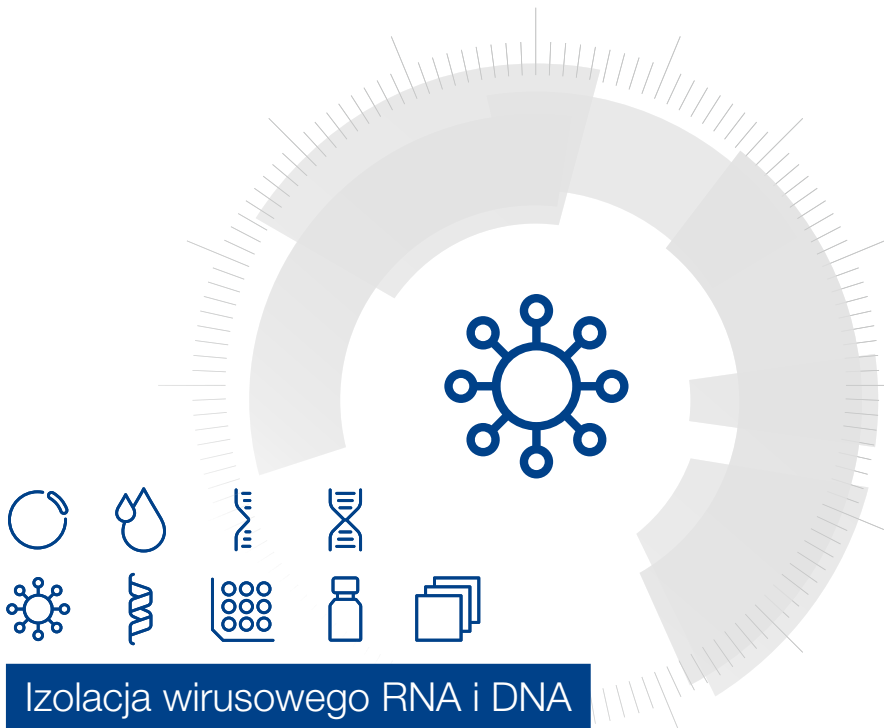


MACHEREY-NAGEL

User manual



Izolacja wirusowego RNA i DNA

■ NucleoMag® Dx Pathogen



Wyrób medyczny do diagnostykiin vitro



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 52355 Düren Niemcy



Lipiec 2025 r. / Wer. 04



744215.4



384 preparaty

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland


MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Spis treści

1 Elementy	4
1.1 Zawartość zestawu	4
1.2 Odczynniki materiały eksploatacyjne i sprzęt dostarczane przez użytkownika	5
1.3 Informacje o tej instrukcji obsługi	6
2 Opis produktu	7
2.1 Przeznaczenie	7
2.2 Ograniczenia dotyczące użytkowania produktu	7
2.3 Kontrola jakości	7
2.4 Podstawowa zasada	8
2.5 Specyfikacja zestawu	8
2.6 Jakość i przygotowanie próbek	9
2.7 Ocena działania w systemach automatycznych	9
2.8 Procedury elucji	12
2.9 Działanie analityczne i kliniczne	13
3 Warunki przechowywania i przygotowanie roztworów roboczych	15
4 Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa	17
4.1 Utylizacja	17
5 Protokół służy do izolacji wirusowego RNA z wymazów z dróg oddechowych i śliny oraz wirusowego RNA i wirusowego DNA z próbek kału ludzkiego.	18
5.1 Przygotowanie próbek materiałów	18
5.2 Skrócony protokół	19
5.3 Protokół szczegółowy	20
6 Załącznik	24
6.1 Rozwiązywanie problemów	24
6.2 Konieczność powiadomienia	25
6.3 Piśmiennictwo ogólne	25
6.4 Zamawianie	26
6.5 Objasnienie symboli	27
6.6 Ograniczenie stosowania produktu / gwarancja	27

1 Elementy

1.1 Zawartość zestawu

NucleoMag® Dx Pathogen		
REF	Symbol	4 × 96 preparatów 744215.4
NucleoMag® B-Beads	B-Beads	10 mL
Lysis Buffer NPL1	BUF NPL1	100 mL
Binding Buffer NPB2	BUF NPB2	3 × 110 mL
Wash Buffer NPW3	BUF NPW3	300 mL
Wash Buffer NPW4	BUF NPW4	300 mL
Elution Buffer NPE5	BUF NPE5	125 mL
Carrier RNA*	Carrier RNA	4 × 400 µg
Carrier RNA Buffer	Carrier RNA Buffer	4 × 500 µL
Proteinase K (lyophilized)*	Proteinase K	3 × 75 mg
Proteinase Buffer PB	BUF PB	15 mL
User manual		1

* Przygotowanie roztworów roboczych i warunki przechowywania, patrz punkt 3.

1.2 Odczynniki materiały eksploatacyjne i sprzęt dostarczane przez użytkownika

Potrzebny sprzęt może się różnić w zależności od przetwarzania (np. ręczne lub automatycznie) i ustawień lub konfiguracji analizatora. Należy skontaktować się z lokalnym producentem platformy w sprawie materiałów eksploatacyjnych dla danej platformy. Ponadto należy zapoznać się z punktem zawierającym dalsze szczegółowe informacje dotyczące automatyzacji NucleoMag® Dx Pathogen 2.7.

