

ISTRUZIONI PER L'USO

chemagic™ Pathogen NA gDNA H96 Pathogen NA gDNA H96 XL

Numero di prodotto:	IVD-1049 & IVD-1049-1000 Reagenti per 960 estrazioni.
UDI-DI:	4260543364182 & 4260543364274
Versione:	V240503 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. Scopo previsto	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 (IVD-1049).....	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 Poly(A) RNA	17
10.11 Poly(A) RNA Buffer	17
10.12 Ulteriori componenti del kit.....	18
11. Reagenti del kit e informazioni sulla sicurezza (IVD-1049-1000).....	19
11.1 Magnetic Beads	19
11.2 Lysis Buffer 1	19
11.3 Binding Buffer 2	20
11.4 Wash Buffer 3	21
11.5 Wash Buffer 4	22
11.6 Wash Buffer 5	23
11.7 Wash Buffer 6.....	24
11.8 Elution Buffer 7	24
11.9 Proteinase K	25
11.10 Poly(A) RNA	26
11.11 Poly(A) RNA Buffer	26
11.12 Ulteriori componenti del kit.....	27
12. File dei protocolli richiesti.....	28

13. Materiale necessario ma non fornito con il kit	29
13.1 Articoli da Revvity chemagen Technologie GmbH	29
13.2 Articoli aggiuntivi richiesti	29
13.3 Ulteriori articoli opzionali di Revvity chemagen Technologie GmbH	29
13.4 Altri articoli opzionali aggiuntivi	29
14. Raccolta e manipolazione dei campioni	30
15. Descrizione dettagliata del protocollo per 200 µL di materiale campione	31
15.1 Procedura del protocollo per 200 µL di materiale campione (varie specie)	31
15.2 Fasi di lavorazione	32
15.3 Breve descrizione/ Guida rapida	35
16. Descrizione dettagliata del protocollo per 500 µL di materiale campione	38
16.1 Procedura del protocollo per 500 µL di materiale campione (varie specie)	38
16.2 Fasi di lavorazione	39
16.3 Breve descrizione/ Guida rapida	42
17. Descrizione dettagliata del protocollo per 1000 µL di materiale campione	45
17.1 Procedura del protocollo per 1000 µL di materiale campione (varie specie)	45
17.2 Fasi di lavorazione	46
17.3 Breve descrizione/ Guida rapida	49
18. Caratteristiche delle prestazioni	53
18.1 Rendimenti di DNA con sangue e saliva	53
18.2 LoD utilizzando lo strumento chemagic 360-D per l'estrazione e il sistema QuantStudio 5 Real-Time PCR di Thermo Fisher Scientific.	54
19. Pulizia e manutenzione	56
20. Applicazioni a valle	56
21. Altre domande	59
22. Limitazioni della procedura	59
23. Garanzia	60

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	Simbolo Titolo	Simbolo	Simbolo Titolo
	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 per l'uso elettroniche		Quantità
	Produttore		Non riutilizzare
	Codice lotto		Traduzione
	Numero di catalogo		Data di scadenza

Simbolo	Simbolo Titolo	Simbolo	Simbolo Titolo
	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. SCOPO PREVISTO

Il chemagic™ Pathogen NA gDNA Kit H96 (IVD-1049) e il chemagic™ Pathogen NA gDNA Kit H96 XL (IVD-1049-1000) sono kit per l'isolamento e la purificazione automatizzati di DNA e RNA da plasma umano, saliva e tamponi nasali o orofaringei per scopi diagnostici *in vitro*.

Il prodotto viene utilizzato sullo strumento chemagic™ 360-D ed è destinato al personale di laboratorio addestrato per lo strumento chemagic 360-D in combinazione con i kit di purificazione degli acidi nucleici chemagic. Il kit è progettato per essere utilizzato con le applicazioni downstream IVD che impiegano l'amplificazione enzimatica e la rilevazione di DNA e RNA (ad es. PCR, RT-PCR, NGS).

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 chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 e il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL si basa su una piattaforma tecnologica a microsferi magnetiche di proprietà di Revvity chemagen Technologie GmbH. Le cellule o altre fonti di DNA e RNA presenti nel plasma umano, sangue, saliva e tamponi nasali o orofaringei 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 96 Rod Head Set o uno strumento equivalente.

Per ridurre al minimo le anomalie nei risultati diagnostici, i prodotti sono concepiti per l'uso con un controllo appropriati 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 960 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: Richiudere bene le bottiglie subito dopo l'uso per evitare l'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 96, incluso con chemagic 360 96 Rod Head Set) per separare qualsiasi traccia di particelle.

