



ISTRUZIONI PER L'USO

chemagic™ BBS DNA Kit H24

Numero di prodotto:	IVD-1074 Reagents for 240 extractions.
UDI-DI:	4260543364175
Versione:	V231025 IT  
Produttore:	Revvity chemagen Technologie GmbH Arnold-Sommerfeld-Ring 2 52499 Baesweiler, Germania www.revvity.com

CE

PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

1. INDICE DEI CONTENUTI










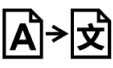


1. Indice dei contenuti.....	1
2. Spiegazione delle parole di segnalazione in questa IFU	3
3. Simboli utilizzati nella IFU e sulle etichette	3
4. Applicazione	5
5. Riassunto e principio	5
6. Segnalazione degli incidenti	6
7. Informazioni generali e di conservazione.....	7
8. Istruzioni d'uso elettroniche	8
9. Avvertenze e precauzioni	8
10. Reagenti del kit e informazioni sulla sicurezza	10
10.1 Magnetic Beads	10
10.2 Lysis Buffer 1	10
10.3 Binding Buffer 2	11
10.4 Wash Buffer 3	12
10.5 Wash Buffer 4	13
10.6 Wash Buffer 5	14
10.7 Wash Buffer 6	15
10.8 Elution Buffer 7	15
10.9 Proteinase K	16
10.10 Ulteriori componenti del kit.....	17
11. File dei protocolli richiesti.....	18
12. Materiale necessario ma non fornito con il kit.....	18
12.1 Articoli da Revvity chemagen Technologie GmbH.....	18
12.2 Articoli aggiuntivi richiesti.....	19
12.3 Ulteriori articoli opzionali di Revvity chemagen Technologie GmbH.....	19
12.4 Altri articoli opzionali aggiuntivi	19
13. Raccolta e manipolazione dei campioni.....	20
14. Preparación de muestras de buffy Coat	21
15. Descrizione dettagliata del protocollo	22
15.1 Procedura protocollo.....	22
15.2 Fasi di lavorazione	23
15.3 Breve descrizione/ Guida rapida	26
16. Caratteristiche delle prestazioni.....	29
16.1 Linearità e recupero con il campione di DNA spiked.....	29
16.2 Rendimenti di DNA con campioni di sangue e buffy coat	30
17. Pulizia e manutenzione.....	31








18. Applicazioni a valle	32
19. Altre domande	33
20. Limitazioni della procedura	33
21. Influenza di sostanze interferenti	33
22. Garanzia	34

2. SPIEGAZIONE DELLE PAROLE DI SEGNALAZIONE IN QUESTA IFU

Parola segnale	Descrizione
PRUDENZA!	Pericolo potenziale che potrebbe causare danni di lieve o media entità.
ATTENZIONE!	Un uso improprio può danneggiare lo strumento.
NOTA:	Gli errori commessi dall'operatore possono causare l'impossibilità di garantire le prestazioni ottimali del kit.

3. SIMBOLI UTILIZZATI NELLA IFU E SULLE ETICHETTE

Simbolo	Titolo del simbolo	Simbolo	Titolo del simbolo
	Marchio CE Conformità europea		Limite di temperatura
	Dispositivo medico <i>in vitro</i>		Contiene un numero sufficiente di <n> test
	Consultare le istruzioni per l'uso o le istruzioni elettroniche per l'uso		Quantità
	Produttore		Non riutilizzare
	Codice lotto		Traduzione
	Numero di catalogo		Data di scadenza

Simbolo	Titolo del simbolo	Simbolo	Titolo del simbolo
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le IFU		Da qui in su
	GHS02		Merci pericolose: Classe 3 Liquido infiammabile
	GHS07		Merci pericolose: Classe 8 Sostanze corrosive
	GHS08	-	-

chemagic™ è un marchio di Revvity chemagen Technologie GmbH.

4. APPLICAZIONE

Il chemagic™ BBS DNA Kit H24 è destinato all'estrazione e alla purificazione automatizzata del DNA da sangue umano, strato leucocitario-piastrinico (buffy coat) e saliva, utilizzando lo strumento chemagic™ 360-D.

Altri materiali di campionamento, come tamponi o lisati di tessuto, possono essere compatibili ma non sono ancora stati convalidati. Per tali materiali, l'utente deve eseguire una convalida.

Il kit è progettato per essere utilizzato con le applicazioni downstream IVD che impiegano l'amplificazione enzimatica e la rilevazione di DNA (ad es. PCR, RT-PCR, NGS). Il prodotto è destinato al personale di laboratorio addestrato e appositamente addestrato per il chemagic BBS DNA Kit H24 e lo strumento chemagic 360-D.

Per ulteriori informazioni, consultare le sezioni "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA" e "AVVERTENZE E PRECAUZIONI" in questo documento.

5. RIASSUNTO E PRINCIPIO

Il kit chemagic BBS DNA Kit H24 si basa su una piattaforma tecnologica a microsfere magnetiche di proprietà di Revvity chemagen Technologie GmbH. Le cellule o altre fonti di DNA e RNA presenti nel sangue umano, strato leucocitario-piastrinico e saliva vengono lisate durante il processo di estrazione. Gli acidi nucleici rilasciati si legano a piccole particelle magnetizzabili che vengono poi separate magneticamente dal materiale del campione. Nelle fasi successive vengono rimossi i contaminanti e gli acidi nucleici purificati vengono trasferiti in un tampone di eluizione. L'elaborazione automatizzata dei campioni viene eseguita utilizzando lo strumento chemagic 360-D con un chemagic 24 Rod Head Set 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.

