



**IVD-1033-S**

**chemagic™**

**Viral DNA/RNA 300 Kit H96**

Instrucciones de uso. Reactivos para 960 extracciones.









Fabricante:

PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (BAE),  
Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Baesweiler, Alemania  
[www.chemagen.com](http://www.chemagen.com), [www.perkinelmer.com](http://www.perkinelmer.com)  
Teléfono: +49 (0) 2401805500

**CE**

**PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*. VERSIÓN 220914 ES**

## SÍMBOLOS

Símbolo	Nombre del símbolo
CE	Símbolo CE
	Código de serie
	Número de catálogo
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura
	Suficiente para <n> pruebas
	Fabricante
	GHS02
	GHS05

Símbolo	Nombre del símbolo
	GHS07
	GHS08
	Mercancías peligrosas: Clase 3, líquido inflamable
	Mercancías peligrosas: Clase 8, materias corrosivas
	Este lado hacia arriba
	Reciclable
	Frágil, manejar con cuidado
	Mantener seco

## **chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96**

### **APLICACIÓN**

El chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 se utiliza para la extracción y la purificación automáticas de ADN y ARN de plasma humano, saliva e hisopos nasorafínges u orofarínges con el instrumento chemagic™ 360-D (n.º de producto 2024-0010).

El kit está diseñado para utilizarse con aplicaciones de IVD posteriores que empleen la amplificación enzimática y la detección de ADN y ARN (p. ej., PCR, RT-PCR, NGS). El producto está concebido para personal de laboratorio cualificado. Para obtener más información, consulte los apartados “REACTIVOS” y “ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES” de este documento.

### **RESUMEN Y PRINCIPIO**

El chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 se basa en una plataforma de tecnología de Magnetic Beads de PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH. Las células y otras fuentes de ADN/ARN presentes en plasma, suero e hisopos nasorafínges u orofarínges se lisan durante el proceso de extracción. Los ácidos nucleicos liberados se unen a pequeñas partículas magnetizables y, a continuación, se separan por acción magnética del material de la muestra. Durante los pasos siguientes, los contaminantes se eliminan y los ácidos nucleicos purificados se transfieren a un Elution Buffer. El procesamiento automático de las muestras se lleva a cabo mediante el instrumento chemagic™ 360-D (n.º de producto 2024-0010) con chemagic™ 96 Rod Head Set (n.º de producto CMG-370) o instrumento equivalente.

Para minimizar las irregularidades en los resultados de diagnóstico, el producto se ha diseñado para su uso con un control interno, así como con un control positivo y otro negativo, a lo largo de los procesos de preparación, amplificación y detección de la muestra, que se realizan de acuerdo con el ensayo posterior utilizado.

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen normativo idéntico (IVDR (UE) 2017/746/UE), si durante el uso de este producto o como resultado de su uso se produce un incidente grave, este debe comunicarse a su autoridad nacional así como al fabricante y PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH a través del teléfono +49 (0) 2401805500 o escribiendo a [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com) o a sus representantes legales.

## **CONTENIDO DEL KIT**

El kit contiene reactivos suficiente para realizar 960 extracciones.

La fecha de caducidad del kit sin abrir se indica en la etiqueta exterior. No utilice ningún componente después de la fecha de caducidad. Almacene el producto a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Una vez abierto, los componentes del kit tienen una estabilidad similar. La estabilidad posterior a la apertura se indica para cada componente de forma independiente en la lista de reactivos que figura a continuación. Nota: vuelva a tapar bien las botellas inmediatamente después de su uso para evitar la evaporación.

Las botellas pueden cambiar de color durante el almacenamiento. Este cambio de color de las botellas no afecta a la funcionalidad del ensayo.

## **INSTRUCCIONES DE USO ELECTRÓNICAS**

En nuestra página web encontrará instrucciones de uso electrónicas (eIFU) en varios idiomas. Para descargar estas instrucciones de uso electrónicas, visite el sitio

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

Las eIFU están disponibles en inglés (EN), francés (FR), español (ES) e italiano (IT).

Si tiene alguna pregunta sobre la descarga o las instrucciones de uso electrónicas, póngase en contacto con nosotros a través del correo [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com) o el teléfono +49 (0) 2401805500.

## **ARCHIVOS DE PROTOCOLO**

Los archivos de protocolo relacionados con el kit están disponibles en la página web o son suministrados por el servicio de asistencia al cliente (consulte más arriba).


chemagic™ es una marca comercial de PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH.

## REACTIVOS

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

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Magnetic Beads</b>	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Suspensión de partículas que contienen óxido de hierro nanoparticular encapsulado en una matriz de alcohol polivinílico. Las Magnetic Beads se unen al ADN/ARN durante el proceso de extracción.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Lysis Buffer 1</b>  PELIGRO	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Debe almacenarse en la oscuridad.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución tampón acuosa lista para utilizar con tiocianato de guanidina (50-70 %). La solución Lysis Buffer se utiliza para lisar las células u otra fuente de ADN/ARN presente en la muestra para obtener el ADN/ARN en la solución.

#### **LYSIS BUFFER 1 CONTIENE TIOCIANATO DE GUANIDINA:**

H302+H312 Nocivo en caso de ingestión o contacto con la piel.

H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

P101 Si se necesita consejo médico, tener a mano el envase o la etiqueta.

P102 Mantener fuera del alcance de los niños.

P103 Leer atentamente y seguir todas las instrucciones.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.



P310 Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/ médico.

P321 Se necesita un tratamiento específico (ver en esta etiqueta).

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.

EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<p><b>Binding Buffer 2</b></p>   <p>PELIGRO</p>	<p>1 envase (consulte la etiqueta para conocer el volumen)</p>	<p>De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.</p> <p>Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.</p>

Solución tamponada Tris-HCl lista para utilizar (pH 5.2-6.1) con perclorato de sodio (20-40 %) y etanol (40-60 %). El Binding Buffer 2 se utiliza para crear las condiciones adecuadas para que el ADN/ARN se una a las Magnetic Beads.

**BINDING BUFFER 2 CONTIENE ETANOL Y PERCLORATO DE SODIO:**

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

H302 Nocivo en caso de ingestión.

P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.


P240 Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.

P241 Utilizar material [eléctrico/de ventilación/ iluminación] antideflagrante.

P280 Llevar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara/los oídos.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Wash Buffer 3</b>  PELIGRO	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución tamponada Tris-HCl lista para utilizar (pH 4.8-5.6) con perclorato de sodio (20-30 %) y etanol (20-40 %). Utilizada para eliminar los contaminantes distintos de ADN/ARN durante el paso de lavado.

**WASH BUFFER 3 CONTIENE ETANOL Y PERCLORATO DE SODIO:**

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.


P240 Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.

P241 Utilizar material [eléctrico/de ventilación/ iluminación] antideflagrante.

P280 Llevar guantes/ropa de protección/equipo de protección para los ojos/la cara/los oídos.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Wash Buffer 4</b>  PELIGRO	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución lista para utilizar con etanol al 50-70 %. Utilizada para eliminar los últimos restos de contaminantes distintos de ADN/ARN durante el paso de lavado.

**WASH BUFFER 4 CONTIENE ETANOL:**

H225 Líquido y vapores muy inflamables.

P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar.

P240 Toma de tierra y enlace equipotencial del recipiente y del equipo receptor.

P241 Utilizar material [eléctrico/de ventilación/ iluminación] antideflagrante.

P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P303+P361+P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua [o ducharse].

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.



Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Wash Buffer 5</b>	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución acuosa ultrafiltrada lista para utilizar. Utilizada para eliminar posibles restos de etanol.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Elution Buffer 6</b>	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Una vez abierto, permanece estable durante 60 días a una temperatura comprendida entre +2 y +25 °C.

Solución tamponada Tris-HCl 10 mM lista para utilizar (pH 7.8–8.4).



Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Proteinase K</b>   PELIGRO	1 botella (liofilizada)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Tras la reconstitución, permanece estable durante 28 días a una temperatura comprendida entre +2 y +8 °C.

La Proteinase K se reconstituye añadiendo 11 ml de agua purificada. La solución Proteinase K se añade para mejorar la eficiencia del paso de lisis.

**LA PROTEINASE K CONTIENE PROTEINASA, SERINA DE *TRITIRACHIUM ALBUM* Y ACETATO DE CALCIO HIDRATO:**

H315: Provoca irritación cutánea.

H319 Provoca irritación ocular grave.

H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

H335 Puede irritar las vías respiratorias.

P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol.

P280 Llevar guantes/gafas/máscara de protección.

P284 [En caso de ventilación insuficiente,] llevar equipo de protección respiratoria.


P305+P351+P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.

P405 Guardar bajo llave.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Poly(A)RNA</b>	10 tubos (seca)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.  Tras la reconstitución, permanece estable durante 30 días a una temperatura comprendida entre +2 y +8 °C.

La Poly(A)RNA se reconstituye añadiendo 440 µl de Poly(A)RNA Buffer. La Poly(A)RNA funciona como un transportador de ADN/ARN para mejorar la eficiencia del proceso de extracción.

Componente	Cantidad	Vida útil y almacenamiento
<b>Poly(A)RNA Buffer</b> 	1 botella (consulte la etiqueta para conocer el volumen)	De +2 a +25 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la botella.
<b>PELIGRO</b>		

Solución tampón acuosa lista para utilizar con tiocianato de guanidina (20-40 %). El Poly(A)RNA Buffer se utiliza para la reconstitución de Poly(A)RNA.

**POLY(A)RNA BUFFER CONTIENE TIOCIANATO DE GUANIDINA:**

H302 Nocivo en caso de ingestión.

P264 Lavarse concienzudamente tras la manipulación.

P270 No comer, beber ni fumar durante su utilización.

P301+P312 EN CASO DE INGESTIÓN: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar.

P330 Enjuagarse la boca.

P501 Eliminar el contenido/el recipiente de acuerdo con la normativa local/regional/nacional/internacional.

EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

Componente	Cantidad	Almacenamiento
<b>Disposable Tips</b> (96 c/u)	10 x 96 c/u	De +2 a +25 °C
<b>Deep Well Plates</b> (5 c/u)	10 x 5 c/u	De +2 a +25 °C
<b>Low Well Plates</b> (5 c/u)	2 x 5 c/u	De +2 a +25 °C

## **MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS CON EL KIT**

El chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 requiere los siguientes artículos que pueden solicitarse a PerkinElmer®, Inc. y sus distribuidores:

- chemagic™ 360-D (n.º de producto 2024-0010) con chemagic™ 96 Rod Head Set (n.º de producto CMG-370)

Artículos adicionales requeridos:

- Archivo de protocolo relacionado con el kit (archivo .che) suministrado por PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (consulte el apartado “ARCHIVOS DE PROTOCOLO”, p. 4)
- pipetas y puntas de pipeta con filtros para aerosol
- agua de grado molecular

Artículos adicionales opcionales:

- chemagic™ Stand 96 (n.º de producto CMG-301)
- solución salina isotónica, estéril
- Tubo Sarstedt (n.º de catálogo 72.693 o 72.694)

## OBTENCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

El chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 puede utilizarse con plasma humano recién obtenido o congelado, estabilizado con EDTA o citrato procedente de sistemas de extracción de sangre habituales, saliva estabilizada (tubos de recogida Oragene™ y Spectrum™) y medios de transporte de hisopos (p. ej., eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) como alícuotas directas de 300 µl por aislado.

Tras la recogida y centrifugación, el plasma puede almacenarse a 2-8 °C durante 6 horas como máximo. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda congelar a -20 °C o -80 °C en alícuotas. Las muestras de plasma o suero congeladas no deben descongelarse más de una vez. La repetición del ciclo de congelación/descongelación puede provocar la desnaturalización y precipitación de proteínas, lo que resulta en un menor rendimiento de los ácidos nucleicos.

El material de muestra procedente de hisopos secos debe transferirse a solución salina isotónica. Por tanto, añada 350 µl de solución salina isotónica e incube durante 5 minutos a 15-25 °C antes de su uso. Deben utilizarse 300 µl de muestra incubada con solución salina isotónica por cada aislado.

### **NOTA: NO UTILICE NINGÚN BUFFER CON FOSFATO PARA LA RESUSPENSIÓN.**

No se ha determinado la eficiencia de la extracción de un material de muestra distinto a los tipos de muestra enumerados más arriba.

Para una manipulación segura, las muestras para las pruebas virales (p. ej., extracción de ARN viral de SARS-CoV-2) deben inactivarse antes de su uso. Pipetee 4 µl de Poly(A)RNA, 10 µl de Proteinase K y 300 µl de Lysis Buffer 1 en un tubo Sarstedt de 2 ml (n.º de catálogo 72.693 o 72.694). Nota: si se van a procesar más de una muestra para la inactivación, puede prepararse una solución de reserva de esta solución. Multiplique los volúmenes requeridos para una muestra por el número total de muestras que deben procesarse e incluya el volumen adicional al equivalente de 3 muestras extra. Invierta el tubo varias veces para mezclar, transfiera 314 µl a un tubo Sarstedt de 2 ml para cada muestra y, a continuación añada 300 µl de muestra a cada tubo, cierre la tapa y mezcle mediante un agitador vórtex por pulsos durante 10 segundos. Incube el tubo a 68 °C durante 15 minutos (± 2 minutos) para la inactivación. Transfiera el lisado inactivado completamente a la Deep Well Plate de muestras en el paso 3 del protocolo de extracción y prosiga por el paso 4.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para diagnóstico *in vitro*.

El producto está concebido para usuarios profesionales con formación en el uso del instrumento chemagic™ 360-D (n.º de producto 2024-0010).

Manipule todas las muestras como potencialmente infecciosas. Las muestras potencialmente infecciosas deben inactivarse. Consulte la publicación “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos o cualquier otra normativa local o nacional.

Lysis Buffer 1 contiene tiocianato de guanidina y es nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación. Binding Buffer 2 y Wash Buffer 3 contienen perclorato de sodio y etanol y son líquidos y vapores inflamables nocivos en caso de ingestión. Wash Buffer 4 contiene etanol y es un líquido y vapor inflamable. Proteinase K contiene serina proteínasa tritirachium album y causa irritación cutánea e irritación ocular grave, puede causar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación así como irritación respiratoria. Poly(A)RNA Buffer contiene tiocianato de guanidina y es nocivo en caso de ingestión o inhalación. Consulte las precauciones específicas para todos los componentes en el apartado “REACTIVOS”.

Para evitar lesiones durante el trabajo con los componentes del kit, utilice siempre gafas de seguridad, guantes desechables y ropa de protección. Para obtener información detallada, consulte las fichas de datos de seguridad (SDS) correspondientes.

Siga las normativas locales para la manipulación de soluciones etalónicas.

La eliminación de todos los residuos debe estar en consonancia con las normativas locales.

## **PROCEDIMIENTO PROTOCOLO DE 60 MINUTOS (VARIAS ESPECIES)**

Protocolo de extracción con el instrumento chemagic™ 360-D.

La duración del protocolo de extracción automática es de 60 minutos aproximadamente.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el apartado “PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE” a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic™ 360-D, consulte el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.

