



IVD-1033-S

chemagic™

Viral DNA/RNA 300 Kit H96

Istruzioni per l'uso. Reagenti per 960 estrazioni.









Produttore:









PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (BAE),
Arnold-Sommerfeld-Ring 2, 52499 Baesweiler, Germania
www.chemagen.com, www.perkinelmer.com
Tel.: +49 (0) 2401805500

CE

PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*. VERSIONE 220914 IT

SIMBOLI

Simbolo	Titolo del simbolo
CE	Simbolo CE
	Codice del lotto
	Numero di catalogo
	Usare entro
	Limite di temperatura
	Contenuto sufficiente per <n> test
	Produttore
	GHS02
	GHS05

Simbolo	Titolo del simbolo
	GHS07
	GHS08
	Merci pericolose: Classe 3 Liquido infiammabile
	Merci pericolose: Classe 8 Materie corrosive
	Lato alto
	Riciclabile
	Fragile, maneggiare con cura
	Conservare in luogo asciutto

chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96

APPLICAZIONE

Il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 è destinato all'estrazione e alla purificazione automatizzata del DNA e dell'RNA da campioni umani di plasma, saliva e tamponi nasoro-faringei usando lo strumento chemagic™ 360-D (art. n. 2024-0010).

Il kit è stato progettato per l'uso con le applicazioni a valle IVD specializzate nell'amplificazione enzimatica e nella rilevazione del DNA e dell'RNA (ad esempio PCR, RT-PCR, NGS). Il prodotto è destinato al personale di laboratorio esperto. Per ulteriori informazioni, vedere le sezioni "REAGENTI" e "AVVERTENZE E PRECAUZIONI" di questo documento.

RIASSUNTO E PRINCIPIO

Il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 usa una piattaforma basata su una tecnologia a particelle magnetiche proprietaria di PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH. Le cellule o le altre fonti di DNA/RNA presenti nel plasma, nel siero e nei tamponi nasoro-faringei vengono lisati durante il processo di estrazione. Gli acidi nucleici liberati formano legami con le particelle magnetizzabili che, successivamente, vengono separate dal materiale campione per azione magnetica. Nei passaggi successivi, i contaminanti vengono rimossi e gli acidi nucleici purificati vengono trasferiti in un tampone di eluizione. Il trattamento automatizzato dei campioni viene eseguito sul sistema chemagic™ 360-D (art. n. 2024-0010), con un chemagic™ 96 Rod Head Set (art. n. CMG-370) o uno strumento equivalente.

Per ridurre al minimo le anomalie nei risultati diagnostici, il prodotto è concepito per l'uso con un controllo interno, oltre che con controlli positivi e controlli negativi, durante l'intero processo di preparazione, amplificazione e rilevazione dei campioni, in base al tipo di test eseguito a valle.

Per un paziente/utente/soggetto terzo nell'Unione Europea e nei paesi con un quadro normativo identico (IVDR; UE 2017/746): se, durante l'uso o in conseguenza dell'uso di questo dispositivo, dovesse verificarsi un incidente grave, segnalarlo all'autorità nazionale competente, al produttore e a PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH al numero +49 (0) 2401805500 o all'indirizzo support.chemagen@perkinelmer.com o ai rispettivi rappresentanti legali.

CONTENUTO DEL KIT

Il kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 960 estrazioni.

La data di scadenza del kit in confezione integra è stampata sull'etichetta esterna. Non utilizzare nessuno dei componenti oltre la data di scadenza. Conservare tra +2 e +25 °C.

Dopo l'apertura, i componenti del kit sono stabili per un periodo di tempo limitato. La stabilità dopo l'apertura è indicata per ogni singolo componente nella lista dei reagenti riportata sotto. Nota: dopo l'uso, risigillare immediatamente i flaconi con il tappo per prevenire l'eventuale evaporazione.

I flaconi potrebbero scolorirsi durante la conservazione. Lo scolorimento dei flaconi non influisce in nessun modo sulla funzionalità del test.

ISTRUZIONI PER L'USO ELETTRONICHE

Sul nostro sito web sono disponibili le istruzioni per l'uso elettroniche (*Electronic Instructions for Use*, eIFU) in varie lingue. Per scaricare le istruzioni per l'uso elettroniche, visitare:

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

Le eIFU sono disponibili in inglese (EN), francese (FR), spagnolo (ES) e italiano (IT).

Per eventuali domande relative al download delle istruzioni per l'uso elettroniche, contattare support.chemagen@perkinelmer.com oppure +49 (0) 2401805500.

FILE DEI PROTOCOLLI

I file dei protocolli collegati ai kit sono disponibili sul sito web oppure saranno forniti tramite il supporto clienti (vedere sopra).


chemagic™ è un marchio di PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH.

REAGENTI

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

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Magnetic Beads	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Sospensione di particelle contenente nanoparticelle di ossido di ferro incapsulate in una matrice di alcol polivinilico. Le Magnetic Beads si legano al DNA/RNA durante il processo di estrazione.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Lysis Buffer 1  PERICOLO	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Conservare al riparo dalla luce. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tampone acquosa, pronta all'uso, contenente tiocianato di guanidinio (50-70%). Il Lysis Buffer viene impiegato per lisare le cellule o le altre fonti di DNA/RNA presenti nel campione, in modo da ottenere il DNA/RNA in soluzione.

IL LYSIS BUFFER 1 CONTIENE TIOCIANATO DI GUANIDINIO

H302+H312 – Nocivo in caso di ingestione o contatto con la pelle.

H314 – Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.

P101 – In caso di consultazione di un medico, tenere a disposizione il contenitore o l'etichetta del prodotto.

P102 – Tenere fuori dalla portata dei bambini.

P103 – Leggere l'etichetta prima dell'uso.

P303+P361+P353 – IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P305+P351+P338 – IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.



P310 – Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P321 – Trattamento specifico (vedere su questa etichetta).

P405 – Conservare sotto chiave.

P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

EUH032 – A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Binding Buffer 2   PERICOLO	1 tanica (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tamponata con Tris-HCl (pH 5,2–6,1), pronta all'uso, con perclorato di sodio (20-40%) ed etanolo (40-60%). Il Binding Buffer 2 crea condizioni favorevoli al legame tra il DNA/RNA e le Magnetic Beads.

IL BINDING BUFFER 2 CONTIENE ETANOLO E PERCLORATO DI SODIO:

H225 – Liquido e vapori facilmente infiammabili.

H302 – Nocivo se ingerito.

P210 – Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.


P240 – Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.

P241 – Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P280 – Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.

P303+P361+P353 – IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Wash Buffer 3  PERICOLO	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tamponata con Tris-HCl (pH 4,8-5,6) pronta all'uso, con perclorato di sodio (2030%) ed etanolo (20-40%). Aiuta a rimuovere i contaminanti diversi dal DNA/RNA durante il lavaggio.

IL WASH BUFFER 3 CONTIENE ETANOLO E PERCLORATO DI SODIO:

H225 – Liquido e vapori facilmente infiammabili.

P210 – Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.


P240 – Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.

P241 – Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P280 – Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.

P303+P361+P353 – IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].

P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Wash Buffer 4  PERICOLO	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione pronta all'uso contenente il 50-70% di etanolo. Aiuta a rimuovere le ultime tracce di contaminanti diversi dal DNA/RNA durante il lavaggio.

IL WASH BUFFER 4 CONTIENE ETANOLO:

H225 – Liquido e vapori facilmente infiammabili.

P210 – Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.

P240 – Mettere a terra e a massa il contenitore e il dispositivo ricevente.

P241 – Utilizzare impianti [elettrici/di ventilazione/d'illuminazione] a prova di esplosione.

P280 – Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.

P303+P361+P353 – IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle [o fare una doccia].



P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Wash Buffer 5	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione pronta all'uso a base di acqua ultrafiltrata. Aiuta a rimuovere i possibili residui di etanolo.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Elution Buffer 6	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tamponata 10 mM, pronta all'uso, a base di Tris-HCl (pH 7,8-8,4).

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Proteinase K   PERICOLO	1 flacone (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo la ricostituzione, stabile per 28 giorni tra +2 e +8 °C.