Produkt	REF	Opakowanie
Magnes do separacji kulek magnetycznych, NucleoMag® SEP	744900	1
Płytką rozdzielającą do separacji kulek magnetycznych, Square-well Block (blok 96-studzienkowy z kwadratowymi studzienkami o pojemności 2,1 mL)	740481 740481.24	4 24
Płytką do elucji do zbierania oczyszczonych kwasów nukleinowych, płytką do elucji U (96-studzienkowa płytką mikrotitracyjną 0,3 mL ze studzienkami z dnem w kształcie litery U o pojemności 300 µL)	740486.24	24

Odczynniki:

- 80 % etanol (v/v) (etanol absolutny lub niedenaturowany)

Materiały eksploatacyjne:

- Jednorazowe końcówki do pipet (zalecane są końcówki do pipet z barierą aerozolową i wolne od RNazy, aby uniknąć przeniesienia zakażenia)

Sprzęt do ręcznego przygotowania próbki

- Pipetory ręczne, najlepiej elektroniczne 8-kanalowe.
- Odpowiednie urządzenie do wytrząsania (patrz punkt 2.7)
- Sprzęt ochrony osobistej (np. fartuch laboratoryjny, rękawiczki, okulary)

1.3 Informacje o tej instrukcji obsługi

Zdecydowanie zaleca się przeczytanie szczegółowej części dotyczącej protokołu, zamieszczonej w niniejszej instrukcji obsługi. Skrócony protokół jest przeznaczony do stosowania wyłącznie jako narzędzie uzupełniające do szybkiego odniesienia się podczas wykonywania procedury oczyszczania.

W sprawie informacji o zmianach aktualnej instrukcji obsługi w porównaniu z poprzednimi wersjami należy skontaktować się z działem obsługi technicznej.

Dane do kontaktu

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Valenciener Str. 11

52355 Düren

Niemcy

Tel.: +49 24 21 969-0

Połączenie bezpłatne: 0800 26 16 000 (tylko Niemcy)

E-mail: info@mn-net.com

Pomoc techniczna dot. bioanaliz

Tel.: +49 24 21 969-333

E-mail: support@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Downloads-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Téléchargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas están disponibles en la sección de descargas de la página del producto.

Podręczniki użytkownika w innych językach są dostępne w obszarze pobierania na stronie produktu.

Uživatelské příručky v jiných jazycích jsou k dispozici v sekci Ke stažení na stránce produktu.

Más nyelvű felhasználói kézikönyvek a termékoldalon található letöltési területen érhetők el.

I manuali d'uso in altre lingue sono disponibili nell'area download della pagina del prodotto.



2 Opis produktu

2.1 Przeznaczenie

NucleoMag® Dx Patogen to zestaw do izolacji wirusowego RNA z ludzkich wymazów z dróg oddechowych i śliny oraz do izolacji wirusowego RNA i wirusowego DNA z nieprzygotowanych próbek kału ludzkiego w celu dalszej analizy diagnostycznej *in vitro*.

Produkt pozwala uzyskać oczyszczone wirusowe RNA i wirusowe DNA, które można wykorzystać w dalszych analizach, takich jak qRT-PCR lub sekwencjonowanie. Produkt jest używany przez profesjonalnych użytkowników w laboratoriach diagnostycznych. Zestaw nadaje się do zautomatyzowanego stosowania na automatycznych platformach laboratoryjnych. Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen nie nadaje się do samodzielnego testowania ani badań wykonywanych przy pacjencie. Użytkownik powinien mieć doświadczenie w zakresie technik biologii molekularnej, w tym doświadczenie z wymazami, próbkami śliny, kału i innymi potencjalnie zakaźnymi materiałami zawierającymi próbki pochodzące od ludzi. Zaleca się stosowanie odpowiednich kontroli, takich jak kontrole wewnętrzne, kontrole ekstrakcji oraz kontrole dodatnie/ujemne.

2.2 Ograniczenia dotyczące użytkowania produktu

NucleoMag® Dx Pathogen nadaje się do badania wymazów z dróg oddechowych, śliny i nieprzygotowanego kału ludzkiego. NucleoMag® Dx Pathogen nie został zwalidowany z innymi materiałami próbek. Wymazy z nosogardzieli (NP) można wykorzystywać do badania osób bezobjawowych w placówce ochrony zdrowia. Do testowania pacjentów objawowych mogą być wymagane inne systemy pobierania próbek. Zalecane są wymazówki z włókien syntetycznych z plastikowymi trzonkami. Nie zaleca się stosowania wymazówek z alginianem wapnia, wymazówek z drewnianym trzonkiem ani stabilizowanych próbek kału ludzkiego, ponieważ mogą one zawierać substancje hamujące test PCR.

