

Manuel d'utilisation

Sartobind Convec[®] SC et D

Capsules à volume mort optimisé
Avec une hauteur de lit de 8 mm



1000136951



SARTORIUS

Table des matières

1	À propos de ce manuel	5
1.1	Validité	5
1.2	Documents connexes	6
1.3	Groupes cibles	6
1.4	Typographie	7
2	Sécurité	8
2.1	Utilisation conforme	8
2.2	Modifications sur le produit	10
2.3	Qualification du personnel	10
2.4	Équipement de protection individuelle	10
2.5	Fuites de liquides du produit	11
2.6	Composants sous pression	11
2.7	Poids du produit	12
3	Vue d'ensemble du produit	12
3.1	Principe de fonctionnement	12
4	Installation	16

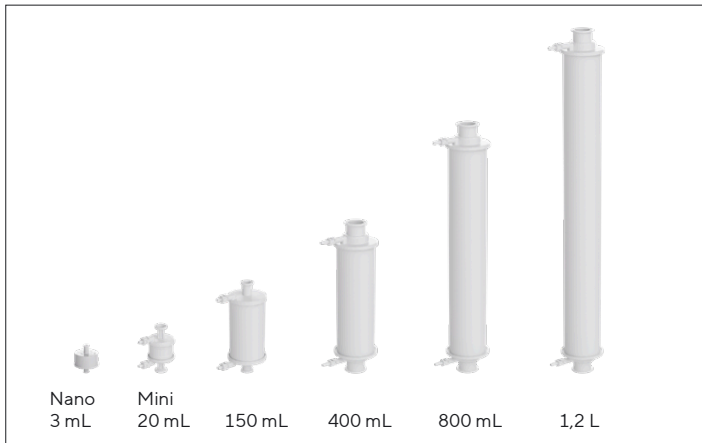
5	Fonctionnement.....	17
5.1	Purge de la capsule.....	17
5.2	Purge de la capsule Nano.....	18
5.3	Nettoyage et équilibrage.....	20
5.4	Autoclavage.....	21
5.5	Irradiation gamma.....	22
5.6	Débits et volumes de tampon d'équilibrage recommandés.....	23
5.7	Conditions du tampon.....	24
5.8	Choix des conditions de pH.....	26
5.9	Utilisation de Sartobind Convec® SC et D pour capturer les virus et particules virales (VP).....	26
5.10	Préparation de l'échantillon.....	30
5.11	Lavage.....	31
5.12	Élution.....	31
5.13	Vidange.....	31
5.14	Régénération et stockage.....	32
5.15	Fonctionnement des Sartobind Convec® SC et D Nano avec des pompes péristaltiques ou des systèmes de chromatographie liquide (CL).....	32
5.16	Montée en échelle.....	33

6	Test d'intégrité par diffusion.....	37
6.1	Installation.....	37
6.2	Procédure opérationnelle	38
6.3	Résultats et évaluation pour un appareil.....	41
7	Dépannage	42
8	Caractéristiques techniques	47
8.1	Hauteur du lit 8 mm	47
8.2	Matériaux.....	49
8.3	Capacité de liaison	51
8.4	Stabilité chimique	52
8.5	Conditions de stockage	52
9	Assurance qualité.....	53
10	Informations sur les marques déposées	53
11	Informations de commande	54
11.1	Produits Sartobind Convec® SC.....	54
11.2	Produits Sartobind Convec® D	56
11.3	Accessoires	58
12	Dimensions et raccords	59

1 À propos de ce manuel

1.1 Validité

Ce manuel fait partie intégrante du produit. Il faut le lire dans son intégralité et le conserver. Ce manuel est valable pour les versions suivantes du produit :



1.2 Documents connexes

Consulter les documents suivants en plus de ce manuel :

- Mode d'emploi de l'appareil dans lequel le produit est utilisé
- Guide de validation du produit en question

1.3 Groupes cibles

Ce manuel s'adresse aux groupes cibles suivants. Les groupes cibles doivent avoir les connaissances mentionnées ci-dessous.

Groupe cible	Connaissances et qualifications
Opérateur	L'opérateur connaît le produit et les processus de travail qui y sont associés. Il connaît les dangers potentiels lors du travail avec le produit et il est en mesure de les éviter.

1.4 Typographie

1.4.1 Avertissements dans la description des opérations

ATTENTION

Signale un danger qui est susceptible d'entraîner des blessures moyennes ou légères s'il **n'est pas** évité.

AVIS

Signale un danger qui est susceptible de provoquer des dommages matériels s'il **n'est pas** évité.

1.4.2 Autres signes typographiques

- ▶ Action requise : décrit des activités qui doivent être effectuées. Les actions faisant partie de séquences d'actions doivent être effectuées les unes après les autres.
- ▷ Résultat : décrit le résultat des activités qui viennent d'être effectuées.

2 Sécurité

 **L'utilisation des produits dans des applications non spécifiées ou non décrites dans ce manuel peut entraîner un mauvais fonctionnement, des blessures ou des dommages sur le produit ou le matériel. Les produits sont fournis non irradiés, sauf indication contraire explicitement mentionnée. La membrane est séchée avec du glycérol.**

2.1 Utilisation conforme

Le produit est exclusivement destiné à être utilisé en conformité avec ce manuel. Toute autre utilisation est considérée comme non conforme à l'usage prévu.

Les produits de chromatographie sur membrane, également appelés adsorbants à membrane, sont conçus et validés pour un usage unique afin d'éviter tout transfert ainsi que des procédures de validation complexes et coûteuses. Toutefois, sur le plan technique, il est possible de les réutiliser après un nettoyage en place, selon l'application, le caractère de l'échantillon et le processus. Des étapes supplémentaires de nettoyage et de validation seront nécessaires pour garantir une capacité de liaison et un débit constants après chaque cycle.

Le produit est utilisé pour les applications de liaison et d'élution ou lorsque la capacité de liaison la plus élevée possible est requise. Les capsules **Sartobind Convec® Nano (3 mL)** sont conçues pour traiter des échantillons de volume faible. Elles sont idéales pour les applications à petite échelle, ainsi qu'à des fins de criblage, d'application de liaison et d'élution et de purification en flow-through à l'échelle du laboratoire.

Les capsules **Sartobind Convec® Mini (20 mL)** sont conçues pour les premiers essais de montée en échelle et la production préclinique. Cette taille de produit vient combler l'écart entre les tailles Nano et 150 mL.

Les capsules **Sartobind Convec® (150 mL)** sont conçues pour une échelle intermédiaire et pilote.

Les capsules **Sartobind Convec® (400 mL jusqu'à 1,2 L)** sont conçues à des fins de production dans l'industrie biopharmaceutique.