Deje que las muestras y los reactivos alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de su uso. Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic™ 360-D de la siguiente manera:

- Bomba 1: ninguna botella conectada
- Bomba 2: Binding Buffer 2
- Bomba 3: Wash Buffer 3
- Bomba 4: Wash Buffer 4
- Bomba 5: Wash Buffer 5
- Bomba 6: ninguna botella conectada

**NOTA: VUELVA A TAPAR HERMÉTICAMENTE LAS BOTELLAS DESPUÉS DEL USO O MANTÉNGALAS CONECTADAS HERMÉTICAMENTE AL INSTRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. LAS SOLUCIONES BINDING BUFFER 2, WASH BUFFER 3 Y WASH BUFFER 4 CONTIENEN ETANOL. SI EL ETANOL SE EVAPORA, NO SE PUEDE GARANTIZAR UN RENDIMIENTO ÓPTIMO NI LA SENSIBILIDAD DE DETECCIÓN.**

## PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con material en su posición (muestras, Magnetic Beads y Buffers).
3. Reconstituya los componentes Proteinase K y Poly(A)RNA.
  - Proteinase K: añada 11 ml de agua de grado de biología molecular a la botella de Proteinase K y mezcle suavemente hasta su completa disolución.
  - Poly(A)RNA: añada 440 µl de buffer Poly(A)RNA al tubo de Poly(A)RNA y mezcle bien hasta su completa disolución.
4. Si Lysis Buffer 1 contiene precipitado (formado durante la transferencia o el almacenamiento), la solución debería calentarse a 50-60 °C y mezclarse bien hasta que sea clara. Debería confirmarse siempre de manera visual la claridad de Lysis Buffer 1 antes de su uso.
5. Llene y cebe los tubos chemagic™ 360-D con reactivos mediante el protocolo “**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**”. Pulse el botón [Insert IDs], siga las instrucciones del software de CC chemagic™ y pulse [OK] para iniciar el cebado. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start]. El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic™ 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos mencionados anteriormente.
6. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo “**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
7. Seleccione el protocolo “**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**”, pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones del software de CC chemagic™.
8. Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja de puntas en la posición 1 del tracking system.
9. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

**NOTA: COMPRUEBE QUE TODAS LAS BOTELLAS DE SUMINISTRO DE BUFFER CONTENGAN SUFICIENTE BUFFER. SOLO SE PUEDEN LLEVAR A CABO 96 AISLAMIENTOS SI EL NIVEL DE LÍQUIDO DE TODOS LOS BUFFERS ES SUPERIOR A 125 ml.**

10. Seleccione el número de muestras para prellenado mediante el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
11. Prellene los pocillos seleccionados de la placa de muestras con 300 µl de muestra. Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en los pocillos de la placa de muestras.

**NOTA: ES NECESARIO LICUAR EL MATERIAL DE MUESTRA DE HISOPOS SECOS PARA PODER UTILIZARLO.**

12. Prellene la solución Elution Buffer y resuspenda Magnetic Beads en la misma por completo según las posiciones 6 de las muestras:
  - Mezcle bien la solución de **Magnetic Beads** (en la posición 2 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) y pipetéela manualmente (150 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.

**NOTA: MEZCLE ENÉRGICAMENTE LA SUSPENSIÓN DE MAGNETIC BEADS ANTES DE PROCEDER A DISPENSARLA; DE LO CONTRARIO, LA SUSPENSIÓN NO SERÁ HOMOGÉNEA Y EL RESULTADO DE ADN/ARN PODRÍA SER BAJO.**

- La solución **Elution Buffer 6** (en la posición 7 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) debe pipetearse manualmente (50-100 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.
13. Añada 4 µl de Poly(A)RNA, 10 µl de Proteinase K y luego 300 µl de Lysis Buffer 1 a los pocillos que contengan muestra. Es posible mezclar previamente las soluciones Poly(A)RNA, Proteinase K y Lysis Buffer 1 (seleccione el volumen correcto de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 para garantizar un volumen suficiente para el número de aislamientos).

**NOTA: LA ACTIVIDAD DE PROTEINASE K DISMINUYE DESPUÉS DE UNA INCUBACIÓN SUPERIOR A 10 MINUTOS EN LYSIS BUFFER 1. ASEGÚRESE DE MEZCLAR TODAS LAS MUESTRAS CON POLY(A)RNA/PROTEINASE K/LYSIS BUFFER 1 EN ESTE PERIODO DE TIEMPO.**

14. Coloque las placas en el tracking system conforme a las instrucciones del software de CC chemagic™.
15. Coloque la placa de muestras en la posición 3 del tracking system.



16. Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas.
17. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start]. Así se inicia el proceso de extracción automática de ADN/ARN.

Serie analítica de extracción automática de ADN/ARN en el instrumento chemagic™ 360-D (protocolo de 60 minutos):

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
		<p>Seleccione el protocolo “<b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b>” para aclarar los tubos antes de iniciar la serie analítica de extracción automática. Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software de CC chemagic™ y pulse [OK] para iniciar el aclarado.</p>
		<p>Si utiliza las funciones que habilitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo “<b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che</b>” y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software de CC chemagic™ para cumplimentar los datos necesarios.</p> <p>Cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.</p>
1	Bandeja con puntas Disposable Tips	<p>Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja con puntas Disposable Tips.</p> <p><b>NOTA: LAS PUNTAS DEBEN COLOCARSE EN LA BANDEJA LLENANDO FILAS COMPLETAS.</b></p>
2	Low well plate con 150 µl de Magnetic Beads	<p>Pipetee la solución de Magnetic Beads completamente resuspendida en cada pocillo en uso según la placa de muestras y coloque la placa.</p>
3	Placa de muestras (Deep well plate)	<p>Coloque la placa con las muestras preparadas (300 µl de muestra, 4 µl de Poly (A)RNA, 10 µl de Proteinase K y 300 µl de Lysis Buffer 1).</p> <p>El Binding Buffer 2 se dispensa en la placa automáticamente.</p>

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
4	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 3 se dispensa en la placa automáticamente.
5	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 4 se dispensa en la placa automáticamente.
6	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 5 se dispensa en la placa automáticamente.
7	Deep Well Plate con 50-100 µl de Elution Buffer 6	Pipetee (50-100 µL) de Elution Buffer 6 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y coloque la placa.
		<p>Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas. Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].</p> <p>Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automática de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezcla automáticamente.</p> <p>Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system. Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo “<b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che</b>”, marque las columnas en uso en el mapa de la placa del cuadro de diálogo e inicie la serie analítica de extracción directamente pulsando [Start].</p>

Los números del tracking system hacen referencia a la posición de la placa en el instrumento chemagic™ 360-D.

Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

**NOTA: NO DESPLACE NUNCA EL TRACKING SYSTEM (MESA) MANUALMENTE. PODRÍA CAUSAR DAÑOS EN EL INSTRUMENTO. TODOS LOS MOVIMIENTOS DEBEN REALIZARSE CON LA FUNCIÓN [TURN TABLE].**

## **NOTAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO PARA EL PROTOCOLO DE 60 MINUTOS (VARIAS ESPECIES)**

1. Es preciso entender perfectamente este IFU y el Manual de usuario de chemagic™ 360-D para garantizar un uso correcto de chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Los reactivos suministrados con el kit se han diseñado para el uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote distintos.
2. No utilice los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit. Una vez abiertos, los reactivos se pueden utilizar durante el periodo de tiempo indicado en la lista de reactivos del IFU.
3. Cualquier desviación del protocolo puede incidir en los resultados.
4. Los reactivos se dispensan automáticamente en filas completas, por lo que las tapas de las puntas (Disposable Tips) deberían utilizarse también en filas completas para cada varilla en contacto con cualquier solución de reactivo. Es importante indicar que la ejecución de series analíticas parciales puede hacer que no haya soluciones suficientes para realizar 960 extracciones.
5. No abra la puerta del instrumento chemagic™ 360-D mientras la serie analítica de extracción automática está en proceso si no desea que finalice la serie y se pierdan las muestras en proceso.
6. La limpieza y el mantenimiento del sistema se describen con detalle en el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.
  - a) La limpieza del sistema se realiza una vez por semana: limpie el dispensador chemagic™. Seleccione el protocolo “**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs], o [Start] si las funciones avanzadas están desactivadas. Siga las instrucciones que le indicará el software.
  - b) Antes de volver a utilizar el dispensador chemagic™, ejecute el protocolo de cebado correspondiente.
  - c) Se recomienda limpiar el dispensador chemagic™ con etanol al 70 % una vez al mes. Para ello, utilice el protocolo “**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” en lugar del habitual.