Skuteczność produktu została potwierdzona w protokołach diagnostycznych SARS-CoV-2 na świeżych i nieprzetworzonych wymazach z dróg oddechowych oraz śliny ludzkiej, a także w rutynowych protokołach diagnostycznych w diagnostyce chorób przewodu pokarmowego. Niezależnie od tego charakterystyka działania dla każdego gatunku wirusa w odpowiednich próbkach klinicznych lub odczynniku stabilizującym próbkę nie została ustalona i musi zostać zwalidowana przez użytkownika. Ponadto ekstrakcja wirusowego kwasu nukleinowego przy użyciu zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na różnych platformach automatyzacji musi zostać zwalidowana przez użytkownika.

Należy zapoznać się z odpowiednimi wytycznymi dotyczącymi pobierania, obsługi i przechowywania próbek klinicznych oraz innymi wymaganiami przedanalizycznymi.

2.3 Kontrola jakości

Zgodnie z systemem zarządzania jakością firmy MACHEREY-NAGEL każda partia zestawu NucleoMag® Dx Pathogen jest testowana pod kątem wcześniej określonych specyfikacji, aby zapewnić stałą jakość produktu.

2.4 Podstawowa zasada

Zestaw NucleoMag[®] Dx Pathogen służy do izolacji wirusowego RNA z ludzkich wymazów z dróg oddechowych i śliny oraz do izolacji wirusowego RNA i wirusowego DNA z nieprzygotowanych próbek kału ludzkiego. Zestaw zawiera odczynniki i kulki magnetyczne do izolacji 384 próbek. Procedura opiera się na odwracalnej adsorpcji kwasów nukleinowych na kulkach paramagnetycznych w odpowiednich warunkach buforowych. Lizę próbek uzyskuje się przez inkubację z Lysis Buffer NPL1 zawierającym jony chaotropowe i trawienie przez Proteinase K. W celu związania kwasów nukleinowych z kulkami paramagnetycznymi do lizatu dodaje się Binding Buffer NPB2 oraz NucleoMag[®] B-Beads. Po separacji magnetycznej kulki paramagnetyczne są przepłukiwane w celu usunięcia zanieczyszczeń i soli przy użyciu Wash Buffers NPW3 i NPW4 oraz 80 % etanolu. Pozostałości etanolu z poprzednich etapów płukania usuwa się poprzez suszenie na powietrzu. Bardzo czyste wirusowe kwasy nukleinowe są eluowane za pomocą Elution Buffer NPE5 o niskiej zawartości soli lub wody. Oczyszczone kwasy nukleinowe mogą zostać bezpośrednio wykorzystane do dalszych zastosowań. Zestaw NucleoMag[®] Dx Pathogen może być używany ręcznie lub automatycznie w standardowych przyrządach do obsługi cieczy lub automatycznych separatorach magnetycznych.

Carrier RNA

W celu zapewnienia optymalnego działania dołączono Carrier RNA. Carrier RNA wzmacnia wiązanie wirusowych kwasów nukleinowych z kulkami magnetycznymi i zmniejsza ryzyko rozkładu wirusowego RNA. Należy pamiętać, że eluaty z zestawu NucleoMag[®] Dx Pathogen zawierają zarówno wirusowe kwasy nukleinowe, jak i Carrier RNA, przy czym ilość nośnika RNA może przekraczać ilość wirusowych kwasów nukleinowych. W związku z tym nie jest możliwe ilościowe oznaczenie kwasów nukleinowych wyizolowanych za pomocą tego zestawu z wykorzystaniem metod fotometrycznych lub fluorymetrycznych, kiedy korzysta się z nośnika RNA. Dlatego też zalecane są inne metody oznaczania ilościowego, takie jak specyficzne ilościowe systemy PCR lub RT-PCR. Ponadto Carrier RNA może w rzadkich przypadkach hamować reakcje PCR. Ilość dodawanego nośnika RNA można zatem ostrożnie zoptymalizować w zależności od zastosowanego systemu PCR.

2.5 Specyfikacja zestawu

Tabela 1: Specyfikacja zestawu w skrócie

Parametr	NucleoMag [®] Dx Pathogen
Technologia	Technologia kulek magnetycznych
Materiał próbek	Wymazy z dróg oddechowych i ślina (ludzka), niestabilizowany/nieprzygotowany kał (ludzki)
Objętość próbki	200 µL
Objętość elucji	50 – 100 µL
Czas przygotowania	Okolo 40 – 120 min / 96 preparatów*
Przetwarzanie	Ręczne lub automatyczne

* W zależności od konfiguracji aparatu

2.6 Jakość i przygotowanie próbek

Można stosować wymazówki do pobierania próbek z nosogardzieli (NP) oraz inne systemy pobierania próbek. Zalecane są wymazówki z włókien syntetycznych z plastikowymi trzonkami. Nie zaleca się stosowania wymazówek z alginianem wapnia, wymazówek z drewnianym trzonkiem ani stabilizowanych próbek kału ludzkiego, ponieważ mogą one zawierać substancje hamujące test PCR. Próbki kału mogą być świeże, przechowywane w temperaturze 2–8 °C lub zamrożone (–20 °C).

Należy zapoznać się z odpowiednimi wytycznymi dotyczącymi pobierania, obsługi i przechowywania próbek klinicznych oraz innymi wymaganiami przedanalizycznymi.