2.2 Modifications sur le produit

Si le produit est modifié : Le personnel peut être mis en danger. Les documents spécifiques au produit et les approbations du produit peuvent perdre leur validité. En cas de questions concernant les modifications sur le produit, contacter Sartorius.

2.3 Qualification du personnel

Le personnel qui ne possède **pas** les connaissances adéquates sur la façon d'utiliser le produit en toute sécurité risque de se blesser et de blesser d'autres membres du personnel.

2.4 Équipement de protection individuelle

L'équipement de protection individuelle protège contre les risques qui émanent du produit. Si l'équipement de protection individuelle est manquant ou inadapté aux processus de travail sur le produit : Le personnel risque d'être blessé. L'équipement de protection individuelle suivant doit impérativement être porté :

- Vêtements de travail de sécurité
- Gants de protection
- Lunettes de protection

2.5 Fuites de liquides du produit

Si le produit est endommagé ou mal installé : Des liquides peuvent s'échapper du produit.

- ▶ Ne **pas** dépasser la pression maximale (voir chapitre « 8 Caractéristiques techniques », page 47).
- ▶ Procéder à une inspection visuelle avant toute utilisation.
- ▶ Veiller à effectuer une installation correcte.

2.6 Composants sous pression

Une utilisation au-delà de la pression de fonctionnement maximale peut entraîner l'éclatement des tuyaux et composants en plastique. Cela peut causer une fuite de milieu et des blessures dues à l'éclatement de composants. Le milieu qui s'échappe peut causer des infections.

- ▶ Porter un équipement de protection individuelle adapté.
- ▶ Ne **pas** dépasser la pression de fonctionnement maximale (voir chapitre « 8 Caractéristiques techniques », page 47).

2.7 Poids du produit

Le produit peut être lourd. Le levage et le transport du produit comportent un risque de blessures, en cas de chute du produit par exemple.

- ▶ Porter un équipement de protection individuelle adapté.
- ▶ Le cas échéant, il convient de demander l'aide d'autres personnes pour soulever et transporter le produit.

3 Vue d'ensemble du produit

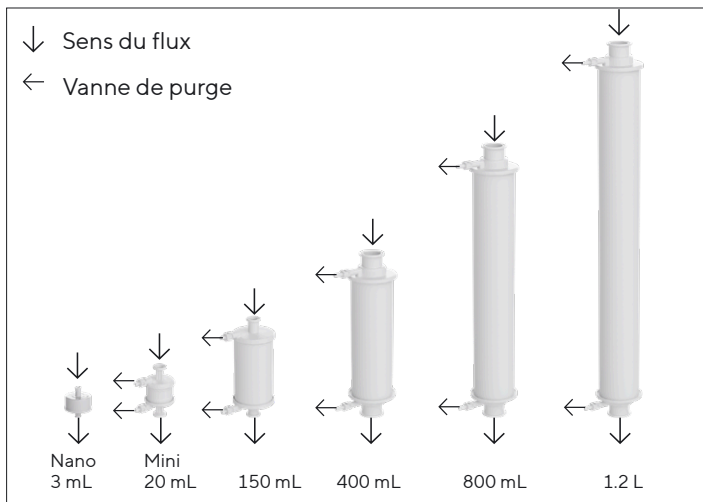
3.1 Principe de fonctionnement

Les capsules sont des produits de chromatographie de pseudo-affinité et à échange d'ions basés sur des membranes macroporeuses. Elles peuvent être utilisées pour la séparation chromatographique dans le traitement en aval de molécules de grande taille telles que des virus ou des particules pseudovirales (VLP). Les ligands de pseudo-affinité et d'échange d'ions sont associés à une membrane qui est insérée dans un boîtier en plastique prêt à l'emploi. Les produits sont constitués de canaux de fluide optimisés.

Les capsules contiennent un élément central. Ces produits sont destinés à un usage unique afin d'éviter tout transfert ainsi que des procédures de validation de nettoyage complexes et coûteuses. Toutefois, sur le plan technique, il est possible de les réutiliser après un nettoyage en place (voir aussi section « 8.4 Stabilité chimique », page 52).

Les cibles potentielles de Sartobind Convec® SC sont les virus ou les VLP qui ont une affinité de liaison similaire à celle à l'héparine, tels que l'encéphalite japonaise, la leucémie féline, le calicivirus, le virus respiratoire syncytial, l'herpès simplex humain, la rougeole humaine, la parainfluenza humaine.

De même, les cibles potentielles de Sartobind Convec® D pourraient être le lentivirus et l'adénovirus, ainsi que les virus et les VLP qui peuvent être capturés en utilisant la chromatographie échangeuse d'anions faibles.

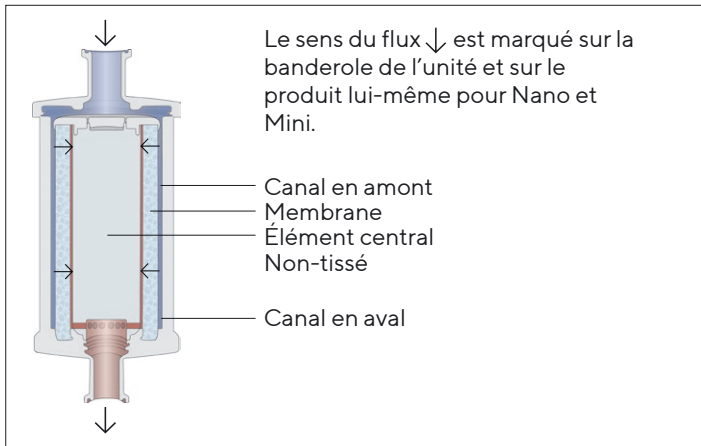


III. 1 : Sens du flux et position des vannes de purge des capsules

Pour les produits Mini et 150 mL, l'élément central est un cylindre en polypropylène plein.

Pour les capsules plus grandes, il s'agit d'un cylindre autonome en polypropylène rempli d'air.

L'intérieur de l'élément central est inaccessible aux gaz et liquides.



III. 2 : Construction et ligne de flux à l'intérieur des capsules

4 Installation

AVIS

Dysfonctionnements dus à des produits endommagés. Un produit endommagé peut causer des dysfonctionnements.

- ▶ Inspecter visuellement le produit avant toute utilisation.
 - ▶ Avant toute utilisation, fermer la vanne d'évent en vissant la vanne dans le sens horaire.
 - ▶ Ne **pas** conserver ni placer les produits avec le connecteur directement sur le sol.
 - ▶ En cas de dommages : remplacer le produit.
-

Capsules Sartobind Convec® SC et D

- ▶ Protéger les connecteurs d'entrée et de sortie durant le déballage.
- ▶ Installer le produit à la verticale, dans le sens du flux de processus.
- ▷ L'entrée se trouve en haut.
- ▷ Le flux est guidé vers le canal en amont (c.-à-d. la solution pénètre dans le produit) en passant à travers les couches de membrane, jusqu'au canal en aval et à la sortie du produit (voir Ill. 2).