- d) Si no va a utilizar el dispensador chemagic™ durante un periodo de tiempo prolongado, es obligatorio llevar a cabo el "procedimiento de limpieza habitual" para asegurar el rendimiento del instrumento cuando se vuelva a utilizar.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Al utilizar este kit de extracción con el ensayo PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR (n.º de catálogo: COVID-19-PCR-AUS-C) se comunicaron los siguientes datos de LoD (datos generados por Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. No. 115, North Taiping Road, Taicang, Provincia de Jiangsu, China).

### LOD UTILIZANDO CHEMAGIC™ 360-D PARA LA EXTRACCIÓN Y EL SISTEMA DE PCR 7500 DE APPLIED BIOSYSTEMS™

Las muestras se prepararon utilizando una matriz de muestras agrupadas en hisopos orofaríngeos o nasofaríngeos. La matriz agrupada se analizó mediante el ensayo PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR y se confirmó como negativa. Se prepararon un total de seis diluciones dobles con concentraciones conocidas del virus SARS-CoV-2 inactivado (aislado 2/231/humano/2020/CHN) en la matriz clínica negativa y se procesaron mediante chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) en el instrumento chemagic™ 360-D. Se analizaron seis réplicas de extracción individuales por dilución. Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

**Tabla 1:** estudio preliminar del LoD utilizando hisopos orofaríngeos en el instrumento chemagic™ 360-D

Dilución Veces	Hisopo orofaríngeo						
	N		ORF1ab		Ct medio		
	Conc. (copias/ml)	Tasa de detección	Conc. (copias/ml)	Tasa de detección	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,48	36,82	32,18
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	37,04	37,98	32,14
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	39,10	38,88	32,21
1,6E+05	17,13	5/6	5,23	4/6	38,89	39,77	32,35
3,2E+05	8,56	3/6	2,62	2/6	39,35	39,85	32,28
6,4E+05	4,28	0/6	1,31	0/6	/	/	32,41
Negativa	0	0/6	0	0/6	/	/	32,23

**Tabla 2:** tasa de detección del 95 % esperada según el análisis Probit utilizando hisopos orofaríngeos a los que se ha añadido SARS-CoV-2 (aislado 2/231/humano/2020/CHN) en el instrumento chemagic™ 360-D

Tasa de detección del 95 % esperada según Probit (copias/ml)	
N	ORF1ab
19,08 (IC del 95 %: 14,50-37,12)	7,14 (IC del 95 %: 5,34-24,00)

**Tabla 3:** estudio preliminar del LoD utilizando hisopos nasofaríngeos en el instrumento chemagic™ 360-D

Hisopos nasofaríngeos							
Dilución Veces	N		ORF1ab		Ct medio		
	Conc. (copias/ml)	Tasa de detección	Conc. (copias/ml)	Tasa de detección	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,65	36,55	32,32
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	38,17	36,78	32,38
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	38,55	38,24	32,60
1,6E+05	17,13	4/6	5,23	6/6	39,40	40,50	32,59
3,2E+05	8,56	2/6	2,62	1/6	39,59	40,53	32,86
6,4E+05	4,28	2/6	1,31	2/6	39,50	39,70	32,28
Negativa	0	0/6	0	0/6	/	/	32,33

**Tabla 4:** tasa de detección del 95 % esperada según el análisis Probit utilizando hisopos nasofaríngeos a los que se ha añadido SARS-CoV-2 (aislado 2/231/humano/2020/CHN) en el instrumento chemagic™ 360-D

Tasa de detección del 95 % esperada según Probit (copias/ml)	
N	ORF1ab
26,44 (IC del 95 %: 18,34-69,51)	8,32 (IC del 95 %: 5,83-20,69)

### **VERIFICACIÓN DEL LOD UTILIZANDO EL INSTRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D PARA LA EXTRACCIÓN Y EL SISTEMA DE PCR 7500 DE APPLIED BIOSYSTEMS™**

Para el estudio de verificación del LoD, a una matriz de hisopos orofaríngeos negativos agrupados y a una matriz de hisopos nasofaríngeos negativos agrupados se añadió virus SARS-CoV-2 inactivado en el LoD provisional que se predijo entre las dos dianas de SARS-CoV-2 para cada matriz (7,14 copias/ml de ORF1ab para la matriz de hisopos orofaríngeos y 8,32 copias/ml de ORF1ab para la matriz de hisopos nasofaríngeos). Se prepararon veinte réplicas por matriz de muestras y se extrajeron mediante chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) en el instrumento chemagic™ 360-D. Posteriormente se analizaron con el ensayo PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR. También se analizaron veinte réplicas adicionales preparadas a 1,5x del LoD provisional. Los resultados se resumen en las tablas siguientes.

**Tabla 5:** resultados de verificación del LoD del instrumento chemagic™ 360-D para hisopos orofaríngeos

Concentración (copias/ml)			Tasa de detección		Ct medio		
LoD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	23,38	7,14	95 % (19/20)	95 % (19/20)	38,44	38,76	33,13
1,5X	35,07	10,71	100 % (20/20)	100 % (20/20)	38,74	38,11	33,09

**Tabla 6:** resultados de verificación del LoD del instrumento chemagic™ 360-D para hisopos nasofaríngeos

Concentración (copias/ml)			Tasa de detección		Ct medio		
LoD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	27,25	8,32	95 % (19/20)	95 % (19/20)	38,53	38,44	33,81
1,5X	40,87	12,49	100 % (20/20)	100 % (20/20)	38,50	37,79	32,72

## VERIFICACIÓN DEL LOD CON EL INSTRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D Y SISTEMAS DE PCR ALTERNATIVOS (EQUIVALENCIA DE SISTEMAS PCR)

Se realizó un estudio con muestras clínicas artificiales de hisopos nasofaríngeos para ampliar el uso del ensayo PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR a los sistemas 7500 Fast / QuantStudio™ 3 / QuantStudio™ 5 Real-Time PCR de Applied Biosystems™ y el sistema qTOWER3 / qTower3 84 Real-Time PCR de Analytik Jena. Se añadieron dos o tres concentraciones conocidas de material de referencia de ARN SeraCare que contenían el genoma viral completo de SARS-CoV-2 a muestras agrupadas de hisopos nasofaríngeos negativas (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Molecular-Controls-Kit--Full-Genome-0505-0159/>). Se extrajeron los ácidos nucleicos mediante chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) en el instrumento chemagic™ 360-D y se analizaron hasta 20 réplicas de extracción individuales en cada una de las plataformas del instrumento PCR según las instrucciones de uso. En el estudio se incluyó el análisis en el sistema de PCR 7500 de Applied Biosystems™ para permitir la comparación de equivalencias. Los resultados se resumen en las tablas siguientes. Se confirmó un LoD de 20 copias/ml para ABI7500, ABI 7500 Fast Dx, QuantStudio™ 3, QuantStudio™ 5 y qTower3 84, y de 10 copias/ml para qTower3. La sensibilidad de detección de los seis instrumentos se considera equivalente.