2.7 Ocena działania w systemach automatycznych

Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen może być używany automatycznie na różnych platformach do obsługi cieczy lub automatycznych separatorach magnetycznych. Niemniej ekstrakcja wirusowego RNA lub wirusowego DNA przy użyciu zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na różnych platformach automatycznych musi zostać zwalidowana przez użytkownika w połączeniu z dalszym testem diagnostycznym *in vitro*, w zależności od docelowego patogenu oraz w połączeniu z odpowiednimi kontrolami do dalszych zastosowań (np. kontrole wewnętrzne, kontrole ekstrakcji, kontrole dodatnie/ujemne).

Podczas wdrażania zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na platformach zautomatyzowanych zdecydowanie zaleca się stosowanie kontroli ekstrakcji, kontroli dodatnich/ujemnych, kontroli wewnętrznych, jak również wykonywanie testów w kierunku przeniesienia zakażenia.

Poniższe rozdziały zawierają wytyczne dotyczące automatyzacji zestawu NucleoMag® Dx Pathogen oraz sposobu oceny działania w systemie zautomatyzowanym.

2.7.1 Ogólna obsługa kulek magnetycznych

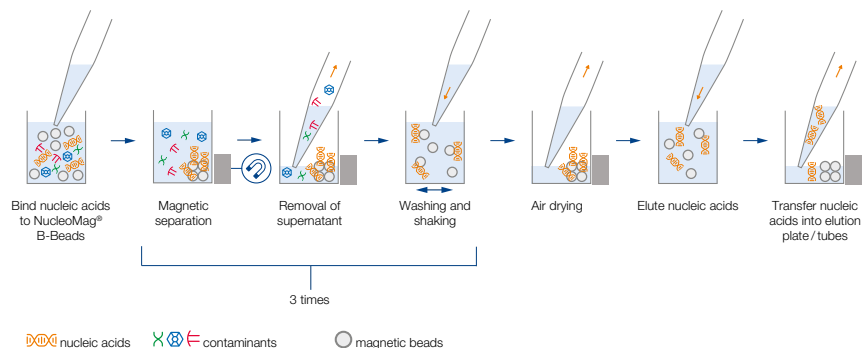
Dystrybucja kulek

Jednorodne rozmieszczenie kulek magnetycznych w poszczególnych studzienkach płytki do separacji ma zasadnicze znaczenie dla uzyskania wysokiej zgodności pomiędzy studzienkami. Dlatego przed dozowaniem kulek należy się upewnić, że są one całkowicie ponownie zawieszane. Dobrze wstrząsnąć butelką do przechowywania lub umieścić ją na krótko na wortexie. Podczas automatyzacji zalecany jest etap mieszania wstępnego przed aspiracją kulek ze zbiornika/próbówki, aby kulki zostały ponownie zawieszane.

2.7.2 Systemy obsługi cieczy

Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen można zautomatyzować na różnych platformach do obsługi cieczy za pomocą NucleoMag® SEP (MN REF: 744900) w połączeniu z blokiem z kwadratowymi studzienkami (MN REF: 740481) oraz z odpowiednim urządzeniem wytrząsającym dla optymalnego ponownego zawieszania podczas etapów wiązania, płukania i elucji. Dodatkowo do w pełni zautomatyzowanego użytkowania na stanowiskach pracy z cieczami wymagane jest narzędzie chwytające. Chwytnak musi przenieść płytkę do separatora magnetycznego w celu oddzielenia kulek, a następnie do modułu wytrząsarki w celu ponownego zawieszania kulek. Całkowite ponowne zawieszenie kulek magnetycznych podczas ekstrakcji ma zasadnicze znaczenie dla niezawodnego działania i powinno zostać sprawdzone podczas walidacji w systemach obsługi cieczy. Alternatywnie kulki można ponownie zawiesić w buforze poprzez kilkakrotne pipetowanie w górę i w dół.

Poniższy schemat przedstawia podstawową zasadę ekstrakcji przy użyciu statycznego separatora magnetycznego, poczynwszy od etapu wiązania z dodatkiem kulek magnetycznych i buforu wiążącego.



Rysunek 1 Podstawowa zasada ekstrakcji opartej na kulkach magnetycznych z wykorzystaniem statycznego separatora magnetycznego

2.7.3 Regulacja ustawień wytrząsarki

Skuteczne ponowne zawieszenie kulek NucleoMag® B-Beads jest niezbędne do niezawodnej ekstrakcji i zależy od specyfikacji używanego urządzenia do wytrząsania (np. prędkości i orbity). W przypadku korzystania z wytrząsarki do płytek podczas etapów wiązania, płukania i elucji ustawienia prędkości należy dokładnie dostosować do Square-well Block i konkretnego urządzenia do wytrząsania, aby zapobiec przeniesieniu zakażenia pomiędzy studzienkami. Należy postępować w następujący sposób:

Regulacja prędkości wytrząsarki dla etapów wiązania i płukania:

Załadować 1030 μL (całkowita objętość z etapu wiązania) lub 600 μL (objętość z etapów płukania) zabarwionej wody do studzienek na płytce do separacji. Umieścić płytkę na wytrząsarce i rozpocząć wytrząsanie z umiarkowaną prędkością przez 30 sekund. Wyłączyć wstrząsarkę i sprawdzić, czy na powierzchni płytki nie ma małych kropelek zabarwionej wody.