6. SEGNALAZIONE DEGLI INCIDENTI

Per un utente/ terzo nell'Unione Europea e nei paesi con un regime normativo identico (IVDR (EU) 2017/746); se, durante l'uso di questo dispositivo o in conseguenza del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, si prega di segnalarlo alla propria autorità nazionale e al produttore Revvity chemagen Technologie GmbH, +49 (0) 2401805500 o support.chemagen@revvity.com o ai suoi rappresentanti legali.

L'autorità competente in Germania è l'Istituto federale per i farmaci e i dispositivi medici (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM). Le informazioni di contatto aggiornate sono disponibili sul sito web del BfArM: <https://www.bfarm.de>.

7. INFORMAZIONI GENERALI E DI CONSERVAZIONE

Il kit contiene reagenti sufficienti per eseguire 240 estrazioni.

La data di scadenza del kit non aperto è riportata sull'etichetta esterna. Non utilizzare alcun componente oltre la data di scadenza. Conservare a una temperatura compresa tra +2 e +25 °C.

Una volta aperti, i componenti del kit hanno una stabilità limitata. La stabilità dopo l'apertura è indicata per ciascun componente separatamente nell'elenco dei reagenti (sezione "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA").

NOTA: Dopo l'uso, risigillare immediatamente i flaconi con il tappo per prevenire l'eventuale evaporazione.

I flaconi possono scolorire durante la conservazione. Lo scolorimento dei flaconi non ha alcun effetto sulla funzionalità del test.

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 12, incluso con chemagic 360 24 Rod Head Set) per separare qualsiasi traccia di particelle.

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

In questo IFU si fa riferimento al Manuale d'uso del chemagic 360-D (chemagic 360-D User Manual). Questo manuale sarà fornito con lo strumento chemagic 360-D.

I file di protocollo relativi al kit sono disponibili sulla pagina web o saranno forniti dall'assistenza clienti (vedere la sezione "FILE DEI PROTOCOLLI RICHIESTI").

8. ISTRUZIONI D'USO ELETTRONICHE

Sul nostro sito web sono disponibili le istruzioni per l'uso elettroniche (eIFU) in varie lingue.

Per scaricare le istruzioni per l'uso elettroniche, visitare:

<https://chemagen.com/products/ce-ivd-chemagic-kits/ivd-1074-chemagic-bbs-dna-kit-h24/>.

Le eIFU sono fornite almeno in inglese (EN), francese (FR), spagnolo (ES) e italiano (IT) e su richiesta anche in altre lingue richieste.

In caso di domande relative al download o alle Istruzioni per l'uso elettroniche, contattateci: support.chemagen@revvity.com, info.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

9. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*.

Il prodotto è destinato agli utenti professionali addestrati per lo strumento chemagic 360-D.

La comprensione approfondita di questo IFU e del Manuale d'uso di chemagic 360-D è un prerequisito e un requisito necessario per l'utilizzo efficace di chemagic BBS DNA Kit H24.

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.

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 list dei reagenti fornita in queste istruzione per l'uso.

Qualsiasi deviazione dal protocollo può influenzare i risultati.

I reagenti vengono dispensati automaticamente in file intere e pertanto i puntali chemagic XL e le provette chemagic Elution Tubes 13 mL devono essere utilizzati anch'essi in file intere su ogni asta a contatto con la soluzione reagente.

Si noti inoltre che se si eseguono piastre parziali, le soluzioni potrebbero non bastare per 960 estrazioni.

Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.

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 cloruro di guanidinio ed è nocivo per ingestione, contatto con la pelle o inalazione. Il Binding Buffer 2, il Wash Buffer 3 e il Wash Buffer 4 contengono perclorato di sodio ed etanolo e sono liquidi e vapori infiammabili e nocivi se ingeriti. Il Wash Buffer 5 contiene etanolo ed è un liquido e un vapore infiammabile. La Proteinase K contiene la serina proteasi Tritirachium album e provoca irritazione cutanea e grave irritazione oculare. Può causare sintomi di allergia o asma, difficoltà respiratorie o irritazione respiratoria se inalata. Vedere le precauzioni specifiche per tutti i componenti nella sezione "REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA".

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 (safety data sheets, SDS).

Seguire le normative locali per la manipolazione delle soluzioni etanoliche.

Lo smaltimento di tutti i rifiuti deve avvenire in conformità alle normative locali.

10. REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA


Il chemagic BBS DNA Kit H24 contiene i seguenti reagenti.

10.1 MAGNETIC BEADS

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Magnetic Beads	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. 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.

10.2 LYSIS BUFFER 1

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

AVVERTIMENTO


Tampone acquoso pronto all'uso (pH 6.7-7.2) soluzione contenente cloruro di guanidinio (30-50 %) e alcol isotridecilico (1-1.5 %). Il Lysis Buffer 1 viene impiegato per lisare le cellule o le altre fonti di DNA presenti nel campione, in modo da ottenere il DNA in soluzione.

