

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96

Termékszám: IVD-1033-S

Reagens 960 extrakcióhoz

UDI-DI: 4260543364151

Verzió: V240502 HU

Gyártó: Revvity chemagen Technologie GmbH
Arnold-Sommerfeld-Ring 2
52499 Baesweiler, Németország
www.revvity.com

CE

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA.

1. TARTALOMJEGYZÉK

1. Tartalomjegyzék	1
2. A jelen használati utasításban szereplő figyelmeztetések magyarázata	3
3. A használati utasításban és a címkéken használt szimbólumok	3
4. Javasolt felhasználás.....	5
5. Összefoglalás és működési elv.....	5
6. Események jelentése.....	6
7. Általános és tárolási információk	7
8. Elektronikus használati utasítás.....	8
9. Figyelmeztetések és óvintézkedések	8
10. A készlet reagensei és biztonsági információk	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. Elution Buffer 6	14
10.8. Proteinase K	15
10.9. Poly(A) RNA	16
10.10. Poly(A) RNA Buffer	16
10.11. A készlet további komponensei	17
11. Szükséges protokollok dokumentumai	18
12. Szükséges, de a készlethez nem mellékelte anyagok.....	19
12.1. A Revvity chemagen Technologie GmbH-től származó tételek	19
12.2. További szükséges tételek.....	19
12.3. További választható tételek a Revvity chemagen Technologie GmbH-től	19
12.4. Egyéb opcionális tételek	19
13. Mintavétel és -kezelés	20
14. A 60 perces protokoll részletes leírása	21
14.1. Eljárás 60 perces protokoll (különböző minták)	21
14.2. A feldolgozás lépései	22
14.3. Rövid leírás / Gyors útmutató	25
15. Teljesítményjellemzők	28
15.1. LoD a chemagic 360-D extrakciós készülék és az Applied Biosystems™ 7500 PCR rendszer használatával	28




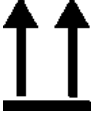






15.2.	LoD ellenőrzése a chemagic 360-D extrakciós készülék és az Applied Biosystems 7500 PCR rendszer használatával	29
15.3.	LoD-ellenőrzés chemagic 360-D készülék és alternatív PCR-rendszerek használatával (PCR-rendszerek egyenértékűsége)	31
15.4.	LoD-ellenőrzés nyálmátrix háttérben	33
15.5.	LoD – Analitikai szenzitivitás különböző PCR-re	33
16.	A 31 perces protokoll részletes leírása	35
16.1.	Eljárás 31 perces protokoll (csak SARS-CoV-2-izolációval tesztelve)	35
16.2.	A feldolgozás lépései	36
16.3.	Rövid leírás / Gyors útmutató	39
16.4.	Megjegyzések a 31 perces protokollhoz (csak SARS-CoV-2-izolálással tesztelték)	42
17.	A 18 perces protokoll részletes leírása	43
17.1.	Eljárás 18 perces protokoll (csak SARS-CoV-2-izolációval tesztelve)	43
17.2.	A feldolgozás lépései	44
17.3.	Rövid leírás / Gyors útmutató	47
17.4.	Teljesítmény-megjegyzés 18 perces protokoll (csak SARS-CoV-2 izolátummal tesztelve)	50
18.	Tisztítás és karbantartás	50
19.	Downstream alkalmazás	51
19.1.	SARS-COV-2 extrakcióval tesztelt downstream alkalmazások	51
19.2.	Downstream alkalmazás SARS-CoV-2, influenza A és B és RSV extrakcióval tesztelve	54
20.	További kérdések	55
21.	Eljárási korlátozások	55
22.	Garancia	56

2. A JELEN HASZNÁLATI UTASÍTÁSBAN SZEREPLŐ FIGYELMEZTETÉSEK MAGYARÁZATA

Figyelmeztetés	Leírás
VIGYÁZAT!	Olyan veszélyhelyzetet jelöl, amely bekövetkezése esetén könnyű vagy közepesen súlyos károsodást okozhat.
FIGYELEM!	A szakszerűtlen kezelés károsíthatja a készüléket.
MEGJEGYZÉS:	A kezelő által elkövetett hibák esetén a készlet optimális teljesítménye nem garantálható.

3. A HASZNÁLATI UTASÍTÁSBAN ÉS A CÍMKÉKEN HASZNÁLT SZIMBÓLUMOK

Jel	Jelmagyarázat	Jel	Jelmagyarázat
	CE-jelölés európai megfelelés		Hőmérsékleti határ
	<i>In vitro</i> orvostechnikai eszköz		<n> tesztre elegendőt tartalmaz.
	Olvassa el a használati utasítást vagy az elektronikus használati utasítást		Mennyiség
	Gyártó		Ne használja fel újra
	Tételszám		Fordítás

Jel	Jelmagyarázat	Jel	Jelmagyarázat
	Katalógusszám		Lejárat dátuma
	Ne használja, ha a csomagolás sérült, és olvassa el a használati utasítást		Erre van a teteje
	GHS02		GHS08
	GHS05		Veszélyes áruk: 3. osztály Tűzveszélyes folyadékok
	GHS07		Veszélyes áruk: 8. osztály Korrozív anyagok

A chemagic™ a Revvity chemagen Technologie GmbH védjegye.