**Tabla 7:** verificación del LoD en otras plataformas para PCR alternativas de Applied Biosystems™

Instrumento	Concentración (copias/ml)	Gen diana	Ct medio	Tasa de detección para el gen diana	Tasa de detección general para el algoritmo
ABI 7500	6,7	N	40,2	80 % (16/20)	90 % (18/20)
		ORF	39,4	75 % (15/20)	
	20	N	37,8	95 % (19/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,5	95 % (19/20)	
ABI 7500 Fast Dx	6,7	N	38,1	45 % (9/20)	90 % (18/20)
		ORF	39,0	85 % (17/20)	
	20	N	37,7	75 % (15/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,5	100 % (20/20)	
QS3	12	N	ND	0 % (0/3)	67 % (2/3)
		ORF	34,1	67 % (2/3)	
	20	N	35,7	30 % (6/20)	100 % (20/20)
		ORF	35,3	95 % (19/20)	
	60	N	35,8	45 % (9/20)	95 % (19/20)
		ORF	33,0	95 % (19/20)	
QS5	12	N	ND	0 % (0/3)	0 % (0/3)
		ORF	ND	0 % (0/3)	
	20	N	35,8	25 % (5/20)	95 % (19/20)
		ORF	37,0	95 % (19/20)	
	60	N	36,3	55 % (11/20)	100 % (20/20)
		ORF	35,1	100 % (20/20)	
qTower <sup>3</sup>	6,7	N	39,3	30 % (6/20)	75 % (15/20)
		ORF	39,7	65 % (13/20)	
	10	N	38,2	65 % (13/20)	100 % (20/20)
		ORF	37,8	95 % (19/20)	
	20	N	38,5	75 % (15/20)	100 % (20/20)
		ORF	36,9	100 % (20/20)	
	40	N	37,9	95 % (19/20)	100 % (20/20)
		ORF	36,1	100 % (20/20)	
qTower <sup>3</sup> 84	10	N	38,5	35 % (7/20)	90 % (18/20)
		ORF	38,4	80 % (16/20)	
	20	N	39,0	55 % (11/20)	95 % (19/20)
		ORF	37,3	85 % (17/20)	
	40	N	38,0	80 % (16/20)	100 % (20/20)
		ORF	36,7	100 % (20/20)	

## VERIFICACIÓN DEL LOD EN UN FONDO DE MATRIZ DE SALIVA

El LoD (20 copias/ml) determinado en QuantStudio™ 5 en el fondo de la matriz de hisopos nasofaríngeos (descrito en la sección anterior) se volvió a verificar en un fondo de matriz de saliva utilizando el mismo instrumento. Se añadió material de control de referencia para SARS-CoV-2 en matriz de saliva negativa para preparar muestras positivas con 20 copias/ml. En total se extrajeron 20 réplicas de extracción en chemagic™ 360-D que se amplificaron en QuantStudio™ 5. Los resultados se resumen en la tabla siguiente, y se verificó el LoD de 20 copias/ml con una tasa de detección 20/20 en el fondo de matriz de saliva.

**Tabla 8:** resultados de verificación del LoD del instrumento chemagic™ 360-D para saliva

Concentración (copias/ml)	Tasa de detección		Ct medio		
	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
20	100 % (20/20)	100 % (20/20)	35,53	35,14	30,70

El uso de este kit de extracción con el ensayo EURORealTime SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR (REF MP 2606-0110) generó los datos LoD que se indican a continuación comunicados por EUROIMMUN (una empresa de PerkinElmer®).

## LOD – SENSIBILIDAD ANALÍTICA CON DIFERENTES PCR

Los estudios del LoD determinan la concentración detectable más baja de SARS-CoV-2 a la que aproximadamente el 95 % de todas las réplicas (positivas verdaderas) resultaron positivas.

En primer lugar se determinó un LoD provisional mediante el análisis de 5-7 diluciones en serie preparadas añadiendo virus recombinante con ARN de SARS-CoV-2 (material de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2 de Seracare; 5000 copias/ml) a la matriz de hisopos orofaríngeos negativos para SARS-CoV-2. Cada dilución se analizó con 3 réplicas de extracción individuales. Se determinó un LoD provisional de 150 copias/ml.

El LoD provisional se confirmó mediante el análisis de 21 réplicas de la matriz de hisopos orofaríngeos negativos a la que se añadió por separado material de referencia Accuplex™ y de la que se realizaron extracciones con CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 en el instrumento chemagic™ 360-D. Las réplicas se analizaron en un instrumento Roche LightCycler 480 II. El LoD final para todos los métodos de extracción se determinó en 150 copias/ml. El LoD de 150 copias/ml se verificó posteriormente para el sistema 7500 Fast Real-Time PCR de Applied Biosystems™, CFX 96 Touch de Bio-Rad y los cicladores qTOWER<sup>3</sup> de Analytik Jena con el mismo procedimiento descrito anteriormente. El LoD se confirmó mediante el análisis de 21 réplicas de extracción.



**Tabla 9:** confirmación del LoD en muestras de hisopos orofaríngeos

Instrumento	Réplicas válidas	SARS-CoV-2		IC		Tasa de detección de ARN de SARS-CoV-2
		n	Ct medio	n	Ct medio	
CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96						
Roche LightCycler 480 II	21	20	37,68	21	30,39	95 %
Applied Biosystems™ 7500 Fast	21	21	36,87	21	29,97	100 %
Bio-Rad CFX 96 Touch	21	20	36,42	21	30,38	95 %
Analytic Jena qTOWER <sup>3</sup>	21	20	37,25	21	28,49	95 %

### **PROCEDIMIENTO PARA EL PROTOCOLO DE 31 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

Protocolo de extracción con el instrumento chemagic™ 360-D.

La duración del protocolo de extracción automática es de 31 minutos aproximadamente.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el apartado “PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE” a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic™ 360-D, consulte el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.

Deje que las muestras y los reactivos alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de su uso. Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic™ 360-D de la siguiente manera:

- Bomba 1: ninguna botella conectada
- Bomba 2: Binding Buffer 2
- Bomba 3: ninguna botella conectada
- Bomba 4: Wash Buffer 4
- Bomba 5: Wash Buffer 5
- Bomba 6: ninguna botella conectada

**NOTA: VUELVA A TAPAR HERMÉTICAMENTE LAS BOTELLAS DESPUÉS DEL USO O MANTÉNGALAS CONECTADAS HERMÉTICAMENTE AL INSTRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. LAS SOLUCIONES BINDING BUFFER 2 Y WASH BUFFER 4 CONTIENEN ETANOL. SI EL ETANOL SE EVAPORA, NO SE PUEDE GARANTIZAR UN RENDIMIENTO ÓPTIMO NI LA SENSIBILIDAD DE DETECCIÓN.**

## PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con material en su posición (muestras, Magnetic Beads y Buffers).
3. Reconstituya los componentes Proteinase K y Poly(A)RNA.
  - Proteinase K: añada 11 ml de agua de grado de biología molecular a la botella de Proteinase K y mezcle suavemente hasta su completa disolución.
  - Poly(A)RNA: añada 440 µl de buffer Poly(A)RNA al tubo de Poly(A)RNA y mezcle bien hasta su completa disolución.
4. Si Lysis Buffer 1 contiene precipitado (formado durante la transferencia o el almacenamiento), la solución debería calentarse a 50-60 °C y mezclarse bien hasta que sea clara. Debería confirmarse siempre de manera visual la claridad de Lysis Buffer 1 antes de su uso.
5. Llene y cebe los tubos chemagic™ 360-D con reactivos mediante el protocolo “**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**”. Pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones que aparecerán en el software de CC chemagic™ hasta iniciar el cebado pulsando [OK]. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start]. El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic™ 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos.
6. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo “**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
7. Seleccione el protocolo “**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**” y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software de CC chemagic™.
8. Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja de puntas en la posición 1 del tracking system.

9. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

**NOTA: COMPRUEBE QUE TODAS LAS BOTELLAS DE SUMINISTRO DE BUFFER CONTENGAN SUFICIENTE BUFFER. SOLO SE PUEDEN LLEVAR A CABO 96 AISLAMIENTOS SI EL NIVEL DE LÍQUIDO DE TODOS LOS BUFFERS ES SUPERIOR A 125 ml.**

10. Seleccione el número de muestras para prellenado mediante el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
11. Prellene los pocillos seleccionados de la placa de muestras con 300 µl de muestra. Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en los pocillos de la placa de muestras.