Il DNA/RNA estratto dovrebbe 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:

- chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96:
<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/chemagic-pathogen-na-gdna-kit-h96/>
- chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL:
<https://chemagen.com/products/chemagen-ivd-products/ce-ivd-chemagic-kits/chemagic-pathogen-na-gdna-kit-h96-xl/>

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*.

I prodotti sono destinati al personale di laboratorio addestrato per lo strumento chemagic 360-D in combinazione con i kit di purificazione degli acidi nucleici chemagic.

La comprensione approfondita di questo IFU e del manuale d'uso di chemagic 360-D è un prerequisito e un requisito necessario per l'uso efficace di chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 e chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL.

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 potrebbe influenzare i risultati.

I reagenti vengono dispensati automaticamente in righe complete, pertanto anche i puntali monouso del chemagic Tips 96 Tray devono essere utilizzati in righe complete 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 Tritirachium album serina proteinasi e provoca irritazione cutanea e grave irritazione oculare, può causare sintomi di allergia o asma o difficoltà respiratorie se inalata e irritazione respiratoria. Il Poly(A) RNA Buffer contiene guanidinio tiocianato ed è nocivo se ingerito o inalato. 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 sheet, SDS) disponibili sulla nostra pagina web.

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 (IVD-1049)

Il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 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 ATTENZIONE	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta del bottiglia. Conservare al riparo dalla luce. Dopo l'apertura, è stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso (pH 6.7-7.2) contenente cloruro di guanidinio (30-50 %) e alcool isotridecilico (1-1.5 %). Il Lysis Buffer 1 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.

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	1 tanica (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della tanica. Una volta aperto, stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

Soluzione pronta all'uso a base di Tris-HCl (pH 5.2-6.1) 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.

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

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

H225	Liquido e vapore altamente 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.
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 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 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/ RNA 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 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 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 le ultime tracce di contaminanti diversi dal DNA/ RNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 4 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.

10.6 WASH BUFFER 5

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 5  PERICOLO	1 bottiglia (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del bottiglia. Una volta aperto, stabile per 60 giorni tra +2 e +25 °C.

La soluzione pronta all'uso contiene etanolo (50-70%). Utilizzata per rimuovere le ultime tracce di contaminanti non-DNA/ non-RNA durante la fase di lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 5 contiene etanolo.

Frasi di pericolo, 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, 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 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 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	10 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 sottochiave.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.

10.10 POLY(A) RNA

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Poly(A) RNA	10 tubi (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta dei tubi. 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.

10.11 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
 Poly(A) RNA Buffer	10 tubi (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta dei tubi.

ATTENZIONE

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.

PRUDENZA! Il Poly(A) RNA Buffer contiene guanidinio tiocianato.

Frasi di pericolo, precauzione e EUH

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.

Frase di pericolo, precauzione e EUH

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.

10.12 ULTERIORI COMPONENTI DEL KIT

Il kit gDNA chemagic Pathogen NA H96 contiene il seguente materiale plastico.

Componente	Quantità	Stoccaggio
chemagic Tips 96 Tray	10	Tra +2 e +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	60	Tra +2 e +25 °C

11. REAGENTI DEL KIT E INFORMAZIONI SULLA SICUREZZA (IVD-1049-1000)

Il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL contiene i seguenti reagenti.

11.1 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 indicata 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.

11.2 LYSIS BUFFER 1

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

Soluzione tampone acquosa pronta all'uso (pH 6.7-7.2) contenente cloruro di guanidinio (30-50 %) e alcool isotridecilico (1-1.5 %). Il Lysis Buffer 1 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.

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

Frasi di pericolo, 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.

11.3 BINDING BUFFER 2

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Binding Buffer 2   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 5.2-6.1) 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.

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

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.
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.

11.4 WASH BUFFER 3

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 3  PERICOLO	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 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/ RNA 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.

11.5 WASH BUFFER 4

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 4  PERICOLO	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 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 le ultime tracce di contaminanti diversi dal DNA/ RNA durante il lavaggio.

PRUDENZA! Il Wash Buffer 4 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.

Frase di pericolo, di precauzione e EUH

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.

11.6 WASH BUFFER 5

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 5  PERICOLO	1 bottiglia (volume vedi etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del bottiglia. Una volta aperto, stabile per 60 giorni a +2 - +25 °C.

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

PRUDENZA! Il Wash Buffer 5 contiene etanolo.

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

Frasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.

11.7 WASH BUFFER 6

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Wash Buffer 6	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 pronta all'uso a base di acqua ultrafiltrata. Aiuta a rimuovere i possibili residui di etanolo.

11.8 ELUTION BUFFER 7

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Elution Buffer 7	1 bottiglia (volume vedi 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).