4. JAVASOLT FELHASZNÁLÁS

A chemagic™ Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (IVD-1033-S) DNS és RNS automatizált izolálására és tisztítására szolgál humán plazmából, nyálból és nazo- vagy orofaringeális tamponmintákból *in vitro* diagnosztikai célokra.

A terméket a chemagic™ 360-D készüléken kell használni, és olyan laboratóriumi dolgozók használhatják, akiket kiképeztek a chemagic 360-D készülék használatára a chemagic nukleinsavtisztító készletekkel. A készletet olyan IVD downstream alkalmazáshoz tervezték, amely enzimatikus amplifikációt és DNS és RNS kimutatást alkalmaz (például PCR, RT-PCR, NGS).

További információért olvassa el a jelen dokumentum „A KÉSZLET REAGENSEI ÉS BIZTONSÁGI információk” és „FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK” szakaszait.

5. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MŰKÖDÉSI ELV

A chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a Revvity chemagen Technologie GmbH saját magnetic bead technológiai platformján alapul. A plazmában, szérumban és nazo- vagy orofaringeális mintában lévő sejteket vagy egyéb DNS- és 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 szennyeződések eltávolítják, és a tisztított nukleinsavakat egy elúciós pufferbe juttatják. Az automatizált mintafeldolgozás a chemagic 96 Rod Head Settel ellátott chemagic 360-D-vel vagy azzal egyenértékű készülékkel történik.

Annak érdekében, hogy minimalizálják a diagnosztikai eredményekben megjelenő szabálytalanságokat, a terméket a megfelelő kontrollokkal együtt kell használni a minta-előkészítés, a mintaamplifikáció és a detektálás folyamata során, az alkalmazott downstream vizsgálatnak megfelelően.

6. ESEMÉNYEK JELENTÉSE

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, a Revvity chemagen Technologie GmbH-nak a következő elérhetőségek valamelyikén:

+49 (0) 2401805500, support.chemagen@revvity.com, vagy a gyártó jogi képviselőinek.

Németországban az illetékes hatóság a Szövetségi Gyógyszerügyi és Orvostechnikai Intézet (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM). Az aktuális elérhetőségek a BfArM weboldalán találhatóak: <https://www.bfarm.de>.

7. ÁLTALÁNOS ÉS TÁROLÁSI INFORMÁCIÓK

A készlet 960 extrakció elvégzéséhez elegendő reagenst tartalmaz.

A bontatlan készlet lejárat 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 az alábbi reagenslistában adjuk meg, minden komponensre külön-külön („A KÉSZLET REAGENSEI ÉS BIZTONSÁGI információk” fejezet).

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.

MEGJEGYZÉS: Használat után azonnal szorosan zárja vissza a tartályokat, hogy megakadályozza a párolgást.

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

Egyes esetekben Magnetic Beads nyomain 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).

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

Ebben a használati utasításban a chemagic 360-D felhasználói kézikönyvére hivatkozunk. Ezt a kézikönyvet mellékeljük a chemagic 360-D készülékhez.

A készlethez kapcsolódó protokollfájlok elérhetők a weboldalon, vagy az ügyfélszolgálat biztosítja azokat (lásd a „SZÜKSÉGES PROTOKOLLOK DOKUMENTUMAI” szakaszban).

8. 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 elektronikus használati utasítást legalább angol (EN), francia (FR), spanyol (ES) és olasz (IT) nyelven, valamint kérésre más kívánt nyelveken is rendelkezésre bocsátjuk.

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

9. FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

In vitro diagnosztikai használatra.

A terméket olyan laboratóriumi dolgozók használhatják, akiket kiképeztek a chemagic 360-D készülék használatára a chemagic nukleinsavtisztító készletekkel.

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.

Ne használjon készletreagenseket a készlet címkéjén feltüntetett lejárat dátum után. Felbontás után a reagensek az IFU reagenslistájában megadott ideig használhatók.

A protokolltól való bármilyen eltérés befolyásolhatja az eredményeket.

A reagenseket a rendszer automatikusan egész sorokban adagolja, ezért az eldobható hegyeket a chemagic Tips 96 Tray tálcán szintén egész sorokban 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.

Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.