La Proteinase K deve essere ricostituita con 11 mL di acqua purificata. La Proteinase K viene aggiunta per migliorare l'efficienza della lisi.

LA PROTEINASE K CONTIENE PROTEINASI, TRITIRACHIUM ALBUM SERINA E CALCIO ACETATO IDRATO:

H315 – Provoca irritazione cutanea.

H319 – Provoca grave irritazione oculare.

H334 – Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

H335 – Può irritare le vie respiratorie.

P261 – Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.

P280 – Indossare guanti/proteggere gli occhi/proteggere il viso.

P284 – [Quando la ventilazione del locale è insufficiente] indossare un apparecchio di protezione respiratoria.


P305+P351+P338 – IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

P405 – Conservare sotto chiave.

P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Poly(A)RNA	10 provette (essiccate)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone. Dopo la ricostituzione, stabile per 30 giorni tra +2 e +8 °C.

Il Poly(A)RNA deve essere ricostituito con 440 µL di Poly(A)RNA Buffer. Il Poly(A)RNA funziona come un vettore di DNA/RNA, migliorando l'efficienza del processo di estrazione.

Componente	Quantità	Durata e conservazione
Poly(A)RNA Buffer 	1 flacone (volume: vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del flacone.

PERICOLO

Soluzione tampone acquosa, pronta all'uso, contenente tiocianato di guanidinio (20-40%). Il Poly(A)RNA Buffer viene impiegato nella ricostituzione del Poly(A)RNA.

IL POLY(A)RNA BUFFER CONTIENE TIOCIANATO DI GUANIDINIO:

H302 – Nocivo se ingerito.

P264 – Lavare accuratamente dopo l'uso.

P270 – Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso di questo prodotto.

P301+P312 IN CASO DI INGESTIONE: In presenza di malessere contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.

P330 – Sciacquare la bocca.

P501 – Smaltire il prodotto/recipiente in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

EUH032 – A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Componente	Quantità	Conservazione
Disposable Tips (96 cad.)	10 x 96 cad.	Tra +2 e +25 °C
Deep Well Plates (5 cad.)	10 x 5 cad.	Tra +2 e +25 °C
Low Well Plates (5 cad.)	2 x 5 cad.	Tra +2 e +25 °C

MATERIALI NECESSARI MA NON INCLUSI NEL KIT

Per l'uso del chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sono necessari i seguenti articoli, disponibili presso PerkinElmer®, Inc. e i rispettivi distributori:

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

Ulteriori articoli necessari:

- File del protocollo collegato al kit (file con estensione .CHE) fornito da PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH (vedere la sezione "FILE DEI PROTOCOLLI", pag. 4)
- pipette e puntali per pipette con filtro per aerosol
- acqua per applicazioni di biologia molecolare

Ulteriori articoli facoltativi:

- chemagic™ Stand 96 (art. n. CMG-301)
- soluzione fisiologica sterile isotonica
- Provetta Sarstedt (n. cat. 72.693 o 72.694)

RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 può essere usato con plasma umano fresco o congelato, stabilizzato con EDTA o citrato, raccolto con i comuni sistemi per prelievo ematico; con saliva stabilizzata (provette per prelievo Oragene™ e Spectrum™) e con i terreni di trasporto dei tamponi (ad es. eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) come aliquote dirette da 300 µL per ogni isolamento.

Dopo il prelievo e la centrifugazione, il plasma può essere conservato a 2-8 °C fino a 6 ore. Per la conservazione a lungo termine, si consiglia il congelamento a -20 °C oppure a -80 °C in aliquote. I campioni di plasma o di siero congelati non devono essere scongelati più di una volta. Ripetuti cicli di congelamento/scongelamento provocano la denaturazione e la precipitazione delle proteine, riducendo la resa degli acidi nucleici.

Il materiale campione ottenuto dai tamponi secchi deve essere trasferito nella soluzione fisiologica isotonica. A questo scopo, aggiungere 350 µL di soluzione fisiologica isotonica e incubare per 5 minuti a 15-25 °C prima dell'uso. Per ogni isolamento, è necessario utilizzare 300 µL del campione in soluzione fisiologica isotonica incubato.

NOTA: PER LA RISOSPENSIONE, NON UTILIZZARE TAMPONI CONTENENTI FOSFATI.

Non è stata determinata l'efficienza dell'estrazione di materiale campione diverso dai tipi di campioni elencati sopra.

Per ragioni di sicura durante la manipolazione, inattivare i campioni destinati ai test virali (ad es., per l'estrazione dell'RNA virale di SARS-CoV-2) prima dell'uso. Pipettare 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e 300 µL di Lysis Buffer 1 in una provetta Sarstedt da 2 mL (n. cat. 72.693 oppure 72.694). Nota: quando ci sono molti campioni da inattivare, è possibile preparare uno stock di questa soluzione. Moltiplicare semplicemente i volumi previsti per un campione per il numero totale di campioni di trattare e includere il volume aggiuntivo all'equivalente di 3 campioni extra. Capovolgere diverse volte la provetta per miscelare il contenuto e, per ogni campione, trasferire 314 µL in una provetta Sarstedt da 2 mL. Continuare aggiungendo 300 µL di campione in ogni provetta, chiudere il coperchio e agitare in vortex a impulsi per 10 secondi. Incubare la provetta a 68 °C per 15 minuti (\pm 2 minuti) per l'inattivazione. Trasferire completamente il lisato inattivato nella Deep Well Plate, al passaggio 3 del protocollo di estrazione, quindi continuare con il passaggio 4.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*.

Il prodotto è destinato agli utenti professionisti addestrati all'uso dello strumento chemagic™ 360-D (art. n. 2024-0010).

Maneggiare tutti i campioni come se fossero potenzialmente infettivi. I campioni potenzialmente infettivi dovranno essere inattivati. Consultare la pubblicazione "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" del Department of Health and Human Services degli Stati Uniti o le normative locali o nazionali pertinenti.

Il Lysis Buffer 1 contiene Tiocianato di guanidinio ed è nocivo in caso di ingestione, contatto con la pelle o inalazione. Il Binding Buffer 2 e il Wash Buffer 3 contengono Perclorato di sodio ed Etanolo, che sono liquidi e vapori infiammabili e sono nocivi se ingeriti. Il Wash Buffer 4 contiene Etanolo ed è un liquido e vapore infiammabile. La Proteinase K contiene Tritirachium album serina e Proteinasi: provoca irritazione della pelle e grave irritazione oculare; se inalata, può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie e irritare le vie respiratorie. Il Poly(A)RNA Buffer contiene Tiocianato di guanidinio ed è nocivo se ingerito o inalato. Vedere le precauzioni specifiche per tutti i componenti nella sezione "REAGENTI".

Per evitare di ferirsi quando si utilizzano i componenti del kit, indossare sempre occhiali di sicurezza, guanti monouso e indumenti protettivi. Per informazioni dettagliate, consultare le schede di dati di sicurezza (SDS).

Seguire le normative locali per la manipolazione delle soluzioni etanoliche.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire nel rispetto delle disposizioni locali.

PROCEDURA DEL PROTOCOLLO DI 60 MINUTI (VARIE SPECIE)

Protocollo di estrazione sullo strumento chemagic™ 360-D.

Il protocollo di estrazione automatizzato dura 60 minuti circa.

Il protocollo è idoneo al trattamento di un numero massimo di 96 campioni in parallelo (vedere "Procedura di trattamento dettagliata", più avanti). Per istruzioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic™ 360-D, vedere il manuale per l'utente chemagic™ 360-D.

Prima dell'uso, i campioni e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (tra +19 e +25 °C). Collegare i flaconi dei reagenti allo strumento chemagic™ 360-D nel modo seguente:

Pompa 1:	Nessun flacone collegato
Pompa 2:	Binding Buffer 2
Pompa 3:	Wash Buffer 3
Pompa 4:	Wash Buffer 4
Pompa 5:	Wash Buffer 5
Pompa 6:	Nessun flacone collegato

NOTA: DOPO L'USO, RISIGILLARE IMMEDIATAMENTE I FLACONI CON IL TAPPO O MANTENERE I FLACONI COLLEGATI STRETTAMENTE ALLO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. IL BINDING BUFFER 2, IL WASH BUFFER 3 E IL WASH BUFFER 4 CONTENGONO ETANOLO. SE L'ETANOLO EVAPORA, NON È GARANTITA LA RESA OTTIMALE O LA SENSIBILITÀ DELLA RILEVAZIONE.