11.9 PROTEINASE K

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Proteinase K   PERICOLO	20 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 sottochiave.
P501	Smaltire il prodotto/ recipiente in conformità alla regolamentazione locale/ regionale/ nazionale/ internazionale.

11.10 POLY(A) RNA

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
Poly(A) RNA	20 tubi (liofilizzato)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta dei tubi. 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.

11.11 POLY(A) RNA BUFFER

Componente	Quantità	Durata di conservazione e stoccaggio
 Poly(A) RNA Buffer	20 tubi (volume vedere etichetta)	Tra +2 e +25 °C fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta dei tubi.

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.

PRUDENZA! Il Poly(A) RNA Buffer contiene guanidinio tiocianato.

Fraasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.

Fraasi di pericolo, di precauzione e EUH

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.

11.12 ULTERIORI COMPONENTI DEL KIT

Il kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL contiene il seguente materiale plastico.

Componente	Quantità	Stoccaggio
chemagic Tips 96 Tray	10	Tra +2 e +25 °C
chemagic Deep Well Plate 2 mL	70	Tra +2 e +25 °C

12. 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	Tipo di protocollo/ scopo
chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che	File di estrazione relativo al kit (file.che) per lo strumento chemagic 360-D (per 200 µL di materiale campione)
chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che	File di estrazione relativo al kit (file.che) per lo strumento chemagic 360-D (per materiale campione da 500 µL)
chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che	File di estrazione relativo al kit (file.che) per lo strumento chemagic 360-D (per materiale campione da 1000 µL)
prime manifolds H96 all 360 V150116.che	Riempimento e adescamento del tubo dello strumento chemagic 360-D con i reagenti
check manifolds H96 all 360 V150116.che	Verifica della funzionalità delle pompe
regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che	Pulizia regolare dello strumento chemagic 360-D (una volta alla settimana)
intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che	Pulizia intensiva dello strumento chemagic 360-D (una volta al mese)

13. MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO CON IL KIT

Il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 e il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL richiedono i seguenti elementi.

13.1 ARTICOLI DA REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Articolo	Prodotto n.
chemagic 360-D instrument	2024-0010
chemagic 96 Rod Head Set	CMG-370

13.2 ARTICOLI AGGIUNTIVI RICHIESTI

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

13.3 ULTERIORI ARTICOLI OPZIONALI DI REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

Prodotto	Prodotto n.
chemagic Stand 96 (fornito con il chemagic 96 Rod Head Set)	CMG-301

13.4 ALTRI ARTICOLI OPZIONALI AGGIUNTIVI

Prodotto	Scopo
Soluzione salina isotonica, sterile	Liquefazione del materiale del campione prima dell'uso e riempimento del volume del campione

14. RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

Il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 e il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL sono utilizzabili con plasma e sangue umano freschi e congelati, stabilizzati con EDTA o citrato dai comuni sistemi di raccolta del sangue, saliva stabilizzata (provette di raccolta Oragene™ e Spectrum™) e terreni di trasporto da tamponi (ad esempio eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) come aliquote dirette di 200, 500 o 1000 µL per isolamento.

Si deve utilizzare sangue umano intero (fino a 800 µL o 800 µL addizionato con 200 µL di soluzione salina isotonica) fresco, congelato o conservato in genere per un massimo di 10 giorni a una temperatura compresa tra +2 e +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 l'EDTA o il citrato. L'uso di campioni di sangue stabilizzati con eparina può causare inibizioni 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.

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. Il ripetuto congelamento-scongelo porta alla denaturazione e alla precipitazione delle proteine, con conseguente riduzione della resa degli acidi nucleici.

Il materiale del campione proveniente da tamponi essiccati deve essere trasferito in una soluzione salina 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: non utilizzare tamponi contenenti fosfati per la risospensione.

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

Per una manipolazione sicura, il campione per il test dei patogeni deve essere inattivato prima dell'uso. Si consiglia di incubare i campioni a 68 °C per 15 minuti (± 2 minuti) per l'inattivazione. L'inattivazione del patogeno non è stata convalidata in IVD-1049/-1000. Trasferire il lisato inattivato nella piastra a pozzetti profondi del campione al punto 10 del protocollo di estrazione e continuare con il punto 11.

15. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DEL PROTOCOLLO PER 200 µL DI MATERIALE CAMPIONE

15.1 PROCEDURA DEL PROTOCOLLO PER 200 µL DI MATERIALE CAMPIONE (VARIE SPECIE)

La seguente procedura descrive la preparazione e l'esecuzione del protocollo di estrazione con lo strumento chemagic 360-D da utilizzare con il kit chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96.