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, proteínázt tartalmaz, és bőrirritációt és súlyos szemirritációt okoz, belélegezve allergiás vagy asztmás tüneteket vagy légzési nehézségeket és légúti irritációt okozhat. A Poly(A) RNA Buffer guanidinium-tiocianátot tartalmaz, és lenyelve vagy belélegezve káros. Lásd az összes komponensre vonatkozó, különleges óvintézkedéseket a „A KÉSZLET REAGENSEI ÉS BIZTONSÁGI információk” 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), amelyek a weboldalunkon elérhetők.

Kövesse az etanolos oldatok kezelésére vonatkozó helyi előírásokat.

Minden hulladékot a helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

10. A KÉSZLET REAGENSEI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

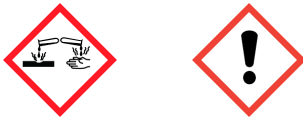
A chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a következő reagenseket tartalmazza:

10.1. MAGNETIC BEADS

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Magnetic Beads	1 üveg (a térfogatot lásd 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.

10.2. LYSIS BUFFER 1

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
 Lysis Buffer 1 VESZÉLY	1 üveg (a térfogatot lásd 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 Buffer 1-et a mintában lévő sejtek vagy más DNS/RNS-források lízisére használják annak érdekében, hogy a DNS/RNS oldatba kerüljön.

VIGYÁZAT! Lysis Buffer 1 guanidinium-tiocianátot tartalmaz.



Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

H302+H312	Lenyelve vagy bőrrel érintkezve ártalmas.
H314	Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz!

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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 (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.

10.3. BINDING BUFFER 2

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Binding Buffer 2   VESZÉLY	1 tartály (a térfogatot lásd 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.

VIGYÁZAT! A Binding Buffer 2 etanolt és nátrium-perklorátot tartalmaz.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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 (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!

10.4. WASH BUFFER 3

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Wash Buffer 3  VESZÉLY	1 üveg (a térfogatot lásd 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.

VIGYÁZAT! A Wash Buffer 3 etanolt és nátrium-perklorátot tartalmaz.


Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

H225	Fokozottan tűzveszélyes folyadék és gőz.
P210	Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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 (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!

10.5. WASH BUFFER 4

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Wash Buffer 4 	1 üveg (a térfogatot lásd a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig. Felnyitás után 60 napig stabil +2 °C és +25 °C között.
VESZÉLY		

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

VIGYÁZAT! A Wash Buffer 4 etanolt tartalmaz.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

10.6. WASH BUFFER 5

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Wash Buffer 5	1 üveg (a térfogatot lásd 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 vízoldat. Az esetleges etanolmaradványok eltávolítására használják.

10.7. ELUTION BUFFER 6

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Elution Buffer 6	1 üveg (a térfogatot lásd 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.

10.8. PROTEINASE K

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Proteinase K   VESZÉLY	1 üveg (lyofilizált)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímken található lejárat dátumig. Helyreállítva 28 napig stabil +2 °C és +8 °C között.

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

VIGYÁZAT! A Proteinase K proteinázt, tritirakium-album-szerint és kalcium-acetát-hidrátot tartalmaz.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok


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!

10.9. POLY(A) RNA

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
Poly(A) RNA	10 cső (lyofilizált)	+2 °C és +25 °C között, a cső címkéjén található lejárat dátumig. Helyreállítva 30 napig stabil +2 °C és +8 °C között.

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

10.10. POLY(A) RNA BUFFER

Komponens	Mennyiség	Eltarthatóság és tárolás
 Poly(A) RNA Buffer	1 üveg (a térfogatot lásd a címkén)	+2 °C és +25 °C között, a tartálycímkén található lejárat dátumig.

FIGYELMEZTETÉS

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

VIGYÁZAT! A Poly(A) RNA Buffer guanidinium-tiocianátot tartalmaz.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

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.

Figyelmeztető, óvintézkedésre vonatkozó és EUH mondatok

P501 A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: veszélyes hulladékgyűjtőben!

EUH032 Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek.

10.11. A KÉSZLET TOVÁBBI KOMPONENSEI

A chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 a következő műanyagokat tartalmazza.

Komponens	Mennyiség	Tárolás
chemagic Tips 96 Tray	10	+2 °C és +25 °C között
chemagic Deep Well Plate 2 mL	50	+2 °C és +25 °C között
chemagic Low Well Plate	10	+2 °C és +25 °C között

11. SZÜKSÉGES PROTOKOLLOK DOKUMENTUMAI

A Revvity chemagen Technologie GmbH ügyfélszolgálat az alábbi protokollokat biztosítja, amelyek a weboldalon is elérhetők.

