



**IVD-1033-S**

**chemagic™**

**Viral DNA/RNA 300 Kit H96**

Használati utasítás Reagens 960 extrakcióhoz



Gyártó:

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

CE

**IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA VERZIÓ: 220914 HU**

## JELEK

Jel	Jelmagyarázat
CE	CE jel
	Tételszám
	Katalógusszám
	Lejárat dátuma
	Hőmérsékleti határ
	<n> tesztre elegendőt tartalmaz.
	Gyártó
	GHS02
	GHS05

Jel	Jelmagyarázat
	GHS07
	GHS08
	Veszélyes áruk: 3. osztályú gyúlékony folyadék
	Veszélyes áruk: 8. osztályú korrozív anyagok
	Erre van a teteje
	Újrahasznosítható
	Törékeny, óvatosan kezelendő
	Tartsa szárazon

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

### **ALKALMAZÁS**

A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a humán plazmából, nyálból és nazo- vagy orofaringeális tamponból származó DNS és RNS automatizált extrakciójára és tisztítására szolgál a chemagic™ 360-D készülékkel (termékszám: 2024-0010).

A készletet olyan IVD downstream alkalmazásokhoz tervezték, amely enzimatikus amplifikációt és DNS és RNS kimutatást alkalmaz (például PCR, RT-PCR, NGS). A terméket képzett laboratóriumi személyzetnek szánják. További információkért olvassa el a „REAGENSEK” és a „FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK” című részt ebben a dokumentumban.

### **ÖSSZEFOGLALÁS AND ALAPELV**

A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH saját magnetic bead technológiai platformján alapul. A plazmában, szérumban és nazo- vagy orofaringeális mintában lévő sejteket vagy egyéb DNS/RNS-forrásokat az extrakciós eljárás során lizálják. A felszabaduló nukleinsavak kis mágnesezhető részecskékhez kötődnek, amelyeket aztán mágnesesen elválasztanak a mintaanyagtól. A következő lépések során a szennyeződésekeltávolítják, és a tisztított nukleinsavakat egy elúciós pufferbe juttatják. Az automatizált mintafeldolgozás a chemagic™ 96 Rod Head Settel (termékszám: CMG-370) ellátott chemagic™ 360-D-vel (termékszám: 2024-0010) vagy azzal egyenértékű készülékkel történik.

A diagnosztikai eredmények irregularitásának minimalizálása érdekében a terméket belső kontrollal, valamint pozitív és negatív kontrollokkal együtt kell használni a minta-előkészítés, a mintaamplifikáció és a detektálás folyamata során, az alkalmazott downstream vizsgálatnak megfelelően.

Beteg/felhasználó/harmadik fél számára az Európai Unióban és az azonos szabályozási rendszerrel rendelkező országokban (IVDR (EU) 2017/746); ha az eszköz használata során vagy annak következtében súlyos esemény történt, kérjük, jelentse azt a nemzeti hatóságnak, valamint a gyártónak és a PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH-nak (+49 (0) 2401805500 vagy [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com)) vagy a jogi képviselőinek.

## **A KÉSZLET TARTALMA**

A készlet 960 extrakció elvégzéséhez elegendő reagenst tartalmaz.

A bontatlan készlet lejárati dátuma a külső címkén van feltüntetve. Ne használjon lejárt dátumú komponenseket. Tárolás +2 °C és +25 °C között.

A felnyitást követően a készlet komponensei korlátozott stabilitással rendelkeznek. A felbontás utáni stabilitást minden komponensre külön-külön az alábbi reagenslistában adjuk meg. Megjegyzés: Használat után azonnal szorosán zárja vissza a tartályokat, hogy megakadályozza a párolgást.

A tartályok tárolás közben elszíneződhetnek. A tartályok elszíneződése nincs hatással a vizsgálat funkcionalitására.

## **ELEKTRONIKUS HASZNÁLATI UTASÍTÁS**

Az elektronikus használati utasítás (eIFU) elérhető különböző nyelveken a weboldalunkon. Az elektronikus használati utasítás letöltéséhez kérjük, látogasson el a következő weboldalra:

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

Az eIFU angol (EN), francia (FR), spanyol (ES) és olasz (IT) nyelven érhető el.

Ha bármilyen kérdése van a letöltéssel vagy az elektronikus használati utasítással kapcsolatban, forduljon hozzánk: [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com) vagy +49 (0) 2401805500.

## **PROTOKOLLFÁJLOK**

A készlethez kapcsolódó protokollfájlok elérhetők a weboldalon, vagy az ügyfélszolgálat biztosítja őket (lásd fent).



A chemagic™ a PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH védjegye.

## REAGENSEK

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

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Magnetic Beads</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Nanorészecskés vas-oxidot tartalmazó, polivinil-alkohol mátrixba kapszulázott részecskék szuszpenziója. A Magnetic Beads az extrakciós folyamat során megköti a DNS-t/RNS-t.

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Lysis Buffer 1</b>   VESZÉLY	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Sötétben tárolandó.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Felhasználásra kész vizes pufferoldat, amely guanidin-tiocianátot (50–70%) tartalmaz. A Lysis Buffert a mintában lévő sejtek vagy más DNS/RNS-forrás lízisére használják annak érdekében, hogy a DNS/RNS oldatba kerüljön.

### LYSIS BUFFER 1 GUANIDINIUM-TIOCIANÁTOT TARTALMAZ:

H302 + H312 Lenyelve vagy bőrrel érintkezve ártalmas.

H314 Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz!

P101 Orvosi tanácsadás esetén tartsa kéznél a termék edényét vagy címkéjét.

P102 Gyermekektől elzárva tartandó!

P103 Használat előtt olvassa el a címkén közölt információkat.

P303+P361+P353 Ha bőrre kerül (vagy hajra kerül): Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás.



P305+P351+P338 SZEMBE kerülés esetén: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P310 Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz.

P321 Szakellátás (lásd a címkén).

P405 Elzárva tárolandó.

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!  
EUH032 Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Binding Buffer 2</b>   <b>VESZÉLY</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Felhasználásra kész Tris-HCl-pufferes (pH 5,2–6,1) oldat nátrium-perkloráttal (20–40%) és etanollal (40–60%). A Binding Buffer 2-t a megfelelő feltételek megteremtéséhez használják, hogy a DNS/RNS a Magnetic Beadshez kötődjék.

### A BINDING BUFFER 2 ETANOLT ÉS NÁTRIUM-PERKLORÁTOT TARTALMAZ.

H225 Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

H302 Lenyelve ártalmas.

P210 Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó.

Tilos a dohányzás.


P240 A tárolóedényt és a fogadóedényt le kell földelni és át kell kötni.

P241 Robbanásbiztos [elektromos/szellőztető/világító] berendezés használandó.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező.

P303+P361+P353 Ha bőrre kerül (vagy hajra kerül): Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás.

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Wash Buffer 3</b>  <b>VESZÉLY</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Felhasználásra kész Tris-HCl-pufferes (pH 4,8–5,6) oldat nátrium-perkloráttal (20–30%) és etanollal (20–40%). A nem-DNS/nem-RNS-szennyeződések eltávolítására szolgál a mosási lépés során.

## A WASH BUFFER 3 ETANOLT ÉS NÁTRIUM-PERKLORÁTOT TARTALMAZ.

H225 Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

P210 Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó.

Tilos a dohányzás.


P240 A tárolóedényt és a fogadóedényt le kell földelni és át kell kötni.

P241 Robbanásbiztos [elektromos/szellőztető/világító] berendezés használandó.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező.

P303+P361+P353 Ha bőrre kerül (vagy hajra kerül): Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás.

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Wash Buffer 4</b>  <b>VESZÉLY</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

A használatra kész oldat 50–70% etanolt tartalmaz. A nem-DNS/nem-RNS-szennyeződések utolsó nyomainak eltávolítására szolgál a mosási lépés során.

## A WASH BUFFER 4 ETANOLT TARTALMAZ:

H225 Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.

P210 Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó.

Tilos a dohányzás.

P240 A tárolóedényt és a fogadóedényt le kell földelni és át kell kötni.

P241 Robbanásbiztos [elektromos/szellőztető/világító] berendezés használandó.

P280 Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

P303+P361+P353 Ha bőrre kerül (vagy hajra kerül): Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás.



P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Wash Buffer 5</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Felhasználásra kész ultraszűrt vízzel. Az esetleges etanolmaradványok eltávolítására használják.

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Elution Buffer 6</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.

Felhasználásra kész 10 mM Tris-HCl-pufferes (pH 7,8-8,4) oldat.

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Proteinase K</b>  	1 tartály (liofilizált)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Helyreállítva 28 napig stabil +2 °C és +8 °C között.

**VESZÉLY**

A Proteinase K-t 11 mL tisztított víz hozzáadásával állítjuk helyre. A lízis lépés hatékonyságának növelése érdekében Proteinase K-t adunk hozzá.