5 Fonctionnement

5.1 Purge de la capsule

Toutes les capsules, à l'exception du modèle Nano, possèdent des vannes de purge (voir Ill. 1).

Procédure

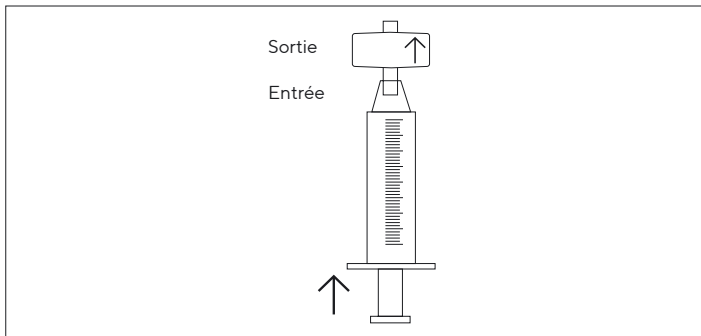
- ▶ Éliminer tout l'air présent dans l'unité avant de l'utiliser.
- ▷ Les vannes de purge sont équipées de connecteurs olives pour tuyau pour le fluide rejeté durant la purge.
- ▶ La position de la vanne de purge doit être contrôlée.
- ▷ Une rotation dans le sens antihoraire ouvre la vanne, une rotation dans le sens horaire ferme la vanne.
- ▶ Avant d'ouvrir la vanne de purge, raccorder un tube flexible (diamètre intérieur 6 mm) sur les vannes pour éliminer les déchets.
- ▶ **AVIS** Fermeture insuffisante de la vanne à cause d'une pression excessive ! Durant la purge des capsules, ne **pas** dépasser 0,05 MPa (0,5 bar | 7,3 psig).
- ▶ Ouvrir la vis de la vanne de purge de $\frac{1}{3}$ de tour vers la gauche jusqu'à ce que tout l'air soit remplacé par du liquide.

- Pour purger les cassettes, des tubes à connecteurs rapides sont fixés aux collecteurs d'entrée et de sortie et fermés à l'aide du clamp de serrage.

5.2 Purge de la capsule Nano

- Remplir une seringue Luer 10–20 mL de tampon d'équilibration et la raccorder à la capsule. Maintenir la capsule à la verticale (sortie vers le haut) et expulser l'air comme illustré à l'III. 3.
- Si de l'air subsiste dans l'unité remplie, fermer la sortie, tenir la seringue vers le haut puis appuyer et tirer légèrement sur le piston à plusieurs reprises, de manière à faire remonter les bulles d'air dans la seringue.
- Il est également possible de raccorder une deuxième seringue vide sur le haut de la Nano et d'expulser l'air et le tampon dans cette seringue. Défaire ensuite la seringue du haut pour faire sortir l'air et reconnecter la Nano, la tourner et purger le solvant vers l'avant et vers l'arrière.
- ▷ La présence de très petites bulles d'air juste sous l'entrée de la Nano ne compromet **pas** les performances.

- ▷ Le fonctionnement de la capsule n'est **pas** affecté tant que les petites bulles d'air restent en dehors du lit de la membrane.



III. 3 : Remplissage des Sartobind Convec® SC et D Nano à l'aide d'une seringue Luer pour éliminer l'air

5.3 Nettoyage et équilibrage

Les produits Sartobind **non soumis à une irradiation gamma** doivent être traités par sanitisation en place juste avant utilisation. Pour les produits Sartobind **soumis à une irradiation par rayons gamma**, la sanitisation est facultative.

- Dans le cadre de la sanitisation, utiliser 30 volumes de membrane (MV) de solution 1 N NaOH à un débit de 1 MV/min. Il est préférable de travailler à température ambiante car les températures basses augmentent la viscosité des solvants. Le NaOH peut causer un gonflement significatif de la matrice de cellulose, ce qui entraîne une augmentation de la pression.
- Rincer avec 5 MV de 1 N NaCl à 3 MV/min (Sartobind Convec® SC) ou 5 MV/min (Sartobind Convec® D).
- Rincer avec 20 MV de tampon d'équilibrage à 3 MV/min (Sartobind Convec® SC) ou 5 MV/min (Sartobind Convec® D).

5.4 Autoclavage

AVIS

Risque d'endommagement du produit en cas de manipulation inappropriée !

- ▶ Ne **pas** effectuer d'autoclavage pour les capsules.
 - ▶ Ne **pas** soumettre le produit à une stérilisation à la vapeur en ligne.
-

5.5 Irradiation gamma

AVIS

Dommmages sur le produit en cas d'irradiation gamma répétée !

► L'irradiation gamma ne peut être effectuée qu'une seule fois.

Les Sartobind Convec® SC et D sont également disponibles sous forme de produits soumis à une irradiation par rayons gamma. Si le client choisit des appareils non soumis à une irradiation par rayons gamma pour Sartobind Convec® SC et D, ces appareils peuvent être compatibles avec l'irradiation gamma. La dose d'irradiation gamma recommandée est 25 kGy et la dose maximale est 50 kGy.

Les produits soumis à une irradiation gamma peuvent être identifiés par un indicateur couleur :

indicateur rouge : irradiation gamma

indicateur orange : **pas** d'irrigation gamma

Il est interdit de procéder à l'autoclavage d'une Sartobind Convec® SC ou D qui a été soumise à une irradiation gamma.

5.6 Débits et volumes de tampon d'équilibrage recommandés

Les adsorbeurs à membrane peuvent être utilisés à des débits par volume beaucoup plus élevés que les colonnes de résine. En règle générale, les débits suivants sont recommandés (voir section « 8 Caractéristiques techniques », page 47).

Cette recommandation n'est qu'une indication du fait que les tampons et échantillons ont des compositions et viscosités différentes. Il convient de tester les débits respectifs avec un produit à petite échelle afin de s'assurer que les débits correspondent aux capacités de la pompe et aux limites de pression.

Il est également possible d'utiliser des débits inférieurs aux valeurs recommandées, même si cela n'améliore **pas** la capacité de liaison ni les performances globales. Une température ambiante basse augmente la viscosité du tampon voire la contre-pression.

Le volume de tampon d'équilibrage est généralement de 20 volumes de membrane, selon le type de tampon.