Protokoll (.che fájl)	Protokoll típusa / rendeltetése
chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che	A készlethez kapcsolódó extrakciós fájl a chemagic 360-D készülékhez (60 perces protokoll)
chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che	A készlethez kapcsolódó extrakciós fájl a chemagic 360-D készülékhez (31 perces protokoll)
chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che	A készlethez kapcsolódó extrakciós fájl a chemagic 360-D készülékhez (18 perces protokoll)
prime manifolds H96 all 360 V150116.che	A chemagic 360-D készülék csöveinek betöltése és feltöltése reagensekkel
check manifolds H96 all 360 V150116.che	A pumpák működésének ellenőrzése
regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che	A chemagic 360-D készülék rendszeres tisztítása (heti egyszer)
intensive cleaning procedure H96 dispenser 360 V150116.che	A chemagic 360-D készülék átfogó tisztítása (havi egyszer)

12. SZÜKSÉGES, DE A KÉSZLETHEZ NEM MELLÉKELT ANYAGOK

A chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 használatához a következő tételekre van szükség:

12.1. A REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH-TÓL SZÁRMAZÓ TÉTELEK

Tétel	Termékszám
chemagic 360-D készülék	2024-0010
chemagic 96 Rod Head Set	CMG-370

12.2. TOVÁBBI SZÜKSÉGES TÉTELEK

Tétel	Rendeltetés
Aeroszolzárral ellátott pipetták és pipettahegyek	Magnetic Beads, Elution Buffer 6, Proteinase K és Poly(A) RNA előtöltése
Molekuláris biológiai minőségű víz	Proteinase K rekonstitúciója
70%-os etanol	A chemagic 360-D készülék tisztítása

12.3. TOVÁBBI VÁLASZTHATÓ TÉTELEK A REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH-TÓL

Termék	Termékszám
chemagic Stand 96 (a chemagic 96 Rod Head Set készlet mellé biztosítva)	CMG-301

12.4. EGYÉB OPCIONÁLIS TÉTELEK

Termék	Rendeltetés
Izotóniás sóoldat, steril	A tamponon található anyag cseppfolyósítása használat előtt
Sarstedt-cső (katalógusszám 72.693 vagy 72.694)	Reakciócső a mintaanyag inaktiválásához

13. 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 inaktíválni kell. Ennek érdekében pipettázzon 4 µL Poly(A) RNA-t, 10 µL Proteinase K-t és 300 µL Lysis Buffer 1-et egy 2 mL-es Sarstedt-csőbe. Ha egynél több mintát dolgoznak fel inaktíválásra, 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. Keverje össze a cső többszöri megfordításával, minden egyes mintához mérjen 314 µL-t egy 2 mL-es Sarstedt-csőbe, majd adjon minden mintából 300 µL-t minden egyes csőhöz. zárja le a fedelet, és keverje össze 10 másodpercig tartó, pulzáló vortexeléssel. Inkubálja a csövet 68 °C-on 15 percig (\pm 2 perc) az inaktíváláshoz. Az inaktívált lizátumot az extrakciós protokoll 11. lépésében teljesen helyezze át a minta mély cellás lemezére, és folytassa a 12. lépéssel.

14. A 60 PERCES PROTOKOLL RÉSZLETES LEÍRÁSA

14.1. ELJÁRÁS 60 PERCES PROTOKOLL (KÜLÖNBÖZŐ MINTÁK)

Az alábbiakban ismertetjük az extrakciós protokoll előkészítését és végrehajtását 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 FELDOLGOZÁS lépései” című részt). A chemagic 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic 360-D felhasználói kézikönyvét.

MEGJEGYZÉS: 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	Puffer
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.

14.2. A FELDOLGOZÁS LÉPÉSEI

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket az egyes pozíciókban található anyaggal (minták, Magnetic Beads gyöngyök és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A) RNA komponenseket:

Komponens	Rekonstitúció
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 Buffer 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 csöveit 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.

MEGJEGYZÉS: 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 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. Bizonyosodjon meg arról, hogy a chemagic Tips 96 Tray tálca elegendő hegyet tartalmaz, és a minták pozícióinak megfelelően van illesztve, és helyezze a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking system 1-es 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 folyékonyvá kell tenni.

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöket kézi pipettázással az egyes használatban lévő megfelelő cellák szerint.

Komponens	A lemez pozíciója a chemagic 360-D készüléken	Térfogat / cella
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50–100 µL

MEGJEGYZÉS: A magnetic bead szuszpenziót erősen el kell keverni az adagolás előtt; egyébként a szuszpenzió nem homogén és a DNS/RNS mennyisége alacsony lehet.

13. Adja hozzá a következő reagenseket a mintát tartalmazó cellákhoz:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL Proteinase K, majd
- 300 µL Lysis Buffer 1.

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 chemagic Deep Well Plates 2 mL 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. Csupja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal.

18. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

19. 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

A készülék tisztításával kapcsolatos információkat a „TISZTÍTÁS ÉS KARBANTARTÁS” szakaszban találja.