### **A PROTEINASE K PROTEINÁZT, TRITIRAKIUM-ALBUM-SZERINT ÉS KALCIUM-ACETÁT-HIDRÁTOT TARTALMAZ:**

H315 Bőrirritáló hatású.

H319 Súlyos szemirritációt okoz.

H334 Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat.

H335 Légúti irritációt okozhat.

P261 Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.

P280 Védőkesztyű/szemvédő/arcvédő használata kötelező.



P284 [Nem megfelelő szellőzés esetén] légzésvédelem kötelező.

P305+P351+P338 SZEMBE kerülés esetén: Óvatos öblítés vízzel több percen keresztül. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.

P405 Elzárva tárolandó.

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Poly(A)RNA</b>	10 tubus (szárított)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.  Helyreállítva 30 napig stabil +2 °C és +8 °C között.

A Poly(A)RNA-t 440 µL Poly(A)RNA puffer hozzáadásával állítjuk helyre. A Poly(A)RNA DNS/RNS-hordozóként funkcionál az extrakciós folyamat hatékonyságának növelése érdekében.

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
<b>Poly(A)RNA puffer</b>	1 tartály (térfogata a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.



**VESZÉLY**

Felhasználásra kész vizes pufferoldat, amely guanidin-tiocianátot (20–40%) tartalmaz. A Poly(A)RNA puffer a Poly(A)RNA rekonstitúciójához használatos.

### **A POLY(A)RNA PUFFER GUANIDINIUM-TIOCIANÁTOT TARTALMAZ:**

H302 Lenyelve ártalmas.

P264 A használatot követően alaposan meg kell mosni.

P270 A termék használata közben tilos enni, inni vagy dohányozni!

P301 + P312 LENYELÉS ESETÉN: Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

P330 A szájat ki kell öblíteni.

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

EUH032 Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

Komponens	Mennyiség	Tárolás
<b>Disposable Tips</b> (96 db)	10 x 96 db	+2 °C és +25 °C között
<b>Deep Well Plates</b> (5 db)	10 x 5 db	+2 °C és +25 °C között
<b>Low Well Plates</b> (5 db)	2 x 5 db	+2 °C és +25 °C között

## **SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETHEZ NEM MELLÉKELT ANYAGOK**

A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a következő, a PerkinElmer®, Inc. és forgalmazóinál kapható alábbi tételeket igényli:

- chemagic™ 360-D készülék (termékszám: 2024-0010) chemagic™ 96 Rod Head Settel (termékszám: CMG-370)

További szükséges tételek:

- A PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH által biztosított, a készlethez kapcsolódó protokollfájl (.che-file) (lásd a „PROTOKOLLFÁJLOK” című részt, 4. oldal).
- aeroszolzárral ellátott pipetták és pipettahegyek
- molekuláris minőségű víz

További opcionális tételek:

- chemagic™ Stand 96 (termékszám CMG-301)
- izotóniás sóoldat, steril
- Sarstedt-cső (katalógusszám 72.693 vagy 72.694)

## MINTAVÉTEL ÉS -KEZELÉS

A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 használható friss és fagyasztott, EDTA-val vagy citráttal stabilizált humán plazmával a szokásos vérvételi rendszerekből, stabilizált nyállal (Oragene™ és Spectrum™ gyűjtőcsövek) és tamponokból (pl. eNAT™ Copan Diagnostics Inc.) származó transzportközeggel közvetlen, 300 µL-es alikvotokban izolálásonként.

Összegyűjtés és centrifugálás után a plazma 2–8 °C-on legfeljebb 6 órán át tárolható. Hosszú távú tárolás esetén -20 °C vagy -80 °C alikvotokban javasolt a fagyasztás. Fagyott plazma- vagy szérummintát tilos egynél többször felolvasztani. A többszöri fagyasztás-olvasztás a fehérjék denaturációjához és kicsapódásához vezet, ez a nukleinsavak mennyiségének csökkenését eredményezi.

A szárított tamponokból származó mintaanyagot izotóniás sóoldatba kell helyezni. Ezért adjon hozzá 350 µL izotóniás sóoldatot, és használat előtt inkubálja 5 percig 15–25 °C-on. Izolálásonként 300 µl inkubált izotóniás sóoldatmintát kell használni.

**MEGJEGYZÉS: NE HASZNÁLJON FOSZFÁT TARTALMÚ PUFFERT A RESZUSZPENDÁLÁSHOZ.**

A fent felsorolt mintatípusoktól eltérő mintaanyagok extrakciós hatékonyságát nem határozták meg.

A biztonságos kezelés érdekében a vírusvizsgálatra (pl. SARS-CoV-2 vírus-RNS-extrakció) szánt mintákat felhasználás előtt inaktiválni kell. Pipettázzon 4 µL Poly(A)RNA-t, 10 µL Proteinase K-t és 300 µl Lysis Buffer 1-et 2 mL Sarstedt-csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Megjegyzés: Ha egynél több mintát dolgoznak fel inaktiválásra, akkor ebből az oldatból törzsoldatot lehet készíteni. Egyszerűen szorozza meg az egy mintához szükséges mennyiséget a feldolgozandó minták teljes számával, és vegye figyelembe a további 3 extra mintának megfelelő mennyiséget. A keverés érdekében fordítsa meg a csövet többször, majd minden egyes mintához 314 µL-t helyezzen át egy 2 mL-es Sarstedt-csőbe, majd folytassa minden egyes minta esetében 300 µL minta hozzáadásával minden egyes csőbe, zárja le a fedelet, és 10 másodpercig tartó pulzáló örvényléssel keverje össze. Inkubálja a csövet 68 °C-on 15 percig (± 2 perc) az inaktiváláshoz. Az inaktivált lizátumot az extrakciós protokoll 3. lépésében teljesen helyezze át a minta mély cellás lemezére, és folytassa a 4. lépéssel.

## FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

*In vitro* diagnosztikai használatra

A terméket professzionális felhasználóknak szánják, akik ki vannak képezve a chemagic™ 360-D használatára (termékszám: 2024-0010).

Az összes példányt potenciálisan fertőzőként kell kezelni. A potenciálisan fertőző mintákat inaktiválni kell. Kérjük, olvassa el az Egyesült Államok Egészségügyi és Humánszolgáltatási Minisztériumának „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” című kiadványát vagy bármely más helyi vagy nemzeti szabályozást.

A Lysis Buffer 1 guanidinium-tiocianátot tartalmaz, és lenyelve, bőrrel érintkezve vagy belélegezve ártalmas. A Binding Buffer 2 és a Wash Buffer 3 nátrium-perklorátot és etanolt tartalmaz, gyúlékony folyadékok és gőzök, és lenyelve ártalmasak. A Wash Buffer 4 etanolt és nátrium-perklorátot tartalmaz, gyúlékony folyadék és gőz. A Proteinase K tritirakium-album-szerint, proteinázt tartalmaz, és bőrirritációt és súlyos szemirritációt okoz, belélegezve allergiás vagy asztmás tüneteket vagy légzési nehézségeket és légúti irritációt okozhat. A Poly(A)RNA puffer guanidinium-tiocianátot tartalmaz, és lenyelve vagy belélegezve káros. Lásd az összes komponensre vonatkozó, különleges óvintézkedéseket a „REAGENSEK” szakaszban.

A készlet komponenseivel végzett munka során a sérülések elkerülése érdekében mindig viseljen védőszemüveget, eldobható kesztyűt és védőruházatot. Részletes információkért olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (SDS).

Kövesse az etanolos oldatok kezelésére vonatkozó helyi előírásokat.

Minden hulladékot a helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

## **ELJÁRÁS 60 PERCES PROTOKOLL (KÜLÖNBÖZŐ MINTÁK)**

Extrakciós protokoll a chemagic™ 360-D készülékkel.

Az automatizált extrakciós protokoll időtartama körülbelül 60 perc.

A protokoll akár 96 minta párhuzamos feldolgozására is alkalmas (lásd alább „A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN” című részt). A chemagic™ 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvét.