Zwiększyć ustawienie prędkości, wytrząsać przez kolejne 30 sekund i ponownie sprawdzić, czy na powierzchni płytki nie ma kropelek.

Kontynuować zwiększanie ustawienia prędkości do momentu, kiedy na górze płytki do separacji pojawiają się krople. Zmniejszyć ustawienie prędkości, sprawdzić ponownie i użyć tego ustawienia na etapie płukania.

Regulacja prędkości wytrząsarki dla etapu elucji:

Załadować 100 μL zabarwionej wody do studzienek na płytce do pobierania i postępować w sposób opisany powyżej.

Poniższa tabela zawiera przegląd ustawień przetestowanych już na różnych platformach i może służyć jako pierwsza wskazówka podczas procesu automatyzacji. Podczas walidacji zaleca się stosowanie kontroli wewnętrznych, kontroli ekstrakcji oraz kontroli dodatnich i ujemnych. Przed dozowaniem buforu zaleca się wzniesienie osadu kulek magnetycznych na wytrząsarce przez 30 sekund. Ułatwi to ponowne zawieszenie kulek magnetycznych. W zależności od

skuteczności ponownego zawieszania może być konieczne wykonanie etapu mieszania za pomocą pipety.

System obsługi cieczy / wytrząsarka	Prędkość	Czas
Thermomixer comfort (Eppendorf)	Liza: 600 obr./min	15 min
	Wiązanie: 1000 obr./min	5 min
	Płukanie: 1000 obr./min	2 min
	Elucja: 1000 obr./min	5 min
epMotion® 5075t TMX (Eppendorf)	Liza: 1200 obr./min	15 min
	Wiązanie: 1000 obr./min	5 min
	Płukanie: 1200 obr./min	2 min
	Elucja: 1200 obr./min	5 min
Te-Shake™ (Tecan)	Liza: 1400 obr./min	15 min
	Wiązanie: 1400 obr./min*	5 min
	Płukanie: 1400 obr./min**	3 min
	Elucja: 1000 obr./min	5 min
Hamilton Heater Shaker HHS (Hamilton)	Liza: 1200 obr./min	15 min
	Wiązanie: 1200 obr./min	5 min
	Płukanie: 1200 obr./min	2 min
	Elucja: 1200 obr./min	5 min

Zdecydowanie zaleca się wykonanie wstępnego testu w kierunku przeniesienia zakażenia (np. wzór szachownicy próbek dodatnich i ujemnych) podczas wdrażania i dostosowywania zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na platformach zautomatyzowanych.

Poszczególne etapy protokołu mogą się różnić w zależności od dostępnych materiałów eksploatacyjnych, sprzętu, platformy i konfiguracji aparatu. Zautomatyzowana procedura lub skrypt do ekstrakcji wirusowych kwasów nukleinowych przy użyciu zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na różnych platformach automatyzacji musi zostać zatwierdzony przez użytkownika w połączeniu z odpowiednią dalszą analizą.

2.7.4 Zautomatyzowane systemy separacji magnetycznej

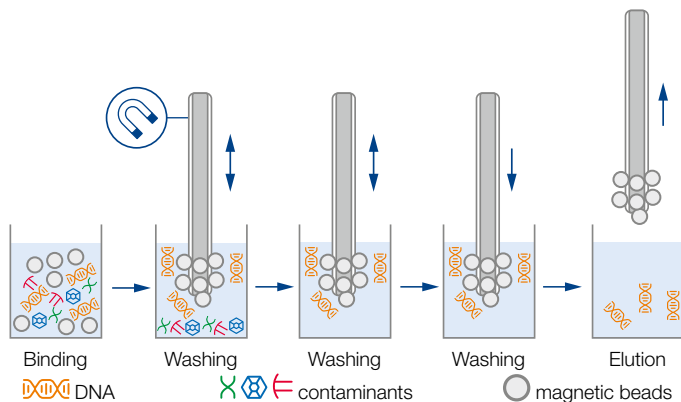
Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen można zautomatyzować na różnych platformach do automatycznej separacji magnetycznej przy użyciu określonych materiałów eksploatacyjnych danego instrumentu. Kulki magnetyczne są zwykle zawieszane w wyniku ruchu plastikowej osłony (grzebień z końcówkami) osłaniającej pręty magnetyczne. Po etapach wiązania, płukania i elucji kulki są ponownie zbierane za pomocą prętów magnetycznych. W większości przypadków bufor i komponenty muszą być dozowane indywidualnie przed rozpoczęciem

* W tym etapy mieszania za pomocą pipety

** W różnych kierunkach

protokołu oczyszczania. Należy uważać, aby nie przekroczyć maksymalnej objętości napełnienia pojemnika reakcyjnego zgodnie ze specyfikacjami producenta. Wszystkie ustawienia powinny zostać zweryfikowane przez użytkownika w połączeniu z konkretną konfiguracją platformy i dalszą analizą. Podczas walidacji ustawień platformy zdecydowanie zaleca się stosowanie kontroli wewnętrznych, kontroli ekstrakcji oraz kontroli dodatków i ujemnych.