PRUDENZA! Il Lysis Buffer 1 contiene cloruro di guanidinio e alcool isotridecilico.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

H302	Nocivo se ingerito.
H315	Provoca irritazione cutanea.
H319	Provoca grave irritazione oculare.
P280	Indossare guanti/ proteggere gli occhi/ proteggere il viso.
P301+P312	IN CASO DI INGESTIONE: In presenza di malessere contattare un CENTRO ANTIVELENI/ un medico.
P330	Sciacquare la bocca.
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.
P332+P313	In caso di irritazione della pelle: Consultare un medico.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.

10.3 BINDING BUFFER 2

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


Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 5.2-5.9) con perclorato di sodio (20-30 %), etanolo (30-50 %) e acido acetico (0.75-1.5 %). Il Binding Buffer 2 crea condizioni favorevoli al legame tra il DNA e le Magnetic Beads.

PRUDENZA! Il Binding Buffer 2 contiene etanolo e perclorato di sodio.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

H226	Liquido e vapore 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.

10.4 WASH BUFFER 3

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


Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 5.0-5.6) con perclorato di sodio (10-20 %) ed etanolo (10-30 %). Aiuta a rimuovere i contaminanti diversi dal DNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 3 contiene etanolo e perclorato di sodio.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

H226	Liquido e vapore 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.

10.5 WASH BUFFER 4

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


Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 5.0-5.6) con perclorato di sodio (10-20 %) ed etanolo (10-30 %). Aiuta a rimuovere i contaminanti diversi dal DNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 4 contiene etanolo e perclorato di sodio.

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

H226	Liquido e vapore 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.

10.6 WASH BUFFER 5

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

La soluzione pronta all'uso contiene etanolo (50-70%). Aiuta a rimuovere le ultime tracce di contaminanti diversi dal DNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 5 contiene etanolo.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.

10.7 WASH BUFFER 6

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 6	1 tanica (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della tanica. 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.

10.8 ELUTION BUFFER 7

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Elution Buffer 7	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. 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).

10.9 PROTEINASE K

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Proteinase K   PERICOLO	4 fiale di vetro (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della fiala. Dopo la ricostituzione, stabile per 28 giorni tra +2 e +8 °C.

La Proteinase K deve essere ricostituita con 1.25 mL di acqua purificata. La Proteinase K viene aggiunta per migliorare l'efficienza della lisi.

PRUDENZA! La Proteinase K contiene Proteinasi, serina di Tritirachium album e calcio acetato idrato.

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

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.

10.10 ULTERIORI COMPONENTI DEL KIT

Il chemagic BBS DNA Kit H24 contiene il seguente materiale plastico.

Componente	Quantità	Stoccaggio
chemagic Tips XL	250	Tra +2 e +25 °C
chemagic Deep Well Plate 24 XL	50	Tra +2 e +25 °C
chemagic Elution Tube 13 mL	288	Tra +2 e +25 °C

11. FILE DEI PROTOCOLLI RICHIESTI

I seguenti file di protocollo saranno forniti da Revvity chemagen Technologie GmbH e sono disponibili sulla pagina web o saranno forniti dall'assistenza clienti.

Protocollo (file.che)	Tipo di protocollo/ scopo
chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml Tubes prefilling VD191213.che	File di estrazione relativo al kit per lo strumento chemagic 360-D
prime manifolds H24 all 360 V150116.che	Riempimento e adescamento del tubo dello strumento chemagic 360-D con i reagenti
check manifolds H24 all 360 V150116.che	Verifica della funzionalità delle pompe
regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che	Pulizia regolare dello strumento chemagic 360-D (una volta alla settimana)
intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che	Pulizia intensiva dello strumento chemagic 360-D (una volta al mese)

12. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO CON IL KIT

Il chemagic BBS DNA Kit H24 richiede i seguenti elementi.

12.1 ARTICOLI DA REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Articolo	Prodotto n.
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 24 Rod Head Set	CMG-376
Rack per chemagic Elution Tubes 13 mL (fornito con il chemagic 24 Rod Head Set)	-

12.2 ARTICOLI AGGIUNTIVI RICHIESTI

Articolo	Scopo
Pipette e puntali per pipette con barriere per l'aerosol	Riempimento preliminare delle microsfere magnetiche, Elution Buffer 7 e Proteinase K
Acqua per biologia molecolare	Ricostituzione della Proteinase K
70% di etanolo	Pulizia dello strumento chemagic 360-D

12.3 ULTERIORI ARTICOLI OPZIONALI DI REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Prodotto	Prodotto n.
chemagic Stand 12 (fornito con il chemagic 24 Rod Head Set)	CMG-308
Red Cell Lysis Buffer	CMG-848

12.4 ALTRI ARTICOLI OPZIONALI AGGIUNTIVI

Prodotto	Scopo
Soluzione salina isotonica, sterile	Risospensione di buffy coat

13. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Il chemagic BBS DNA Kit H24 è utilizzabile con sangue umano, strato leucocitario-piastrinico (buffy coat) e saliva in aliquote da 2 a 4 mL per isolamento.

Si devono utilizzare campioni di sangue intero umano (2 - 4 mL) o di buffy coat (fino a 4 mL) freschi, congelati o conservati in genere per un massimo di 10 giorni a +2 - +8 °C. Per la conservazione a lungo termine, si raccomanda il congelamento a -20 °C o -80 °C in aliquote. Gli stabilizzatori del sangue consigliati sono EDTA o citrato.

NOTA: L'uso di campioni di sangue stabilizzati con eparina può causare inibizione nelle applicazioni a valle e pertanto non è raccomandato.

