
- Les buffy coats peuvent être congelées, conservées à une température comprise entre +2 et +8 °C pendant une semaine ou directement utilisées pour l'extraction.

15. DESCRIPTION DÉTAILLÉE DU PROTOCOLE

15.1 PROCÉDURE DE PROTOCOLE

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 78 minutes.

Le protocole permet de traiter jusqu'à 24 échantillons en parallèle (voir "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 la température ambiante (+19 à +25 °C) avant utilisation.

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

Pompe	Tampon	Volume de remplissage minimum
Pompe 1	Lysis Buffer 1	150 mL
Pompe 2	Binding Buffer 2	350 mL
Pompe 3	Wash Buffer 3	200 mL
Pompe 4	Wash Buffer 4	200 mL
Pompe 5	Wash Buffer 5	200 mL
Pompe 6	Wash Buffer 6	200 mL

REMARQUE: Reboucher hermétiquement les flacons immédiatement après utilisation ou les maintenir fermement connectés à l'instrument chemagic 360-D. Le Binding Buffer 2, le Wash Buffer 3, le Wash Buffer 4 et le Wash Buffer 5 contiennent de l'éthanol. Si l'éthanol s'évapore, le rendement optimal ou la sensibilité de détection ne peuvent être garantis.

15.2 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 et les chemagic Elution Tubes 13 mL dans le rack, les marquer avec le matériel en position (échantillons, Magnetic Beads et tampons).

Les réactifs sont automatiquement distribués par rangées entières et, par conséquent, les chemagic Elution Tubes 13 mL doivent également être utilisés par rangées entières sur chaque tip en contact avec une solution de réactif.

3. Reconstituer la Proteinase K:

Composante	Reconstitution
Proteinase K	Ajouter 1.25 mL d'eau de qualité biologie moléculaire au flacon de Proteinase K et mélanger doucement jusqu'à dissolution.

4. 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.

5. 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.

6. Sélectionner le protocole "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13mL prefilling VD191213.che**" et appuyer sur [Insert IDs] et suivre les instructions données par le logiciel chemagic QA.
7. S'assurer que les chemagic Tips XL sont en nombre suffisant et alignés avec les positions des échantillons et placer le Tip Rack en position 1 sur le tracking system.
Les réactifs sont automatiquement distribués par rangées entières et, par conséquent, les chemagic Tips XL doivent également être utilisés par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution de réactif.
8. Vérifier les volumes dans les réservoirs d'alimentation tampon et confirmer en appuyant sur [OK]. Voir ci-dessus "**FEHLER! VERWEISQUELLE KONNTE NICHT GEFUNDEN WERDEN.**" hauteurs minimales de remplissage.

REMARQUE: Veillez à ce que tous les flacons de tampon contiennent suffisamment de tampon. Ce n'est que si le niveau de liquide de tous les tampons est suffisant que 24 isolations peuvent être effectuées.

9. 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].
10. Remplir préalablement les puits sélectionnés de la plaque d'échantillonnage avec 4 mL d'échantillon. Pour garantir l'homogénéité des échantillons, mélanger doucement les échantillons avant de les pipeter dans les puits de la plaque d'échantillonnage.
11. Charger deux racks d'élution avec des chemagic Elution Tubes 13 mL.
12. Remplir au préalable le Elution Buffer 7 et les Magnetic Beads soigneusement remises en suspension en pipettant manuellement le produit dans chaque puits ou tube correspondant utilisé.

Composant	Position de la plaque sur l'instrument chemagic 360-D	Volume/ puits ou tube
Magnetic Beads	4	400 µL
Elution Buffer 7	7	300-500 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 pourrait être faible.

13. Ajouter 15 µL de Proteinase K aux puits contenant l'échantillon.
14. Placer les chemagic Deep Well Plates 24 XL et les deux portoirs avec les chemagic Elution Tubes 13 mL (un rack avec les chemagic Elution Tubes 13 mL pré-remplis avec le Elution Buffer 7 et l'autre rack avec les chemagic Elution Tubes 13 mL vides pour l'élimination des chemagic Tips XL) sur le tracking system selon les instructions données par le logiciel chemagic QA.
15. Placer la plaque d'échantillon en position 2 sur le tracking system.
16. Vérifier l'orientation et l'ajustement de toutes les plaques et crémaillères.
17. Fermez la porte avant et démarrez le processus en appuyant sur [Start].
18. Le processus automatisé d'extraction de l'ADN 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".