La durata del protocollo di estrazione automatica è di circa 60 minuti.

Il protocollo è adatto per elaborare fino a 96 campioni in parallelo (vedere "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 nel modo seguente:

Pompa	Buffer
Pompa 1	Lysis Buffer 1
Pompa 2	Binding Buffer 2
Pompa 3	Wash Buffer 3
Pompa 4	Wash Buffer 4
Pompa 5	Wash Buffer 5
Pompa 6	Wash Buffer 6

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, contrassegnare ogni piastra con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e tamponi).
3. Ricostituire i componenti della Proteinase K e del Poly(A) RNA:

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.
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. 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 Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**", e premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic QA.

7. Assicurarsi che il chemagic Tips 96 Tray contenga un numero sufficiente di puntali e sia allineato con le posizioni dei campioni e posizionare il chemagic Tips 96 Tray nella posizione 1 del tracking system.
8. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: Assicurarsi che tutti i flaconi di tampone contengano una quantità sufficiente di tampone. Solo se il livello di liquido per tutti i tamponi è superiore a 125 mL 96 isolamenti possono essere eseguiti.

9. 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].
10. Riempire i pozzetti selezionati della piastra per campioni con 200 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.

11. Riempire il Elution Buffer 7 e le Magnetic Beads accuratamente risospese pipettando manualmente in base a ciascun pozzetto corrispondente in uso.

Componente	Posizione della piastra su strumento chemagic 360-D	Volume/ pozzo
Magnetic Beads	3	30 µL
Elution Buffer 7	7	50-100 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/ RNA potrebbe essere bassa.

12. Aggiungere i seguenti reagenti ai pozzetti contenenti il campione.
 - 4 µL Poly(A) RNA e
 - 10 µL Proteinase K.
13. Caricare le chemagic Deep Well 2 mL sul tracking system in base alle istruzioni visualizzate dal software chemagic QA.
14. Posizionare la piastra campione nella posizione 2 del tracking system.
15. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.

16. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start].
17. Viene avviato il processo di estrazione automatica del DNA/ RNA.
18. 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/ RNA su strumento chemagic 360-D (protocollo da 200 µL):

- Selezionare il protocollo "**check manifolds H96 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 Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**" e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA per inserire i dati richiesti.
- Caricare le piastre e il chemagic Tips 96 Tray sulle posizioni 1-7 del tracking system 1-7 come segue.

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

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
1	chemagic Tips 96 Tray	Utilizzare i puntali monouso in base alla posizione dei campioni e posizionare i chemagic Tips 96 Tray sul tracking system. NOTA: Le punte devono essere presenti nel vassoio a righe intere.
2	Piastra per campioni (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Posizionare la piastra con i campioni preparati (200 μ L di campione, 4 μ L di Poly(A) RNA e 10 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 2 mL con Magnetic Beads da 30 μ L	Pipettare 30 μ L di Magnetic Beads accuratamente risospese in ciascun pozzetto in uso secondo la piastra di campionamento e posizionare la piastra sul tracking system. Il Wash Buffer 3 viene dispensato automaticamente nella piastra.
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 4 viene dispensato automaticamente nella piastra.
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 5 viene dispensato automaticamente nella piastra.

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	<p>Posizionare il piatto vuoto sul tracking system.</p> <p>Il Wash Buffer 6 viene dispensato automaticamente nella piastra.</p>
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 50-100 µL di Elution Buffer 7	Pipettare (50-100 µL) di Elution Buffer 7 in ogni pozzetto in uso secondo le posizioni dei campioni e posizionare la piastra sul tracking system.

- Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
- Una volta posizionate tutte le lastre, premere [OK].
- Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/ RNA 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 1-7 del tracking system.
- Dopo aver posizionato tutte le piastre, selezionare il protocollo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.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. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DEL PROTOCOLLO PER 500 µL DI MATERIALE CAMPIONE

16.1 PROCEDURA DEL PROTOCOLLO PER 500 µL DI MATERIALE CAMPIONE (VARIE SPECIE)

La procedura che segue descrive la preparazione e l'esecuzione del protocollo di estrazione utilizzando lo strumento chemagic 360-D con il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL.

La durata del protocollo di estrazione automatica è di circa 60 minuti.

Il protocollo è adatto per elaborare fino a 96 campioni in parallelo (vedere "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 nel modo seguente:

Pompa	Buffer
Pompa 1	Lysis Buffer 1
Pompa 2	Binding Buffer 2
Pompa 3	Wash Buffer 3
Pompa 4	Wash Buffer 4
Pompa 5	Wash Buffer 5
Pompa 6	Wash Buffer 6

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.