**NOTA: ES NECESARIO LICUAR EL MATERIAL DE MUESTRA DE HISOPOS SECOS PARA PODER UTILIZARLO.**

12. Prellene la solución Elution Buffer y resuspenda Magnetic Beads en la misma por completo según las posiciones 6 de las muestras:
  - Mezcle bien la solución de **Magnetic Beads** (en la posición 2 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) y pipetéela manualmente (150 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.

**NOTA: MEZCLE ENÉRGICAMENTE LA SUSPENSIÓN DE MAGNETIC BEADS ANTES DE PROCEDER A DISPENSARLA; DE LO CONTRARIO, LA SUSPENSIÓN NO SERÁ HOMOGÉNEA Y EL RESULTADO DE ADN/ARN PODRÍA SER BAJO.**

- La solución Elution Buffer 6 (en la posición 7 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) debe pipetearse manualmente (50-100 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.
13. Añada 4 µl de Poly(A)RNA, 10 µl de Proteinase K y luego 300 µl de Lysis Buffer 1 a los pocillos que contengan muestra. Es posible mezclar previamente las soluciones Poly(A)RNA, Proteinase K y Lysis Buffer 1 (seleccione el volumen correcto de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 para garantizar un volumen suficiente para el número de aislamientos).

**NOTA: LA ACTIVIDAD DE PROTEINASE K DISMINUYE DESPUÉS DE UNA INCUBACIÓN SUPERIOR A 10 MINUTOS EN LYSIS BUFFER 1. ASEGÚRESE DE MEZCLAR TODAS LAS MUESTRAS CON POLY(A)RNA/PROTEINASE K/LYSIS BUFFER 1 EN ESTE PERIODO DE TIEMPO.**

14. Coloque las placas en el tracking system conforme a las instrucciones del software de CC chemagic™.

15. Coloque la placa de muestras en la posición 3 del tracking system.
16. Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas.
17. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start]. Así se inicia el proceso de extracción automática de ADN/ARN.

Serie analítica de extracción automática de ADN/ARN en el instrumento chemagic™ 360-D (protocolo de 31 minutos):

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
		Seleccione el protocolo “ <b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b> ” para aclarar los tubos antes de iniciar la serie analítica de extracción automática. Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software de CC chemagic™ y pulse [OK] para iniciar el aclarado.
		Si utiliza las funciones que habilitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo “ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che</b> ” y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software de CC chemagic™ para cumplimentar los datos necesarios.  Cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.
1	Bandeja con puntas Disposable Tips	Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja con puntas Disposable Tips.  <b>NOTA: LAS PUNTAS DEBEN COLOCARSE EN LA BANDEJA LLENANDO FILAS COMPLETAS.</b>
2	Low well plate con 150 µl de Magnetic Beads	Pipetee la solución de Magnetic Beads completamente resuspendida en cada pocillo en uso según la placa de muestras y coloque la placa.
3	Placa de muestras (Deep well plate)	Coloque la placa con las muestras preparadas (300 µl de muestra, 4 µl de Poly (A)RNA, 10 µl de Proteinase K y 300 µl de Lysis Buffer 1). El Binding Buffer 2 se dispensa en la placa automáticamente.

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
4	Vacía	-
5	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 4 se dispensa en la placa automáticamente.
6	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 5 se dispensa en la placa automáticamente.
7	Deep Well Plate con 50-100 µl de Elution Buffer 6	Pipetee (50-100 µL) de Elution Buffer 6 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y coloque la placa.
		<p>Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas. Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].</p> <p>Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automática de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezcla automáticamente.</p> <p>Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system. Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo “<b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che</b>”, marque las columnas en uso en el mapa de la placa del diálogo e inicie la serie analítica de extracción directamente pulsando [Start].</p>

Los números del tracking system hacen referencia a la posición de la placa en el instrumento chemagic™ 360-D.

Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

**NOTA: NO DESPLACE NUNCA EL TRACKING SYSTEM (MESA) MANUALMENTE. PODRÍA CAUSAR DAÑOS EN EL INSTRUMENTO. TODOS LOS MOVIMIENTOS DEBEN REALIZARSE CON LA FUNCIÓN [TURN TABLE].**

### **NOTAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO PARA EL PROTOCOLO DE 31 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

1. Es preciso entender perfectamente esta metódica y el Manual de usuario de chemagic™ 360-D para garantizar un uso correcto de chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Los reactivos suministrados con el kit se han diseñado para el uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote distintos.
2. No utilice los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit. Una vez abiertos, los reactivos se pueden utilizar durante el periodo de tiempo indicado en la lista de reactivos del IFU.
3. Cualquier desviación del protocolo puede incidir en los resultados.
4. Los reactivos se dispensan automáticamente en filas completas, por lo que las tapas de las puntas (Disposable Tips) deberían utilizarse también en filas completas para cada varilla en contacto con cualquier solución de reactivo. Es importante indicar que la ejecución de series analíticas parciales puede hacer que no haya soluciones suficientes para realizar 960 extracciones.
5. No abra la puerta del instrumento chemagic™ 360-D mientras la serie analítica de extracción automática está en proceso si no desea que finalice la serie y se pierdan las muestras en proceso.
6. La limpieza y el mantenimiento del sistema se describen con detalle en el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.
  - a. La limpieza del sistema se realiza una vez por semana: limpie el dispensador chemagic™. Seleccione el protocolo “**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs], o [Start] si las funciones avanzadas están desactivadas. Siga las instrucciones que le indicará el software.
  - b. Antes de volver a utilizar el dispensador chemagic™, ejecute el protocolo de cebado correspondiente.
  - c. Se recomienda limpiar el dispensador chemagic™ con etanol al 70 % una vez al mes. Para ello, utilice el protocolo “**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” en lugar del habitual.

- d. Si no va a utilizar el dispensador chemagic™ durante un periodo de tiempo prolongado, es obligatorio llevar a cabo el "procedimiento de limpieza habitual" para asegurar el rendimiento del instrumento cuando se vuelva a utilizar.

## **NOTAS SOBRE EL RENDIMIENTO DEL PROTOCOLO DE 31 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

Para establecer una comparación entre el protocolo de 60 minutos y el de 31 minutos se realizaron extracciones con el material de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) añadido a medio de transporte de dispositivos de obtención eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) como material de muestra. El rendimiento de qPCR se analizó mediante el análisis del kit EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR (EUROIMMUN, una empresa PerkinElmer®; kit utilizado según las instrucciones del fabricante) en un sistema QuantStudio™ 5 Real-Time PCR (96 pocillos, 0,2 ml, escritorio, Applied Biosystems™, A28574). El protocolo de 31 minutos para SARS-CoV-2 ("**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**") ofrece a los usuarios la opción de duplicar la capacidad diaria de análisis de COVID. Este protocolo más corto se puede utilizar sin necesidad de realizar modificaciones o calibraciones en el instrumento chemagic™ 360-D. Existe solamente un cambio en el valor de Ct de 0,5-1 en comparación con el protocolo estándar de 60 minutos. Por lo tanto, la sensibilidad apenas se ve mermada y se genera un gran beneficio en términos de tiempo de ejecución y rendimiento.

## **PROCEDIMIENTO PARA EL PROTOCOLO DE 18 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

Protocolo de extracción con el instrumento chemagic™ 360-D.

La duración del protocolo de extracción automática es de 18 minutos aproximadamente.

El protocolo es adecuado para procesar hasta 96 muestras en paralelo (consulte el apartado "PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE" a continuación). Para obtener instrucciones detalladas sobre el uso del instrumento chemagic™ 360-D, consulte el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.