A mintákat és a reagenseket használat előtt szobahőmérsékletre (+19 és +25 °C között) kell hozni. Csatlakoztassa a reagenstartályokat a chemagic™ 360-D készülékhez az alábbiak szerint:

- Szivattyú 1: Nincs tartály csatlakoztatva
- Szivattyú 2: Binding Buffer 2
- Szivattyú 3: Wash Buffer 3
- Szivattyú 4: Wash Buffer 4
- Szivattyú 5: Wash Buffer 5
- Szivattyú 6: Nincs tartály csatlakoztatva

**MEGJEGYZÉS: KÖZVETLENÜL HASZNÁLAT UTÁN SZOROSAN ZÁRJA VISSZA A TARTÁLYOKAT, VAGY TARTSA SZOROSAN A CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉKHEZ CSATLAKOZTATVA. A BINDING BUFFER 2, A WASH BUFFER 3 ÉS A WASH BUFFER 4 ETANOLT TARTALMAZNAK. HA AZ ETANOL ELPÁROLOG, NEM GARANTÁLHATÓ AZ OPTIMÁLIS TELJESÍTMÉNY VAGY A DETEKTÁLÁSI ÉRZÉKENYSÉG.**

### **A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN**

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket a pozícióban lévő anyaggal (minták, Magnetic Beads és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A)RNA komponenseket.
  - Proteinase K: Adjon hozzá 11 mL molekuláris biológiai minőségű vizet a Proteinase K tartályhoz, és óvatosan keverje, amíg fel nem oldódik.
  - Poly(A)RNA: Adjon hozzá 440 µL Poly(A)RNA puffert a Poly(A)RNA csőhöz, és keverje alaposan, amíg fel nem oldódik.
4. Ha a Lysis Buffer 1 csapadékot tartalmaz (az átvitel vagy tárolás során keletkezett), az oldatot 50–60 °C-ra kell melegíteni, és alaposan össze kell keverni, amíg az oldat tiszta nem lesz. A Lysis Buffer 1 tisztaságát használat előtt mindig szemrevételezéssel kell ellenőrizni.

5. Töltse be és töltse fel a chemagic™ 360-D csöveket reagensekkel a „**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**” protokoll kiválasztásával. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait, és indítsa el a feltöltést az [OK] gombbal. Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, indítsa el a feltöltést közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával. A feltöltést akkor kell elvégezni, amikor a reagenstartályokat először csatlakoztatják a chemagic™ 360-D készülékhez, vagy ha a készülék csövei még nincsenek feltöltve a fent említett reagensekkel.
6. Ha nincs szükség feltöltésre, válassza ki a „**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy – ha a bővített funkciók ki vannak kapcsolva – a [Start] gombot. Az egyes szivattyúk kis mennyiségű puffert adagolnak egymás után, kezdve az alkalmazáshoz használt első szivattyúval. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Napi többszöri futtatás esetén a szivattyúkat csak egyszer, a nap elején kell ellenőrizni.
7. Válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**” protokollt, nyomja meg az [Insert IDs] gombot, és kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait.
8. A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze a hegytálcát a tracking system 1. pozíciójába.
9. Ellenőrizze a puffertartályok töltöttségét, és erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.

**MEGJEGYZÉS: ÜGYELJEN ARRA, HOGY MINDEN PUFFERTARTÁLY ELEGENDŐ PUFFERT TARTALMAZZON. CSAK AKKOR LEHET 96 IZOLÁCIÓT VÉGREHAJTANI, HA AZ ÖSSZES PUFFER FOLYADÉKSZINTJE 125 mL FELETT VAN.**

10. Válassza ki az előtöltendő minták számát a legördülő menü segítségével. A minták elhelyezésének sémája a kiválasztás után jelenik meg. Ügyeljen a megadott pozíciók használatára. Erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.
11. Töltsön előzetesen 300 µL mintát a mintalemez kiválasztott celláiba. A minták homogenitásának biztosítása érdekében óvatosan keverje össze a mintákat, mielőtt a mintalemez celláiba pipettázza.

**MEGJEGYZÉS: A SZÁRÍTOTT TAMPONOKBÓL SZÁRMAZÓ MINTAANYAGOT FELHASZNÁLÁS ELŐTT FOLYÉKONNYÁ KELL TENNI.**

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beadset a mintapozícióknak megfelelően:

- A Magnetic Beadset (a chemagic™ 360-D készüléken a 2. lemezpozícióban) alaposan összekeverve és manuálisan pipetázva (150 µL / cella) van reszuszpendálva minden megfelelő mintacellába.

**MEGJEGYZÉS: A MAGNETIC BEAD SZUSZPENZIÓT ERŐSEN EL KELL KEVERNI AZ ADAGOLÁS ELŐTT; EGYÉBKÉNT A SZUSZPENZIÓ NEM HOMOGEN ÉS A DNS/RNS MENNYISÉGE ALACSONY LEHET.**

- Az Elution Buffer 6-ot (a chemagic™ 360-D készüléken a 7. lemezpozícióban) pipetázza manuálisan (50–100 µL / cella) minden, használatban lévő megfelelő mintacellába.

13. A mintát tartalmazó cellákba adjon 4 µL Poly(A)RNA-t, 10 µL Proteinase K-t, majd 300 µL Lysis Buffer 1-et. Lehetőség van előkeverni a Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et (válassza ki a megfelelő mennyiségű Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et, hogy biztosítsa az izolálások számára elegendő mennyiséget).

**MEGJEGYZÉS: A PROTEINASE K-AKTIVITÁS CSÖKKEN 10 PERCNÉL HOSSZABB, LYSIS BUFFER 1-BEN TÖRTÉNŐ INKUBÁLÁS UTÁN. FIGYELJEN RÁ, HOGY EZEN AZ IDŐN BELÜL MINDEN MINTA ÖSSZE LEGYEN KEVERVE POLY(A)RNA-VAL / PROTEINASE K-VAL / LYSIS BUFFER 1-GYEL.**

14. Helyezze a lemezeket a chemagic™ QA szoftver utasításai szerint a tracking systemre.

15. Helyezze a mintalemezt a tracking system 3. pozíciójába.

16. Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését.

17. Csupkja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

Automatizált DNS/RNS-extrakció a chemagic™ 360-D készüléken (60 perces protokoll):

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
		Válassza ki a „ <b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b> ” protokollt a csövek átmosásához az automatizált extrakciós futtatás megkezdése előtt. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait, és indítsa el az öblítést az [OK] gombbal.
		Az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók használatkor válassza ki a „ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che</b> ” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.  Töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
1	Tálca Disposable Tipsszel	A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze el a tálcát a Disposable Tipsszel.  <b>MEGJEGYZÉS: A HEGYEKNEK TELJES SOROKBAN KELL MEGJELENNIÜK A TÁLCÁN.</b>
2	Low well plate 150 µL Magnetic Beadsszel	Pipettázza a reszuszpendált Magnetic Beadset minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze be a lemezt.
3	Mintalemez (Deep well plate)	Helyezze be a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A)RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1). A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.
4	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 3 automatikusan adagolódik a lemezbe.
5	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.



Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
6	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	Deep well plate 50–100 µL Elution Buffer 6-tal	Pipetázzon (50–100 µL) Elution Buffer 6-ot minden egyes használt cellába a minta pozícióinak megfelelően, és helyezze be a lemezt.
		<p>Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését. Miután az összes lemez a helyére került, nyomja meg az [OK] gombot.</p> <p>Csukja be az első ajtót, és indítsa el azonnal az DNS/RNS-extrakciós folyamatot a [Start] gombbal. Ezt követően a mintalizátum automatikusan összekeveredik.</p> <p>Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, töltsse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba. Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „<b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che</b>” protokollt, a párbeszédpanelen jelölje meg a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.</p>

A tracking systemen lévő számok a chemagic™ 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Az izolációs eljárás befejezése után használja a [Turn Table] gombot a tracking system eltávolításához. A [Turn Table] gombra kattintás a tracking systemet (asztalt) az óramutató járásával megegyező irányban egy pozícióval elmozdítja.

**MEGJEGYZÉS: SOHA NE MOZGASSA A TRACKING SYSTEMET (ASZTALT) KÉZZEL. EZ KÁRT OKOZHAT A KÉSZÜLÉKBEN. MINDEN MOZGÁST A [TURN TABLE] FUNKCIÓVAL KELL VÉGREHAJTANI.**

## **ELJÁRÁSI MEGJEGYZÉSEK 60 PERCES PROTOKOLL (KÜLÖNBÖZŐ MINTÁK)**

1. A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sikeres használatához alaposan ismerni kell ezt a használati utasítást és a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvet. A készlethez mellékelt reagensek egy egységként való használatra szolgálnak. Ne keverjen különböző tételszámú készletekből származó azonos reagenseket.
2. Ne használjon készletreagenseket a készlet címkéjén feltüntetett lejárat dátum után. Felbontás után a reagensek az IFU reagenslistájában megadott ideig használhatók.
3. A protokolltól való bármilyen eltérés befolyásolhatja az eredményeket.
4. A reagenseket a rendszer automatikusan egész sorokban adagolja, ezért a hegyfedeleket (Disposable Tips) egész sorokban is kell használni minden egyes reagensoldattal érintkező rúdon. Azt is meg kell jegyezni, hogy részleges lemezek futtatásakor előfordulhat, hogy az oldatok nem elegendőek a 960 extrakcióhoz.
5. Ha kinyitja a chemagic™ 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.
6. A rendszer tisztítása és karbantartása a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvben van részletesen leírva.
  - a) A rendszer tisztítása hetente egyszer történik: Tisztítsa meg a chemagic™ Dispensert. Válassza ki a „**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy a [Start] gombot, ha a továbbfejlesztett funkciók ki vannak kapcsolva. Kövesse a szoftver utasításait.
  - b) A chemagic™ Dispenser következő használata előtt hajtsa végre a megfelelő feltöltési protokollt.
  - c) Havonta egyszer ajánlott a chemagic™ Dispenser tisztítása 70%-os etanollal. Ehhez egyszerűen használja az „**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” eljárást a szokásos helyett.
  - d) Ha a chemagic™ Dispensert hosszabb ideig nem használják, a készülék újra üzembe helyezésekor kötelező elvégezni a „rendszeres tisztítási eljárást” a készülék teljesítményének fenntartása érdekében.

## TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Az extrakciós készlet és a PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay használata esetén (katalógusszám: COVID-19-PCR-AUS-C) az alábbi LoD-adatokat jelentették (az adatokat a Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. generálta, No. 115, North Taiping Road, Taicang, Jiangsu tartomány, Kína).

### LOD A CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉK EXTRAKCIÓ ÉS AZ APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR RENDSZER HASZNÁLATÁVAL

A mintákat összevont klinikai orofaringeális tamponok vagy nazofaringeális tamponok mintamatrixának felhasználásával állították elő. Az összevont mátrixot a PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay segítségével vizsgálva megerősítést nyert, hogy negatív. Összesen hatszor kétszereztek a hígítást ismert koncentrációjú inaktivált SARS-CoV-2 vírusból (2/231/humán/2020/CHN izolátum) negatív klinikai mátrixban, és a chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) segítségével chemagic™ 360-D készülékkel dolgoztuk fel. Hígításonként hat egyedi extrakciós replikátumot vizsgáltunk. Az eredményeket a következő táblázatokban foglaljuk össze.

**1. táblázat:** Előzetes LoD-vizsgálat orofaringeális tamponok felhasználásával a chemagic™ 360-D készüléken.

Orofaringeális tamponminta							
Hígítási arány	N		ORF1ab		Átlagos Ct		
	Konc. (kópia/mL)	Detektálási arány	Konc. (kópia/mL)	Detektálási arány	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,48	36,82	32,18
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	37,04	37,98	32,14
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	39,10	38,88	32,21
1,6E+05	17,13	5/6	5,23	4/6	38,89	39,77	32,35
3,2E+05	8,56	3/6	2,62	2/6	39,35	39,85	32,28
6,4E+05	4,28	0/6	1,31	0/6	/	/	32,41
Negatív	0	0/6	0	0/6	/	/	32,23

**2. táblázat:** Probit előrejelzett 95%-os detektálási arány SARS-CoV-2-vel (2/231/humán/2020/CHN izolátum) tűzdelt orofaringeális tamponok felhasználásával a chemagic™ 360-D készüléken.

Probit előre jelzett 95%-os detektálási arány (kópia/mL)	
N	ORF1ab
19.08 (95% CI: 14,50–37,12)	7.14 (95% CI: 5,34–24,00)

**3. táblázat:** Előzetes LoD-vizsgálat nazofaringeális tamponok felhasználásával a chemagic™ 360-D készüléken.

Nazofaringeális tamponminta							
Hígítási arány	N		ORF1ab		Átlagos Ct		
	Konc. (kópia/mL)	Detektálási arány	Konc. (kópia/mL)	Detektálási arány	N	ORF1ab	IC
2,0E+04	137,00	6/6	41,85	6/6	36,65	36,55	32,32
4,0E+04	68,50	6/6	20,93	6/6	38,17	36,78	32,38
8,0E+04	34,25	6/6	10,46	6/6	38,55	38,24	32,60
1,6E+05	17,13	4/6	5,23	6/6	39,40	40,50	32,59
3,2E+05	8,56	2/6	2,62	1/6	39,59	40,53	32,86
6,4E+05	4,28	2/6	1,31	2/6	39,50	39,70	32,28
Negatív	0	0/6	0	0/6	/	/	32,33

**4. táblázat:** Probit előrejelzett 95%-os detektálási arány SARS-CoV-2-vel (2/231/humán/2020/CHN izolátum) tűzdelte nazofaringeális tamponok felhasználásával a chemagic™ 360-D készüléken.

Probit előre jelzett 95%-os detektálási arány (kópia/mL)	
N	ORF1ab
26.44 (95% CI: 18,34–69,51)	8.32 (95% CI: 5,83–20,69)

## **A LOD ELLENŐRZÉSE A CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉK EXTRAKCIÓ ÉS AZ APPLIED BIOSYSTEMS™ 7500 PCR RENDSZER HASZNÁLATÁVAL**

A LoD-ellenőrzési vizsgálatához az összevont negatív orofaringeális tamponmátrixot és az összevont negatív nazofaringeális tamponmátrixot inaktivált SARS-CoV-2 vírussal tűzdeltek a két SARS-CoV-2 célpont között az egyes mátrixok esetében előre jelzett előzetes LoD-értéken (az ORF1ab 7,14 kópia/mL az orofaringeális tamponmátrix esetében és az ORF1ab 8,32 kópia/mL a nazofaringeális tamponmátrix esetében). Mintamátrixonként húsz replikátumot készítettünk, és extraháltuk a chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) segítségével a chemagic™ 360-D készüléken, majd a PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay-vel vizsgáltuk. További húsz, az előzetes LoD 1,5-szeresével készített replikátumot is teszteltünk. Az eredményeket a következő táblázatokban foglaljuk össze.

**5. táblázat:** chemagic™ 360-D készülék LoD ellenőrzési eredmények az orofaringeális tamponra vonatkozóan.

Koncentráció (kópia/mL)			Detektálási arány		Átlagos Ct		
LoD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	23,38	7,14	95% (19/20)	95% (19/20)	38,44	38,76	33,13
1,5X	35,07	10,71	100% (20/20)	100% (20/20)	38,74	38,11	33,09

**6. táblázat:** chemagic™ 360-D LoD hitelesítési eredmények a nazofaringeális tamponra vonatkozóan.

Koncentráció (kópia/mL)			Detektálási arány		Átlagos Ct		
LoD	N	ORF1ab	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
1X	27,25	8,32	95% (19/20)	95% (19/20)	38,53	38,44	33,81
1,5X	40,87	12,49	100% (20/20)	100% (20/20)	38,50	37,79	32,72

## **LOD-ELLENŐRZÉS CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉK ÉS ALTERNATÍV PCR-RENDSZEREK HASZNÁLATÁVAL (PCR-RENDSZEREK EGYENÉRTÉKŰSÉGE)**

Vizsgálatot végeztek mesterséges klinikai nazofaringeális tamponminták felhasználásával, hogy kiterjeszthessék a PerkinElmer® SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay használatát az Applied Biosystems™ 7500 Fast / QuantStudio™ 3 / QuantStudio™ 5 Real-Time PCR Systems és Analytik Jena qTOWER3 / qTower3 84 Real-Time PCR rendszerekre. Az összevont negatív nazofaringeális tamponpéldányt két vagy három ismert koncentrációjú SeraCare RNS-referenciaanyaggal kiegészítették, amely tartalmazza a teljes SARS-CoV-2 vírusgenomot (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Molecular-Controls-Kit-Full-Genome-0505-0159/>). A nukleinsavakat a chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033) segítségével extraháltuk a chemagic™ 360-D készüléken, és legfeljebb 20 egyedi extrakciós replikátumot vizsgáltunk az egyes PCR-készülékplatformokon a használati utasításnak megfelelően. Az eredeti Applied Biosystems™ 7500 PCR rendszeren végzett vizsgálatokat az egyenértékűség összehasonlítása érdekében bevonták ebbe a vizsgálatba. Az eredményeket a következő táblázatokban foglaljuk össze. Az ABI7500, ABI 7500 Fast Dx, QuantStudio™ 3, QuantStudio™ 5 és qTower3 84 esetében a LoD 20 kópia/mL, a qTower3 esetében pedig 10 kópia/mL volt. Mind a hat készülék kimutatási érzékenysége egyenértékűnek tekinthető.