La conta dei globuli bianchi nel campione di sangue intero diminuisce durante la conservazione. La conservazione prolungata dei campioni può causare una scarsa resa del DNA dopo l'estrazione.

È necessario utilizzare saliva umana (4 mL) conservata secondo le istruzioni del fornitore della provetta di raccolta. Le provette di raccolta stabilizzate consigliate sono quelle di DNAgenotek®, Isohelix™ e Spectrum Solutions. L'incubazione delle provette di raccolta prima dell'estrazione per > 2 ore a 50 °C consente di ottenere rese di DNA più elevate ed è pertanto consigliata.

I campioni di buffy coat conservati per un massimo di una settimana a +2 - +8 °C dovrebbero essere utilizzati. Per la conservazione a lungo termine, si raccomanda il congelamento a -20 °C o -80 °C in aliquote. Lo buffy coat deve essere estratto da provette di sangue stabilizzate (seguire le raccomandazioni sulle provette sopra riportate per i campioni di sangue). Prima dell'estrazione, lo buffy coat deve essere scongelato a 37°C. Si consiglia la seguente procedura per la preparazione dello buffy coat.

14. PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE BUFFY COAT

- Aggiungere fino a 5 mL di sangue intero fresco in una provetta sterile da 50 mL.
- Aggiungere 40 mL di Red Cell Lysis Buffer (RCLB) al sangue e capovolgere la provetta 4 volte.
- Incubare per 5 minuti o finché la sospensione non diventa traslucida.
- Centrifugare a 4.000 giri al minuto per 10 minuti per raccogliere i globuli bianchi.
- Decantare il surnatante e aspirare con cura il surnatante rimanente dalla parte superiore del campione con una pipetta.

NOTA: Fare attenzione a non disturbare il pellet di cellulare. Prestare attenzione nel pipettare per evitare di perdere il pellet di globuli bianchi.

- Aggiungere 20 mL di Red Cell Lysis Buffer e lavare con cura e rimuovere i globuli rossi rimanenti sopra il pellet bianco senza disturbare il pellet bianco.
- Decantare il surnatante e aspirare con cura il surnatante rimanente dalla parte superiore del campione con una pipetta.
- Risospendere il buffy coat in un massimo di 2 mL di soluzione salina isotonica (0.9% NaCl).
- Se il volume di sangue iniziale è inferiore o superiore a 6 mL, modificare in proporzione il volume di Red Cell Lysis Buffer utilizzato.
- Il buffy coat può essere congelato, conservato a +2-8 °C per una settimana o utilizzato direttamente per l'estrazione.

15. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DEL PROTOCOLLO

15.1 PROCEDURA PROTOCOLLO

La procedura che segue descrive la preparazione e l'esecuzione del protocollo di estrazione utilizzando lo strumento chemagic 360-D.

La durata del protocollo di estrazione automatica è di circa 78 minuti.

Il protocollo è adatto a trattare fino a 24 campioni in parallelo (vedi "FASI DI LAVORAZIONE"). Per istruzioni dettagliate sull'uso dello strumento chemagic 360-D, consultare il Manuale d'uso chemagic 360-D.

NOTA: I campioni e i reagenti devono essere portati a temperatura ambiente (da +19 a +25 °C) prima dell'uso.

Collegare i flaconi di reagenti allo strumento chemagic 360-D come segue:

Pompa	Tampone	Volume minimo di riempimento
Pompa 1	Lysis Buffer 1	150 mL
Pompa 2	Binding Buffer 2	350 mL
Pompa 3	Wash Buffer 3	200 mL
Pompa 4	Wash Buffer 4	200 mL
Pompa 5	Wash Buffer 5	200 mL
Pompa 6	Wash Buffer 6	200 mL

NOTA: Richiudere bene i flaconi subito dopo l'uso o mantenere i flaconi collegati saldamente allo strumento chemagic 360-D. Il Binding Buffer 2, il Wash Buffer 3, il Wash Buffer 4 e il Wash Buffer 5 contengono etanolo. Se l'etanolo evapora, non è possibile garantire la resa ottimale o la sensibilità di rilevamento.

15.2 FASI DI LAVORAZIONE

1. Controllare che tutti i componenti del kit siano integri. Nel caso siano danneggiati, contattare il fornitore.
2. Prima di riempire le piastre e le provette di chemagic Elution Tubes 13 mL nel rack, contrassegnarle con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e tamponi).

I reagenti vengono dispensati automaticamente in file intere e pertanto le provette di chemagic Elution Tubes 13 mL devono essere utilizzate anch'esse in file intere su ogni asta a contatto con la soluzione reagente.

3. Ricostituire la Proteinase K:

Componente	Ricostituzione
Proteinase K	Aggiungere 1.25 mL di acqua per biologia molecolare nella fiala di Proteinase K, quindi miscelare delicatamente fino a completa dissoluzione.

4. Riempire e adescare i tubi chemagic 360-D con i reagenti scegliendo il protocollo "**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**". Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA e avviare il priming premendo [OK]. Se le funzioni che consentono l'inserimento dei dati ID sono disattivate, avviare il priming direttamente premendo [Start].

NOTA: L'adescamento deve essere effettuato quando i flaconi di reagenti vengono collegati allo strumento chemagic 360-D per la prima volta o quando il tubo dello strumento non è già riempito con i reagenti sopra menzionati.