						
Volume de la membrane (MV)	3 mL	20 mL	150 mL	400 mL	800 mL	1,2 L
Débit rec. (L/min)	0.009					
Sartobind Convec® SC	0.015	0.06	0.45	1.2	2.4	3.6
Sartobind Convec® D		0.1	0.75	2	4	6
Volume d'équilibration rec.* 0,06 (L)		0,4	3,0	8	16	24
* Voir 5.3 Nettoyage et équilibration						

5.7 Conditions du tampon

Dans la plupart des applications, un tampon d'équilibration d'une concentration de 10 mM fournit une capacité tampon suffisante et empêche la précipitation de la molécule (virus ou VLP) ciblée. La force ionique doit être maintenue au niveau le plus bas possible pour éviter toute baisse de la capacité de liaison.

Le tampon doit avoir une pKa qui se situe à 0,5 unité pH du pH utilisé. Avant l'utilisation, il convient de filtrer à l'aide de filtres 0,45 µm, l'eau et les produits chimiques devant être d'une grande pureté.

AVIS

Risque de gonflement réversible et de perméabilité diminuée de la membrane Sartobind Convec® SC en cas d'utilisation d'eau pure !

► Ne pas appliquer d'eau pure pour Sartobind Convec® SC.

Pour Sartobind Convec® SC :

Mode d'affinité

Tampon : 10 mM Tris, pH 7,4 ou 10 mM phosphate, pH 7,4

Conductivité de charge : < 5 mS/cm

Élution : 0,25 - 2,0 M NaCl dans le tampon

Mode CEX

Tampon : 10 mM acétate, Tris ou PB pH < [pI(virus) - 1]

Conductivité de charge : < 5 mS/cm

Élution : 0,25 - 2,0 M NaCl dans le tampon

Pour Sartobind Convec® D :

Mode AEX

Tampon : 20 mM Tris, pH 7,2 ou 50 mM HEPES, pH 7,5

Conductivité de charge : < 10 mS/cm

Élution : 0 – 1,0 M NaCl dans le tampon

5.8 Choix des conditions de pH

Dans le cadre de la chromatographie à échange d'ions, une molécule porteuse d'une charge est liée à des groupes de charges opposées fixés à la matrice insoluble. Cette liaison est réversible et déclenchée par l'augmentation de la teneur en sel du tampon d'élution.

5.9 Utilisation de Sartobind Convec® SC et D pour capturer les virus et particules virales (VP)

Sartobind Convec® SC

Les concentrations de virus de la grippe dans les flux d'alimentation typiques se situent dans la plage $9,0 - 14,0 \times 10^3$ HAU/mL. Les surnageants cellulaires clarifiés et traités à la nucléase doivent être dilués à 4 mS/cm (conductivités plus élevées également

applicables) à l'aide d'un tampon approprié à faible teneur en sel (par exemple, 10 mM Tris/HCl pH 7,4). Dans ces conditions, la capacité de liaison a été estimée à $1,0 - 2,5 \times 10^6$ HAU/mL de membrane.

Pour les premières approches de criblage, nous recommandons la procédure de séparation suivante :

- Débit : 3 MV/min
- Équilibrage 20 MV dans un tampon à faible teneur en sel
- Réalisation d'échantillons 20 MV
- Lavage 10 MV dans un tampon à faible teneur en sel
- Éluion par étapes 1 sur 10 MV dans un tampon d'éluion composé, par exemple, de 10 mM Tris/HCl pH 7,4, 200 - 1000 mM NaCl (en fonction de la cible)
- Éluion par étapes 2 sur 10 MV dans un tampon d'éluion composé, par exemple, de 10 mM Tris/HCl pH 7,4, 2 M NaCl

Noter que ces valeurs sont des conditions de départ recommandées pour le criblage et qu'elles peuvent nécessiter une optimisation individuelle.

Sartobind Convec® D

Les concentrations de lentivirus dans les flux d'alimentation typiques se situent dans la plage 2×10^{10} VP/mL. Les surnageants cellulaires clarifiés et traités à la nucléase doivent être dilués à 7 mS/cm à l'aide d'un tampon approprié à faible teneur en sel (par exemple, 20 mM Tris/HCl pH 7,2). Dans ces conditions, la capacité de liaison a été estimée à 2×10^{12} VP/mL de membrane.

Pour les premières approches de criblage, nous recommandons la procédure de séparation suivante basée sur un gradient de sel linéaire :

- Débit : 5 MV/min
- Équilibrage 20 MV dans un tampon à faible teneur en sel
- Réalisation d'échantillons 40 MV
- Lavage 20 MV dans un tampon à faible teneur en sel
- Élu-tion en gradient sur 20 MV jusqu'à 75 % de tampon d'élu-tion composé par exemple de 20 mM Tris/HCl pH 7,2, 1 M NaCl (concentration finale de 750 mM NaCl)
- Élu-tion par étapes dans un tampon d'élu-tion à 75 % 20 MV (concentration finale de 750 mM NaCl)
- Élu-tion par étapes dans un tampon d'élu-tion à 100 % 20 MV (concentration finale de 1 M NaCl)

Pour les séries avec élution par étapes, nous recommandons d'effectuer l'étape de lavage avec 100 mM NaCl, une première étape d'élution avec 650 mM NaCl et une seconde étape finale d'élution à 1 M NaCl après le chargement (chacune 20 MV, par exemple, 20 mM Tris/HCl pH 7,2).

Nous recommandons de diluer les fractions contenant des virus avec 4 volumes de tampon de stockage (50 mM HEPES pH 7,5, 20 mM $MgCl_2$, 5 % de saccharose) immédiatement après avoir terminé la série (A.J. Valkama, I. Oruetxebarria, E. M. Lipponen, N. R. Parker, S. Ylä-Herttuala, H. P. Lesch ; Development of Large-Scale Downstream Processing for Lentiviral Vector ; <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.03.025>).

Noter que ces valeurs sont des conditions de départ recommandées pour le criblage et qu'elles peuvent nécessiter une optimisation individuelle.

5.10 Préparation de l'échantillon

Procédure

- ▶ Adapter l'échantillon aux conditions de départ du tampon et le préfiltrer successivement à travers 1. Sartopure® PP3 20 µm 2. Sartopure® PP3 0,65 µm 3. Sartopore® 2 0,45 µm
- ▶ Pour les volumes faibles en mL, utiliser un filtre Sartopore® 2 0,45 µm avec sortie Luer (par exemple, référence 5445306GS--HH--M (olive pour tuyau 1/4") ou référence 5445306GS--FF--M (sanitaire 3/4")).

AVIS

Une alimentation non filtrée bloquera l'adsorbeur à membrane et entraînera une perte de capacité et une augmentation de la contre-pression !

- ▶ Nous recommandons une filtration avant la chromatographie.
-

5.11 Lavage

Procédure

- En cas d'utilisation de capsules en mode de liaison et d'élu-tion, procéder à un lavage à l'aide de tampon d'équilibrage après le chargement des échantillons.