PROCEDURA DI TRATTAMENTO DETTAGLIATA

1. Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.
2. Prima di pre-riempire le piastre, contrassegnarle una ad una con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e buffer).
3. Ricostituire i componenti Proteinase K e Poly(A)RNA.
 - Proteinase K: aggiungere 11 mL di acqua per biologia molecolare nel flacone di Proteinase K, quindi miscelare delicatamente fino a completa dissoluzione.
 - Poly(A)RNA: aggiungere 440 µL di Poly(A)RNA Buffer nella provetta Poly(A)RNA, quindi miscelare con cura fino a completa dissoluzione.
4. Se il Lysis Buffer 1 contiene un precipitato (formatosi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione dovrebbe essere riscaldata a 50-60 °C e miscelata con cura finché diventa limpida. La limpidezza del Lysis Buffer 1 dovrebbe essere confermata sempre visivamente prima dell'uso.

5. Riempire con i reagenti ed eseguire il priming dei tubi dello strumento chemagic™ 360-D selezionando il protocollo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA e avviare il priming premendo [OK]. Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, avviare direttamente il priming premendo [Start]. Il priming deve essere eseguito quando i flaconi dei reagenti vengono collegati allo strumento chemagic™ 360-D per la prima volta, oppure quando i tubi dello strumento non sono ancora stati riempiti con i reagenti elencati sopra.
6. Se il priming non è necessario, selezionare il protocollo "**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure, se le funzioni avanzate sono disattivate, premere [Start]. Verrà erogato un piccolo volume di tampone da ogni pompa, in sequenza a partire dalla prima pompa usata per questa applicazione. Se una delle pompe non eroga il tampone attraverso tutti gli ugelli, utilizzare il protocollo di priming per quella pompa. Quando si eseguono molte sedute al giorno, è necessario controllare le pompe soltanto una volta a inizio giornata.
7. Selezionare il protocollo "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**", premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic™ QA.
8. Usare i puntali monouso (Disposable Tips) in base alle posizioni dei campioni e inserire il vassoio di puntali (Tip Tray) nella posizione 1 sul tracking system.
9. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: ASSICURARSI CHE TUTTI I FLACONI PER IL RIFORNIMENTO DEI TAMPONI CONTENGANO UNA QUANTITÀ SUFFICIENTE DI TAMPONE. È POSSIBILE ESEGUIRE 96 ISOLAMENTI SOLTANTO SE IL LIVELLO DEL LIQUIDO PER TUTTI I TAMPONI È AL DI SOPRA DI 125 mL.

10. Selezionare il numero di campioni da pre-riempire utilizzando il menu a discesa. Lo schema per il posizionamento dei campioni verrà mostrato dopo la selezione. Assicurarsi di utilizzare le posizioni indicate. Confermare premendo [OK].
11. Pre-riempire i pozzetti selezionati della piastra per campioni con 300 µL di campione. Per assicurare l'omogeneità dei campioni, miscelare delicatamente i campioni prima di pipettarli nei pozzetti della piastra per campioni .

NOTA: IL MATERIALE CAMPIONE OTTENUTO DAI TAMPONI SECCHI DEVE ESSERE LIQUEFATTO PRIMA DELL'USO.

12. Pre-riempire l'Elution Buffer 6 e le Magnetic Beads risospese accuratamente, in base alle posizioni dei campioni:

- Le Magnetic Beads (nella posizione 2 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) vengono risospese miscelando con cura e vengono pipettate manualmente (150 µL/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.

NOTA: PRIMA DELL'EROGAZIONE È NECESSARIO MISCELARE VIGOROSAMENTE LA SOSPENSIONE DELLE MAGNETIC BEADS, ALTRIMENTI SE LA SOSPENSIONE NON È OMOGENEA, LA RESA DEL DNA/RNA POTREBBE ESSERE SCARSA.

- L'Elution Buffer 6 (nella posizione 7 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) viene pipettato manualmente (50-100 µL/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.

13. Aggiungere 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e infine 300 µL di Lysis Buffer 1 nei pozzetti contenenti il campione. È possibile pre-miscelare Poly(A)RNA, Proteinase K e Lysis Buffer 1 (scegliere il volume appropriato di Poly(A)RNA / Proteinase K / Lysis Buffer 1 per assicurarsi di avere un volume sufficiente per il numero di estrazioni).

NOTA: L'ATTIVITÀ DELLA PROTEINASE K TENDE A DIMINUIRE DOPO UN'INCUBAZIONE DI PIÙ 10 MINUTI NEL LYSIS BUFFER 1. ASSICURARSI CHE TUTTI I CAMPIONI SIANO MISCELATI CON POLY(A)RNA / PROTEINASE K / LYSIS BUFFER 1 ENTRO QUESTO LASSO DI TEMPO.

14. Caricare le piastre sul tracking system in base alle istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA.
15. Caricare la piastra per campioni sul tracking system, nella posizione 3.
16. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
17. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start]. Il processo automatizzato per l'estrazione del DNA/RNA viene avviato.

Seduta per l'estrazione del DNA/RNA sullo strumento chemagic™ 360-D (protocollo di 60 minuti):

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
		Selezionare il protocollo " check manifolds H96 all 360 V150116.che " per irrigare il tubo prima di avviare la seduta di estrazione automatizzata. Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA e avviare l'irrigazione premendo [OK].
		Quando si utilizzano le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID, selezionare il protocollo " chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che " e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA per compilare i campi con i dati richiesti. Caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7.
1	Vassoio con puntali monouso	Usare i puntali monouso in base alle posizioni dei campioni e caricare il vassoio con i puntali monouso. NOTA: I PUNTALI DEVONO ESSERE PRESENTI NEL TRAY IN RIGHE COMPLETE.
2	Low Well Plate con 150 µL di Magnetic Beads	Pipettare con cura le Magnetic Beads risospese in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
3	Piastra per campioni (Deep Well Plate)	Caricare la piastra con i campioni preparati (300 µL di campione, 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e 300 µL di Lysis Buffer 1). Il Binding Buffer 2 viene erogato automaticamente nella piastra.
4	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 3 viene erogato automaticamente nella piastra.

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
5	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 4 viene erogato automaticamente nella piastra.
6	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 5 viene erogato automaticamente nella piastra.
7	Deep Well Plate con 50-100 µL di Elution Buffer 6	Pipettare l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
		<p>Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente. Quando tutte le piastre sono al loro posto, premere [OK].</p> <p>Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/RNA premendo [Start]. In seguito il lisato del campione verrà miscelato automaticamente.</p> <p>Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7. Quando tutte le piastre sono al loro posto, selezionare il protocollo "chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che", contrassegnare le colonne in uso sulla mappa della piastra, nella finestra di dialogo, quindi avviare direttamente la seduta di estrazione premendo [Start].</p>

I numeri sul tracking system si riferiscono al posizionamento della piastra sullo strumento chemagic™ 360-D.

Dopo la procedura di isolamento, utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il materiale dal tracking system. Ogni clic su [Turn Table] sposta il tracking system (tabella) di una posizione in senso orario.

NOTA: NON SPOSTARE MAI MANUALMENTE IL TRACKING SYSTEM (TABELLA). QUESTA OPERAZIONE POTREBBE DANNEGGIARE LO STRUMENTO. TUTTI I MOVIMENTI DEVONO ESSERE ESEGUITI TRAMITE LA FUNZIONE [TURN TABLE].