5. Se l'adescamento non è necessario, selezionare il protocollo "**check manifolds H96 all 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] o - se le funzioni avanzate sono disattivate - [Start]. Un piccolo volume di tampone verrà erogato da ciascuna pompa in sequenza, a partire dalla prima pompa utilizzata per questa applicazione. Se una delle pompe non mostra l'erogazione del tampone attraverso tutti gli ugelli, utilizzare il protocollo di adescamento corrispondente per questa pompa. Quando si eseguono più corse al giorno, è necessario controllare le pompe solo una volta all'inizio della giornata.
6. Selezionare il protocollo "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml prefilling VD191213.che**" e premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic QA.

7. Assicurarsi che i chemagic Tips XL siano sufficienti e allineati con le posizioni dei campioni e posizionare il Tip Rack nella posizione 1 del tracking system I reagenti vengono dispensati automaticamente in file intere e pertanto i chemagic Tips XL devono essere utilizzati in file intere su ogni asta a contatto con la soluzione reagente.
8. Controllare i volumi nei contenitori di alimentazione del tampone e confermare premendo [OK]. Vedere sopra "PROCEDURA", altezze minime di riempimento.

NOTA: Verificare che tutti i flaconi di tampone contengano una quantità sufficiente di tampone. Solo se il livello di liquido per tutti i tamponi è sufficiente è possibile eseguire 24 isolamenti.

9. Selezionare il numero di campioni da 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].
10. Riempire i pozzetti selezionati della piastra di campionamento con un massimo di 4 mL di campione. Per garantire l'omogeneità dei campioni, mescolare delicatamente i campioni prima di pipettarli nei pozzetti della piastra di campionamento.
11. Caricare due Elution Racks con chemagic Elution Tubes 13 mL.
12. Riempire il Elution Buffer 7 e le Magnetic Beads accuratamente risospese pipettando manualmente in base a ciascun pozzetto o provetta in uso.

Componente	Posizione della piastra sullo strumento chemagic 360-D	Volume/pozzetto o provetta
Magnetic Beads	4	400 µL
Elution Buffer 7	7	300-500 µL

NOTA: La sospensione di Magnetic Beads deve essere mescolata vigorosamente prima di essere dispensata; in caso contrario, la sospensione non è omogenea e la resa di DNA potrebbe essere bassa.

13. Aggiungere 15 µL di Proteinase K ai pozzetti contenenti il campione.
14. Posizionare le chemagic Deep Well Plates 24 XL e i due rack con le provette chemagic Elution Tubes 13 mL (un rack con le provette chemagic Elution Tubes 13 mL preriempite con il Elution Buffer 7 e l'altro rack con le provette chemagic Elution Tubes 13 mL vuote per lo smaltimento dei chemagic Tips XL) sul tracking system secondo le istruzioni fornite dal software chemagic QA.

15. Caricare la piastra campione nella posizione 2 del tracking system.
16. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
17. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start].
18. Viene avviato il processo di estrazione automatica del DNA.
19. Al termine della procedura di isolamento, utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il tracking system. Ogni clic su [Turn Table] sposta il tracking system (tavolo) di una posizione in senso orario.

ATTENZIONE! Non spostare mai manualmente il tracking system (tavola). Questa operazione potrebbe danneggiare lo strumento. Tutti i movimenti devono essere eseguiti tramite la funzione [Turn Table].

NOTA: 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.

Per informazioni sulla pulizia dello strumento, vedere la sezione "PULIZIA E MANUTENZIONE".

15.3 BREVE DESCRIZIONE/ GUIDA RAPIDA

Estrazione automatizzata di DNA con lo strumento chemagic 360-D:

- Selezionare il protocollo "**check manifolds H24 all 360 V150116.che**" per lavare i tubi prima di avviare la corsa di estrazione automatica.
- Premere [Insert IDs], seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA e avviare il lavaggio premendo [OK].
- Quando si utilizzano le funzioni che consentono l'inserimento dei dati ID, selezionare il protocollo "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**" e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA per inserire i dati richiesti.
- I reagenti vengono dispensati automaticamente in file intere e pertanto i chemagic Tips XL e le chemagic Elution Tubes 13 mL devono essere utilizzati anch'essi in file intere su ogni asta a contatto con la soluzione reagente.
- Caricare le piastre e i rack con chemagic Elution Tubes 13 mL sulle posizioni 1-8 del tracking system come segue.
(I numeri sul tracking system si riferiscono al posizionamento della piastra sullo strumento chemagic 360-D).

Posizione su tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
1	Rack con chemagic Tips XL	Utilizzare i chemagic Tips XL in base alla posizione dei campioni e posizionare il rack sul tracking system. NOTA: Le punte devono essere presenti nel rack a righe intere.
2	Piastra campione (chemagic Deep Well Plate 24 XL)	Posizionare la piastra con i campioni preparati (fino a 4 mL di campione) e 15 μ L di Proteinase K sul tracking system. Il Lysis Buffer 1 e il Binding Buffer 2 vengono dispensati automaticamente nella piastra.
3	chemagic Deep Well Plate 24 XL con Magnetic Beads da 400 μ L	Pipettare 400 μ L di Magnetic Beads accuratamente risospese in ciascun pozzetto della piastra in base alla posizione del campione e posizionare la piastra sul tracking system. Il Wash Buffer 3 viene dispensato automaticamente nella piastra.
4	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 4 viene dispensato automaticamente nella piastra.
5	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 5 viene dispensato automaticamente nella piastra.
6	chemagic Deep Well Plate 24 XL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 6 viene dispensato automaticamente nella piastra.