5.12 Élu-tion

Procédure

- Pour éluer le virus cible ou la particule pseudovirale (VLP), utiliser des tampons ayant une teneur en sel adaptée.

5.13 Vidange

Il est recommandé d'utiliser un système à double régulateur d'air pour éviter toute surpression des produits Sartobind Convec®. Le premier régulateur doit abaisser la pression de la ligne d'air à 2 bars. Le second régulateur, placé immédiatement en amont des Sartobind Convec® SC et D, doit réduire la pression d'alimentation réglée à 2 bars à < 1 bar (14,5 psig) pour une capsule.

Procédure

- Vous pouvez vider la capsule en appliquant de l'air ou de l'azote sous pression (<1 bar | 14,5 psig) au niveau de l'entrée du produit.

5.14 Régénération et stockage

À la fin de l'élution, procéder à un lavage avec du tampon d'équilibrage. Si besoin, utiliser 1 N NaOH ou de l'éthanol 70 % pendant 1 heure pour la régénération et stocker dans de l'éthanol 20 % dans le tampon d'équilibrage.

5.15 Fonctionnement des Sartobind Convec® SC et D Nano avec des pompes péristaltiques ou des systèmes de chromatographie liquide (CL)

Procédure

- Une fois que l'unité est entièrement remplie de tampon d'équilibrage, fermer la sortie de la Sartobind Convec® Nano et retirer la seringue.
- Démarrer le système CL ou la pompe péristaltique à un débit faible.

- ▶ Lorsque du liquide sort, arrêter la pompe et raccorder le tube sur l'entrée de la Sartobind Convec® Nano.
- ▶ Il faut veiller à ne pas introduire d'air.
- ▶ Retirer le bouchon de la sortie.
- ▶ Faire tourner la pompe jusqu'à ce que du liquide apparaisse à la sortie de l'unité, puis l'arrêter.
- ▶ Raccorder la sortie de l'unité via l'adaptateur Luer au détecteur CL et procéder au chargement.
- ▶ Si la pression du système est trop élevée, consulter le manuel du système CL pour retirer un éventuel limiteur de débit après la cellule UV. En effet, le système peut générer une pression supérieure à la pression maximale autorisée.
- ▷ Les adsorbants à membrane étant généralement utilisés à des débits bien plus élevés que les colonnes, il n'y a pas de risque de formation de bulles dans la cellule UV lors du retrait du limiteur de débit.

5.16 Montée en échelle

Il convient de procéder à des essais innovants avec le composé cible (contaminants) à lier sur la matrice de la membrane. Une fois que les conditions de liaison ont été améliorées, l'étape de purification peut évoluer vers une capsule plus grande.

Si les capsules soumises à une irradiation gamma doivent être utilisées à plus grande échelle, comparez les capsules non irradiées et irradiées avant de passer à l'échelle supérieure.

Recommandations :

Maintenir

- Débit linéaire (en cas d'utilisation de capsules ayant la même hauteur de lit), le débit augmente de façon linéaire lorsque le débit MV/min reste constant.
- Concentration de l'échantillon
- Augmenter (voir les facteurs d'échelle dans le tableau suivant)
- Volume de charge de l'échantillon
- Débit volumétrique
- Volume de la membrane

Les calculs de montée en échelle sont réalisés en ajustant le volume de la membrane. Cela permet de simplifier le calcul.

D'autres méthodes de montée en échelle impliquant un temps de résidence fourniront les mêmes résultats. Le temps de résidence est calculé en divisant le volume de la membrane par le débit.

Lors de l'utilisation des Sartobind Convec® SC et D Nano 3 mL, le facteur d'échelle pour le débit et la capacité de liaison est égal au facteur de multiplication des volumes de membrane pour les produits de montée en échelle répertoriés :

Taille	Volume de la membrane (mL)	Facteur d'augmentation* (à partir de Nano)	Hauteur du lit (mm)
Nano	3	–	8
Mini	20	6,7	8
5"	150	50	8
10"	400	133	8
20"	800	266	8
30"	1200	400	8

* Débit et capacité de liaison

Exemple : à l'issue d'expériences innovantes avec la Nano 3 mL, il a été constaté qu'une capacité de liaison 350 fois plus élevée était nécessaire pour une production à grande échelle. Il est alors décidé d'utiliser la capsule 1,2 L.

Afin de déterminer les conditions de fonctionnement de la capsule 1,2 L et de maintenir une montée en échelle cohérente, il faut ajuster le débit selon un facteur de ~400. Afin de garantir la réussite de la montée en échelle, des expériences supplémentaires avec la capsule 150 mL (augmentation d'un facteur de 50) doivent venir étayer ce calcul de montée en échelle.

AVIS

La concentration de l'échantillon doit rester constante à l'échelle du laboratoire et de la production.

- Des ajustages peuvent s'avérer nécessaires en raison des volumes supplémentaires correspondants aux tubes et au système.
-

6 Test d'intégrité par diffusion

L'intégrité d'un adsorbeur à membrane peut être vérifiée à l'aide d'un test de diffusion.

La procédure de test décrit le test de diffusion avant et après l'utilisation. Le test vise à distinguer les produits défectueux des produits intacts et à détecter des dérivations majeures, des trous importants et des assemblages défectueux.

6.1 Installation

Procédure

- Installer l'adsorbeur comme illustré à l'III. 4.

La procédure de test a été développée et contrôlée avec la gamme d'instruments Sartocheck®, par ex. Sartocheck® 4 Plus (26288) ou 4 (16288). L'utilisation d'instruments Sartocheck® antérieurs au Sartocheck® 4 fournira des données erronées.

- En cas d'utilisation de testeurs d'intégrité d'autres fabricants, la procédure de test peut nécessiter des modifications.

6.2 Procédure opérationnelle

6.2.1 Pré-lavage de l'appareil

Avant de procéder au test d'intégrité, la capsule doit être prélavée pour éliminer la glycérine éventuellement présente. La solution de lavage doit être à température ambiante.

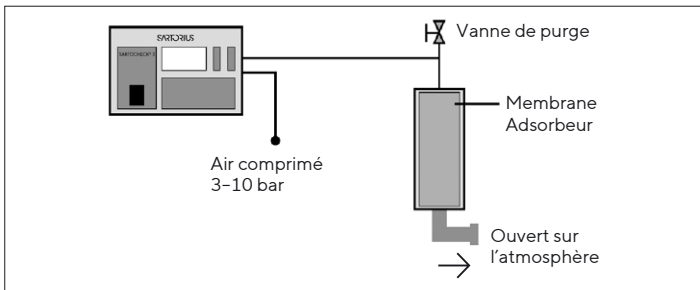
AVIS

Risque de gonflement réversible et de perméabilité diminuée de la membrane Sartobind Convec® SC en cas d'utilisation d'eau pure !