Deje que las muestras y los reactivos alcancen la temperatura ambiente (de +19 a +25 °C) antes de su uso. Conecte las botellas de reactivo al instrumento chemagic™ 360-D de la siguiente manera:

- Bomba 1: ninguna botella conectada
- Bomba 2: Binding Buffer 2
- Bomba 3: ninguna botella conectada
- Bomba 4: Wash Buffer 4
- Bomba 5: Wash Buffer 5
- Bomba 6: ninguna botella conectada

**NOTA: VUELVA A TAPAR HERMÉTICAMENTE LAS BOTELLAS DESPUÉS DEL USO O MANTÉNGALAS CONECTADAS HERMÉTICAMENTE AL INSTRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. LAS SOLUCIONES BINDING BUFFER 2 Y WASH BUFFER 4 CONTIENEN ETANOL. SI EL ETANOL SE EVAPORA, NO SE PUEDE GARANTIZAR UN RENDIMIENTO ÓPTIMO NI LA SENSIBILIDAD DE DETECCIÓN.**

## PASOS DEL PROCESAMIENTO EN DETALLE

1. Compruebe la integridad de todos los componentes del kit. En caso de daños, póngase en contacto con su proveedor.
2. Antes de prellenar las placas, marque cada placa con material en su posición (muestras, Magnetic Beads y Buffers).
3. Reconstituya los componentes Proteinase K y Poly(A)RNA.
  - Proteinase K: añada 11 ml de agua de grado de biología molecular a la botella de Proteinase K y mezcle suavemente hasta su completa disolución.
  - Poly(A)RNA: añada 440 µl de buffer Poly(A)RNA al tubo de Poly(A)RNA y mezcle bien hasta su completa disolución.
4. Si Lysis Buffer 1 contiene precipitado (formado durante la transferencia o el almacenamiento), la solución debería calentarse a 50-60 °C y mezclarse bien hasta que sea clara. Debería confirmarse siempre de manera visual la claridad de Lysis Buffer 1 antes de su uso.
5. Llene y cebe los tubos chemagic™ 360-D con reactivos mediante el protocolo “**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**”. Pulse [Insert IDs] y siga las instrucciones que aparecerán en el software de CC chemagic™ hasta iniciar el cebado pulsando [OK]. Si se desactivan las funciones que habilitan la entrada de datos de ID, inicie el cebado directamente pulsando [Start]. El cebado es necesario siempre que las botellas de reactivo se conectan al instrumento chemagic™ 360-D por primera vez o cuando los tubos del instrumento todavía no se han llenado con los reactivos.



6. Si el cebado no es necesario, seleccione el protocolo “**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs] o, si se han desactivado las funciones avanzadas, [Start]. Cada bomba de vacío dispensará secuencialmente un pequeño volumen de buffer, empezando por la primera bomba de vacío que utiliza esta aplicación. Si una de las bombas de vacío no dispensa buffer a través de todas las boquillas, utilice el protocolo de cebado correspondiente para esta bomba de vacío. Solamente es necesario realizar varias series analíticas al día para comprobar las bombas una vez al inicio del día.
7. Seleccione el protocolo “**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**” y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software de CC chemagic™.
8. Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja de puntas en la posición 1 del tracking system.
9. Compruebe los volúmenes de los recipientes de suministro de buffer y confírmelos pulsando [OK].

**NOTA: COMPRUEBE QUE TODAS LAS BOTELLAS DE SUMINISTRO DE BUFFER CONTENGAN SUFICIENTE BUFFER. SOLO SE PUEDEN LLEVAR A CABO 96 AISLAMIENTOS SI EL NIVEL DE LÍQUIDO DE TODOS LOS BUFFERS ES SUPERIOR A 125 ml.**

10. Seleccione el número de muestras para prellenado mediante el menú desplegable. El esquema para el posicionamiento de las muestras se visualiza después de realizar la selección. Utilice las posiciones indicadas. Confírmelas pulsando [OK].
11. Prellene los pocillos seleccionados de la placa de muestras con 300 µl de muestra. Para garantizar la homogeneidad de las muestras, mézclelas suavemente antes de pipetearlas en la placa de muestras.

**NOTA: ES NECESARIO LICUAR EL MATERIAL DE MUESTRA DE HISOPOS SECOS PARA PODER UTILIZARLO.**

12. Prellene la solución Elution Buffer y resuspenda Magnetic Beads en la misma por completo según las posiciones 6 de las muestras:

- Mezcle bien la solución de **Magnetic Beads** (en la posición 2 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) y pipetéela manualmente (150 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.

**NOTA: MEZCLE ENÉRGICAMENTE LA SUSPENSIÓN DE MAGNETIC BEADS ANTES DE PROCEDER A DISPENSARLA; DE LO CONTRARIO, LA SUSPENSIÓN NO SERÁ HOMOGÉNEA Y EL RESULTADO DE ADN/ARN PODRÍA SER BAJO.**

- La solución Elution Buffer 6 (en la posición 7 de la placa del instrumento chemagic™ 360-D) debe pipetarse manualmente (50-100 µl/pocillo) en cada pocillo de muestra correspondiente en uso.

13. Añada 4 µl de Poly(A)RNA, 10 µl de Proteinase K y luego 300 µl de Lysis Buffer 1 a los pocillos que contengan muestra. Es posible mezclar previamente las soluciones Poly(A)RNA, Proteinase K y Lysis Buffer 1 (seleccione el volumen correcto de Poly(A)RNA/Proteinase K/Lysis Buffer 1 para garantizar un volumen suficiente para el número de aislamientos).

**NOTA: LA ACTIVIDAD DE PROTEINASE K DISMINUYE DESPUÉS DE UNA INCUBACIÓN SUPERIOR A 10 MINUTOS EN LYSIS BUFFER 1. ASEGÚRESE DE MEZCLAR TODAS LAS MUESTRAS CON POLY(A)RNA/PROTEINASE K/LYSIS BUFFER 1 EN ESTE PERIODO DE TIEMPO.**

14. Coloque las placas en el tracking system conforme a las instrucciones del software de CC chemagic™.
15. Coloque la placa de muestras en la posición 3 del tracking system.
16. Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas.
17. Cierre la puerta frontal e inicie el proceso pulsando [Start]. Así se inicia el proceso de extracción automática de ADN/ARN.

Serie analítica de extracción automática de ADN/ARN en el instrumento chemagic™ 360-D (protocolo de 18 minutos):

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
		Seleccione el protocolo “ <b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b> ” para aclarar los tubos antes de iniciar la serie analítica de extracción automática. Pulse [Insert IDs], siga las instrucciones del software de CC chemagic™ y pulse [OK] para iniciar el aclarado.
		Si utiliza las funciones que habilitan la introducción de datos de ID, seleccione el protocolo “ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che</b> ” y pulse [Insert IDs]. Siga las instrucciones del software de CC chemagic™ para cumplimentar los datos necesarios.  Cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system.
1	Bandeja con puntas Disposable Tips	Utilice puntas Disposable Tips según las posiciones de las muestras y coloque la bandeja con puntas Disposable Tips.  <b>NOTA: LAS PUNTAS DEBEN COLOCARSE EN LA BANDEJA LLENANDO FILAS COMPLETAS.</b>
2	Low well plate con 150 µl de Magnetic Beads	Pipetee la solución de Magnetic Beads completamente resuspendida en cada pocillo en uso según la placa de muestras y coloque la placa.
3	Placa de muestras (Deep well plate)	Coloque la placa con las muestras preparadas (300 µl de muestra, 4 µl de Poly (A)RNA, 10 µl de Proteinase K y 300 µl de Lysis Buffer 1). El Binding Buffer 2 se dispensa en la placa automáticamente.
4	Vacía	-
5	Deep well plate	Coloque una placa vacía. El Wash Buffer 4 se dispensa en la placa automáticamente.
6	Deep well plate	Coloque una placa vacía.