16.2 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, contrassegnare ogni piastra con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e tamponi).
3. Ricostituire i componenti Proteinase K e del Poly(A) RNA:

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.
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. 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 Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" e premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic QA.

7. Assicurarsi che il chemagic Tips 96 Tray contenga un numero sufficiente di puntali e sia allineato con le posizioni dei campioni e posizionare il chemagic Tips 96 Tray nella posizione 1 del tracking system.
8. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: Assicurarsi che tutti i flaconi di tampone contengano una quantità sufficiente di tampone. Solo se il livello di liquido per tutti i tamponi è superiore a 125 mL 96 isolamenti possono essere eseguiti.

9. 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].
10. Riempire i pozzetti selezionati della piastra di campionamento con 500 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.

11. Riempire il Elution Buffer 7 e le Magnetic Beads accuratamente risospese pipettando manualmente in base a ciascun pozzetto corrispondente in uso.

Componente	Posizione della piastra su strumento chemagic 360-D	Volume/ pozzo
Magnetic Beads	3	50 µL
Elution Buffer 7	7	100-300 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/ RNA potrebbe essere bassa.

12. Aggiungere i seguenti reagenti ai pozzetti contenenti il campione:
 - 4 µL Poly(A) RNA e
 - 10 µL Proteinase K.
13. Caricare le piastre chemagic Deep Well 2 mL sul tracking system seguendo le istruzioni visualizzate dal software chemagic QA.
14. Caricare la piastra campione nella posizione 2 del tracking system.
15. Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.

16. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start].
17. Viene avviato il processo di estrazione automatica del DNA/ RNA.
18. 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".

16.3 BREVE DESCRIZIONE/ GUIDA RAPIDA

Estrazione automatizzata di DNA/ RNA con lo strumento chemagic 360-D (protocollo da 500 µL):

- Selezionare il protocollo "**check manifolds H96 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 Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA per inserire i dati richiesti.
- Caricare le piastre e il chemagic Tips 96 Tray sulle posizioni 1-7 del tracking system, 1-7 come segue.

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

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
1	chemagic Tips 96 Tray	Utilizzare i puntali monouso in base alla posizione dei campioni e posizionare i chemagic Tips 96 Tray sul tracking system. NOTA: Le punte devono essere presenti nel vassoio a righe intere.
2	Piastra per campioni (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Posizionare la piastra con i campioni preparati (500 µL di campione, 4 µL di Poly(A) RNA e 10 µL 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 2 mL con Magnetic Beads da 50 µL	Pipettare 50 µL di Magnetic Beads accuratamente risospese in ciascun pozzetto in uso secondo la piastra di campionamento e posizionare la piastra sul tracking system. Il Wash Buffer 3 viene dispensato automaticamente nella piastra.
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 4 viene dispensato automaticamente nella piastra.
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 5 viene dispensato automaticamente nella piastra.

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 6 viene dispensato automaticamente nella piastra.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 100-300 µL di Elution Buffer 7	Pipettare (100-300 µL) di Elution Buffer 7 in ciascun pozzetto in uso in base alle posizioni dei campioni e posizionare la piastra sul tracking system.

- Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
- Una volta posizionate tutte le lastre, premere [OK].
- Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/ RNA 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 1-7 del tracking system.
- Dopo aver posizionato tutte le piastre, selezionare il protocollo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.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.

17. DESCRIZIONE DETTAGLIATA DEL PROTOCOLLO PER 1000 µL DI MATERIALE CAMPIONE

17.1 PROCEDURA DEL PROTOCOLLO PER 1000 µL DI MATERIALE CAMPIONE (VARIE SPECIE)

La procedura che segue descrive la preparazione e l'esecuzione del protocollo di estrazione utilizzando lo strumento chemagic 360-D con il chemagic Pathogen NA gDNA Kit H96 XL.

La durata del protocollo di estrazione automatizzato è di circa 85 minuti.

Il protocollo è adatto per elaborare fino a 96 campioni in parallelo (vedere "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 nel modo seguente:

Pompa	Tampone
Pompa 1	Lysis Buffer 1
Pompa 2	Binding Buffer 2
Pompa 3	Wash Buffer 3
Pompa 4	Wash Buffer 4
Pompa 5	Wash Buffer 5
Pompa 6	Wash Buffer 6

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.

17.2 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, contrassegnare ogni piastra con il materiale in posizione (campioni, Magnetic Beads e tamponi).
3. Ricostituire i componenti della Proteinase K e del Poly(A) RNA:

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.
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. 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 Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**", premere [Insert IDs] e seguire le istruzioni fornite nel software chemagic QA.