Poniższy schemat przedstawia podstawową zasadę ekstrakcji przy użyciu zautomatyzowanych systemów separacji magnetycznej.



Rysunek 2 Podstawowa zasada przedstawiająca ekstrakcję opartą na kulkach magnetycznych przy użyciu zautomatyzowanych systemów separacji.

2.8 Procedury elucji

Oczyszczone wirusowe RNA lub wirusowe DNA można eluować bezpośrednio za pomocą dostarczonego buforu do elucji. Elucję można przeprowadzić w objętości 50 – 100 μL . Podczas etapu elucji należy całkowicie pokryć kulki NucleoMag[®] B-Beads buforem do elucji. W celu skutecznej elucji osad kulek magnetycznych należy całkowicie ponownie zawiesić w buforze do elucji.

Przechowywanie kwasów nukleinowych

Zalecenie:

Przechowywanie krótkoterminowe (do 24 godzin): 2 – 8 °C

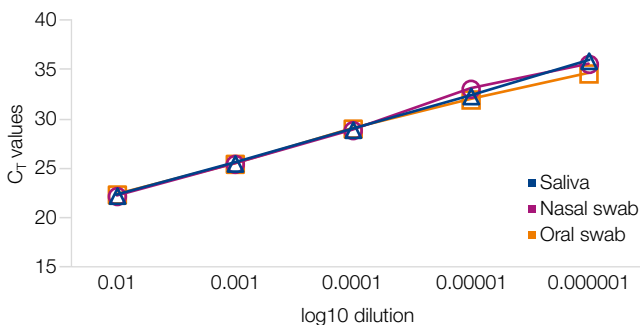
Długoterwałe przechowywanie (ponad 24 godziny): –20 °C

2.9 Działanie analityczne i kliniczne

Działanie analityczne zestawu NucleoMag[®] Dx Pathogen zostało ocenione za pomocą późniejszej RT-qPCR wyizolowanego MS2-RNA. Powtarzalność w ramach serii obliczono na podstawie równoległej izolacji 96 próbek. Przy $n = 96$ uzyskano średnią wartość Ct $27,92 \pm 0,118$ i CV $< 1\%$. Powtarzalność między seriami obliczono na podstawie 3 niezależnych serii izolacji MS2-RNA. W przypadku 4 MS2-RNA odchylenie standardowe z 3 serii było mniejsze niż 0,1 przy CV 0,26%. W celu uzyskania powtarzalności między partiami porównywano obok siebie trzy partie zestawu NucleoMag[®] Dx Pathogen. W przypadku 3 MS2-RNA odchylenie standardowe z 3 partii było mniejsze niż 0,61 przy CV 1,49%.

W celu oceny powtarzalności między operatorami wyizolowano cztery MS2-RNA w dwóch niezależnych seriach wykonanych przez dwóch różnych operatorów. Średnia wartość $\Delta\Delta Ct$ dla 4 stężeń pomiędzy operatorami została obliczona jako mniejsza niż 0,1.

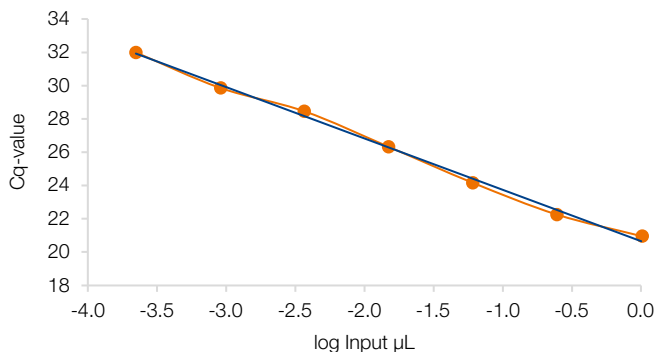
W badaniu z wykorzystaniem próbek dodatnich pod względem SARS-CoV-2 utworzono serie rozcieńczeń \log_{10} w ujemnym materiale zbiorczym z wymazów z jamy ustnej, nosa i próbek śliny. Wyekstrahowany RNA testowano w dwóch różnych systemach RT-PCR w czasie rzeczywistym, dwóch różnych mieszaninach mastermix w połączeniu z dwoma różnymi systemami kontroli wewnętrznej (beta-aktyna-DNA-mix 2 i IC2-RNA/EGFP-Mix 1).



Rysunek 3 Seria rozcieńczeń \log_{10} wirusa SARS-CoV-2 w ślinie, wymazach z nosa i jamy ustnej. NucleoMag[®] Dx Pathogen na aparacie KingFisher[™] Flex (Thermo Fisher Scientific), zestaw AgPath-ID[™] One-Step RT-PCR (Thermo Fisher Scientific), test nCoV-IP4 Assay (Instytut Pasteura, Paryż). Dane udostępnione przez dr B. Hoffmanna z Friedrich-Löffler Institute, Niemcy.

W celu oceny działania klinicznego RNA wirusa SARS-CoV2 wyizolowano z wymazów i amplifikowano w testach SARS-CoV2 RT-qPCR. Oceniono kontrolę dodatnią i ujemną. W 27 seriach z 94 próbkami na serię wszystkie 27 kontroli dodatnich i wszystkie 27 kontroli ujemnych dały wyniki pomiarów zgodne z oczekiwaniami. Czułość diagnostyczna i swoistość diagnostyczna wyniosły 100%.