Posición en el tracking system	Material en posición	Paso del protocolo en detalle
		El Wash Buffer 5 se dispensa en la placa automáticamente.
7	Deep Well Plate con 50-100 µl de Elution Buffer 6	Pipetee (50-100 µL) de Elution Buffer 6 en cada pocillo en uso según las posiciones de las muestras y coloque la placa.
		<p>Compruebe que todas las placas estén bien orientadas y ajustadas. Cuando todas las placas estén en su sitio, pulse [OK].</p> <p>Cierre la puerta frontal e inicie el proceso de extracción automática de ADN/ARN inmediatamente pulsando [Start]. A continuación, el lisado de la muestra se mezcla automáticamente.</p> <p>Si las funciones para la introducción de datos de ID están desactivadas, cargue las placas en las posiciones 1-7 del tracking system. Una vez colocadas todas las placas, seleccione el protocolo “<b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che</b>”, marque las columnas en uso en el mapa de la placa del diálogo e inicie la serie analítica de extracción directamente pulsando [Start].</p>

Los números del tracking system hacen referencia a la posición de la placa en el instrumento chemagic™ 360-D.

Una vez finalizado el procedimiento de aislamiento, utilice el botón [Turn Table] para descargar el tracking system. Cada vez que haga clic en [Turn Table], el tracking system (mesa) se desplaza una posición en el sentido horario.

**NOTA: NO DESPLACE NUNCA EL TRACKING SYSTEM (MESA) MANUALMENTE. PODRÍA CAUSAR DAÑOS EN EL INSTRUMENTO. TODOS LOS MOVIMIENTOS DEBEN REALIZARSE CON LA FUNCIÓN [TURN TABLE].**

## **NOTAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO PARA EL PROTOCOLO DE 18 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

1. Es preciso entender perfectamente esta metódica y el Manual de usuario de chemagic™ 360-D para garantizar un uso correcto de chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Los reactivos suministrados con el kit se han diseñado para el uso como una unidad integral. No mezcle reactivos idénticos de kits con números de lote distintos.
2. No utilice los reactivos del kit después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta del kit. Una vez abiertos, los reactivos se pueden utilizar durante el periodo de tiempo indicado en la lista de reactivos del IFU.
3. Cualquier desviación del protocolo puede incidir en los resultados.
4. Los reactivos se dispensan automáticamente en filas completas, por lo que las tapas de las puntas (Disposable Tips) deberían utilizarse también en filas completas para cada varilla en contacto con cualquier solución de reactivo. Es importante indicar que la ejecución de series analíticas parciales puede hacer que no haya soluciones suficientes para realizar 960 extracciones.
5. No abra la puerta del instrumento chemagic™ 360-D mientras la serie analítica de extracción automática está en proceso si no desea que finalice la serie y se pierdan las muestras en proceso.
6. La limpieza y el mantenimiento del sistema se describen con detalle en el Manual de usuario de chemagic™ 360-D.
  - a. La limpieza del sistema se realiza una vez por semana: limpie el dispensador chemagic™. Seleccione el protocolo “**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” y pulse [Insert IDs], o [Start] si las funciones avanzadas están desactivadas. Siga las instrucciones que le indicará el software.
  - b. Antes de volver a utilizar el dispensador chemagic™, ejecute el protocolo de cebado correspondiente.
  - c. Se recomienda limpiar el dispensador chemagic™ con etanol al 70 % una vez al mes. Para ello, utilice el protocolo “**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” en lugar del habitual.

- d. Si no va a utilizar el dispensador chemagic™ durante un periodo de tiempo prolongado, es obligatorio llevar a cabo el "procedimiento de limpieza habitual" para asegurar el rendimiento del instrumento cuando se vuelva a utilizar.

## **NOTAS SOBRE EL RENDIMIENTO DEL PROTOCOLO DE 18 MIN (PROBADO SOLO CON EL AISLAMIENTO DE SARS-COV-2)**

Para establecer una comparación entre el protocolo de 60 minutos y el de 18 minutos se realizaron extracciones con el material de referencia AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) añadido a medio de transporte de dispositivos de obtención eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) como material de muestra. El rendimiento de qPCR se analizó mediante el análisis del kit EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR (EUROIMMUN, una empresa PerkinElmer®; kit utilizado según las instrucciones del fabricante) en un sistema QuantStudio™ 5 Real-Time PCR (96 pocillos, 0,2 ml, escritorio, Applied Biosystems™, A28574). El protocolo de 18 minutos para SARS-CoV-2 ("**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**") ofrece a los usuarios la opción de triplicar la capacidad diaria de análisis de COVID. Este protocolo más corto se puede utilizar sin necesidad de realizar modificaciones o calibraciones en el instrumento chemagic™ 360-D. No obstante, para ello es necesario que un ingeniero de servicio de PerkinElmer® deshabilite la desviación X del tiempo de recogida de las microesferas en los ajustes de los parámetros del software chemagic™. Si se habilita la desviación X del tiempo de recogida de las microesferas, la duración de la serie analítica de extracción se alarga hasta los 21 minutos. El cambio en el valor de Ct es entre 0,5-1 en comparación con el protocolo estándar de 60 minutos. Por lo tanto, la sensibilidad apenas se ve mermada y se genera un gran beneficio en términos de tiempo de ejecución y rendimiento.

## APLICACIONES DERIVADAS PROBADAS PARA LA EXTRACCIÓN DE SARS-COV-2

Las siguientes aplicaciones derivadas se han probado de manera satisfactoria y se han descrito en la bibliografía después del aislamiento de muestras de SARS-CoV-2 con chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033-S).

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

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



Aplicación derivada	Kits	Referencia
Secuenciación	Protocolo ARTIC V3	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) <b>1</b> , 10-15 <a href="https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035">https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035</a>
		Jonsson <i>et al.</i> Nature Communications (2021) <b>12</b> , 3633 <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6">https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6</a>
		Tegally <i>et al.</i> Nature Medicine (2021) <b>27</b> , 440-446 <a href="https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3">https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3</a>
	<p><b>Síntesis de cADN:</b> LunaScript RT Super Mix kit (New England Biolabs), SuperScriptIV (ThermoFisher)</p> <p><b>Prep. biblioteca:</b> Método de enriquecimiento basado en captura SureSelectXT Low Input kit CoVHuman6X (Agilent Technologies)</p> <p>Protocolo de PCR multiplex para amplicón en mosaico ARTIC (v3) + NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs)</p>	Ellingford <i>et al.</i> eLife (2021) <b>10</b> , 65453 <a href="https://doi.org/10.7554/eLife.65453">https://doi.org/10.7554/eLife.65453</a>

## OTRAS PREGUNTAS

Para conocer otras aplicaciones, cuestiones técnicas o más información sobre cómo se obtuvieron los datos, póngase en contacto con [support.chemagen@Perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@Perkinelmer.com) o llame al +49 (0) 2401805500.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los siguientes dispositivos de obtención **no están recomendados** para su uso con chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96. Si tiene más dudas, póngase en contacto con [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com).

Descripción	Marca	N.º de referencia
Tubo de muestreo para virus inactivados (10 ml), con 3 ml de medio para conservación (inactivado), 1x hisopo orofaríngeo con material de rayón	Biocomma Limited	YMJ-TE
Obtención de virus y sistema de conservación inactivado	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

No se han establecido las características de rendimiento de este producto.

En algunos casos, pueden quedar trazas de Magnetic Beads en la solución de elución. Aunque estas partículas no suelen interferir en la PCR o la mayoría de aplicaciones derivadas, se recomienda ejecutar un paso de separación adicional mediante centrifugación o separación de partículas magnéticas (chemagic™ Stand 96, suministrado con chemagic™ 360 96 Rod Head Set, n.º de producto CMG-370) para separar cualquier traza de dichas partículas.

El ADN/ARN extraído debería utilizarse inmediatamente después de la extracción con la prueba de diagnóstico *in vitro* deseado.

## GARANTÍA

Cualquier cambio o modificación del procedimiento no recomendados por el fabricante pueden afectar los resultados, en cuyo caso PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH y sus filiales renuncian a todas las garantías explícitas, implícitas o legales, incluidas las garantías implícitas de comerciabilidad y adecuación al uso.

En tales casos, PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH, sus filiales y distribuidores autorizados no se responsabilizarán de ningún daño indirecto ni derivados.

Septiembre de 2022