14.3. RÖVID LEÍRÁS / GYORS ÚTMUTATÓ

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

- Válassza ki a „**check manifolds H96 all 360 V150116.che**” 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 „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.
- Töltse fel a lemezeket és a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking system 1–7. pozícióiban a következők szerint:
A tracking systemen lévő számok a chemagic 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
1	chemagic Tips 96 Tray	A minták pozícióinak megfelelően használjon eldobható hegyeket, és helyezze a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking systemre. MEGJEGYZÉS: A hegyeknek teljes sorokban kell megjelenniük a tálcán.
2	chemagic Low Well Plate 150 µL Magnetic Beads gyönggyel	Pipetázzon 150 µL alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöt minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze a lemezt a tracking systemre.
3	Mintalemez (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Helyezze a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1) a tracking systemre. A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.
4	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 3 automatikusan adagolódik a lemezbe.
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL 50–100 µL Elution Buffer 6 pufferrel	Pipetázzon (50–100 µL) Elution Buffer 6-ot minden egyes használt cellába a mintapozícióknak megfelelően, és helyezze a lemezt a tracking systemre.

- 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, töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
- Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling VD200617.che**” protokollt, a párbeszédpanelen jelölje meg a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.
- 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

15. TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Az extrakciós készlet és a Revvity SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay használata esetén (katalógusszám: COVID-19-PCR-AUS-C) az alábbi LoD (kimutatási határ) adatokat (lásd alább, a 15.1-15.4. szakaszokban) jelentették (az adatokat a Suzhou Sym-Bio Lifescience Co., Ltd. generálta, No. 115, North Taiping Road, Taicang, Jiangsu tartomány, Kína).

Ezen extrakciós készlet EURORealTime SARS-CoV-2 Real-time RT-PCR Assay (REF MP 2606-0110) teszttel való használatára vonatkozóan az alábbi LoD-adatokat (lásd alább, a 15.5. szakaszban) jelentette az EUROIMMUN (egy Revvity cég).

15.1. LOD A CHEMAGIC 360-D EXTRAKCIÓS KÉSZÜLÉK 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 Revvity 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 vírustól (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) szennyezett orofaringeális tamponminták felhasználásával a chemagic 360-D készüléken.

Probit előrejelzett 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 tamponminták használatával 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) szennyezett nazofaringeális tamponminták felhasználásával a chemagic 360-D készüléken.

Probit előrejelzett 95%-os detektálási arány (kópia/mL)	
N	ORF1ab
26,44 (95% CI: 18,34–69,51)	8,32 (95% CI: 5,83–20,69)

15.2. LOD ELLENŐRZÉSE A CHEMAGIC 360-D EXTRAKCIÓS KÉSZÜLÉK ÉS AZ APPLIED BIOSYSTEMS 7500 PCR RENDSZER HASZNÁLATÁVAL

A LoD-ellenőrzési vizsgálathoz az összevont negatív orofaringeális tamponmátrixot és az összevont negatív nazofaringeális tamponmátrixot inaktivált SARS-CoV-2 vírussal tűzdelték 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 Revvity 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 eredményei orofaringeális tampon használatával.

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 készülék LoD-ellenőrzési eredményei nazofaringeális tampon használatával.

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

15.3. LOD-ELLENŐRZÉS CHEMAGIC 360-D KÉSZÜLÉK ÉS ALTERNATÍV PCR-RENDSZEREK HASZNÁLATÁVAL (PCR-RENDSZEREK EGYENÉRTÉKŰSÉGE)

Vizsgálatot végeztek mesterséges klinikai nazofaringeális tamponminták felhasználásával, hogy kiterjeszthessék a Revvity 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)	

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

15.4. LOD-ELLENŐRZÉS NYÁLMÁTRIX HÁTTERÉBEN

A QuantStudio 5 készüléssel a nazofaringeális tamponmátrix háttérében (a fenti szakaszban leírt) meghatározott LoD-t (20 kópia/mL) ugyanezzel a készülékkel 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 készülékkel, és a QuantStudio 5 készülékkel amplifikáltuk azokat. 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-ellenőrzési eredményei nyál esetében.

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

15.5. LOD – ANALITIKAI SENZITIVITÁS 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 készülékkel 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

qTOWER³ 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 Detektálási arány
		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 ³	21	20	37,25	21	28,49	95%

16. A 31 PERCES PROTOKOLL RÉSZLETES LEÍRÁSA

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

Az alábbiakban ismertetjük az extrakciós protokoll előkészítését és végrehajtását 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 FELDOLGOZÁS lépései” című részt). A chemagic 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic 360-D felhasználói kézikönyvét.

MEGJEGYZÉS: 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	Puffer
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.

16.2. A FELDOLGOZÁS LÉPÉSEI

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket az egyes pozíciókban található anyaggal (minták, Magnetic Beads gyöngyök és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A) RNA komponenseket:

Komponens	Rekonstitúció
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 Buffer 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.