Posizione su tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
7	Rack con chemagic Elution Tubes 13 mL pre-riempiti con 300 - 500 µL di Elution Buffer 7	Pipettare 300 - 500 µL di Elution Buffer 7 in ciascuna chemagic Elution Tubes 13 mL in base alle posizioni dei campioni e posizionare il rack sul tracking system.
8	Rack con di chemagic Elution Tubes 13 mL vuoti	Posizionare il rack sul tracking system.

- Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
- Dopo aver posizionato tutte le piastre e i ripiani, premere [OK].
- Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA premendo [Start]. Successivamente, il lisato del campione verrà miscelato automaticamente.
- Se le funzioni che consentono l'inserimento dei dati ID sono disattivate, caricare le targhette sulle posizioni 1-8 del tracking system.
- Dopo aver posizionato tutte le piastre, selezionare il protocollo "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**", contrassegnare le colonne in uso sulla mappa delle piastre nella finestra di dialogo e avviare direttamente la corsa di estrazione premendo [Start].
- Al termine della procedura di isolamento, utilizzare il pulsante [Turn Table] per scaricare il tracking system. Ogni clic su [Turn Table] sposta il tracking system(tavolo) di una posizione in senso orario.

ATTENZIONE! Non spostare mai manualmente il tracking system (tavola). Questa operazione potrebbe danneggiare lo strumento. Tutti i movimenti devono essere eseguiti tramite la funzione [Turn Table].

NOTA: 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.

16. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

16.1 LINEARITÀ E RECUPERO CON IL CAMPIONE DI DNA SPIKED

Per dimostrare la linearità dell'estrazione con il kit IVD-1074, la soluzione di NaCl allo 0.9% è stata riempita con cinque concentrazioni di DNA genomico umano: 150 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg e 500 µg. Le estrazioni sono state eseguite utilizzando 4 mL delle varie quantità di DNA come campione con il protocollo di estrazione "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**". Sono state estratte quattro repliche di ciascuna quantità di DNA dosata in NaCl allo 0.9%.

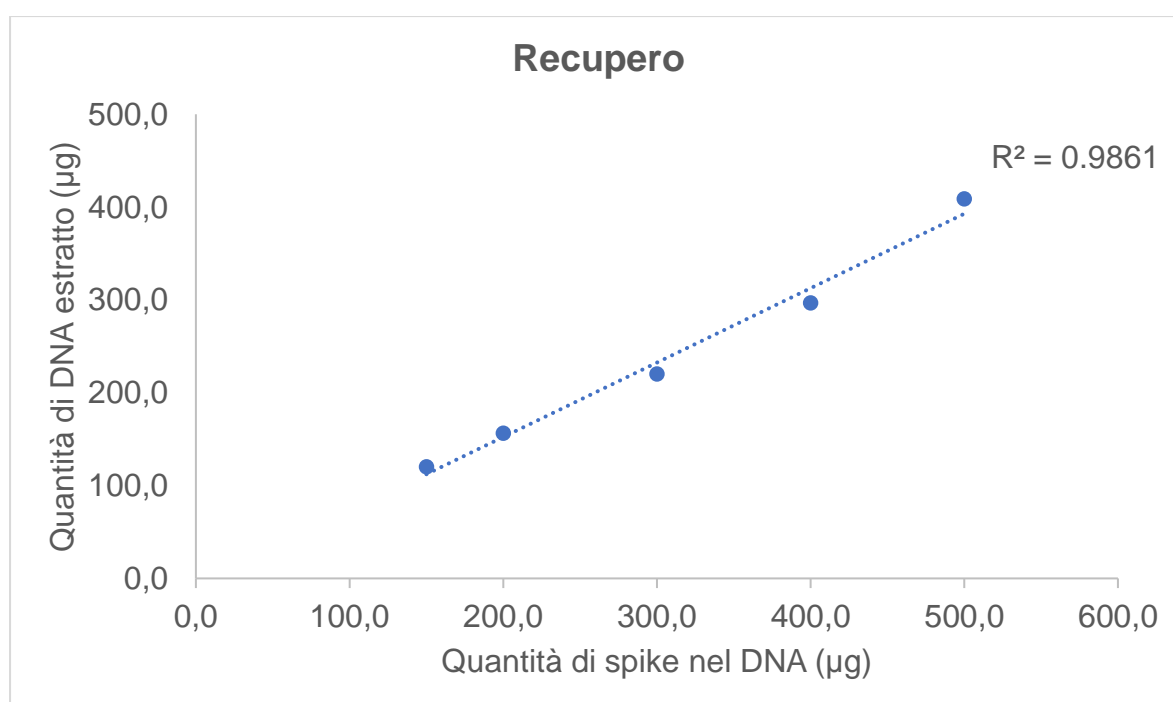


Figura 1: Recupero dell'estrazione di spike in campioni di DNA. Estratto con il chemagic 360-D utilizzando il kit IVD-1074.

Il recupero mostra una buona linearità nell'intervallo tra 150 e 500 µg di DNA come campione in ingresso. Il recupero varia tra il 69.8 e il 98.9% a seconda della quantità di DNA genomico umano in ingresso.