**7. táblázat: LoD-ellenőrzés különböző Applied Biosystems™ PCR-platformokon.**

Készülék	Koncentráció (kópia/mL)	Célgén	Átlagos Ct	A célgén kimutatási aránya	Átfogó detektálási arány az algoritmus számára.
ABI 7500	6,7	N	40,2	80% (16/20)	90% (18/20)
		ORF	39,4	75% (15/20)	
	20	N	37,8	95% (19/20)	100% (20/20)
		ORF	37,5	95% (19/20)	
ABI 7500 Fast Dx	6,7	N	38,1	45% (9/20)	90% (18/20)
		ORF	39,0	85% (17/20)	
	20	N	37,7	75% (15/20)	100% (20/20)
		ORF	37,5	100% (20/20)	
QS3	12	N	ND	0% (0/3)	67% (2/3)
		ORF	34,1	67% (2/3)	
	20	N	35,7	30% (6/20)	100% (20/20)
		ORF	35,3	95% (19/20)	
	60	N	35,8	45% (9/20)	95% (19/20)
		ORF	33,0	95% (19/20)	
QS5	12	N	ND	0% (0/3)	0% (0/3)
		ORF	ND	0% (0/3)	
	20	N	35,8	25% (5/20)	95% (19/20)
		ORF	37,0	95% (19/20)	
	60	N	36,3	55% (11/20)	100% (20/20)
		ORF	35,1	100% (20/20)	
qTower <sup>3</sup>	6,7	N	39,3	30% (6/20)	75% (15/20)
		ORF	39,7	65% (13/20)	
	10	N	38,2	65% (13/20)	100% (20/20)
		ORF	37,8	95% (19/20)	
	20	N	38,5	75% (15/20)	100% (20/20)
		ORF	36,9	100% (20/20)	
	40	N	37,9	95% (19/20)	100% (20/20)
		ORF	36,1	100% (20/20)	
qTower <sup>3</sup> 84	10	N	38,5	35% (7/20)	90% (18/20)
		ORF	38,4	80% (16/20)	
	20	N	39,0	55% (11/20)	95% (19/20)
		ORF	37,3	85% (17/20)	
	40	N	38,0	80% (16/20)	100% (20/20)
		ORF	36,7	100% (20/20)	

## A KIMUTATHATÓSÁG ALSÓ HATÁRA NYÁL-MÁTRIXOT HASZNÁLVA.

A QuantStudio™ 5 készüléssel a nazofaringeális tamponmátrix háttérében (a fenti szakaszban leírt) meghatározott LoD-t (20 kópia/mL) ugyanezzel a készüléssel nyálmátrix háttérében is ellenőriztük. Röviden, a SARS-CoV-2 referencia-kontrollanyagot negatív nyálmátrixba keverték, hogy pozitív mintákat készítsenek 20 kópia/mL koncentrációban. Ebből a pozitív mintából összesen 20 extrakciós replikátumot extraháltunk a chemagic™ 360-D készüléssel, és a QuantStudio™ 5 készüléssel amplifikáltuk. Az eredményeket a következő táblázat foglalja össze. A 20 kópia/ml-es alsó kimutathatósági határt 20/20 detektálási aránnyal erősítettük meg nyál-mátrixot használva.

### 8. táblázat: chemagic™ 360-D készülék LoD hitelesítési eredmények nyálra

Koncentráció (kópia/mL)	Detektálási arány		Átlagos Ct		
	N	ORF1ab	N	ORF1ab	IC
20	100% (20/20)	100% (20/20)	35,53	35,14	30,70

Ha ezt az extrakciós készletet az EURORealTime SARS-CoV-2 valós idejű RT-PCR vizsgálattal (REF MP 2606-0110) használja, az alábbi LoD-adatokat, lásd az alábbiakban, az EUROIMMUN (egy PerkinElmer® cég) jelentette.

## LOD – ANALITIKAI SZENZITIVITÁS KÜLÖNBÖZŐ PCR-RE

A LoD-vizsgálatok meghatározzák a SARS-CoV-2 legalacsonyabb kimutatható koncentrációját, amelynél az összes (valódi pozitív) replikátum körülbelül 95%-a pozitív.

Először a SARS-CoV-2 RNS-t tartalmazó rekombináns vírus (Seracare, AccuPlex™ SARS-CoV-2 referenciaanyag; 5000 kópia/mL) SARS-CoV-2 negatív orofaringeális tamponmátrixba történő bejuttatásával készített 5-7 sorozathígítás vizsgálatával határozták meg az előzetes LoD értéket. Minden hígítást 3 egyedi extrakciós replikátummal vizsgáltunk. Az előzetes LoD-értéket 150 kópia/mL-ben határozták meg.

Az előzetes LoD-t 21 negatív orofaringeális tamponmátrix replikátumának tesztelésével erősítették meg, amelyet egymástól függetlenül az AccuPlex™ referenciaanyaggal spicceltek és a CMG-1033 chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 segítségével extraháltak a chemagic™ 360-D készüléken. A replikátumokat a Roche LightCycler 480 II készüléssel vizsgáltuk. A végső LoD-t minden extrakciós módszer esetében 150 kópia/mL-ben határoztuk meg. A 150 kópia/mL LoD-t ezután az Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR, a Bio-Rad CFX 96 Touch és az Analytik Jena qTOWER<sup>3</sup> ciklereivel ellenőriztük a fent leírt eljárással. A LoD-t 21 extrakciós replikátum vizsgálatával erősítették meg.

**9. táblázat: LoD megerősítése orofaringeális tamponpéldányokban.**

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

**ELJÁRÁS 31 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2-IZOLÁCIÓVAL TESZTELVE)**

Extrakciós protokoll a chemagic™ 360-D készülékkel.

Az automatizált extrakciós protokoll időtartama körülbelül 31 perc.

A protokoll akár 96 minta párhuzamos feldolgozására is alkalmas (lásd alább „A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN” című részt). A chemagic™ 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvét.

A mintákat és a reagenseket használat előtt szobahőmérsékletre (+19 és +25 °C között) kell hozni. Csatlakoztassa a reagenstartályokat a chemagic™ 360-D készülékhez az alábbiak szerint:

- Szivattyú 1: Nincs tartály csatlakoztatva
- Szivattyú 2: Binding Buffer 2
- Szivattyú 3: Nincs tartály csatlakoztatva
- Szivattyú 4: Wash Buffer 4
- Szivattyú 5: Wash Buffer 5
- Szivattyú 6: Nincs tartály csatlakoztatva

**MEGJEGYZÉS: KÖZVETLENÜL HASZNÁLAT UTÁN SZOROSAN ZÁRJA VISSZA A TARTÁLYOKAT, VAGY TARTSA SZOROSAN A CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉKHEZ CSATLAKOZTATVA. A BINDING BUFFER 2 ÉS A WASH BUFFER 4 ETANOLT TARTALMAZ. HA AZ ETANOL ELPÁROLOG, NEM GARANTÁLHATÓ AZ OPTIMÁLIS TELJESÍTMÉNY VAGY A DETEKTÁLÁSI ÉRZÉKENYSÉG.**



## A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket a pozícióban lévő anyaggal (minták, Magnetic Beads és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A)RNA komponenseket.
  - Proteinase K: Adjon hozzá 11 mL molekuláris biológiai minőségű vizet a Proteinase K tartályhoz, és óvatosan keverje, amíg fel nem oldódik.
  - Poly(A)RNA: Adjon hozzá 440 µL Poly(A)RNA puffert a Poly(A)RNA csőhöz, és keverje alaposan, amíg fel nem oldódik.
4. Ha a Lysis Buffer 1 csapadékot tartalmaz (az átvitel vagy tárolás során keletkezett), az oldatot 50–60 °C-ra kell melegíteni, és alaposan össze kell keverni, amíg az oldat tiszta nem lesz. A Lysis Buffer 1 tisztaságát használat előtt mindig szemrevételezéssel kell ellenőrizni.
5. Töltse be és töltse fel a chemagic™ 360-D csöveket reagensekkel a „**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**” protokoll kiválasztásával. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftverben megadott utasításokat, majd az [OK] gomb megnyomásával indítsa el az alapozást. Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, indítsa el a feltöltést közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával. A feltöltést akkor kell elvégezni, amikor a reagenstartályokat először csatlakoztatják a chemagic™ 360-D készülékhez, vagy ha a készülék csövei még nincsenek feltöltve a fent említett reagensekkel.
6. Ha nincs szükség feltöltésre, válassza ki a „**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy – ha a bővített funkciók ki vannak kapcsolva – a [Start] gombot. Az egyes szivattyúk kis mennyiségű puffert adagolnak egymás után, kezdve az alkalmazáshoz használt első szivattyúval. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Napi többszöri futtatás esetén a szivattyúkat csak egyszer, a nap elején kell ellenőrizni.
7. Válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**” protokollt, nyomja meg az [Insert IDs] gombot, és kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait.
8. A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze a hegytálcát a tracking system 1. pozíciójába.

9. Ellenőrizze a puffertartályok töltöttségét, és erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.

**MEGJEGYZÉS: ÜGYELJEN ARRA, HOGY MINDEN PUFFERTARTÁLY ELEGENDŐ PUFFERT TARTALMAZZON. CSAK AKKOR LEHET 96 IZOLÁCIÓT VÉGREHAJTANI, HA AZ ÖSSZES PUFFER FOLYADÉKSZINTJE 125 mL FELETT VAN.**

10. Válassza ki az előtöltendő minták számát a legördülő menü segítségével. A minták elhelyezésének sémája a kiválasztás után jelenik meg. Ügyeljen a megadott pozíciók használatára. Erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.