NOTE PROCEDURALI DEL PROTOCOLLO DI 60 MINUTI (VARIE SPECIE)

1. Per poter utilizzare correttamente il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96, è necessario comprendere il contenuto di queste Istruzioni per l'uso e del manuale per l'utente chemagic™ 360-D. I reagenti forniti con questo kit sono destinati all'uso come un'unica unità. Non mescolare reagenti identici appartenenti a kit con numeri di lotto differenti.
2. Non utilizzare i reagenti del kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta del kit. Dopo l'apertura, i reagenti possono essere utilizzati per il periodo di tempo indicato nella lista dei reagenti fornita in queste Istruzioni per l'uso.
3. Qualsiasi deviazione dal protocollo potrebbe influenzare i risultati.
4. I reagenti vengono erogati automaticamente in righe complete, pertanto devono essere usati anche i puntali monouso (Disposable Tips) in righe complete su ogni barra a contatto con una soluzione reagente. Inoltre tenere presente che, se le piastre vengono utilizzate parzialmente, le soluzioni potrebbero non bastare per 960 estrazioni.
5. Aprendo lo sportello dello strumento chemagic™ 360-D mentre la seduta di estrazione automatizzata è in corso, la seduta verrà interrotta e i campioni in fase di trattamento potrebbero andare perduti.
6. La pulizia e la manutenzione del sistema sono descritte in modo dettagliato nel manuale per l'utente chemagic™ 360-D.
 - a) La pulizia del sistema viene eseguita una volta a settimana: Pulire il chemagic™ Dispenser. Selezionare il protocollo "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure [Start] se le funzioni avanzate sono disattivate. Seguire le istruzioni visualizzate dal software.
 - b) Prima di usare di nuovo il chemagic™ Dispenser, eseguire il protocollo di priming appropriato.

- c) È raccomandata una pulizia del chemagic™ Dispenser con etanolo al 70% una volta al mese. A questo scopo, usare semplicemente il protocollo "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**" invece del protocollo standard.

- d) Se il chemagic™ Dispenser resterà inattivo per un periodo di tempo più lungo, è necessario eseguire la "procedura di pulizia standard" per preservare le prestazioni dello strumento finché non verrà usato di nuovo.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Quando questo kit di estrazione è stato utilizzato con il saggio PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR (n. di cat.: COVID-19-PCR-AUS-C), sono stati ottenuti i dati LoD riportati di seguito (dati generati da Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. No. 115, North Taiping Road, Taicang, provincia di Jiangsu, Cina).

VALORE LOD OTTENUTO USANDO LO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D PER L'ESTRAZIONE E IL SISTEMA APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR

I campioni sono stati preparati utilizzando una matrice costituita da un pool di campioni clinici, ottenuti da tamponi orofaringei o da tamponi nasofaringei. La matrice in pool è stata analizzata con il saggio PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR, che ne ha confermato la negatività. In totale, 6 diluizioni doppie di concentrazioni note del virus SARS-CoV-2 inattivato (Isolato 2/231/human/2020/CHN) sono state preparate nella matrice clinica negativa e sono state analizzate con il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sullo strumento chemagic™ 360-D. Sono state analizzate 6 repliche individuali dell'estrazione per ogni livello di diluizione. I risultati sono riassunti nelle tabelle che seguono.

Tabella 1. Studio preliminare del valore LoD con tamponi orofaringei sullo strumento chemagic™ 360-D.

Diluizione per	Tampone orofaringeo						
	N		ORF1ab		Ct medio		
	Conc. (copie/mL)	Tasso di rilevazione	Conc. (copie/mL)	Tasso di rilevazione	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

Tabella 2. Tasso di rilevazione al 95% con metodo Probit, usando tamponi orofaringei arricchiti con SARS- CoV-2 (Isolato 2/231/human/2020/CHN) sullo strumento chemagic™ 360-D.

Tasso di rilevazione al 95% con metodo Probit (copie/mL)	
N	ORF1ab
19,08 (IC al 95%: 14,50 – 37,12)	7,14 (IC al 95%: 5,34 – 24,00)

Tabella 3. Studio preliminare del valore LoD con tamponi nasofaringei sullo strumento chemagic™ 360-D.

Tampone nasofaringeo							
Diluizione per	N		ORF1ab		Ct medio		
	Conc. (copie/mL)	Tasso di rilevazione	Conc. (copie/mL)	Tasso di rilevazione	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

Tabella 4. Tasso di rilevazione al 95% con metodo Probit, usando tamponi nasofaringei arricchiti con SARS- CoV-2 (Isolato 2/231/human/2020/CHN) sullo strumento chemagic™ 360-D.

Tasso di rilevazione al 95% con metodo Probit (copie/mL)	
N	ORF1ab
26,44 (IC al 95%: 18,34 – 69,51)	8,32 (IC al 95%: 5,83 – 20,69)

VERIFICA DEL VALORE LOD OTTENUTO USANDO LO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D PER L'ESTRAZIONE E IL SISTEMA APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR

Per quanto riguarda lo studio di verifica del limite di rilevazione (LoD), la matrice negativa costituita da un pool di tamponi orofaringei e la matrice negativa costituita da un pool di tamponi nasofaringei sono state arricchite con il virus SARS- CoV-2 inattivato, alla concentrazione del LoD provvisorio per i due bersagli di SARS-CoV-2 per ogni matrice (7,14 copie/mL di ORF1ab per la matrice di tamponi orofaringei e 8,32 copie/mL di ORF1ab per la matrice di tamponi nasofaringei). Per ogni matrice di campioni sono state preparate 20 repliche, che successivamente sono state estratte con il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sullo strumento chemagic™ 360-D e analizzate con il saggio PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR. Inoltre sono state analizzate altre 20 repliche preparate a una concentrazione pari a 1,5 volte il LoD provvisorio. I risultati sono riassunti nelle tabelle che seguono.

Tabella 5. Verifica dei risultati LoD ottenuti con lo strumento chemagic™ 360-D per i campioni orofaringei.

Concentrazione (copie/mL)			Tasso di rilevazione		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

Tabella 6. Verifica dei risultati LoD ottenuti con lo strumento chemagic™ 360-D per i campioni nasofaringei.

Concentrazione (copie/mL)			Tasso di rilevazione		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

VERIFICA DEL VALORE LOD OTTENUTO USANDO LO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D E SISTEMI PER PCR ALTERNATIVI (EQUIVALENZA DEI SISTEMI PCR)

Per ampliare l'uso del test PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR da utilizzare sui sistemi Applied Biosystems™ 7500 Fast / QuantStudio™ 3 / QuantStudio™ 5 Real-Time PCR e Analytik Jena qTOWER3 / qTower3 84 Real-Time PCR, è stato condotto uno studio con campioni artefatti preparati utilizzando tamponi nasofaringei clinici. Il pool negativo costituito da tamponi nasofaringei è stato arricchito con 2 o 3 concentrazioni note del pannello di verifica SeraCare RNA, contenente l'intero genoma virale di SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Molecular-Controls-Kit--Full-Genome-0505-0159/>). Gli acidi nucleici sono stati estratti utilizzando il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) sullo strumento chemagic™ 360-D e sono state analizzate fino a 20 repliche individuali di ogni estrazione su ciascuna piattaforma di strumenti per PCR, nel rispetto delle istruzioni per l'uso. I test eseguiti sul sistema Applied Biosystems™ 7500 PCR originale sono stati inclusi in questo studio per confrontare l'equivalenza. I risultati sono riassunti nelle tabelle che seguono. È stato confermato un valore LoD di 20 copie/mL per ABI7500, ABI 7500 Fast Dx, QuantStudio™ 3, QuantStudio™ 5 e qTower3 84 e di 10 copie/mL per qTower3. La sensibilità della rilevazione è equivalente tra tutti e 6 gli strumenti.

Tabella 7. Verifica del valore LoD con piattaforme per PCR alternative ad Applied Biosystems™.

Strumento	Concentrazione (copie/mL)	Gene bersaglio	Ct medio	Tasso di rilevazione per il gene bersaglio	Tasso di rilevazione generale per l'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 ³	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 ³ 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)	

VERIFICA DEL LOD SU UN FONDO DI MATRICE SALIVARE

Il LoD (20 copie/mL) determinato in QuantStudio™ 5 su una matrice costituita da tamponi nasofaringei (vedere la sezione precedente) è stato ulteriormente verificato usando un fondo di matrice salivare sullo stesso strumento. In sintesi, il pannello di verifica per SARS-CoV-2 è stato aggiunto a una matrice salivare negativa con l'obiettivo di preparare campioni positivi con una concentrazione di 20 copie/mL. In totale, 20 repliche dell'estrazione di questo campione positivo sono state estratte sullo strumento chemagic™ 360-D e amplificate su QuantStudio™ 5. I risultati sono riassunti nella tabella che segue; il LoD di 20 copie/mL è stato verificato con un tasso di rilevazione pari a 20/20 su un fondo di matrice salivare.