► Ne pas appliquer d'eau pure pour Sartobind Convec® SC.

Procédure

- ▶ Maintenir l'unité dans une position droite pour garantir une bonne ventilation et ouvrir la vis d'évent située en haut du produit jusqu'à ce que tout l'air soit remplacé par le solvant de test.
- ▶ Prélaver le produit à l'aide de 30 volumes de membrane (MV) de tampon ou 0,9 % NaCl dans de l'eau, au débit recommandé.



III. 4 : Configuration du test de diffusion avec Sartochek®.

6.2.2 Mesure de la diffusion avec Sartocheck®

- Sélectionner « Programming » dans le menu principal
- Sélectionner « Diffusion Test »

Procédure

- Choisir la pression du test, la stabilisation et la durée du test du produit dans le tableau (page suivante).
- Si le volume net est défini sur zéro, Sartocheck® mesure automatiquement le volume mort en amont, en incluant le tube.

Paramètres de test

Taille	Volume de la membrane (mL)	Pression de test mbar (psig)	Durée de stabilisation (min)	Durée du test (min)	Diffusion max. (mL/min)
Nano	3	200 (2,9)	2	1	15
Mini	20	200 (2,9)	2	1	15
5"	150	200 (2,9)	2	1	15
10"	400	200 (2,9)	3	1	15
20"	800	200 (2,9)	3	1	15
30"	1200	200 (2,9)	3	1	15

6.3 Résultats et évaluation pour un appareil

- Diffusion $\leq$ Diffusion max. : Réussite du test (valeur de diffusion sur l'impression)
- Diffusion $>$ Diffusion max. : Échec du test (texte rouge sur l'impression)

Les valeurs de diffusion maximales autorisées sont indiquées par produit.

7 Dépannage

Problème	Cause possible	Action
Présence de bulles d'air	Purge de l'air incomplète	La présence de petites bulles d'air dans le haut de l'unité n'interfère pas avec la purification tant qu'elles ne touchent pas le lit de la membrane. Si une trop grande quantité d'air est piégée, répéter l'opération de purge décrite au chapitre « 5.1 Purge de la capsule », page 17.
La capsule a été installée à l'envers	Il s'avère parfois plus aisé d'installer la capsule dans le flux du processus	La validation a été effectuée avec un flux de processus de haut en bas. Par conséquent, il est clairement recommandé d'utiliser les capsules dans le sens du flux décrit (l'alimentation pénètre dans la capsule par le haut et en ressort par le bas).
La procédure de NEP et d'équilibrage de rinçage n'a pas été respectée		Les capsules ont été qualifiées et validées selon la procédure prescrite. En cas de modification, les résultats risquent également d'être différents des données de validation fournies.
Contre-pressure élevée	Le matériau n'a pas été filtré	Préfiltrer à l'aide d'un filtre 0,45 µm avant d'utiliser l'unité.

Problème	Cause possible	Action
Contre-pression élevée	Le matériau a été filtré mais stocké avant la purification	Les contaminants peuvent former des agglomérats en quelques heures ou durant le fonctionnement. Nous recommandons une étape de préfiltration avec un filtre de 0,45 µm. En cas de nouvelle accumulation de la pression, répéter l'étape de filtration.
	Le système CL génère une pression élevée	Retirer le limiteur après la cellule UV.
	L'adsorbent est obstrué La membrane est colmatée	Remplacer l'unité. Procéder à un cycle de régénération. Il est possible d'exécuter un rétrolavage selon les limites de débit et de pression données.
	Viscosité effets du gonflement	Travailler à température ambiante, éviter les températures basses
Contre-pression élevée	L'eau pure entraîne un gonflement de la membrane	Ajouter du chlorure de sodium ou utiliser des tampons ioniques
La molécule cible n'est pas liée	Les conditions pour la liaison sont insuffisantes	Réduire la conductivité et vérifier les autres paramètres du processus, comme le type de tampon et le pH.

Problème	Cause possible	Action
La capacité de liaison n'est pas suffisante	Conditions du processus non optimisées	Utiliser un produit adsorbant plus grand ou raccorder deux adsorbants (de même taille) en série (c.-à-d. raccorder la sortie du premier adsorbant sur l'entrée du second) pour obtenir une capacité de liaison plus élevée. Généralement, la pression double lorsque le débit reste constant et que le nombre de couches de membrane est doublé.
Une réutilisation est nécessaire	Pour des raisons économiques ou pratiques	Les capsules Sartobind Convec® sont conçues pour un usage unique et insérées dans un boîtier en plastique à cet effet. Elles sont également validées et certifiées pour un usage unique. Sur le plan technique, elles peuvent être réutilisées. La durabilité de l'unité dépend de la nature et de la préparation de l'échantillon, de la préfiltration ainsi que d'une régénération et d'une application appropriées. Les matériaux plastiques et les membranes permettent un NEP et un stockage à long terme dans de bonnes conditions. Notre Service de validation peut accompagner une validation pour réutilisation. Il convient de contacter le représentant local.

Problème	Cause possible	Action
La capacité de liaison diminue après plusieurs utilisations	Filtration inadéquate	Préfiltrer avant d'utiliser l'unité.
	Certaines espèces de molécules se lient étroitement et ne peuvent pas être éliminées à l'aide de 1 N NaOH 1 h	N'utiliser la capsule qu'une seule fois.
La capacité de liaison diminue après plusieurs utilisations	Il subsiste des contaminants liés du dernier cycle	Initier un tampon 1 M NaCl pour éluier la quantité de protéines étroitement liées. Régénérer ensuite l'adsorbent en chargeant 1 N NaOH et le conserver pendant 1 heure à température ambiante (20 °C).
	Stockage incorrect	Ne pas stocker dans des tampons contenant de l'hydroxyde de sodium. Stocker à long terme dans une solution tampon d'éthanol 20 % (par ex. tampon d'équilibrage) et ne pas utiliser de produits chimiques oxydants dans les tampons.

Problème	Cause possible	Action
Une ligne verticale apparaît sur le côté de la capsule remplie	Bord de la membrane visible	Aucune action requise. Le bord du non-tissé qui touche le tube intérieur peut être visible.
Après une purge avec de l'air ou de l'azote, le débit et la capacité de liaison ont été perdus.	De l'air a pénétré dans les pores	Voir dépannage « Point de bulle appliqué au lieu du test de diffusion » ci-dessous.
Un test du point de bulle a été réalisé accidentellement à la place du test de diffusion	Erreur de fonctionnement	La membrane doit être purgée en profondeur afin d'éliminer tout l'air qui a été comprimé dans les pores. Après une purge efficace, le test de diffusion peut être exécuté avec succès et le produit fonctionne comme attendu.