11. Töltsön előzetesen 300 µL mintát a mintalemez kiválasztott celláiba. A minták homogenitásának biztosítása érdekében óvatosan keverje össze a mintákat, mielőtt a mintalemez celláiba pipettázza.

**MEGJEGYZÉS: A SZÁRÍTOTT TAMPONOKBÓL SZÁRMAZÓ MINTAANYAGOT FELHASZNÁLÁS ELŐTT FOLYÉKONNYÁ KELL TENNI.**

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beadset a mintapozícióknak megfelelően:

- A Magnetic Beadset (a chemagic™ 360-D készüléken a 2. lemezpozícióban) alaposan összekeverve és manuálisan pipetázva (150 µL / cella) van reszuszpendálva minden megfelelő mintacellába.

**MEGJEGYZÉS: A MAGNETIC BEAD SZUSZPENZIÓT ERŐSEN EL KELL KEVERNI AZ ADAGOLÁS ELŐTT; EGYÉBKÉNT A SZUSZPENZIÓ NEM HOMOGEN ÉS A DNS/RNS MENNYISÉGE ALACSONY LEHET.**

- Az Elution Buffer 6-ot (a chemagic™ 360-D készüléken a 7. lemezpozícióban) pipetázza manuálisan (50–100 µL / cella) minden, használatban lévő megfelelő mintacellába.

13. A mintát tartalmazó cellákba adjon 4 µL Poly(A)RNA-t, 10 µL Proteinase K-t, majd 300 µL Lysis Buffer 1-et. Lehetőség van előkeverni a Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et (válassza ki a megfelelő mennyiségű Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et, hogy biztosítsa az izolálások számához elegendő mennyiséget).

**MEGJEGYZÉS: A PROTEINASE K-AKTIVITÁS CSÖKKEN 10 PERCNÉL HOSSZABB, LYSIS BUFFER 1-BEN TÖRTÉNŐ INKUBÁLÁS UTÁN. FIGYELJEN RÁ, HOGY EZEN AZ IDŐN BELÜL MINDEN MINTA ÖSSZE LEGYEN KEVERVE POLY(A)RNA-VAL / PROTEINASE K-VAL / LYSIS BUFFER 1-GYEL.**

14. Helyezze a lemezeket a chemagic™ QA szoftver utasításai szerint a tracking systemre.

15. Helyezze a mintalemezt a tracking system 3. pozíciójába.
16. Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését.
17. Csupkja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

Automatizált DNS/RNS-extrakció a chemagic™ 360-D készüléken (31 perces protokoll):

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
		Válassza ki a „ <b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b> ” protokollt a csövek átmosásához az automatizált extrakciós futtatás megkezdése előtt. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait, és indítsa el az öblítést az [OK] gombbal.
		Az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók használatakor válassza ki a „ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che</b> ” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.  Töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
1	Tálca Disposable Tipsszel	A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze el a tálcát a Disposable Tipsszel.  <b>MEGJEGYZÉS: A HEGYEKNEK TELJES SOROKBAN KELL MEGJELENNIÜK A TÁLCÁN.</b>
2	Low well plate 150 µL Magnetic Beadsszel	Pipettázza a reszuszpendált Magnetic Beadset minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze be a lemezt.
3	Mintalemez (Deep well plate)	Helyezze be a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A)RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1). A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
4	Üres	-
5	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.
6	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	Deep well plate 50–100 µL Elution Buffer 6-tal	Pipetázzon (50–100 µL) Elution Buffer 6-ot minden egyes használt cellába a minta pozícióinak megfelelően, és helyezze be a lemezt.
		Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését. Miután az összes lemez a helyére került, nyomja meg az [OK] gombot.  Csukja be az első ajtót, és indítsa el azonnal az DNS/RNS-extrakciós folyamatot a [Start] gombbal. Ezt követően a mintalizátum automatikusan összekeveredik.  Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, töltsen be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba. Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che</b> ” protokollt, jelölje meg a párbeszédpanelen a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.

A tracking systemen lévő számok a chemagic™ 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Az izolációs eljárás befejezése után használja a [Turn Table] gombot a tracking system eltávolításához. A [Turn Table] gombra kattintás a tracking systemet (asztalt) az óramutató járásával megegyező irányban egy pozícióval elmozdítja.

**MEGJEGYZÉS: SOHA NE MOZGASSA A TRACKING SYSTEMET (ASZTALT) KÉZZEL. EZ KÁRT OKOZHAT A KÉSZÜLÉKBEN. MINDEN MOZGÁST A [TURN TABLE] FUNKCIÓVAL KELL VÉGREHAJTANI.**

### **ELJÁRÁSI MEGJEGYZÉS 31 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2 IZOLÁTUMMAL TESZTELVE)**

1. A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sikeres használatához alaposan ismerni kell ezt a csomagolásban található tájékoztatót és a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvet. A készlethez mellékelt reagensek egy egységként való használatra szolgálnak. Ne keverjen különböző tételszámú készletekből származó azonos reagenseket.
2. Ne használjon készletreagenseket a készlet címkéjén feltüntetett lejárat dátum után. Felbontás után a reagensek az IFU reagenslistájában megadott ideig használhatók.
3. A protokolltól való bármilyen eltérés befolyásolhatja az eredményeket.
4. A reagenseket a rendszer automatikusan egész sorokban adagolja, ezért a hegyfedelelet (Disposable Tips) egész sorokban is kell használni minden egyes reagensoldattal érintkező rúdon. Azt is meg kell jegyezni, hogy részleges lemezek futtatásakor előfordulhat, hogy az oldatok nem elegendőek a 960 extrakcióhoz.
5. Ha kinyitja a chemagic™ 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.
6. A rendszer tisztítása és karbantartása a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvben van részletesen leírva.
  - a. A rendszer tisztítása hetente egyszer történik: Tisztítsa meg a chemagic™ Dispensert. Válassza ki a „**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy a [Start] gombot, ha a továbbfejlesztett funkciók ki vannak kapcsolva. Kövesse a szoftver utasításait.
  - b. A chemagic™ Dispenser következő használata előtt hajtsa végre a megfelelő feltöltési protokollt.

- c. Havonta egyszer ajánlott a chemagic™ Dispenser tisztítása 70%-os etanollal. Ehhez egyszerűen használja az „**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” eljárást a szokásos helyett.
- d. Ha a chemagic™ Dispensert hosszabb ideig nem használják, a készülék újra üzembe helyezésekor kötelező elvégezni a „rendszeres tisztítási eljárást” a készülék teljesítményének fenntartása érdekében.

## **TELJESÍTMÉNY-MEGJEGYZÉS 31 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2 IZOLÁTUMMAL TESZTELVE)**

A 60 perces protokoll és a 31 perces protokoll összehasonlítása érdekében az extrakciókat az AccuPlex™ SARS-CoV-2 Reference Material (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) segítségével végeztük. Mintaanyagként az eNAT™ gyűjtőeszközök (Copan Italia S.p.A.) szállítóközegébe tűskésítve. A qPCR teljesítményét az EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR-rel (EUROIMMUN, egy PerkinElmer® cég; a készletet a gyártó utasításai szerint használták) tesztelték QuantStudio™ 5 Real-Time PCR rendszeren (96-well, 0,2 mL, asztali, Applied Biosystems™, A28574). A SARS-CoV-2 31 perces protokollja („**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**”) lehetőséget ad a felhasználóknak, hogy megháromszorozzák napi COVID-tesztelési kapacitásukat. Ez a rövidebb protokoll a chemagic™ 360-D készüléken bármilyen módosítás vagy kalibrálás nélkül használható. A 60 perces standard protokollhoz képest csak 0,5–1 Ct-értékeltolódás tapasztalható. Így az érzékenység alig csökken, bár hatalmas futásideji és hatékonyságelőnyökkel jár.

## **ELJÁRÁS 18 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2-IZOLÁCIÓVAL TESZTELVE)**

Extrakciós protokoll a chemagic™ 360-D készülékkel.

Az automatizált extrakciós protokoll időtartama körülbelül 18 perc.

A protokoll akár 96 minta párhuzamos feldolgozására is alkalmas (lásd alább „A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN” című részt). A chemagic™ 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvét.