MEGJEGYZÉS: 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 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. Bizonyosodjon meg róla, hogy a chemagic Tips 96 Tray tálca elegendő hegyet tartalmaz, és a minták pozícióinak megfelelően van illesztve, és helyezze a chemagic Tips 96 Tray tálcat a tracking system 1-es 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 folyékonyvá kell tenni.

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöket kézi pipettázással az egyes használatban lévő megfelelő cellák szerint.

Komponens	A lemez pozíciója a chemagic 360-D készüléken	Térfogat / cella
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50–100 µL

MEGJEGYZÉS: A magnetic bead szuszpenziót erősen el kell keverni az adagolás előtt; egyébként a szuszpenzió nem homogén és a DNS/RNS mennyisége alacsony lehet.

13. Adja hozzá a következő reagenseket a mintát tartalmazó cellákhoz:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL Proteinase K, majd
- 300 µL Lysis Buffer 1.

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 chemagic Deep Well Plates 2 mL 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. Csupja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal.

18. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

19. 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

A készülék tisztításával kapcsolatos információkat a „TISZTÍTÁS ÉS KARBANTARTÁS” szakaszban találja.

16.3. RÖVID LEÍRÁS / GYORS ÚTMUTATÓ

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

- Válassza ki a „**check manifolds H96 all 360 V150116.che**” 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 „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.
- Töltse fel a lemezeket és a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking system 1–7. pozícióiban a következők szerint:
A tracking systemen lévő számok a chemagic 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
1	chemagic Tips 96 Tray	A minták pozícióinak megfelelően használjon eldobható hegyeket, és helyezze el a chemagic Tips 96 Tray tálcát. MEGJEGYZÉS: A hegyeknek teljes sorokban kell megjelenniük a tálcán.
2	chemagic Low Well Plate 150 µL Magnetic Beads gyönggyel	Pipetázzon 150 µL alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöt minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze a lemezt a tracking systemre.
3	Mintalemez (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Helyezze a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1) a tracking systemre. A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.
4	üres	-
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL 50–100 µL Elution Buffer 6-tal	Pipetázzon (50–100 µL) Elution Buffer 6-ot minden egyes használt cellába a mintapozícióknak megfelelően, és helyezze a lemezt a tracking systemre.

- 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, töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
- Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 31 min VD201008.che**” protokollt, jelölje meg a párbeszédpanelen a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.
- 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

16.4. MEGJEGYZÉSEK A 31 PERCES PROTOKOLLHOZ (CSAK SARS-COV-2-IZOLÁLÁSSAL TESZTELTÉK)

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 tükséítve. A qPCR teljesítményét az EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR-rel (EUROIMMUN, egy Revvity 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.

17. A 18 PERCES PROTOKOLL RÉSZLETES LEÍRÁSA

17.1. ELJÁRÁS 18 PERCES PROTOKOLL (CSAK SARS-COV-2-IZOLÁCIÓVAL TESZTELVE)

Az alábbiakban ismertetjük az extrakciós protokoll előkészítését és végrehajtását 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 FELDOLGOZÁS lépései” című részt). A chemagic 360-D készülék használatára vonatkozó részletes utasításokért tekintse meg a chemagic 360-D felhasználói kézikönyvét.

MEGJEGYZÉS: 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	Puffer
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.

17.2. A FELDOLGOZÁS LÉPÉSEI

1. Ellenőrizze a készlet összes komponensének integritását. Sérülés esetén forduljon a szállítójához.
2. A lemezek előtöltése előtt jelölje meg az egyes lemezeket az egyes pozíciókban található anyaggal (minták, Magnetic Beads gyöngyök és pufferek).
3. Állítsa helyre a Proteinase K és a Poly(A) RNA komponenseket:

Komponens	Rekonstitúció
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 Buffer 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 csöveit 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.

MEGJEGYZÉS: 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 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. Bizonyosodjon meg róla, hogy a chemagic Tips 96 Tray tálca elegendő hegyet tartalmaz, és a minták pozícióinak megfelelően van illesztve, és helyezze a chemagic Tips 96 Tray tálcat a tracking system 1-es 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 folyékonyvá kell tenni.

12. Töltse elő az Elution Buffer 6-ot és az alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöket kézi pipettázással az egyes használatban lévő megfelelő cellák szerint.

Komponens	A lemez pozíciója a chemagic 360-D készüléken	Térfogat / cella
Magnetic Beads	2	150 µL
Elution Buffer 6	7	50–100 µL

MEGJEGYZÉS: A magnetic bead szuszpenziót erősen el kell keverni az adagolás előtt; egyébként a szuszpenzió nem homogén és a DNS/RNS mennyisége alacsony lehet.

13. Adja hozzá a következő reagenseket a mintát tartalmazó cellákhoz:

- 4 µL Poly(A) RNA,
- 10 µL Proteinase K, majd
- 300 µL Lysis Buffer 1.