8 Caractéristiques techniques

8.1 Hauteur du lit 8 mm

Volume de la membrane (MV)	3 mL	20 mL	150 mL
Surface nominale de la membrane Sartobind Convec® SC D	114 cm ² 135 cm ²	760 cm ² 900 cm ²	5700 cm ² 6750 cm ²
Conception	Cylindrique	Cylindrique	Cylindrique
Pression maximale bar (MPa, psig) à 20 °C	4 (0,4, 58)	4 (0,4, 58)	4 (0,4, 58)
Pression maximale durant la purge bar (MPa, psig) à 20 °C	–	0,5 (0,05, 7)	0,5 (0,05, 7)
Volume mort nominal (mL)	4	32	200
Volume mort nominal (MV)	1,3	1,6	1,3
Débit recommandé Sartobind® Convec SC D	3 MV/min 5 MV/min	3 MV/min 5 MV/min	3 MV/min 5 MV/min
Poids approximatif	10 g	65 g	400 g

Membrane 1 mL = 38 cm² Sartobind Convec® SC et 45 cm² Sartobind Convec® D
 Stabilité du pH à court terme : 3–14 désigne les procédures de nettoyage en place et de régénération durant le fonctionnement. Stabilité du pH en cas de stockage à long terme : 4–13 désigne le stockage pendant une nuit et plus. Stocker de préférence les unités dans de l'éthanol 20 % | du tampon

Volume de la membrane (MV)	400 mL	800 mL	1,2 L
Surface nominale de la membrane Sartobind Convec® SC D	15200 cm ² 18000 cm ²	30400 cm ² 36000 cm ²	45600 cm ² 54000 cm ²
Conception	Cylindrique	Cylindrique	Cylindrique
Pression maximale bar (MPa, psig) à 20 °C	4 (0,4, 58)	4 (0,4, 58)	4 (0,4, 58)
Pression maximale durant la purge bar (MPa, psig) à 20 °C	0,5 (0,05, 7)	0,5 (0,05, 7)	0,5 (0,05, 7)
Volume mort nominal (mL)	540	1080	1600
Volume mort nominal (MV)	1,4	1,4	1,3
Débit recommandé Sartobind® Convec SC D	3 MV/min 5 MV/min	3 MV/min 5 MV/min	3 MV/min 5 MV/min
Poids approximatif	760 g	1,3 kg	1,9 kg

Membrane 1 mL = 38 cm² Sartobind Convec® SC et 45 cm² Sartobind Convec® D
Stabilité du pH à court terme : 3-14 désigne les procédures de nettoyage en place et de régénération durant le fonctionnement. Stabilité du pH en cas de stockage à long terme : 4-13 désigne le stockage pendant une nuit et plus. Stocker de préférence les unités dans de l'éthanol 20 % | du tampon

8.2 Matériaux

Matières de la membrane

Matrice	Cellulose renforcée stabilisée
Épaisseur de la membrane volume de la membrane = surface de la membrane	
Sartobind Convec® SC	265 µm 1 mL = 38 cm ²
Sartobind Convec® D	220 µm 1 mL = 45 cm ²
Taille nominale des pores	1,1 µm
Ligand	
Sartobind Convec® SC	Pseudo-affinité/cation fort : groupe sulfate ($-\text{OSO}_3^-$)
Sartobind Convec® D	Anion faible : groupe amino diéthyle ($-\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$)
Densité de ligand	
Sartobind Convec® SC	8 - 15 µmol/cm ² , 270 - 620 µmol/mL
Sartobind Convec® D	0.11 - 0.31 µmol/cm ² , 6 - 12 µmol/mL

Matières de la capsule

Cage extérieure, élément central intérieur, bouchons d'extrémité, boîtier de capsule PP (polypropylène)

Non-tissé

Produits non compatibles avec l'irradiation gamma PP (polypropylène)

Produits compatibles avec l'irradiation gamma | PET (polyéthylène téréphtalate)
irradiés aux rayons gamma

Joint torique dans la vanne de purge (sauf Nano) EPDM (éthylène-propylène-diène monomère)

8.3 Capacité de liaison

La capacité de liaison dynamique dépend fortement des molécules cibles et doit être testée pour chaque application.

Capacité de liaison dynamique Souche virale type		
SC	$>2,47 \times 10^6$ HAU/mL*	Grippe A / Porto Rico / 8 / 1934 (H1N1)
	$>1,11 \times 10^6$ HAU/mL*	Grippe B / Phuket / 3073 / 2013
	$>1,64 \times 10^6$ HAU/mL*	Grippe A / Suisse / 9715293 / 2013 (H3N2)
D	2×10^{12} VP/mL	Surnageant de culture cellulaire de lentivirus clarifié

* A. Fortuna, S. Teeffelen, A. Leyb, L. Fischer, F. Taft, Y. Genzel, L. Villain, M. Wolff, U. Reichl, Use of sulfated cellulose membrane adsorbers for chromatographic purification of cell cultured-derived influenza A and B viruses <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.05.101>

8.4 Stabilité chimique

Stable pour tous les tampons fréquemment utilisés en chromatographie

Pas d'agents oxydants

8.5 Conditions de stockage

Endroit propre et sec, dans une poche et une boîte fermées, à température ambiante.

Protéger de la lumière directe du soleil.

Conserver les échantillons de membrane inclus dans un endroit sûr car il n'est **pas** possible de les commander à nouveau.

9 Assurance qualité

Les produits finaux Sartobind Convec® sont soumis à des tests de densité de ligand et de débit. Les membranes Sartobind Convec® sont soumises à des tests de densité de ligand, de débit, d'épaisseur et d'uniformité.

Les capsules et membranes sont fabriquées dans un environnement contrôlé. Les produits répondent à toutes les normes Sartorius en matière de traçabilité, de production et de spécifications décrites ici ou les dépassent, comme indiqué dans le certificat d'assurance qualité joint. Une validation et un guide des extractibles sont disponibles sur demande.