Tabella 8. Verifica dei risultati LoD ottenuti con lo strumento chemagic™ 360-D per i campioni di saliva.

Concentrazione (copie/mL)	Tasso di rilevazione		Ct medio		
	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
20	100% (20/20)	100% (20/20)	35,53	35,14	30,70

Quando questo kit di estrazione è stato utilizzato con EURORealTime SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay (ART. N. 2606-0110), sono stati ottenuti i dati LoD riportati di seguito (fonte: EUROIMMUN, una società PerkinElmer®).

LOD – SENSIBILITÀ ANALITICA SU DIVERSI SISTEMI PER PCR

Gli studi relativi al limite di rilevazione (*Limit of Detection*: LoD) determinano la concentrazione minima di SARS-CoV-2 rilevabile, alla quale il 95% circa di tutte le repliche (veri positivi) generano un risultato positivo al test.

È stato innanzitutto determinato un valore LoD provvisorio analizzando 5-7 diluizioni seriali, che erano state preparate aggiungendo un virus ricombinante contenente RNA di SARS-CoV-2 (Seracare, pannello di verifica AccuPlex™ SARS-CoV-2; 5000 copie/mL) nella matrice di tamponi orofaringei negativa per SARS-CoV-2. Ogni diluizione è stata analizzata con 3 repliche individuali dell'estrazione. È stato determinato un LoD provvisorio di 150 copie/mL.

Il LoD provvisorio è stato confermato analizzando 21 repliche della matrice negativa di tamponi orofaringei, arricchite indipendentemente con il pannello di verifica AccuPlex™ ed estratte con il CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sullo strumento chemagic™ 360-D. Le repliche sono state analizzate sullo strumento Roche LightCycler 480 II. Il LoD finale per tutti i metodi di estrazione è di 150 copie/mL. Il LoD di 150 copie/mL è stato quindi verificato sui termociclatori Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR,

Bio-Rad CFX 96 Touch e Analytik Jena qTOWER³, applicando la stessa procedura fin qui descritta. Il LoD è stato confermato analizzando 21 repliche dell'estrazione.

Tabella 9. Conferma del LoD nei campioni raccolti con tampone orofaringeo.

Strumento	Repliche valide	SARS-CoV-2		IC		Tasso di rilevazione dell'RNA di 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 ³	21	20	37,25	21	28,49	95%

PROCEDURA DEL PROTOCOLLO DI 31 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

Protocollo di estrazione sullo strumento chemagic™ 360-D.

Il protocollo di estrazione automatizzato dura 31 minuti circa.

Il protocollo è idoneo al trattamento di un numero massimo di 96 campioni in parallelo (vedere "Procedura di trattamento dettagliata", più avanti). Per istruzioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic™ 360-D, vedere il manuale per l'utente chemagic™ 360-D.

Prima dell'uso, i campioni e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (tra +19 e +25 °C). Collegare i flaconi dei reagenti allo strumento chemagic™ 360-D nel modo seguente:

- Pompa 1: Nessun flacone collegato
- Pompa 2: Binding Buffer 2
- Pompa 3: Nessun flacone collegato
- Pompa 4: Wash Buffer 4
- Pompa 5: Wash Buffer 5
- Pompa 6: Nessun flacone collegato

NOTA: DOPO L'USO, RISIGILLARE IMMEDIATAMENTE I FLACONI CON IL TAPPO O MANTENERE I FLACONI COLLEGATI STRETTAMENTE ALLO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. I TAMPONI BINDING BUFFER 2 E WASH BUFFER 4 CONTENGONO ETANOLO. SE L'ETANOLO EVAPORA, NON È GARANTITA LA RESA OTTIMALE O LA SENSIBILITÀ DELLA RILEVAZIONE.

PROCEDURA DI TRATTAMENTO DETTAGLIATA

1. Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.
2. Prima di pre-riempire le piastre, contrassegnarle una ad una con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e buffer).
3. Ricostituire i componenti Proteinase K e Poly(A)RNA.
 - Proteinase K: aggiungere 11 mL di acqua per biologia molecolare nel flacone di Proteinase K, quindi miscelare delicatamente fino a completa dissoluzione.
 - Poly(A)RNA: aggiungere 440 µL di Poly(A)RNA Buffer nella provetta Poly(A)RNA, quindi miscelare con cura fino a completa dissoluzione.
4. Se il Lysis Buffer 1 contiene un precipitato (formatosi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione dovrebbe essere riscaldata a 50-60 °C e miscelata con cura finché diventa limpida. La limpidezza del Lysis Buffer 1 dovrebbe essere confermata sempre visivamente prima dell'uso.
5. Riempire con i reagenti ed eseguire il priming dei tubi dello strumento chemagic™ 360-D selezionando il protocollo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite nel software chemagic™ QA e avviare il priming premendo [OK]. Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, avviare direttamente il priming premendo [Start]. Il priming deve essere eseguito quando i flaconi dei reagenti vengono collegati allo strumento chemagic™ 360-D per la prima volta, oppure quando i tubi dello strumento non sono ancora stati riempiti con i reagenti.
6. Se il priming non è necessario, selezionare il protocollo "**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure, se le funzioni avanzate sono disattivate, premere [Start]. Verrà erogato un piccolo volume di tampone da ogni pompa, in sequenza a partire dalla prima pompa usata per questa applicazione. Se una delle pompe non eroga il tampone attraverso tutti gli ugelli, utilizzare il protocollo di priming per quella pompa. Quando si eseguono molte sedute al giorno, è necessario controllare le pompe soltanto una volta a inizio giornata.
7. Selezionare il protocollo "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**", premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic™ QA.
8. Usare i puntali monouso (Disposable Tips) in base alle posizioni dei campioni e inserire il vassoio di puntali (Tip Tray) nella posizione 1 sul tracking system.

9. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: ASSICURARSI CHE TUTTI I FLACONI PER IL RIFORNIMENTO DEI TAMPONI CONTENGANO UNA QUANTITÀ SUFFICIENTE DI TAMPONE. È POSSIBILE ESEGUIRE 96 ISOLAMENTI SOLTANTO SE IL LIVELLO DEL LIQUIDO PER TUTTI I TAMPONI È AL DI SOPRA DI 125 mL.

10. Selezionare il numero di campioni da pre-riempire utilizzando il menu a discesa. Lo schema per il posizionamento dei campioni verrà mostrato dopo la selezione. Assicurarsi di utilizzare le posizioni indicate. Confermare premendo [OK].
11. Pre-riempire i pozzetti selezionati della piastra per campioni con 300 µL di campione. Per assicurare l'omogeneità dei campioni, miscelare delicatamente i campioni prima di pipettarli nei pozzetti della piastra per campioni .

NOTA: IL MATERIALE CAMPIONE OTTENUTO DAI TAMPONI SECCHI DEVE ESSERE LIQUEFATTO PRIMA DELL'USO.

12. Pre-riempire l'Elution Buffer 6 e le Magnetic Beads risospese accuratamente, in base alle posizioni dei campioni:
 - Le Magnetic Beads (nella posizione 2 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) vengono risospese miscelando con cura e vengono pipettate manualmente (150 µL/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.

NOTA: PRIMA DELL'EROGAZIONE È NECESSARIO MISCELARE VIGOROSAMENTE LA SOSPENSIONE DELLE MAGNETIC BEADS, ALTRIMENTI SE LA SOSPENSIONE NON È OMOGENEA, LA RESA DEL DNA/RNA POTREBBE ESSERE SCARSA.