15.3 DESCRIPTION SUCCINCTE/ GUIDE RAPIDE

Extraction automatisée d'ADN sur l'instrument chemagic 360-D :

- 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 des fonctions permettant l'entrée de données d'identification, sélectionner le protocole "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 mL Tubes prefilling VD191213.che**" et appuyer sur [Insert IDs]. Suivre les instructions données dans le logiciel chemagic QA pour saisir les données requises.
- Les réactifs sont automatiquement distribués par rangées entières et, par conséquent, les chemagic Tips XL et les chemagic Elution Tubes 13 mL doivent également être utilisés par rangées entières sur chaque tige en contact avec une solution de réactif.
- Charger les plaques et les racks avec les chemagic Elution Tubes 13 mL sur les positions 1-8 du tracking system comme suit.
(Les numéros sur le système de suivi 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	Rack avec chemagic Tips XL	Utiliser les chemagic Tips XL en fonction de la position des échantillons et placer le rack. REMARQUE: Les pointes doivent être présentes dans le plateau en rangées complètes.
2	Plaque d'échantillonnage (chemagic Deep Well Plate 24 XL)	Placer la plaque avec les échantillons préparés (jusqu'à 4 mL d'échantillon) et 15 µL de Proteinase K. Le Lysis Buffer 1 et le Binding Buffer 2 sont distribués automatiquement dans la plaque.
3	Plaque à chemagic Deep Well Plate 24 XL avec 400 µL de Magnetic Beads	Pipeter 400 µL de Magnetic Beads soigneusement remises en suspension dans chaque puits de la plaque en fonction de la position des échantillons et placer la plaque. Le Wash Buffer 3 est distribué automatiquement dans la plaque.
4	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 4 est distribué automatiquement dans la plaque.
5	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 5 est distribué automatiquement dans la plaque.
6	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Placer la plaque vide. Le Wash Buffer 6 est distribué automatiquement dans la plaque.

Position sur le tracking system	Matériel en position	Détails de l'étape du protocole
7	Rack avec chemagic Elution Tubes 13 mL pré-remplis avec 300 - 500 µL de Elution Buffer 7	Pipeter 300 - 500 µL de Elution Buffer 7 dans chaque chemagic Elution Tubes 13 mL en fonction de la position des échantillons et placer le support.
8	Rack avec chemagic Elution Tubes 13 mL	Placez le rack.

- 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 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 1-8 du tracking system.
- Une fois que toutes les plaques sont en place, sélectionnez le protocole "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 mL Tubes prefilling VD191213.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. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

16.1 LINEARITE ET RECUPERATION AVEC UN ECHANTILLON D'ADN ENRICHI

Pour montrer la linéarité de l'extraction avec le kit IVD-1074, une solution de NaCl à 0.9 % a été dopée avec cinq concentrations d'ADN génomique humain: 150 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg et 500 µg. Les extractions ont été réalisées en utilisant 4 mL des différentes quantités d'ADN comme échantillon avec le protocole d'extraction "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**". Quatre réplicats de chaque quantité d'ADN dopée à 0.9 % de NaCl ont été extraits.