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 chemagic Deep Well Plates 2 mL 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. Csupja be az első ajtót, és indítsa el a folyamatot a [Start] gombbal.

18. Elkezdődik az automatizált DNS/RNS-extrakciós folyamat.

19. 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

A készülék tisztításával kapcsolatos információkat a „TISZTÍTÁS ÉS KARBANTARTÁS” szakaszban találja.

17.3. RÖVID LEÍRÁS / GYORS ÚTMUTATÓ

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

- Válassza ki a „**check manifolds H96 all 360 V150116.che**” 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 „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**” protokollt, és nyomja meg az [Insert IDs] gombot. Kövesse a chemagic QA szoftver utasításait a szükséges adatok kitöltéséhez.
- Töltse fel a lemezeket és a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking system 1–7. pozícióiban a következők szerint
A tracking systemen lévő számok a chemagic 360-D készüléken lévő lemez helyzetére vonatkoznak.

Pozíció a tracking systemen	Anyag a pozícióban	A protokoll részletes lépései
1	chemagic Tips 96 Tray	A minták pozícióinak megfelelően használjon eldobható hegyeket, és helyezze a chemagic Tips 96 Tray tálcát a tracking systemre. MEGJEGYZÉS: A hegyeknek teljes sorokban kell megjelenniük a tálcán.
2	chemagic Low Well Plate 150 µL Magnetic Beads gyönggyel	Pipettázzon 150 µL alaposan reszuszpendált Magnetic Beads gyöngyöt minden használatban lévő cellába a mintalemeznek megfelelően, és helyezze a lemezt a tracking systemre.
3	Mintalemez (chemagic Deep Well Plate 2 mL)	Helyezze a lemezt az előkészített mintákkal (300 µL minta, 4 µL Poly(A) RNA, 10 µL Proteinase K és 300 µL Lysis Buffer 1) a tracking systemre. A Binding Buffer 2 automatikusan adagolódik a lemezbe.
4	üres	-
5	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 4 automatikusan adagolódik a lemezbe.
6	chemagic Deep Well Plate 2 mL	Helyezze az üres lemezt a tracking systemre. A Wash Buffer 5 automatikusan adagolódik a lemezbe.
7	chemagic Deep Well Plate 2 mL 50–100 µL Elution Buffer 6-tal	Pipettázzon (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, töltse be a lemezeket a tracking system 1–7. pozícióiba.
- Miután az összes lemez a helyére került, válassza ki a „**chemagic Viral300 360 H96 prefilling 18 min VD210204.che**” protokollt, jelölje meg a párbeszédpanelen a használt oszlopokat a lemeztérképen, és indítsa el az extrakciót közvetlenül a [Start] gomb megnyomásával.
- 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.

FIGYELEM! Soha ne mozgassa a tracking systemet (asztalt) kézzel. Ez kárt okozhat a készülékben. Minden mozgást a [Turn Table] funkcióval kell végrehajtani.

MEGJEGYZÉS: Ha kinyitja a chemagic 360-D készülék ajtaját, miközben az automatikus extrakció folyamatban van, a futtatás leáll, és a folyamatban lévő minták elveszhetnek.

17.4. 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 tükszívve. A qPCR teljesítményét az EURORealTime SARS-CoV-2 qPCR-rel (EUROIMMUN, egy Revvity 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 Revvity 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.

18. TISZTÍTÁS ÉS KARBANTARTÁS

A rendszer tisztítása és karbantartása a chemagic 360-D felhasználói kézikönyvben van részletesen leírva. A rendszer tisztítása hetente egyszer történik. A következők szerint tisztítsa a chemagic Dispenser adagolót:

- 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.
- A chemagic Dispenser következő használata előtt hajtsa végre a megfelelő feltöltési protokollt.
- 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.
- Ha a chemagic Dispensert hosszabb ideig nem használják, a készülék újra üzembe helyezésékor kötelező elvégezni a „rendszeres tisztítási eljárást” a készülék teljesítményének fenntartása érdekében.

19. DOWNSTREAM ALKALMAZÁS

19.1. 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.