10 Informations sur les marques déposées

Sartobind®, Sartobind Convec® et Sartocheck® sont des marques déposées de Sartorius Stedim Biotech GmbH. Pour plus de détails sur les enregistrements, veuillez consulter notre site Web : www.sartorius.com (brevets et marques)

11 Informations de commande

11.1 Produits Sartobind Convec® SC

Référence	Description	Quantité
97SC--04E-C11	Sartobind Convec® SC Nano 3 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	1
97SC--04E-C11--A	Sartobind Convec® SC Nano 3 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	4
97SC--04E4J11	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	1
97SC--04E4J11--A	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 8 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	4
97SC--04E4JFF	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL, 8 mm, clamp sanitaire $\frac{3}{4}$ "	1
97SC--04E4JFF--A	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL, 8 mm clamp sanitaire $\frac{3}{4}$ "	4

Référence	Description	Quantité
97SC--04E4JOO	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL, 8 mm connecteurs olives pour tuyau	1
97SC--04E4JOO--A	Sartobind Convec® SC Mini 20 mL 8 mm connecteurs olives pour tuyau	4
97SC--04E9BFF	Sartobind Convec® SC 150 mL, 8 mm, clamp sanitaire ¾"	1
97SC--04E9BOO	Sartobind Convec® SC 150 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97SC--04E1HSS	Sartobind Convec® SC 400 mL, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97SC--04E1HOO	Sartobind Convec® SC 400 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97SC--04E2LSS	Sartobind Convec® SC 800 mL, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97SC--04E2LOO	Sartobind Convec® SC 800 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97SC--04E3FSS	Sartobind Convec® SC 1,2 L, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97SC--04E3FOO	Sartobind Convec® SC 1,2 L, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1

11.2 Produits Sartobind Convec® D

Référence	Description	Quantité
97LV--04E-C11	Sartobind Convec® D Nano 3 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	1
97LV--04E-C11--A	Sartobind Convec® D Nano 3 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	4
97LV--04E4J11	Sartobind Convec® D Mini 20 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 2 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	1
97LV--04E4J11--A	Sartobind Convec® D Mini 20 mL, 8 mm, connecteurs Luer femelles, 8 adaptateurs PEEK Luer mâle vers UNF 10-32 femelle	4
97LV--04E4JFF	Sartobind Convec® D Mini 20 mL, 8 mm, clamp sanitaire $\frac{3}{4}$ "	1
97LV--04E4JFF--A	Sartobind Convec® D Mini 20 mL, 8 mm, clamp sanitaire $\frac{3}{4}$ "	4
97LV--04E4JOO	Sartobind Convec® D Mini 20 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1

Référence	Description	Quantité
97LV--04E4JOO--A	Sartobind Convec® D Mini 20 mL 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	4
97LV--04E9BFF	Sartobind Convec® D 150 mL, 8 mm, clamp sanitaire ¾"	1
97LV--04E9BOO	Sartobind Convec® D 150 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97LV--04E1HSS	Sartobind Convec® D 400 mL, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97LV--04E1HOO	Sartobind Convec® D 400 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97LV--04E2LSS	Sartobind Convec® D 800 mL, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97LV--04E2LOO	Sartobind Convec® D 800 mL, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1
97LV--04E3FSS	Sartobind Convec® D 1,2 L, 8 mm, clamp sanitaire 1½"	1
97LV--04E3FOO	Sartobind Convec® D 1,2 L, 8 mm, connecteurs olives pour tuyau	1

Pour les capsules et les assemblages soumis à une irradiation gamma, veuillez contacter votre représentant local Sartorius.

11.3 Accessoires

Référence	Description	Quantité
1ZA---0004	Adaptateur Luer mâle vers UNF 10-32 femelle, PEEK	1
1ZAOGV0003	Adaptateur UNF 10-32 femelle vers clamp sanitaire ¾", 25 mm, polyoxyméthylène	
5ZGI--0001	Support pour 1 × capsule 200 à 1200 mL (10–30"), acier inoxydable, 3 pieds	1
5ZALB-0002	Adaptateur de distribution pour 3 × capsules 200 (10–30") à 1200 mL, 1 × 2", 3 × 1½", sanitaire, acier inoxydable	1
7ZAL-V0013	Adaptateur réducteur 1½" (50,5 mm) à ¾" (25 mm), sanitaire	1
7ZAL-V0010	Adaptateur réducteur 2" (64 mm) à 1½" (50,5 mm), sanitaire	1
26787---FT	Testeur de filtre Sartochek® 5	1
26787---FT---P	Testeur de filtre Sartochek® 5 Plus	1

12 Dimensions et raccords

			
Volume de la membrane	3 mL	20 mL	150 mL
Taille	Nano	Mini	5"
Dimensions en mm	37 × 31 H × Ø	Luer : 70 × 55 Sanitaire : 100 × 55 Olive pour tuyau : 110 × 55 H × Ø	Sanitaire : 190 × 77 Olive pour tuyau : 204 × 77 H × Ø
Connecteurs	Luer femelle	- Luer femelle - Sanitaire ¾", Ø extérieur 25 mm, intérieur 14 mm - Olive pour tuyau ½", 12,7 mm*	- Sanitaire ¾", Ø extérieur 25 mm, intérieur 14 mm - Olive pour tuyau ½", 12,7 mm*
Joints	n.d.	¾", Ø intérieur 16 mm	¾", Ø intérieur 16 mm
n.d. = non disponible * Diamètre intérieur recommandé du tube flexible : ½", 12,7 mm			



Volume de la membrane	400 mL	800 mL	1,2 L
Taille	10"	20"	30"
Dimensions en mm	Sanitaire : 347 × 100 Olive pour tuyau : 359 × 100 H × Ø	Sanitaire : 579 × 100 Olive pour tuyau : 591 × 100 H × Ø	Sanitaire : 807 × 100 Olive pour tuyau : 819 × 100 H × Ø
Connecteurs	- Sanitaire 1½" Ø extérieur 50,5 mm, intérieur 36 mm - Olive pour tuyau ½", 12,7 mm*	- Sanitaire 1½" Ø extérieur 50,5 mm, intérieur 36 mm - Olive pour tuyau ½", 12,7 mm*	- Sanitaire 1½" Ø extérieur 50,5 mm, intérieur 36 mm - Olive pour tuyau ½", 12,7 mm*
Joints	1½", Ø intérieur 35,8 mm	1½", Ø intérieur 35,8 mm	1½", Ø intérieur 35,8 mm

n.d. = non disponible | * Diamètre interne recommandé du tube flexible : ½", 12,7 mm

Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Germany

Phone: +49 551 308 0
www.sartorius.com

© 2025
Sartorius Stedim Biotech GmbH
August-Spindler-Strasse 11
37079 Goettingen, Germany

ML | Publication No.: SL-9052-f240402
DIR: 3314498-003-01

Les informations et les illustrations contenues dans ce manuel correspondent à l'état à la date indiquée ci-dessous. Sartorius se réserve le droit de modifier sans préavis les technologies, fonctions, caractéristiques techniques et la forme du matériel. Le masculin ou le féminin sont utilisés pour améliorer la lisibilité du présent manuel et désignent toujours tous les genres simultanément.

Avis sur les droits d'auteur :
Le présent manuel et tous ses composants sont protégés par les droits d'auteur. Toute utilisation au-delà des limites de la loi sur les droits d'auteur est interdite sans notre approbation. Cela s'applique plus particulièrement à la réimpression, la traduction et la modification, quel que soit le type de support utilisé.

Dernière mise à jour :
04 | 2025