Przykładem skuteczności testu NucleoMag® Dx Pathogen jest badanie próbek kału na obecność wirusa wywołującego chorobę niebieskiego języka (wirus dsRNA).



Rysunek 4 Analiza qRT-PCR serii rozcieńczeń 1:4 w siedmiu etapach rozcieńczania wirusa BTV (dsRNA) wyekstrahowanego z próbek kału ludzkiego. Objętość próbki wejściowej jest wyświetlana w skali logarytmicznej. Średnie wartości Cq serii rozcieńczeń są wyświetlane jako pomarańczowa linia przerywana. Krzywa regresji liniowej (niebieska linia ciągła) wykazuje nachylenie $-3,12$ i wartość R^2 równą $0,99$.

Czułość i swoistość diagnostyczną próbek kału przedstawiono na przykładzie norowirusa (wirus ssRNA). Wirusowy RNA wyizolowano z pozostałości próbek kału, pochodzących z rutynowych badań klinicznych o znanym statusie wirusowym. Eluaty poddano analizie q(RT)-PCR przy użyciu zestawu RIDA Gene Viral Stool Panel I (R-Biopharm). W badaniu obejmującym 93 próbki prawdziwie dodatnie czułość diagnostyczna wyniosła 94 %. W drugim badaniu, obejmującym 96 próbek prawdziwie ujemnych, swoistość diagnostyczna wyniosła 99 %.

3 Warunki przechowywania i przygotowanie roztworów roboczych

Uwaga: NPL1, NPB2, NPW3, NPW4 i Carrier RNA Buffer zawierają sól chaotropową (np. chlorowodorek guanidyny i/lub nadchloran sodu), które w połączeniu z wybielaczem (podchloryn sodu) mogą tworzyć wysoce reaktywne związki! **NIE WOLNO** dodawać wybielaczy ani kwaśnych roztworów bezpośrednio do odpadów pozostałych po przygotowaniu próbek. Nosić odpowiednią odzież ochronną, rękawiczki i okulary ochronne!

- Po otrzymaniu zestawu należy sprawdzić wszystkie elementy pod kątem uszkodzeń. Jeśli zawartość zestawu, np. butelki z buforami, zakręcane probówki lub szklane fiolki, jest uszkodzona, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej i obsługi klienta firmy MACHEREY-NAGEL lub z lokalnym dystrybutorem.
- Nie używać uszkodzonych elementów zestawu.
- Należy używać sprzętu wolnego od RNazy.
- Po dostarczeniu wszystkie składniki zestawu **NucleoMag® Dx Pathogen** należy przechowywać w temperaturze pokojowej (18–25 °C). Nie używać produktu po upływie terminu ważności.
- Liofilizowana Proteinase K może być przechowywana w temperaturze pokojowej (18–25 °C) do terminu ważności bez niekorzystnego wpływu na jej działanie. Rekonstruowaną Proteinase K należy przechowywać w temperaturze –20 °C do 6 miesięcy, ale tylko do upływu terminu ważności.
- Liofilizowany Carrier RNA może być przechowywany w temperaturze pokojowej (18–25 °C) do terminu ważności bez niekorzystnego wpływu na jego działanie. Rekonstruowany Carrier RNA należy przechowywać w temperaturze –20 °C do 6 miesięcy, ale tylko do upływu terminu ważności.
- Wszystkie bufony są dostarczane w stanie gotowym do użycia.

Przed rozpoczęciem jakiegokolwiek protokołu z użyciem **NucleoMag® Dx Pathogen** należy przygotować:

- **Proteinase K:** przed pierwszym użyciem zestawu dodać 3,35 mL Proteinase Buffer PB do każdej fiolki **liofilizowanej Proteinase K i rozpuścić Proteinase K**. Rozpuszczony roztwór Proteinase K należy przechowywać w temperaturze –20 °C do 6 miesięcy, ale tylko do terminu ważności.
- **Carrier RNA:** przed pierwszym użyciem zestawu dodać 500 µL Carrier RNA Buffer do każdej fiolki z **liofilizowanym Carrier RNA**. Rozpuścić Carrier RNA i przechowywać rozpuszczony roztwór w porcjach w temperaturze –20 °C przez maksymalnie 6 miesięcy, ale tylko do terminu ważności.
Uwaga: Ze względu na procedurę produkcji i niewielką ilość nośnika RNA zawartą w fiolce nośnik może być ledwo widoczny.
- Nie zamrażać/rozmarzać i nie podgrzewać rekonstruowanego nośnika RNA wielokrotnie! Częste cykle zamrażania/rozmarzania, podgrzewanie, temperatury > 80 °C i przedłużona inkubacja w ciepłe przyspieszą rozkład nośnika RNA. Zaleca się przechowywanie zrekonstruowanej Proteinase K i zrekonstruowanego nośnika RNA w porcjach.

NucleoMag® Dx Pathogen

REF	4 × 96 preparatów 744215.4
Proteinase K (lyophilized)	3 fiołki (75 mg/fiołkę) Przed pierwszym użyciem dodać 3,35 mL Buffer PB.
Carrier RNA (lyophilized)	4 fiołki (400 µg/fiołkę) Przed pierwszym użyciem rozpuścić w 500 µL Carrier RNA Buffer.