- L'Elution Buffer 6 (nella posizione 7 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) viene pipettato manualmente (50-100 µL/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.
13. Aggiungere 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e infine 300 µL di Lysis Buffer 1 nei pozzetti contenenti il campione. È possibile pre-miscelare Poly(A)RNA, Proteinase K e Lysis Buffer 1 (scegliere il volume appropriato di Poly(A)RNA / Proteinase K / Lysis Buffer 1 per assicurarsi di avere un volume sufficiente per il numero di estrazioni).

NOTA: L'ATTIVITÀ DELLA PROTEINASE K TENDE A DIMINUIRE DOPO UN'INCUBAZIONE DI PIÙ 10 MINUTI NEL LYSIS BUFFER 1. ASSICURARSI CHE TUTTI I CAMPIONI SIANO MISCELATI CON POLY(A)RNA / PROTEINASE K / LYSIS BUFFER 1 ENTRO QUESTO LASSO DI TEMPO.

14. Caricare le piastre sul tracking system in base alle istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA.

15. Caricare la piastra per campioni sul tracking system, nella posizione 3.
16. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
17. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start]. Il processo automatizzato per l'estrazione del DNA/RNA viene avviato.

Seduta per l'estrazione automatizzata del DNA/RNA sullo strumento chemagic™ 360-D (protocollo di 31 minuti):

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
		Selezionare il protocollo " check manifolds H96 all 360 V150116.che " per irrigare il tubo prima di avviare la seduta di estrazione automatizzata. Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA e avviare l'irrigazione premendo [OK].
		Quando si utilizzano le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID, selezionare il protocollo " chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che " e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA per compilare i campi con i dati richiesti. Caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7.
1	Vassoio con puntali monouso	Usare i puntali monouso in base alle posizioni dei campioni e caricare il vassoio con i puntali monouso. NOTA: I PUNTALI DEVONO ESSERE PRESENTI NEL TRAY IN RIGHE COMPLETE.
2	Low Well Plate con 150 µL di Magnetic Beads	Pipettare con cura le Magnetic Beads risospese in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
3	Piastra per campioni (Deep Well Plate)	Caricare la piastra con i campioni preparati (300 µL di campione, 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e 300 µL di Lysis Buffer 1). Il Binding Buffer 2 viene erogato automaticamente nella piastra.
4	Vuoto	-

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
5	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 4 viene erogato automaticamente nella piastra.
6	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 5 viene erogato automaticamente nella piastra.
7	Deep Well Plate con 50-100 µL di Elution Buffer 6	Pipettare l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
		<p>Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente. Quando tutte le piastre sono al loro posto, premere [OK].</p> <p>Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/RNA premendo [Start]. In seguito il lisato del campione verrà miscelato automaticamente.</p> <p>Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7. Quando tutte le piastre sono al loro posto, selezionare il protocollo "chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che", contrassegnare le colonne in uso sulla mappa della piastra, nella finestra di dialogo, quindi avviare direttamente la seduta di estrazione premendo [Start].</p>

I numeri sul tracking system si riferiscono al posizionamento della piastra sullo strumento chemagic™ 360-D.

Dopo la procedura di isolamento, utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il materiale dal tracking system. Ogni clic su [Turn Table] sposta il tracking system (tabella) di una posizione in senso orario.

NOTA: NON SPOSTARE MAI MANUALMENTE IL TRACKING SYSTEM (TABELLA). QUESTA OPERAZIONE POTREBBE DANNEGGIARE LO STRUMENTO. TUTTI I MOVIMENTI DEVONO ESSERE ESEGUITI TRAMITE LA FUNZIONE [TURN TABLE].

NOTE PROCEDURALI DEL PROTOCOLLO DI 31 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

1. Per poter utilizzare correttamente il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96, è necessario comprendere il contenuto di questo foglio illustrativo e del manuale per l'utente chemagic™ 360-D. I reagenti forniti con questo kit sono destinati all'uso come un'unica unità. Non mescolare reagenti identici appartenenti a kit con numeri di lotto differenti.
2. Non utilizzare i reagenti del kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta del kit. Dopo l'apertura, i reagenti possono essere utilizzati per il periodo di tempo indicato nella lista dei reagenti fornita in queste Istruzioni per l'uso.
3. Qualsiasi deviazione dal protocollo potrebbe influenzare i risultati.
4. I reagenti vengono erogati automaticamente in righe complete, pertanto devono essere usati anche i puntali monouso (Disposable Tips) in righe complete su ogni barra a contatto con una soluzione reagente. Inoltre tenere presente che, se le piastre vengono utilizzate parzialmente, le soluzioni potrebbero non bastare per 960 estrazioni.
5. Aprendo lo sportello dello strumento chemagic™ 360-D mentre la seduta di estrazione automatizzata è in corso, la seduta verrà interrotta e i campioni in fase di trattamento potrebbero andare perduti.
6. La pulizia e la manutenzione del sistema sono descritte in modo dettagliato nel manuale per l'utente chemagic™ 360-D.
 - a. La pulizia del sistema viene eseguita una volta a settimana: Pulire il chemagic™ Dispenser. Selezionare il protocollo "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure [Start] se le funzioni avanzate sono disattivate. Seguire le istruzioni visualizzate dal software.
 - b. Prima di usare di nuovo il chemagic™ Dispenser, eseguire il protocollo di priming appropriato.

- c. È raccomandata una pulizia del chemagic™ Dispenser con etanolo al 70% una volta al mese. A questo scopo, usare semplicemente il protocollo "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**" invece del protocollo standard.
- d. Se il chemagic™ Dispenser resterà inattivo per un periodo di tempo più lungo, è necessario eseguire la "procedura di pulizia standard" per preservare le prestazioni dello strumento finché non verrà usato di nuovo.

NOTE SULLE PRESTAZIONI DEL PROTOCOLLO DI 31 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

A scopo comparativo, sono state eseguite delle estrazioni con il protocollo di 60 minuti e con il protocollo di 31 minuti utilizzando il pannello di verifica AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) aggiunto al terreno di trasporto dei dispositivi per prelievo eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) in qualità di materiale campione. Le prestazioni della qPCR sono state testate con EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR (EUROIMMUN, una società PerkinElmer®; kit usato nel rispetto delle istruzioni del produttore) sul sistema QuantStudio™ 5 Real-Time PCR (96 pozzetti, 0,2 mL, desktop, Applied Biosystems™, A28574). Il protocollo di 31 minuti per SARS-CoV-2 ("**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**") consente agli utenti di raddoppiare la loro produttività con i test per COVID. Questo protocollo più breve può essere usato senza nessuna modifica o calibrazione sullo strumento chemagic™ 360-D. C'è soltanto uno scostamento del valore Ct di 0,5-1 Ct rispetto al protocollo standard di 60 minuti. Di conseguenza, a fronte di una sensibilità pressoché invariata si ottengono vantaggi sul piano della durata e della produttività della seduta.

PROCEDURA DEL PROTOCOLLO DI 18 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

Protocollo di estrazione sullo strumento chemagic™ 360-D.

Il protocollo di estrazione automatizzato dura 18 minuti circa.

Il protocollo è idoneo al trattamento di un numero massimo di 96 campioni in parallelo (vedere "Procedura di trattamento dettagliata", più avanti). Per istruzioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic™ 360-D, vedere il manuale per l'utente chemagic™ 360-D.

Prima dell'uso, i campioni e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (tra +19 e +25 °C). Collegare i flaconi dei reagenti allo strumento chemagic™ 360-D nel modo seguente:

- Pompa 1: Nessun flacone collegato
- Pompa 2: Binding Buffer 2
- Pompa 3: Nessun flacone collegato
- Pompa 4: Wash Buffer 4
- Pompa 5: Wash Buffer 5
- Pompa 6: Nessun flacone collegato

NOTA: DOPO L'USO, RISIGILLARE IMMEDIATAMENTE I FLACONI CON IL TAPPO O MANTENERE I FLACONI COLLEGATI STRETTAMENTE ALLO STRUMENTO CHEMAGIC™ 360-D. I TAMPONI BINDING BUFFER 2 E WASH BUFFER 4 CONTENGONO ETANOLO. SE L'ETANOLO EVAPORA, NON È GARANTITA LA RESA OTTIMALE O LA SENSIBILITÀ DELLA RILEVAZIONE.