7. Assicurarsi che il chemagic Tips 96 Tray contenga un numero sufficiente di puntali e sia allineato con le posizioni dei campioni e posizionare il chemagic Tips 96 Tray nella posizione 1 del tracking system.
8. Verificare il volume nei contenitori per il rifornimento dei tamponi e confermare premendo [OK].

NOTA: Assicurarsi che tutti i flaconi di tampone contengano una quantità sufficiente di tampone. Solo se il livello di liquido per tutti i tamponi è superiore a 125 mL 96 isolamenti possono essere eseguiti.

9. 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].
10. Riempire i pozzetti selezionati della piastra di campionamento nelle posizioni 2 e 3 con 500 µL di campione ciascuno (se si usa il sangue solo 400 µL ciascuno). Per garantire l'omogeneità dei campioni, mescolare delicatamente i campioni prima di pipettarli nei pozzetti della piastra di campionamento.

NOTA: Il materiale campione ottenuto dai tamponi secchi deve essere liquefatto prima dell'uso.

11. Riempire il Elution Buffer 7 e le Magnetic Beads accuratamente risospese pipettando manualmente in base a ciascun pozzetto in uso.

Componente	Posizione della piastra su strumento chemagic 360-D	Volume/ pozzo
Magnetic Beads	4	30 µL
Magnetic Beads	5	30 µL
Elution Buffer 7	8	100-300 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/ RNA potrebbe essere bassa.

12. Aggiungere i seguenti reagenti ai pozzetti contenenti il campione.
 - 4 µL Poly(A) RNA e
 - 10 µL Proteinase K.
13. Caricare le chemagic Deep Well Plate 2 mL sul tracking system in base alle istruzioni visualizzate dal software chemagic QA.

14. Caricare le piastre campione in posizione 2 e 3 sul tracking system.
15. Assicurarci che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
16. Chiudere lo sportello anteriore e avviare il processo premendo [Start].
17. Viene avviato il processo di estrazione automatica del DNA/ RNA.
18. 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".

17.3 BREVE DESCRIZIONE/ GUIDA RAPIDA

Estrazione automatizzata di DNA/ RNA con lo strumento chemagic 360-D (protocollo da 1000 µL):

- Selezionare il protocollo "**check manifolds H96 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 Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**" e premere [Insert IDs]. Seguire le istruzioni fornite dal software chemagic QA per inserire i dati richiesti.
- Caricare le piastre e il chemagic Tips 96 Tray sulle posizioni 1-8 del tracking system 1-8 come segue.

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

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
1	chemagic Tips 96 Tray	<p>Utilizzare i puntali monouso in base alla posizione dei campioni e posizionare i chemagic Tips 96 Tray sul tracking system.</p> <p>NOTA: Le punte devono essere presenti nel vassoio a righe intere.</p>
2	Piastra per campioni (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Posizionare la piastra con i campioni preparati (400 µL di sangue o 500 µL di altro materiale campione, 4 µL di Poly(A) RNA e 10 µL di Proteinase K) sul tracking system.</p> <p>Il Lysis Buffer 1 e il Binding Buffer 2 vengono dispensati automaticamente nella piastra.</p>
3	Piastra per campioni (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	<p>Posizionare la piastra con i campioni preparati (400 µL di sangue o 500 µL di altro materiale campione, 4 µL di Poly(A) RNA e 10 µL di Proteinase K) sul tracking system.</p> <p>Il Lysis Buffer 1 e il Binding Buffer 2 vengono dispensati automaticamente nella piastra.</p>
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL con Magnetic Beads da 30 µL	<p>Pipettare 30 µL di Magnetic Beads accuratamente risospese in ciascun pozzetto in uso secondo la piastra di campionamento e posizionare la piastra sul tracking system.</p> <p>Il Wash Buffer 3 viene dispensato automaticamente nella piastra.</p>

Posizione sul tracking system	Materiale in posizione	Passaggio del protocollo in dettaglio
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL con Magnetic Beads da 30 µL	Pipettare 30 µL di Magnetic Beads accuratamente risospese in ciascun pozzetto in uso secondo la piastra di campionamento e posizionare la piastra sul tracking system. Il Wash Buffer 4 viene dispensato automaticamente nella piastra.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 5 viene dispensato automaticamente nella piastra.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Posizionare il piatto vuoto sul tracking system. Il Wash Buffer 6 viene dispensato automaticamente nella piastra.
8	chemagic Deep Well Plate 2 mL con 100-300 µL di Elution Buffer 7	Pipettare (100-300 µL) di Elution Buffer 7 in ciascun pozzetto in uso in base alle posizioni dei campioni e posizionare la piastra sul tracking system.