16.2 RENDIMENTI DI DNA CON CAMPIONI DI SANGUE E BUFFY COAT

Le rese di DNA previste per l'estrazione da sangue umano e buffy coat dipendono dal numero di globuli bianchi. Il numero di globuli bianchi estratti è determinato dal volume di ingresso e dalla conta dei globuli bianchi (WBC). Per la maggior parte dei campioni la conta dei globuli bianchi non è nota, ma per gli individui sani è compresa tra 4 e 10 milioni di globuli bianchi per mL di sangue. Il kit IVD-1074 utilizzando il protocollo "**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**" estrae in media 4.38 pg per globulo bianco. Utilizzando come input 4 mL di sangue con una conta di 8.2 milioni di globuli bianchi per mL di sangue, si prevede di ottenere 150 µg di DNA.

Tabella 1: resa media, %CV (deviazione standard) e purezza del DNA estratto con il kit IVD-1074 estratto con lo strumento chemagic 360-D.

Materiale del campione / Condizioni di conservazione	Volume [mL]	WBC [mio. cellule/ mL di sangue]	Resa media [µg]	CV [%]	Purezza media [260/280]
Sangue 1 / 4 °C	4	8.2	150.0	9.2	1.84
Sangue 1 / -20 °C	4	8.2	141.1	8.3	1.79
Sangue 3 / 4 °C	2	6.2	73.3	2.4	1.85
Sangue 4 / 4 °C	2	5.7	61.7	1.9	1.86
Sangue 4 / 4°C	4	5.7	98.7	12.0	1.86
Sangue 4 / -20 °C	4	5.7	94.2	8.2	1.81
Buffy coat*	4	5.7	125.5	10.0	1.72
Saliva / 4 °C	4	n.d.	42.3	20.9	1.78

* Il Buffy Coat è stato generato da 5 mL di sangue 4

Da tutte le estrazioni, compresi i diversi materiali del campione, le condizioni di conservazione e i volumi di ingresso, sono stati utilizzati eluati specifici in una qPCR dell'albumina umana per dimostrare l'idoneità del DNA estratto per le reazioni enzimatiche. Tutti gli eluati hanno funzionato senza problemi - si veda l'esempio di grafico qPCR qui sotto.

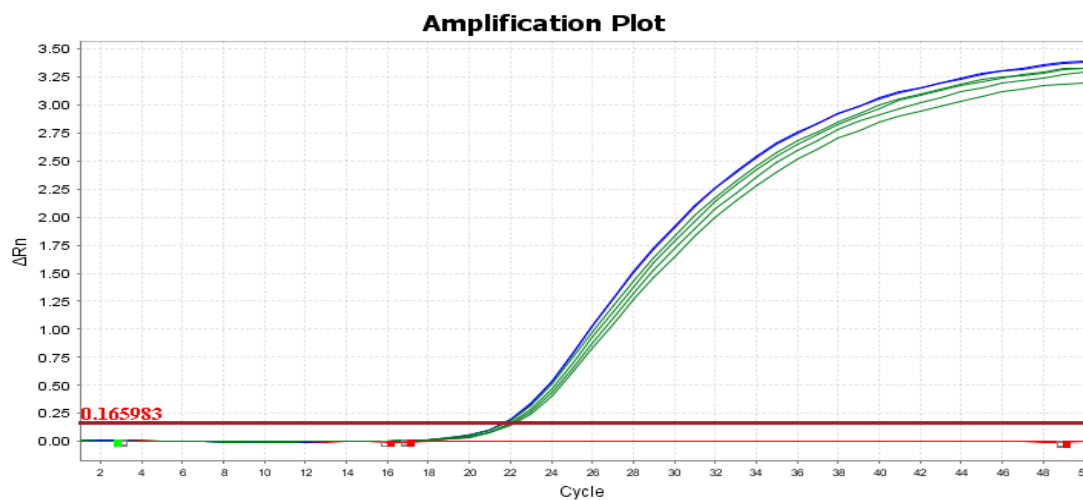


Figura 2: Curve qPCR di eluati di DNA estratti con il chemagic 360-D utilizzando il kit IVD-1074. Rosso - controllo negativo, blu - controllo positivo, verde DNA estratto dal sangue 1.

17. PULIZIA E MANUTENZIONE

La pulizia e la manutenzione del sistema sono descritte dettagliatamente nel Manuale d'uso del chemagic 360-D. La pulizia del sistema va eseguita una volta alla settimana. Pulire il dispenser chemagic come segue.

- Selezionare il protocollo "**regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che**" e premere [Insert IDs] o [Start] se le funzioni avanzate sono disattivate. Seguire le istruzioni fornite dal software.
- Prima dell'uso successivo del chemagic Dispenser, eseguire il protocollo di adescamento appropriato.
- Si consiglia di pulire chemagic Dispenser con etanolo al 70% una volta al mese. A tale scopo è sufficiente utilizzare la "**intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che**" al posto di quella normale.
- Se il chemagic Dispenser non viene utilizzato per un periodo di tempo prolungato, è obbligatorio eseguire la "procedura di pulizia regolare" per mantenere le prestazioni dello strumento quando lo si rimette in servizio.

18. APPLICAZIONI A VALLE

Le seguenti applicazioni a valle sono state eseguite con successo e descritte in letteratura dopo l'isolamento del DNA genomico.

Tabella 2: Applicazioni a valle pubblicate e riviste da pari a pari.