PROCEDURA DI TRATTAMENTO DETTAGLIATA

1. Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.
2. Prima di pre-riempire le piastre, contrassegnarle una ad una con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e buffer).
3. Ricostituire i componenti Proteinase K e Poly(A)RNA.
 - Proteinase K: aggiungere 11 mL di acqua per biologia molecolare nel flacone di Proteinase K, quindi miscelare delicatamente fino a completa dissoluzione.
 - Poly(A)RNA: aggiungere 440 µL di Poly(A)RNA Buffer nella provetta Poly(A)RNA, quindi miscelare con cura fino a completa dissoluzione.
4. Se il Lysis Buffer 1 contiene un precipitato (formatosi durante il trasferimento o la conservazione), la soluzione dovrebbe essere riscaldata a 50-60 °C e miscelata con cura finché diventa limpida. La limpidezza del Lysis Buffer 1 dovrebbe essere confermata sempre visivamente prima dell'uso.
5. Riempire con i reagenti ed eseguire il priming dei tubi dello strumento chemagic™ 360-D selezionando il protocollo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite nel software chemagic™ QA e avviare il priming premendo [OK]. Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, avviare direttamente il priming premendo [Start]. Il priming deve essere eseguito quando i flaconi dei reagenti vengono collegati allo strumento chemagic™ 360-D per la prima volta, oppure quando i tubi dello strumento non sono ancora stati riempiti con i reagenti.
6. Se il priming non è necessario, selezionare il protocollo "**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure, se le funzioni avanzate sono disattivate, premere [Start]. Verrà erogato un piccolo volume di tampone da ogni pompa, in sequenza a partire dalla prima pompa usata per questa applicazione. Se una delle pompe non eroga il tampone attraverso tutti gli ugelli, utilizzare il protocollo di priming per quella pompa. Quando si eseguono molte sedute al giorno, è necessario controllare le pompe soltanto una volta a inizio giornata.
7. Selezionare il protocollo "**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**", premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic™ QA.
8. Usare i puntali monouso (Disposable Tips) in base alle posizioni dei campioni e inserire il vassoio di puntali (Tip Tray) nella posizione 1 sul tracking system.

9. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: ASSICURARSI CHE TUTTI I FLACONI PER IL RIFORNIMENTO DEI TAMPONI CONTENGANO UNA QUANTITÀ SUFFICIENTE DI TAMPONE. È POSSIBILE ESEGUIRE 96 ISOLAMENTI SOLTANTO SE IL LIVELLO DEL LIQUIDO PER TUTTI I TAMPONI È AL DI SOPRA DI 125 mL.

10. Selezionare il numero di campioni da pre-riempire utilizzando il menu a discesa. Lo schema per il posizionamento dei campioni verrà mostrato dopo la selezione. Assicurarsi di utilizzare le posizioni indicate. Confermare premendo [OK].
11. Pre-riempire i pozzetti selezionati della piastra per campioni con 300 μ L di campione. Per assicurare l'omogeneità dei campioni, miscelare delicatamente i campioni prima di pipettarli nella Sample Plate.

NOTA: IL MATERIALE CAMPIONE OTTENUTO DAI TAMPONI SECCHI DEVE ESSERE LIQUEFATTO PRIMA DELL'USO.

12. Pre-riempire l'Elution Buffer 6 e le Magnetic Beads risospese accuratamente, in base alle posizioni dei campioni:
 - Le Magnetic Beads (nella posizione 2 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) vengono risospese miscelando con cura e vengono pipettate manualmente (150 μ L/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.

NOTA: PRIMA DELL'EROGAZIONE È NECESSARIO MISCELARE VIGOROSAMENTE LA SOSPENSIONE DELLE MAGNETIC BEADS, ALTRIMENTI SE LA SOSPENSIONE NON È OMOGENEA, LA RESA DEL DNA/RNA POTREBBE ESSERE SCARSA.

- L'Elution Buffer 6 (nella posizione 7 della piastra, sullo strumento chemagic™ 360-D) viene pipettato manualmente (50-100 μ L/pozzetto) nei corrispondenti pozzetti per campioni in uso.
13. Aggiungere 4 μ L di Poly(A)RNA, 10 μ L di Proteinase K e infine 300 μ L di Lysis Buffer 1 nei pozzetti contenenti il campione. È possibile pre-miscelare Poly(A)RNA, Proteinase K e Lysis Buffer 1 (scegliere il volume appropriato di Poly(A)RNA / Proteinase K / Lysis Buffer 1 per assicurarsi di avere un volume sufficiente per il numero di estrazioni).

NOTA: L'ATTIVITÀ DELLA PROTEINASE K TENDE A DIMINUIRE DOPO UN'INCUBAZIONE DI PIÙ 10 MINUTI NEL LYSIS BUFFER 1. ASSICURARSI CHE TUTTI I CAMPIONI SIANO MISCELATI CON POLY(A)RNA / PROTEINASE K / LYSIS BUFFER 1 ENTRO QUESTO LASSO DI TEMPO.

14. Caricare le piastre sul tracking system in base alle istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA.

15. Caricare la piastra per campioni sul tracking system, nella posizione 3.
16. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
17. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start]. Il processo automatizzato per l'estrazione del DNA/RNA viene avviato.

Seduta per l'estrazione automatizzata del DNA/RNA sullo strumento chemagic™ 360-D (protocollo di 18 minuti):

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
		Selezionare il protocollo " check manifolds H96 all 360 V150116.che " per irrigare il tubo prima di avviare la seduta di estrazione automatizzata. Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA e avviare l'irrigazione premendo [OK].
		Quando si utilizzano le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID, selezionare il protocollo " chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che " e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni visualizzate dal software chemagic™ QA per compilare i campi con i dati richiesti. Caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7.
1	Vassoio con puntali monouso	Usare i puntali monouso in base alle posizioni dei campioni e caricare il vassoio con i puntali monouso. NOTA: I PUNTALI DEVONO ESSERE PRESENTI NEL TRAY IN RIGHE COMPLETE.
2	Low Well Plate con 150 µL di Magnetic Beads	Pipettare con cura le Magnetic Beads risospese in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
3	Piastra per campioni (Deep Well Plate)	Caricare la piastra con i campioni preparati (300 µL di campione, 4 µL di Poly(A)RNA, 10 µL di Proteinase K e 300 µL di Lysis Buffer 1). Il Binding Buffer 2 viene erogato automaticamente nella piastra.

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
4	Vuoto	-
5	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 4 viene erogato automaticamente nella piastra.
6	Deep Well Plate	Caricare la piastra vuota. Il Wash Buffer 5 viene erogato automaticamente nella piastra.
7	Deep Well Plate con 50-100 µL di Elution Buffer 6	Pipettare l'Elution Buffer 6 (50-100 µL) in ciascun pozzetto in uso facendo riferimento alla piastra per campioni, quindi caricare la piastra.
		<p>Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente. Quando tutte le piastre sono al loro posto, premere [OK].</p> <p>Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/RNA premendo [Start]. In seguito il lisato del campione verrà miscelato automaticamente.</p> <p>Se le funzioni che abilitano l'immissione dei dati degli ID sono disattivate, caricare le piastre sul tracking system, nelle posizioni 1-7. Quando tutte le piastre sono al loro posto, selezionare il protocollo "chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che", contrassegnare le colonne in uso sulla mappa della piastra, nella finestra di dialogo, quindi avviare direttamente la seduta di estrazione premendo [Start].</p>

I numeri sul tracking system si riferiscono al posizionamento della piastra sullo strumento chemagic™360-D.

Dopo la procedura di isolamento, utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il materiale dal tracking system. Ogni clic su [Turn Table] sposta il tracking system (tabella) di una posizione in senso orario.

NOTA: NON SPOSTARE MAI MANUALMENTE IL TRACKING SYSTEM (TABELLA). QUESTA OPERAZIONE POTREBBE DANNEGGIARE LO STRUMENTO. TUTTI I MOVIMENTI DEVONO ESSERE ESEGUITI TRAMITE LA FUNZIONE [TURN TABLE].