- Assicurarsi che tutte le piastre siano inserite e orientate correttamente.
- Una volta posizionate tutte le lastre, premere [OK].
- Chiudere lo sportello anteriore e avviare immediatamente il processo di estrazione del DNA/ RNA 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 Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.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.

18. CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

18.1 RENDIMENTI DI DNA CON SANGUE E SALIVA

La resa prevista di DNA per l'estrazione dal sangue umano dipende 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.

IVD-1049 utilizzando il protocollo "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 prefilling VD220531.che**" estrae in media 5.34 pg di DNA per globulo bianco. IVD-1049-1000 utilizzando il protocollo "**chemagic Body Fluid 500 360 H96 prefilling VD220531.che**" estrae in media 6.69 pg di DNA per globulo bianco e utilizzando il protocollo "**chemagic Body Fluid 1k 360 H96 prefilling VD220831.che**" vengono estratti in media 4.32 pg di DNA per globulo bianco.

Tabella 1: Resa e purezza del DNA per i campioni di sangue e saliva.

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	0.2	7.2	7.7	13.9	2.1
Saliva	0.2	-	4.6	14.5	2.2
Sangue 1 / 4°C	0.5	7.2	24.1	5.6	2.0
Saliva	0.5	-	11.3	5.9	1.8
Sangue 2 / 4°C	0.8	7.5	32.4	11.3	1.9

18.2 LOD UTILIZZANDO LO STRUMENTO CHEMAGIC 360-D PER L'ESTRAZIONE E IL SISTEMA QUANTSTUDIO 5 REAL-TIME PCR DI THERMO FISHER SCIENTIFIC.

Utilizzando questo kit di estrazione con il qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, società Revvity) sono stati riportati i seguenti dati LoD. In totale, sono stati eseguiti quattro cicli di estrazione con due lotti del kit con il protocollo di estrazione "**chemagic Body Fluid 200 360 H96 VD220531.che**". Otto concentrazioni di materiale di riferimento AccuPlex™ SARS-CoV-2 (AccuPlex SARS-CoV-2 Verification Panel - Full Genome | SeraCare) sono state aggiunte al terreno eNAT (Copan Italia S.p.A.): 0, 23.45, 46.90, 93.75, 187.5, 375, 750 e 1500 copie per 1 mL di terreno eNAT. Sono state preparate sei repliche per lotto di kit e per piastra. Tutti gli eluati per numero di copie sono stati analizzati con il qPCR EURORealTime SARS-CoV-2 (EUROIMMUN, società Revvity, <https://www.fda.gov/media/138761/download>) determinando il valore Ct.

Il tasso di successo per ciascuna concentrazione del materiale di riferimento AccuPlex SARS-CoV-2 è stato calcolato dividendo il numero di repliche positive per il numero totale di repliche. Le percentuali di hit (asse y) e le concentrazioni corrispondenti (asse x, concentrazione log 10) sono state tracciate per determinare l'adattamento probit. Il numero di copie corrispondente a una percentuale di hit di 0,95 è stato determinato per ciascun lotto di kit separatamente e riportato come limite di rilevamento. Per determinare il limite di rilevazione di ciascun lotto di kit sono state utilizzate tutte e quattro le corse. Per il lotto di kit 1 è stato calcolato un limite di rilevazione di 0,743 cp/mL (intervallo di confidenza del 95%: da 0.44 cp/mL a 1.23 cp/mL). Il lotto di kit 2 ha rivelato un limite di rilevazione di 0.699 cp/mL (intervallo di confidenza al 95%: da 0.43 cp/mL a 1.13 cp/mL (Tabella 2).

Tabella 2: Numero di campioni EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR positivi per i diversi spiked in numero di copie in eNAT per lotto di kit.

	Concentration [cp/mL]	Lot 1		Lot 2	
		Number of replicates	Number of positive replicates	Number of replicates	Number of positive replicates
Experiment 1	1500	6	6	6	6
	750	6	5	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	5	6	6
	93.75	6	4	6	4
	46.90	6	2	6	2
	23.45	6	1	6	4
	0	6	0	6	0
Experiment 2	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	4
	187.50	6	3	6	4
	93.75	6	4	6	4
	46.90	6	2	6	2
	23.45	6	2	6	0
	0	6	0	6	0
Experiment 3	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	6	6	5
	93.75	6	3	6	1
	46.90	6	2	6	1
	23.45	6	2	6	1
	0	6	0	6	0
Experiment 4	1500	6	6	6	6
	750	6	6	6	6
	375	6	6	6	6
	187.50	6	4	6	3
	93.75	6	3	6	3
	46.90	6	2	6	1
	23.45	6	2	6	2
	0	6	0	6	0
Overall	1500	24	24	24	24
	750	24	23	24	24
	375	24	24	24	22
	187.50	24	18	24	18
	93.75	24	14	24	12
	46.90	24	8	24	6
	23.45	24	7	24	7
	0	24	0	24	0
LoD		0.743 (0.436 - 1.230)		0.699 (0.431 - 1.134)	

19. PULIZIA E MANUTENZIONE

La pulizia e la manutenzione principale 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 96 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 priming appropriato.
- Si consiglia di pulire il chemagic Dispenser con etanolo al 70% una volta al mese. A tale scopo è sufficiente utilizzare la "**intensive cleaning procedure H96 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.