A mintákat és a reagenseket használat előtt szobahőmérsékletre (+19 és +25 °C között) kell hozni. Csatlakoztassa a reagenstartályokat a chemagic™ 360-D készülékhez az alábbiak szerint:

Szivattyú 1: Nincs tartály csatlakoztatva

Szivattyú 2: Binding Buffer 2

Szivattyú 3: Nincs tartály csatlakoztatva

Szivattyú 4: Wash Buffer 4

Szivattyú 5: Wash Buffer 5

Szivattyú 6: Nincs tartály csatlakoztatva

**MEGJEGYZÉS: KÖZVETLENÜL HASZNÁLAT UTÁN SZOROSAN ZÁRJA VISSZA A TARTÁLYOKAT, VAGY TARTSA SZOROSAN A CHEMAGIC™ 360-D KÉSZÜLÉKHEZ CSATLAKOZTATVA. A BINDING BUFFER 2 ÉS A WASH BUFFER 4 ETANOLT TARTALMAZ. HA AZ ETANOL ELPÁROLOG, NEM GARANTÁLHATÓ AZ OPTIMÁLIS TELJESÍTMÉNY VAGY A DETEKTÁLÁSI ÉRZÉKENYSÉG.**

## A FOLYAMAT LÉPÉSEI RÉSZLETESEN

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket a pozícióban lévő anyaggal (minták, Magnetic Beads és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A)RNA komponenseket.
  - Proteinase K: Adjon hozzá 11 mL molekuláris biológiai minőségű vizet a Proteinase K tartályhoz, és óvatosan keverje, amíg fel nem oldódik.
  - Poly(A)RNA: Adjon hozzá 440 µL Poly(A)RNA puffert a Poly(A)RNA csőhöz, és keverje alaposan, amíg fel nem oldódik.
4. Ha a Lysis Buffer 1 csapadékot tartalmaz (az átvitel vagy tárolás során keletkezett), az oldatot 50–60 °C-ra kell melegíteni, és alaposan össze kell keverni, amíg az oldat tiszta nem lesz. A Lysis Buffer 1 tisztaságát használat előtt mindig szemrevételezéssel kell ellenőrizni.
5. Töltse be és töltse fel a chemagic™ 360-D csöveket reagensekkel a „**prime manifolds H96 all 360 V150116.che**” protokoll kiválasztásával. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftverben megadott utasításokat, majd az [OK] gomb megnyomásával indítsa el az alapozást. Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, indítsa el a feltöltést közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával. A feltöltést akkor kell elvégezni, amikor a reagenstartályokat először csatlakoztatják a chemagic™ 360-D készülékhez, vagy ha a készülék csövei még nincsenek feltöltve a fent említett reagensekkel.
6. Ha nincs szükség feltöltésre, válassza ki a „**check manifolds 1 – 6 H96 all 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy – ha a bővített funkciók ki vannak kapcsolva – a [Start] gombot. Az egyes szivattyúk kis mennyiségű puffert adagolnak egymás után, kezdve az alkalmazáshoz használt első szivattyúval. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Ha az egyik szivattyú nem minden fúvókán keresztül adagolja a puffert, kérjük, használja az adott szivattyúhoz tartozó feltöltési protokollt. Napi többszöri futtatás esetén a szivattyúkat csak egyszer, a nap elején kell ellenőrizni.
7. Válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**” protokollt, nyomja meg az [Insert IDs] gombot, és kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait.
8. A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze a hegytálcát a tracking system 1. pozíciójába.



9. Ellenőrizze a puffertartályok töltöttségét, és erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.

**MEGJEGYZÉS: ÜGYELJEN ARRA, HOGY MINDEN PUFFERTARTÁLY ELEGENDŐ PUFFERT TARTALMAZZON. CSAK AKKOR LEHET 96 IZOLÁCIÓT VÉGREHAJTANI, HA AZ ÖSSZES PUFFER FOLYADÉKSZINTJE 125 mL FELETT VAN.**

10. Válassza ki az előtöltendő minták számát a legördülő menü segítségével. A minták elhelyezésének sémája a kiválasztás után jelenik meg. Ügyeljen a megadott pozíciók használatára. Erősítse meg az [OK] gomb megnyomásával.

11. Töltsön előzetesen 300 µL mintát a mintalemez kiválasztott celláiba. A minták homogenitásának biztosítása érdekében óvatosan keverje össze a mintákat, mielőtt a mintalemezre pipettázza.

**MEGJEGYZÉS: A SZÁRÍTOTT TAMPONOKBÓL SZÁRMAZÓ MINTAANYAGOT FELHASZNÁLÁS ELŐTT FOLYÉKONNYÁ KELL TENNI.**

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beadset a mintapozícióknak megfelelően:

- A Magnetic Beadset (a chemagic™ 360-D készüléken a 2. lemezpozícióban) alaposan összekeverve és manuálisan pipettázva (150 µL / cella) van reszuszpendálva minden megfelelő mintacellába.

**MEGJEGYZÉS: A MAGNETIC BEAD SZUSZPENZIÓT ERŐSEN EL KELL KEVERNI AZ ADAGOLÁS ELŐTT; EGYÉBKÉNT A SZUSZPENZIÓ NEM HOMOGEN ÉS A DNS/RNS MENNYISÉGE ALACSONY LEHET.**

- Az Elution Buffer 6-ot (a chemagic™ 360-D készüléken a 7. lemezpozícióban) pipettázza manuálisan (50–100 µL / cella) minden, használatban lévő megfelelő mintacellába.

13. A mintát tartalmazó cellákba adjon 4 µL Poly(A)RNA-t, 10 µL Proteinase K-t, majd 300 µL Lysis Buffer 1-et. Lehetőség van előkeverni a Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et (válassza ki a megfelelő mennyiségű Poly(A)RNA-t, a Proteinase K-t és a Lysis Buffer 1-et, hogy biztosítsa az izolálások számához elegendő mennyiséget).

**MEGJEGYZÉS: A PROTEINASE K-AKTIVITÁS CSÖKKEN 10 PERCNÉL HOSSZABB, LYSIS BUFFER 1-BEN TÖRTÉNŐ INKUBÁLÁS UTÁN. FIGYELJEN RÁ, HOGY EZEN AZ IDŐN BELÜL MINDEN MINTA ÖSSZE LEGYEN KEVERVE POLY(A)RNA-VAL / PROTEINASE K-VAL / LYSIS BUFFER 1-GYEL.**

14. Helyezze a lemezeket a chemagic™ QA szoftver utasításai szerint a tracking systemre.

15. Helyezze a mintalemezt a tracking system 3. pozíciójába.
16. Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését.
17. Csupkja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

Automatizált DNS/RNS-extrakció a chemagic™ 360-D készüléken (18 perces protokoll):

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
		Válassza ki a „ <b>check manifolds H96 all 360 V150116.che</b> ” protokollt a csövek átmosásához az automatizált extrakciós futtatás megkezdése előtt. Nyomja meg az [Insert IDs] gombot, kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait, és indítsa el az öblítést az [OK] gombbal.
		Az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók használatakor válassza ki a „ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che</b> ” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic™ QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.  Töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
1	Tálca Disposable Tipsszel	A minták helyzetének megfelelően használjon Disposable Tipset, és helyezze el a tálcát a Disposable Tipsszel.  <b>MEGJEGYZÉS: A HEGYEKNEK TELJES SOROKBAN KELL MEGJELENNIÜK A TÁLCÁN.</b>
2	Low well plate 150 µL Magnetic Beadsszel	Pipettázza a reszuszpendált Magnetic Beadset minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze be a lemezt.
3	Mintalemez (Deep well plate)	Helyezze be a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A)RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1). A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
4	Üres	-
5	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.
6	Deep well plate	Helyezzen be üres lemezt. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	Deep well plate 50–100 µL Elution Buffer 6-tal	Pipetázzon (50–100 µL) Elution Buffer 6-ot minden egyes használt cellába a minta pozícióinak megfelelően, és helyezze be a lemezt.
		Ellenőrizze az összes lemez pontos tájolását és illeszkedését. Miután az összes lemez a helyére került, nyomja meg az [OK] gombot.  Csukja be az első ajtót, és indítsa el azonnal az DNS/RNS-extrakciós folyamatot a [Start] gombbal. Ezt követően a mintalizátum automatikusan összekeveredik.  Ha az azonosítóadatok bevitelét lehetővé tevő funkciók ki vannak kapcsolva, töltsse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba. Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „ <b>chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che</b> ” protokollt, jelölje meg a párbeszédpanelen a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.

A tracking systemen lévő számok a chemagic™ 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Az izolációs eljárás befejezése után használja a [Turn Table] gombot a tracking system eltávolításához. A [Turn Table] gombra kattintás a tracking systemet (asztalt) az óramutató járásával megegyező irányban egy pozícióval elmozdítja.