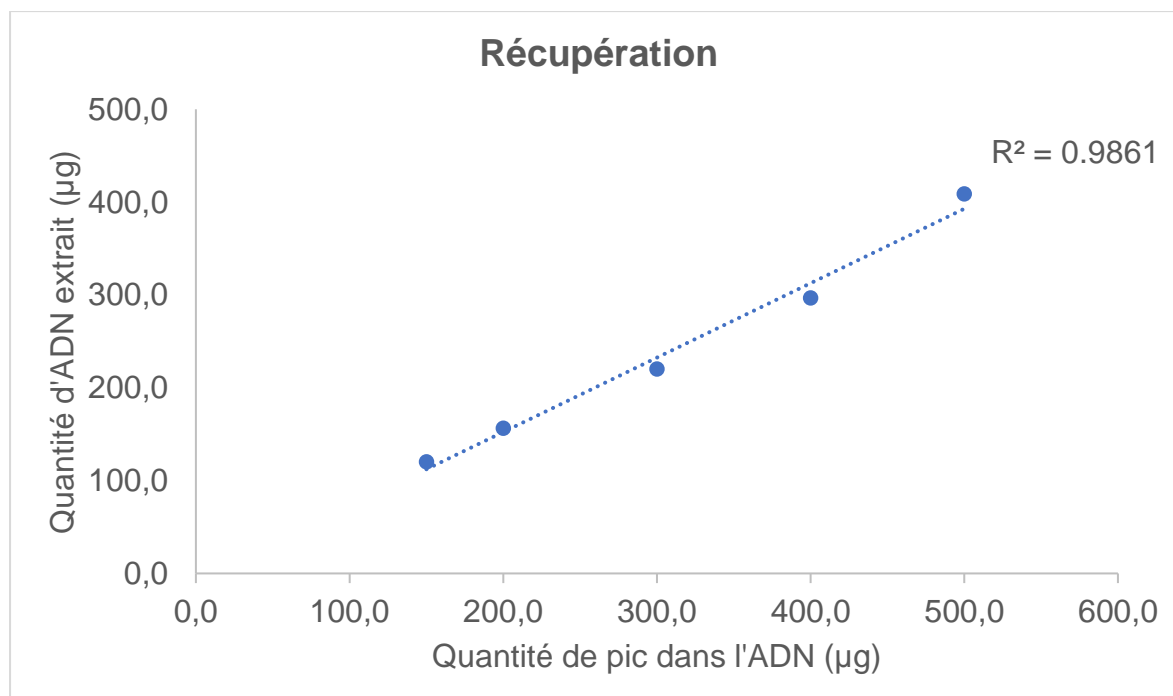


Figure 1: Récupération par extraction de spike dans des échantillons d'ADN. Extraction avec le chemagic 360-D en utilisant le kit IVD-1074.

La récupération montre une bonne linéarité dans la gamme de 150 à 500 µg d'ADN comme échantillon d'entrée. La récupération se situe entre 69.8 et 98.9 % en fonction de la quantité d'ADN génomique humain utilisée.

16.2 RENDEMENT DE L'ADN A PARTIR D'ECHANTILLONS DE SANG ET DE BUFFY COAT

Les rendements d'ADN attendus pour l'extraction du sang humain et de la buffy coat dépendent du nombre de globules blancs. Le nombre de globules blancs extraits est déterminé par le volume d'entrée et le nombre de globules blancs (WBC). Pour la plupart des échantillons, le nombre de globules blancs ne sera pas connu, mais pour les individus en bonne santé, il se situe entre 4 et 10 millions de globules blancs par mL de sang. Le kit IVD-1074 utilisant le protocole "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**" extrait en moyenne 4.38 pg par globule blanc. En utilisant 4 mL de sang avec un nombre de globules blancs de 8.2 millions de globules blancs par mL de sang comme intrant, on s'attend à obtenir 150 µg d'ADN.

Tableau 1: Rendement moyen, %CV (écart-type) et pureté de l'ADN extrait à l'aide du kit IVD-1074 extrait avec l'instrument chemagic 360-D.

Matériau de l'échantillon / Conditions de stockage	Volume [mL]	GB [millions de cellules/ mL de sang]	Rendement moyen [µg]	CV [%]	Pureté moyenne [260/280]
Sang 1 / 4 °C	4	8.2	150.0	9.2	1.84
Sang 1 / -20 °C	4	8.2	141.1	8.3	1.79
Sang 3 / 4 °C	2	6.2	73.3	2.4	1.85
Sang 4 / 4 °C	2	5.7	61.7	1.9	1.86
Sang 4 / 4°C	4	5.7	98.7	12.0	1.86
Sang 4 / -20 °C	4	5.7	94.2	8.2	1.81
Buffy coat*	4	5.7	125.5	10.0	1.72
Salive / 4 °C	4	n.d.	42.3	20.9	1.78

* La Buffy Coat a été obtenue à partir de 5 mL de sang 4

A partir de toutes les extractions, y compris les différents matériaux d'échantillons, les conditions de stockage et les volumes d'entrée, des éluats spécifiques ont été utilisés dans une qPCR d'albumine humaine pour prouver l'adéquation de l'ADN extrait pour les réactions enzymatiques. Tous les éluats ont fonctionné sans problème - voir l'exemple de tracé qPCR ci-dessous.