20. APPLICAZIONI A VALLE

Le seguenti applicazioni a valle sono state eseguite con successo e descritte in letteratura dopo l'isolamento del DNA/ RNA patogeno e del DNA genomico con la versione CMG-1049.

Tabella 3: Applicazioni a valle sottoposte a revisione paritaria e pubblicate.

Materiale campione	Applicazione a valle	Titolo	Riferimento
Tamponi nasofaringei	Sequenziamento dell'intero genoma	T cell responses to SARS-CoV-2 spike cross-recognize Omicron	Nature (2022-01) https://www.nature.com/articles/s41586-022-04460-3
Campione di tampone residuo	Sequenziamento dell'intero genoma	Omicron infection enhances Delta antibody immunity in vaccinated persons	Nature (2022-01) https://www.nature.com/articles/s41586-022-04830-x
Tamponi nasofaringei e orofaringei	Sequenziamento	Emergence and phenotypic characterization of the global SARS-CoV-2 C.1.2 lineage	Nature Communications (2022-04) https://www.nature.com/articles/s41467-022-29579-9

Materiale campione	Applicazione a valle	Titolo	Riferimento
Tessuto	Test di genotipizzazione HPV a matrice lineare	Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) Types in Invasive Vulvar Cancers and VIN3 in the United States Before Vaccine Introduction	Journal of lower genital tract disease (2012-10) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22652576/
Tamponi nasofaringei e orofaringei	Sequenziamento dell'intero genoma	Early transmission of SARS-CoV-2 in South Africa: An epidemiological and phylogenetic report	International Journal of Infectious Diseases (2020-11) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33189939/
Tessuto FFPE	Test di genotipizzazione HPV a matrice lineare	Prevalence of human papillomavirus types in invasive cervical cancers from seven US cancer registries prior to vaccine introduction	Journal of lower genital tract disease (2014-04) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24477171/
Tamponi nasofaringei e orofaringei	qPCR/sequenziamento	Genomic sequence of worldwide strains of SARS-CoV-2: Insights the role of variants in disease epidemiology	International Journal of Advanced Research and Development (2021-01) https://www.researchgate.net/publication/354997878 Genomic sequence of worldwide strains of SARS-CoV-2 Insights the role of variants in disease epidemiology
Tamponi nasofaringei e orofaringei	Sequenziamento qPCR/Illumina	Whole Genome Sequencing of SARS-CoV-2: Adapting Illumina Protocols for Quick and Accurate Outbreak Investigation during a Pandemic	Genes (2020-08) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7464704/

Materiale campione	Applicazione a valle	Titolo	Riferimento
Campioni di tessuto diagnostico FFPE di cervice/vulva e orofaringe	Array	An Isothermal, Multiplex Amplification Assay for Detection and Genotyping of Human Papillomaviruses in Formalin-Fixed,Paraffin-Embedded Tissues	The Journal of Molecular Diagnostics (2020-03) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31978559/
Sangue intero, liquido sinoviale (contenente batteri)	qPCR, test multiplex per le zecche	Evaluation of a Novel High-Definition PCR Multiplex Assay for Simultaneous Detection of Tick-Borne Pathogens in Human Clinical Specimens	Journal of Clinical Microbiology (2020-02) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31852765/
FFPE	Genotipizzazione HPV	Impact of human papillomavirus (HPV) vaccination on HPV 16/18-related prevalence in precancerous cervical lesions	Vaccines (2012-11) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23137842/
Cellule cervicali esfoliate	Genotipizzazione HPV	Type-specific HPV and Pap test results among low-income, underserved women: providing insights into management strategies	American Journal of Obstetrics and Gynecology (2014-10) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24813971/

21. 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.

22. LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Il kit IVD-1049/ IVD-1049-1000 è stato convalidato per l'estrazione di DNA e RNA da plasma umano, sangue, saliva e tamponi nasali o orofaringei. Altri materiali di campionamento 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.



23. 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.

Maggio 2024

www.revvity.com

revvity