Materiale campione	Applicazione a valle	Titolo	Riferimento
Sangue	Genotipizzazione, test di metilazione del DNA, PCR, sequenziamento	Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus	Wiechmann et al. Clinical Epigenetics 11 Article Number 83 (2019) https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0682-5#Abs1
Sangue intero	Analisi della metilazione	A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome	Soret P. et al. Nature Communications 12, Article number: 3523 (2021) https://www.nature.com/articles/s41467-021-23472-7
Linfociti	PCR a lungo raggio, NGS, sequenziamento Sanger, MLPA	Advances in genetic technologies result in improved diagnosis of mismatch repair deficiency in colorectal and endometrial cancers	Evans D.G. et al. Med Genet : first published as 10.1136/jmedgenet-2020-107542 (2021) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452216/
Saliva	Sequenziamento del genoma, qPCR	Genetic Effect of Chemotherapy Exposure in Children of Testicular Cancer Survivors	Gregory V. et al. Clinical Cancer Research Volume 22, Issue 9 (2016) https://aacrjournals.org/clinccancerres/article/22/9/2183/79766/Genetic-Effect-of-Chemotherapy-Exposure-in

19. ALTRE DOMANDE

Per ulteriori applicazioni, domande tecniche o ulteriori informazioni su come sono stati generati i dati, si prega di contattare support.chemagen@revvity.com o +49 (0) 2401805500.

20. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il kit IVD-1074 è stato convalidato per l'estrazione di DNA da sangue, strato leucocitario-piastrinico e saliva. Altri materiali di campionamento, come lisati di tessuti, cellule o tamponi buccali, possono essere compatibili ma non sono stati convalidati. Per tali materiali, l'utente deve eseguire una convalida.

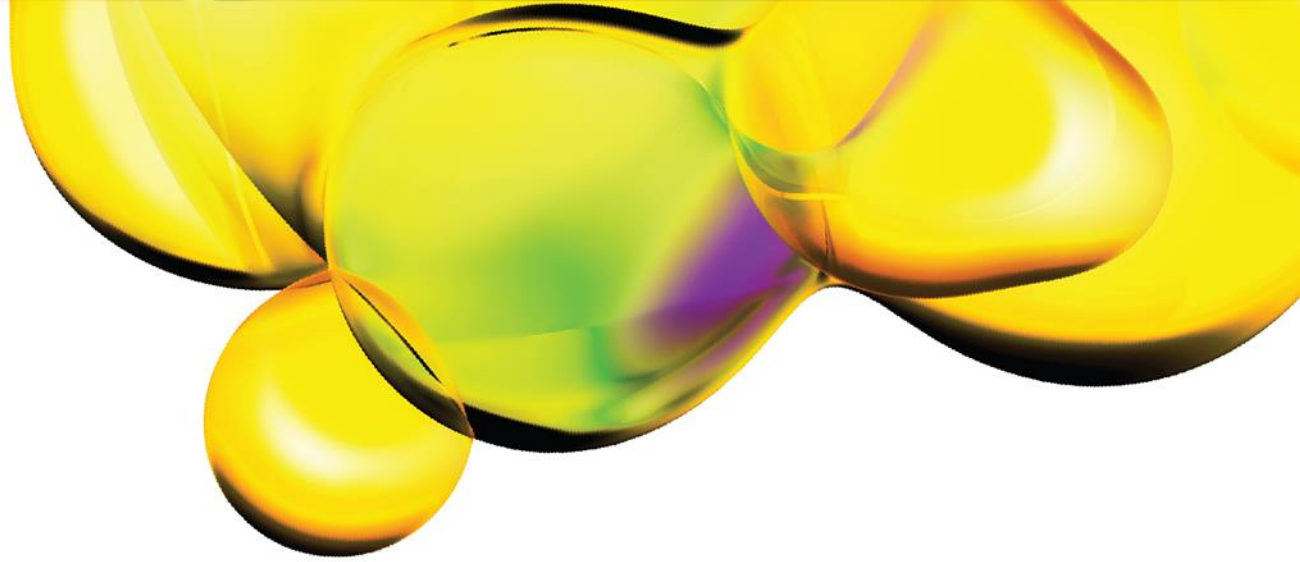
L'uso di campioni di sangue stabilizzati con eparina può causare inibizione nelle applicazioni a valle e pertanto non è raccomandato.

21. INFLUENZA DI SOSTANZE INTERFERENTI

L'effetto delle sostanze interferenti contenute nel sangue intero umano che potrebbero interferire con l'estrazione del DNA è stato testato nel sangue intero. Le sostanze e le concentrazioni testate sono presentate nella tabella seguente. Sulla base dei risultati, si è concluso che le sostanze testate non interferiscono con l'estrazione del DNA.

Tabella 3: Influenza delle sostanze interferenti.

Sostanze interferenti	Concentrazione [µg/mL]	Interferenza
Bilirubina coniugata	332	No
Bilirubina non coniugata	200	No
Trigliceridi	30	No
Sieroalbumina umana	30	No



22. GARANZIA

Qualsiasi cambiamento o modifica della procedura non raccomandata dal produttore può influire sui risultati, nel qual caso Revvity chemagen Technologie GmbH e le sue affiliate declinano tutte le garanzie espresse, implicite o di legge, compresa la garanzia implicita di commerciabilità e idoneità all'uso.

Revvity chemagen Technologie GmbH, le sue affiliate e i suoi distributori autorizzati, in tal caso, non saranno responsabili per danni indiretti o conseguenti.

Novembre 2023

www.revvity.com

revvity