NOTE PROCEDURALI DEL PROTOCOLLO DI 18 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

1. Per poter utilizzare correttamente il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96, è necessario comprendere il contenuto di questo foglio illustrativo e del manuale per l'utente chemagic™ 360-D. I reagenti forniti con questo kit sono destinati all'uso come un'unica unità. Non mescolare reagenti identici appartenenti a kit con numeri di lotto differenti.
2. Non utilizzare i reagenti del kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta del kit. Dopo l'apertura, i reagenti possono essere utilizzati per il periodo di tempo indicato nella lista dei reagenti fornita in queste Istruzioni per l'uso.
3. Qualsiasi deviazione dal protocollo potrebbe influenzare i risultati.
4. I reagenti vengono erogati automaticamente in righe complete, pertanto devono essere usati anche i puntali monouso (Disposable Tips) in righe complete su ogni barra a contatto con una soluzione reagente. Inoltre tenere presente che, se le piastre vengono utilizzate parzialmente, le soluzioni potrebbero non bastare per 960 estrazioni.
5. Aprendo lo sportello dello strumento chemagic™ 360-D mentre la seduta di estrazione automatizzata è in corso, la seduta verrà interrotta e i campioni in fase di trattamento potrebbero andare perduti.
6. La pulizia e la manutenzione del sistema sono descritte in modo dettagliato nel manuale per l'utente chemagic™ 360-D.
 - a. La pulizia del sistema viene eseguita una volta a settimana: Pulire il chemagic™ Dispenser. Selezionare il protocollo "**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] oppure [Start] se le funzioni avanzate sono disattivate. Seguire le istruzioni visualizzate dal software.
 - b. Prima di usare di nuovo il chemagic™ Dispenser, eseguire il protocollo di priming appropriato.

- c. È raccomandata una pulizia del chemagic™ Dispenser con etanolo al 70% una volta al mese. A questo scopo, usare semplicemente il protocollo "**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**" invece del protocollo standard.
- d. Se il chemagic™ Dispenser resterà inattivo per un periodo di tempo più lungo, è necessario eseguire la "procedura di pulizia standard" per preservare le prestazioni dello strumento finché non verrà usato di nuovo.

NOTE SULLE PRESTAZIONI DEL PROTOCOLLO DI 18 MINUTI (TESTATO SOLTANTO CON ISOLAMENTO DI SARS-COV-2)

A scopo comparativo, sono state eseguite delle estrazioni con il protocollo di 60 minuti e con il protocollo di 18 minuti utilizzando il pannello di verifica AccuPlex™ SARS-CoV-2 (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) aggiunto al terreno di trasporto dei dispositivi per prelievo eNAT™ (Copan Italia S.p.A.) in qualità di materiale campione. Le prestazioni della qPCR sono state testate con EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR (EUROIMMUN, una società PerkinElmer®; kit usato nel rispetto delle istruzioni del produttore) sul sistema QuantStudio™ 5 Real-Time PCR (96 pozzetti, 0,2 mL, desktop, Applied Biosystems™, A28574). Il protocollo di 18 minuti per SARS-CoV-2 ("**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**") consente agli utenti di triplicare la loro produttività con i test per COVID. Questo protocollo più breve può essere usato senza modifiche o calibrazioni sullo strumento chemagic™ 360-D, tuttavia è necessario che un tecnico di PerkinElmer® intervenga sul software chemagic™ disabilitando l'opzione "X-offset Bead Collection" in "Parameter Settings". Infatti, se l'opzione "X-offset Bead Collection" è abilitata, la durata della seduta di estrazione si prolunga di 21 minuti. C'è soltanto una leggera variazione del valore, pari a 0,5-1 Ct, rispetto al protocollo standard di 60 minuti. Di conseguenza, a fronte di una sensibilità pressoché invariata si ottengono vantaggi sul piano della durata e della produttività della seduta.

APPLICAZIONI A VALLE TESTATE CON L'ESTRAZIONE DI SARS-COV-2

Le seguenti applicazioni a valle sono state eseguite correttamente e descritte in letteratura dopo l'isolamento dei campioni di SARS-CoV-2 con il chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033-S).

Applicazione a valle	Kit	Riferimento
RT-qPCR	TaqPath COVID-19 Combo Kit (Applied Biosystems™)	Barrett <i>et al.</i> BMC Infectious Diseases (2020) 20:853 https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2
		Radbel <i>et al.</i> Journal of Molecular Diagnostics (2020) Volume 22, Issue 7, 871-875 https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209
	SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ TaqDNA Polymerase (ThermoFisher)	Streeck <i>et al.</i> Nat Commun (2020) 11, 5829 https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y

Applicazione a valle	Kit	Riferimento
RT-qPCR	virella SARS-CoV-2 seqc rRT-PCR kit (Gerbion)	Wandernoth <i>et al.</i> Viruses (2020) 12:849 https://doi:10.3390/v12080849
	2019-nCoV CDC EUA Kit (IDT)	Xie <i>et al.</i> Processes (2020) 8(11), 1425 https://doi.org/10.3390/pr8111425
	SARS-CoV-2 real-time RT-PCR assay CE-IVD (PerkinElmer®)	Klussmeier <i>et al.</i> Biospektrum (2020) 26 , 500-503 https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1
	NeoPlex COVID-19 kit (Gene Matrix)	Senok <i>et al.</i> Infect Drug Resistance (2020) 13 , 3393-3399 https://doi.org/10.2147/IDR.S275152
	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 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035
	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) 93 , 2281-2286 https://doi.org/10.1002/jmv.26691
	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) 9 , 351-353 https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078

Applicazione a valle	Kit	Riferimento
Sequenziamento	Protocollo ARTIC V3	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) 1 , 10-15 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035
		Jonsson <i>et al.</i> Nature Communications (2021) 12 , 3633 https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6
		Tegally <i>et al.</i> Nature Medicine (2021) 27 , 440-446 https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3
	<p>Sintesi del cDNA: LunaScript RT Super Mix kit (New England Biolabs), SuperScriptIV (ThermoFisher)</p> <p>Preparazione della libreria: SureSelectXT Low Input kit CoVHuman6X enrichment capture-based method (Agilent Technologies)</p> <p>ARTIC tiled amplicon multiplex PCR protocol (v3) + NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs)</p>	Ellingford <i>et al.</i> eLife (2021) 10 , 65453 https://doi.org/10.7554/eLife.65453

ULTERIORI DOMANDE

Per ulteriori domande di tipo applicativo o tecnico o per ricevere maggiori informazioni, si prega di contattare support.chemagen@Perkinelmer.com or +49 (0) 2401805500.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

L'uso dei seguenti dispositivi per prelievo con chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 **non è consigliato**. Per ulteriori domande, si prega di contattare support.chemagen@perkinelmer.com.

Descrizione	Marchio	N. di riferimento
Provetta di campionamento per virus inattivati (10 mL), contenente 3 mL di terreno di conservazione (inattivato), 1x tampone orofaringeo con materiale in rayon	Biocomma Limited	YMJ-TE
Sistema per il prelievo e la conservazione di virus inattivati	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

Non sono state determinate le caratteristiche delle prestazioni di questo prodotto.

Talvolta potrebbe permanere qualche traccia di Magnetic Beads nell'eluato. Sebbene normalmente queste particelle non interferiscano con la PCR o con la maggior parte delle applicazioni a valle, si consiglia di eseguire un passaggio aggiuntivo di separazione tramite centrifugazione o separatore magnetico (chemagic™ Stand 96, incluso con chemagic™ 360 96 Rod Head Set, art. n. CMG-370) per separare qualsiasi traccia di particelle.

Il DNA/RNA estratto dovrebbe essere utilizzato immediatamente dopo l'estrazione, eseguendo il test diagnostico *in vitro* desiderato.

GARANZIA

Qualsiasi cambiamento della procedura non raccomandato dal produttore potrebbe influire sui risultati, nel qual caso PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH e le sue affiliate declinano qualsiasi garanzia espressa, implicita o prevista per legge, inclusa la garanzia implicita di commerciabilità e idoneità all'uso.

In tale evenienza, PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH, le sue affiliate e i suoi distributori autorizzati non risponderanno di danni diretti o indiretti.

Settembre 2022