10. táblázat: SARS-CoV-2 extrakcióval tesztelt downstream alkalmazások

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
RT-qPCR	TaqPath COVID-19 Combo Kit (Applied Biosystems™)	Barrett <i>et al.</i> BMC Infectious Diseases (2020) 20:853 https://doi.org/10.1186/s12879-020-05587-2
		Radbel <i>et al.</i> Journal of Molecular Diagnostics (2020) Volume 22, Issue 7, 871-875 https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2020.04.209
	SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum™ TaqDNA Polymerase (ThermoFisher)	Streeck <i>et al.</i> Nat Commun (2020) 11, 5829 https://doi.org/10.1038/s41467-020-19509-y
RT-qPCR	virella SARS-CoV-2 seqc rRT-PCR kit (Gerbion)	Wandernoth <i>et al.</i> Viruses (2020) 12:849 https://doi:10.3390/v12080849
	2019-nCoV CDC EUA Kit (IDT)	Xie <i>et al.</i> Processes (2020) 8(11), 1425 https://doi.org/10.3390/pr8111425
	SARS-CoV-2 real-time RT-PCR assay CE-IVD (Revvity)	Klussmeier <i>et al.</i> Biospektrum (2020) 26, 500-503 https://doi.org/10.1007/s12268-020-1431-1
	NeoPlex COVID-19 kit (Gene Matrix)	Senok <i>et al.</i> Infect Drug Resistance (2020) 13, 3393-3399 https://doi.org/10.2147/IDR.S275152

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
RT-qPCR	NxTAG® Respiratory Pathogen Panel (Luminex Corporation), Fast Virus 1-Step Master Mix (ThermoFisher)	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) 1 , 10-15 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035
	1) TRUPCR SARS-CoV-2 (Black Bio Biotech) 2) TaqPath RT-PCR COVID-19 Kit (ThermoFisher) 3) Allplex 2019-nCoV Assay (Seegene) 4) Patho detect COVID-19 qualitative PCR kit (My Lab) 5) LabGun COVID-19 RT-PCR Kit 6) Fosun COVID-19 RT-PCR detection kit (Fosun Ltd) 7) Realtime Fluorescent RT-PCR kit (BGI Genomics)	Garg <i>et al.</i> Journal of Medical Virology (2021) 93 , 2281-2286 https://doi.org/10.1002/jmv.26691
	Ligh™ix® Sarbeco V E-gene plus EAV control (TIB MolBiol) LightCycler® Multiplex RNA Virus Master (Roche)	Kriegshäuser <i>et al.</i> Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) (2021) 9 , 351-353 https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0078
Szekvenciálás	ARTIC V3 protokoll	Kanji <i>et al.</i> Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada (2021) 1 , 10-15 https://doi.org/10.3138/jammi-2020-0035

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
Szekvenciálás	ARTIC V3 protokoll	Jonsson <i>et al.</i> Nature Communications (2021) 12 , 3633 https://doi.org/10.1038/s41467-021-23883-6
		Tegally <i>et al.</i> Nature Medicine (2021) 27 , 440-446 https://doi.org/10.1038/s41591-021-01255-3
	<p>cDNA synthesis: LunaScript RT Super Mix kit (New England Biolabs), SuperScriptIV (ThermoFisher)</p> <p>Library prep.: SureSelectXT Low Input kit CoVHuman6X enrichment capture-based method (Agilent Technologies)</p> <p>ARTIC tiled amplicon multiplex PCR protocol (v3) + NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs)</p>	Ellingford <i>et al.</i> eLife (2021) 10 , 65453 https://doi.org/10.7554/eLife.65453

19.2. DOWNSTREAM ALKALMAZÁS SARS-COV-2, INFLUENZA A ÉS B ÉS RSV EXTRAKCIÓVAL TESZTELVE

A következő downstream alkalmazást a SARS-CoV-2, influenza A és B és RSV minták chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 (IVD-1033-S) segítségével történő izolálása után sikeresen elvégezték és a használati utasításban leírták.

11. táblázat: Downstream alkalmazása SARS-CoV-2, influenza A és B és RSV extrakcióval tesztelve.

Downstream alkalmazás	Készletek	Hivatkozások
RT-qPCR	res4plex <i>direct</i> RT-PCR, FRIZ Biochem	Használati utasítás, res4plex <i>direct</i> RT-PCR, FRIZ Biochem https://frizbiochem.de/wp-content/uploads/2022/07/FBC107_IFU_EN_V1.0.pdf

20. TOVÁBBI KÉRDÉSEK

További alkalmazásokkal, műszaki kérdésekkel vagy az adatok előállítási módjával kapcsolatos további információt a support.chemagen@revvity.com címen vagy a +49 (0) 2401805500 telefonon kaphat.

21. ELJÁRÁSI KORLÁTOZÁSOK

A következő gyűjtőeszközök **nem ajánlottak** a chemagic Viral DNA/RNA 300 Kit H96 készlettel való használatra, további kérdéseit a support.chemagen@revvity.com címre küldheti.

12. táblázat: Használatra nem ajánlott gyűjtőeszközök.

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

Ezen termékek teljesítményjellemzőit nem állapították meg.

Az IVD-1033-S készletet DNS és RNS humán plazmából, nyálból és nazo- vagy orofaringeális tamponmintákból való extrakciójára validálták. Egyéb mintaanyagok is lehetnek kompatibilisek, de azokat nem validálták.



22. GARANCIA

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

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

2024. május

www.revvity.com

revvity