



Oggetto: Relazione tecnica integrazione strumento automatico per *liquid handling* OMNIA LH 100 di Masmec Biomed in processo di *whole-genome sequencing* di patogeni da campioni umani

Presso il Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, sezione di Igiene - Laboratorio di Epidemiologia Molecolare e Sanità Pubblica dell'Università degli Studi di Bari, vengono eseguite indagini di epidemiologia molecolare con l'obiettivo di ricercare/identificare le sequenze specifiche appartenenti sia al virus SARS-CoV-2, sia a batteri responsabili di infezioni emergenti. Per tali indagini vengono utilizzate le tecniche di *whole-genome sequencing* (WGS - sequenziamento dell'intero genoma) su piattaforma Illumina iSeq100 con i kit commerciali "COVIDSeq RUO" e "DNA Prep" (Illumina).

Le diverse procedure di preparazione al sequenziamento di nuova generazione, se condotte manualmente, si rivelano estremamente delicate, non garantiscono la piena tracciabilità del campione durante l'intero processo pre-analitico e richiedono l'impiego di personale tecnico dedicato a tempo pieno ed altamente specializzato. Ad oggi, sono disponibili diversi analizzatori per automatizzare la fase di estrazione, mentre pochi sono in grado di garantire l'automazione dell'intero flusso di lavoro quando si lavora con la creazione e la purificazione di librerie per WGS.

A marzo 2023, è stata introdotta una nuova strumentazione automatica per *liquid handling*, OMNIA LH 100 di Masmec Biomed, validata con gli stessi kit già in uso presso il Dipartimento. La piattaforma OMNIA LH100 esegue l'allestimento di librerie genomiche a partire da estratti di RNA/DNA ed effettua l'amplificazione delle stesse grazie alla presenza dell'On Deck Thermal Cycler (ODTC). La stessa *workstation* automatizza anche le fasi di purificazione delle librerie tramite biglie magnetiche e *tool* dedicati. Alla fine del protocollo automatico, al pari delle procedure manuali, si ottiene un pool delle librerie processate, che viene dosato, diluito e successivamente sequenziato su piattaforma Illumina iSeq100.

In questo documento riportiamo la nostra esperienza di automazione dei test di preparazione al sequenziamento WGS sia per identificare mutazioni nel genoma virale di SARS-CoV-2, sia per i più comuni genomi batterici, e includendo nella sperimentazione le comparazioni con le procedure manuali.

Dopo l'installazione dello strumento e il training agli operatori, sono state eseguite n.2 run per un totale di 12 campioni sequenziati.

Il tempo-uomo dedicato dal personale tecnico per la sola preparazione dello strumento prima di ciascuna sessione analitica su OMNIA LH 100 è stato stimato essere pari a 30 minuti, comprensivo di alloggiamento reattivi, materiale di consumo dedicato e caricamento campioni. Il tempo-uomo necessario per l'intero flusso di lavoro in manuale è stimato in circa 2 ore.

L'impiego della workstation OMNIA LH 100 (Masmec Biomed) in associazione all'utilizzo dei kit "COVIDSeq RUO" e "DNA Prep" (Illumina), ha permesso di automatizzare l'intero flusso di lavoro, riducendo significativamente i tempi dedicati dal personale tecnico di laboratorio per le operazioni manuali. L'utilizzo di OMNIA LH 100 è estremamente semplice grazie alla presenza di un'interfaccia guidata e consente di coprire anche le fasi più critiche della preparazione al sequenziamento. La presenza del termociclatore a bordo (ODTC) consente di automatizzare anche le incubazioni e tutte le amplificazioni del processo. Infine, grazie



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI BARI
ALDO MORO

Dipartimento
Interdisciplinare di
medicina

Direttore Prof. Roberto Catanesi

all'utilizzo di puntali con filtro, di superfici in acciaio di facile pulizia e alla presenza di lampada UV per la sterilizzazione, garantisce un ottimo sistema di prevenzione delle contaminazioni.

Prof.ssa Maria Chironna

Laboratorio di Epidemiologia Molecolare e Sanità Pubblica

Dipartimento Interdisciplinare di Medicina – Università
degli Studi di Bari "Aldo Moro"

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Maria Chironna'.