**MEGJEGYZÉS: SOHA NE MOZGASSA A TRACKING SYSTEMET (ASZTALT) KÉZZEL. EZ KÁRT OKOZHAT A KÉSZÜLÉKBEN. MINDEN MOZGÁST A [TURN TABLE] FUNKCIÓVAL KELL VÉGREHAJTANI.**

### **ELJÁRÁSI MEGJEGYZÉS 18 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2 IZOLÁTUMMAL TESZTELVE)**

1. A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 sikeres használatához alaposan ismerni kell ezt a csomagolásban található tájékoztatót és a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvet. A készlethez mellékelte reagensek egy egységként való használatra szolgálnak. Ne keverjen különböző tételszámú készletekből származó azonos reagenseket.
2. Ne használjon készletreagenseket a készlet címkéjén feltüntetett lejárat dátum után. Felbontás után a reagensek az IFU reagenslistájában megadott ideig használhatók.
3. A protokolltól való bármilyen eltérés befolyásolhatja az eredményeket.
4. A reagenseket a rendszer automatikusan egész sorokban adagolja, ezért a hegyfedeleket (Disposable Tips) egész sorokban is kell használni minden egyes reagensoldattal érintkező rúdon. Azt is meg kell jegyezni, hogy részleges lemezek futtatásakor előfordulhat, hogy az oldatok nem elegendőek a 960 extrakcióhoz.
5. Ha kinyitja a chemagic™ 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.
6. A rendszer tisztítása és karbantartása a chemagic™ 360-D felhasználói kézikönyvben van részletesen leírva.
  - a. A rendszer tisztítása hetente egyszer történik: Tisztítsa meg a chemagic™ Dispensert. Válassza ki a „**regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] vagy a [Start] gombot, ha a továbbfejlesztett funkciók ki vannak kapcsolva. Kövesse a szoftver utasításait.
  - b. A chemagic™ Dispenser következő használata előtt hajtsa végre a megfelelő feltöltési protokollt.
  - c. Havonta egyszer ajánlott a chemagic™ Dispenser tisztítása 70%-os etanollal. Ehhez egyszerűen használja az „**intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che**” eljárást a szokásos helyett.

- d. Ha a chemagic™ Dispensert hosszabb ideig nem használják, a készülék újra üzembe helyezésekor kötelező elvégezni a „rendszeres tisztítási eljárást” a készülék teljesítményének fenntartása érdekében.

## TELJESÍTMÉNY-MEGJEGYZÉS 18 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2 IZOLÁTUMMAL TESZTELVE)

A 60 perces protokoll és a 18 perces protokoll összehasonlítása érdekében az extrakciókat az AccuPlex™ SARS-CoV-2 Reference Material (<https://www.seracare.com/AccuPlex-SARSCoV2-Reference-Material-Kit-0505-0126/>) segítségével végeztük. Mintaanyagként az eNAT™ gyűjtőeszközök (Copan Italia S.p.A.) szállítóközegébe tuskésítve. A qPCR teljesítményét az EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR-rel (EUROIMMUN, egy PerkinElmer® cég; a készletet a gyártó utasításai szerint használták) tesztelték QuantStudio™ 5 Real-Time PCR rendszeren (96-well, 0,2 mL, asztali, Applied Biosystems™, A28574). A SARS-CoV-2 18 perces protokollja („chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che”) lehetőséget ad a felhasználóknak, hogy megháromszorozzák napi COVID-tesztelési kapacitásukat. Ez a rövidebb protokoll módosítás vagy kalibrálás nélkül használható a chemagic™ 360-D készüléken, azonban a chemagic™ szoftver Parameter Settings alatt található X-offset Bead Collection funkciót a PerkinElmer® szervizmérnökének le kell tiltania. Ha az X-offset Bead Collection engedélyezve van, az extrakciós művelet időtartama 21 percre hosszabbodik. A 60 perces standard protokollhoz képest csak 0,5–1 Ct-értékeltolódás következik be. Így az érzékenység alig csökken, bár hatalmas futásideji és hatékonyságelőnyökkel jár.

## SARS-COV-2 EXTRAKCIÓVAL TESZTELT DOWNSTREAM ALKALMAZÁSOK

A következő downstream alkalmazásokat a SARS-CoV-2 mintáknak a chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (CMG-1033-S) segítségével történő izolálása után sikeresen elvégezték és az irodalomban leírták.

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
RT-qPCR	TaqPath COVID-19 Combo Kit (Applied Biosystems™)	Barrett <i>et al.</i> BMC Infectious Diseases (2020) 20:853 <a href="https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2">https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2</a>
		Radbel <i>et al.</i> Journal of Molecular Diagnostics (2020) Volume 22, Issue 7, 871-875 <a href="https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209">https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209</a>

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
RT-qPCR	SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ TaqDNA Polymerase (ThermoFisher)	Streeck <i>et al.</i> <i>Nat Commun</i> (2020) <b>11</b> , 5829 <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y">https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y</a>
	virella SARS-CoV-2 seqc rRT-PCR kit (Gerbion)	Wandernoth <i>et al.</i> <i>Viruses</i> (2020) 12:849 <a href="https://doi:10.3390/v12080849">https://doi:10.3390/v12080849</a>
	2019-nCoV CDC EUA Kit (IDT)	Xie <i>et al.</i> <i>Processes</i> (2020) <b>8</b> (11), 1425 <a href="https://doi.org/10.3390/pr8111425">https://doi.org/10.3390/pr8111425</a>
	SARS-CoV-2 real-time RT-PCR assay CE-IVD (PerkinElmer®)	Klussmeier <i>et al.</i> <i>Biospektrum</i> (2020) <b>26</b> , 500-503 <a href="https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1">https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1</a>
	NeoPlex COVID-19 kit (Gene Matrix)	Senok <i>et al.</i> <i>Infect Drug Resistance</i> (2020) <b>13</b> , 3393-3399 <a href="https://doi.org/10.2147/IDR.S275152">https://doi.org/10.2147/IDR.S275152</a>
	NxTAG® Respiratory Pathogen Panel (Luminex Corporation), Fast Virus 1-Step Master Mix (ThermoFisher)	Kanji <i>et al.</i> <i>Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada</i> (2021) <b>1</b> , 10-15 <a href="https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035">https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035</a>
	1) TRUPCR SARS-CoV-2 (Black Bio Biotech) 2) TaqPath RT-PCR COVID-19 Kit (ThermoFisher) 3) Allplex 2019-nCOV Assay (Seegene) 4) Patho detect COVID-19 qualitative PCR kit (My Lab) 5) LabGun COVID-19 RT-PCR Kit 6) Fosun COVID-19 RT-PCR detection kit (Fosun Ltd) 7) Realtime Fluorescent RT-PCR kit (BGI Genomics)	Garg <i>et al.</i> <i>Journal of Medical Virology</i> (2021) <b>93</b> , 2281-2286 <a href="https://doi.org/10.1002/jmv.26691">https://doi.org/10.1002/jmv.26691</a>
	Ligh™ix® Sarbeco V E-gene plus EAV control (TIB MolBiol) LightCycler® Multiplex RNA Virus Master (Roche)	Kriegshäuser <i>et al.</i> <i>Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)</i> (2021) <b>9</b> , 351-353 <a href="https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078">https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078</a>

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

## TOVÁBBI KÉRDÉSEK

További alkalmazásokkal, műszaki kérdésekkel vagy az adatok előállítási módjával kapcsolatos további információt a [support.chemagen@Perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@Perkinelmer.com) címen vagy a +49 0 2401805500 telefonszámon kaphat.

## ELJÁRÁSI KORLÁTOZÁSOK

A következő gyűjtőeszközök **nem ajánlottak** a chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 készlettel való használatra, további kérdéseit a [support.chemagen@perkinelmer.com](mailto:support.chemagen@perkinelmer.com) címre küldheti.

Leírás	Márkanév	Referenciaszám
Inaktivált vírusmintavevő cső (10 mL), amely 3 mL tartósítóközeget (inaktivált) tartalmaz, 1x orofaringeális tampon, műselyemmel.	Biocomma Limited	YMJ-TE
Virus collection and preservation system inactivated	Jiangsu Kangjian Medical Apparatus Co., Ltd.	KJ502-19C/D

Ennek a terméknek a teljesítményjellemzőit nem állapították meg.

Egyes esetekben Magnetic Beads nyomai maradhatnak az eluátumban. Bár az ilyen részecskék általában nem zavarják a PCR-t vagy a legtöbb downstream alkalmazást, a részecskék nyomainak elkülönítése érdekében ajánlott egy további szeparációs lépés elvégzése centrifugálással vagy mágneses szeparátorral (chemagic™ Stand 96, a chemagic™ 360 96 Rod Head Sethez mellékelve, termékszám CMG-370).

A kivont DNS-t/RNS-t az extrakció után azonnal fel kell használni a kívánt *in vitro* diagnosztikai tesztben.

## GARANCIA

Az eljárásnak a gyártó által nem javasolt bármilyen változtatása vagy módosítása befolyásolhatja az eredményeket, ebben az esetben a PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH és leányvállalatai elhárítanak minden kifejezett, hallgatólagos vagy törvényes garanciát, beleértve az eladhatóságra és a használatra való alkalmasságra vonatkozó hallgatólagos garanciát.

A PerkinElmer® chemagen Technologie GmbH, annak leányvállalatai és meghatalmazott forgalmazói ilyen esetben nem felelnek a közvetett vagy következményes károkért.

2022. szeptember