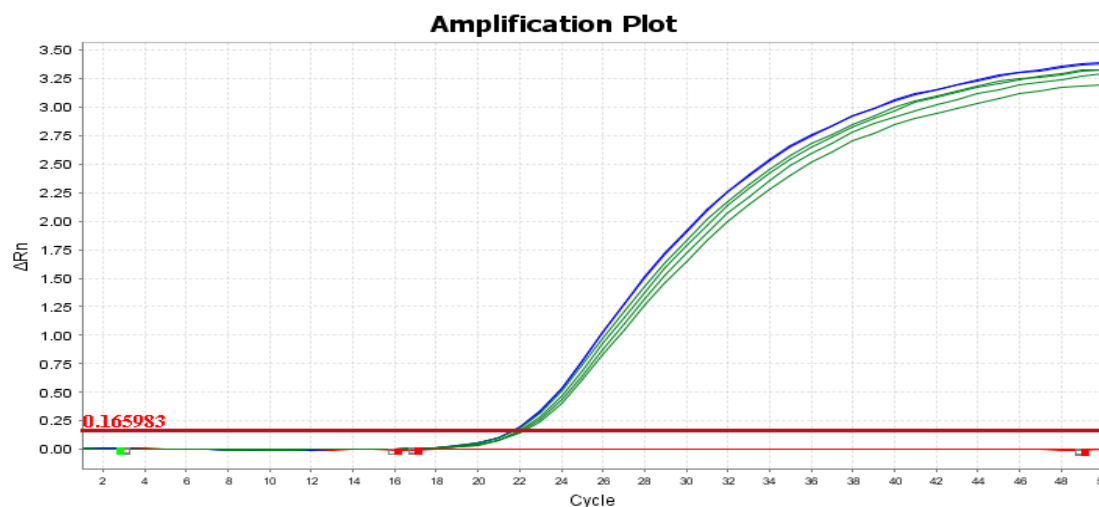


Figure 2: Courbes qPCR des éluats d'ADN extraits avec le chemagic 360-D en utilisant le kit IVD-1074. Rouge - contrôle négatif, bleu - contrôle positif, vert ADN extrait du sang 1.

17. NETTOYAGE ET ENTRETIEN

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

- Sélectionnez le protocole "**regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116 .che**" et appuyez sur [Insert IDs] ou [Start] si les fonctions améliorées sont désactivées. Suivez les instructions données dans le logiciel.
- Avant la prochaine utilisation du distributeur chemagic, il convient d'appliquer le protocole d'amorçage approprié.
- Il est recommandé de nettoyer le distributeur chemagic avec de l'éthanol à 70 % une fois par mois. Pour ce faire, il suffit d'utiliser le "**intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che**" au lieu de la procédure habituelle.
- Si le distributeur chemagic n'est pas utilisé pendant une période prolongée, il est obligatoire d'effectuer la "procédure de nettoyage régulière" pour maintenir les performances de l'instrument lors de sa remise en service.

18. APPLICATIONS EN AVAL

Les applications en aval suivantes ont été réalisées avec succès et décrites dans la littérature après l'isolement de l'ADN génomique.

Tableau 2: Applications en aval revues par des pairs et publiées.

Échantillon de matériel	Application en aval	Titre	Référence
Le sang	Génotypage, essai de méthylation de l'ADN, PCR, Séquençage	Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus	Wiechmann et al. Clinical Epigenetics 11 Article Number 83 (2019) https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0682-5#Abs1
Sang total	Analyse de la méthylation	A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome	Soret P. et al. Nature Communications 12, Article number: 3523 (2021) https://www.nature.com/articles/s41467-021-23472-7
Lymphocytes	PCR à longue portée, NGS, séquençage de Sanger, MLPA	Advances in genetic technologies result in improved diagnosis of mismatch repair deficiency in colorectal and endometrial cancers	Evans D.G. et al. Med Genet: first published as 10.1136/jmedgenet-2020-107542 (2021) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452216/
Salive	Séquençage du génome, qPCR	Genetic Effect of Chemotherapy Exposure in Children of Testicular Cancer Survivors	Gregory V. et al. Clinical Cancer Research Volume 22, Issue 9 (2016) https://aacrjournals.org/clinicalres/article/22/9/2183/79766/Genetic-Effect-of-Chemotherapy-Exposure-in

19. 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.

20. LIMITES DE LA PROCEDURE

Le kit IVD-1074 est validé pour l'extraction de l'ADN du sang, de la couche leucocytaire et de la salive. D'autres échantillons tels que les lysats de tissus, de cellules ou d'écouvillons buccaux peuvent être compatibles mais n'ont pas été validés. Pour ces matériaux, une validation doit être effectuée par l'utilisateur.

L'utilisation d'échantillons de sang stabilisés à l'héparine peut entraîner une inhibition dans les applications en aval et n'est donc pas recommandée.

21. INFLUENCE DES SUBSTANCES INTERFERENTES

L'effet des substances interférentes contenues dans le sang total humain et susceptibles d'interférer avec l'extraction de l'ADN a été testé dans le sang total. Les substances testées et les concentrations sont présentées dans le tableau ci-dessous. Sur la base des résultats, il a été conclu que les substances testées n'interfèrent pas avec l'extraction de l'ADN.

Tableau 3: Influence des substances interférentes.

Substances interférentes	Concentration [µg/mL]	Interférence
Bilirubine conjuguée	332	Non
Bilirubine non conjuguée	200	Non
Triglycérides	30	Non
Albumine sérique humaine	30	Non



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.

Mai 2024

www.revvity.com

revvity