4 Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa

Podczas pracy z zestawem **NucleoMag® Dx Pathogen** należy nosić odpowiednią odzież ochronną (np. fartuch laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne). Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z odpowiednimi kartami charakterystyki substancji (MSDS) dostępnymi online pod adresem www.mn-net.com/msds.



Przeostroga: Chlorowodorek guanidyny w Lysis Buffer NPL1, nadchloran sodu w buforze NPB2, NPW3, NPW4 i tiocyjanian guanidyny w Carrier RNA Buffer mogą tworzyć wysoce reaktywne związki w połączeniu z wybielaczem! Dlatego nie należy dodawać wybielaczy ani kwaśnych roztworów bezpośrednio do odpadów pozostałych po przygotowaniu próbki.

*Odpady powstałe po użyciu zestawu **NucleoMag® Dx Pathogen** nie zostały przetestowane pod kątem pozostałości materiału zakaźnego. Skażenie płynnych odpadów pozostałościami materiału zakaźnego jest wysoce nieprawdopodobne ze względu na silnie denaturujący bufor do lizy i użycie Proteinase K, ale nie można tego całkowicie wykluczyć. Dlatego odpady płynne należy traktować jako zakaźne i należy z nimi postępować oraz utylizować je zgodnie z lokalnymi przepisami dotyczącymi bezpieczeństwa.*

4.1 Utylizacja

Materiały niebezpieczne, zakaźne lub skażone biologicznie należy utylizować w bezpieczny i akceptowalny sposób oraz zgodnie ze wszystkimi wymogami lokalnymi i przepisami.

5 Protokół służy do izolacji wirusowego RNA z wymazów z dróg oddechowych i śliny oraz wirusowego RNA i wirusowego DNA z próbek kału ludzkiego.

Poszczególne etapy protokołu mogą się różnić w zależności od dostępnych materiałów eksploatacyjnych, sprzętu, platformy i konfiguracji aparatu. Zautomatyzowana procedura lub skrypt do ekstrakcji wirusowego RNA i wirusowego DNA przy użyciu zestawu NucleoMag® Dx Pathogen na różnych platformach automatyzacji musi zostać zatwierdzony przez użytkownika w połączeniu z odpowiednią dalszą analizą.

Poniższa procedura zawiera instrukcje ręcznego przetwarzania pojedynczej próbki w Square-well Block w połączeniu z urządzeniem Eppendorf Thermomixer comfort. Jednak wiele próbek (do 96 próbek na Square-well Block) może być przetwarzanych w tym samym czasie w sposób ręczny lub zautomatyzowany. Przed rozpoczęciem ekstrakcji lub wdrożeniem na zautomatyzowanych platformach należy dokładnie przeczytać punkt 2.

5.1 Przygotowanie próbek materiałów

Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen nadaje się do stosowania ze świeżymi i nieprzygotowanymi ludzkimi wymazami z dróg oddechowych, próbkami śliny i nieprzygotowanymi ludzkimi próbkami kału. Wymazy z nosogardzieli (NP) można wykorzystywać do badania osób bezobjawowych w placówce ochrony zdrowia. Do testowania pacjentów objawowych mogą być wymagane inne systemy pobierania próbek. Zalecane są wymazówki z włókien syntetycznych z plastikowymi trzonkami. Nie zaleca się stosowania wymazówek z alginianem wapnia, wymazówek z drewnianym trzonkiem ani stabilizowanych próbek kału ludzkiego, ponieważ mogą one zawierać substancje hamujące test PCR. Należy zapoznać się z odpowiednimi wytycznymi dotyczącymi pobierania, obsługi i przechowywania próbek klinicznych oraz innymi wymaganiami przedanalizycznymi.

Należy zapoznać się z odpowiednimi wytycznymi dotyczącymi pobierania, obsługi i przechowywania próbek klinicznych oraz innymi wymaganiami przedanalizycznymi.

a) Próbkę wymazów

Incubować wymazówki w PBS, chlorku sodu lub pożywce do hodowli komórkowej przez 30 min, wytrząsając. Upewnić się, że główka wymazówki jest całkowicie zanurzona. Przenieść 200 µL roztworu do dalszego przetwarzania. W razie potrzeby docisnąć wymazówkę do ścianki próbówki, aby wycisnąć płyn.

b) Ślina

Świeże i nieprzygotowane próbki śliny można bezpośrednio poddać procedurze ekstrakcji. W przypadku próbek o dużej lepkości zaleca się rozcieńczenie próbek śliny sterylnym PBS. Przenieść 100 µL lub 200 µL roztworu do dalszego przetwarzania. Podczas przetwarzania mniej niż 200 µL próbki należy dopełnić buforem PBS do końcowej objętości 200 µL.

c) Kał

Wymieszać 1 objętość kału (np. 500 µL lub ilość odpowiadająca wielkością ziarnku grochu) z taką samą objętością buforu PBS lub sterylnej, wolnej od RNazy ddH₂O. Energicznie mieszać przez 10 sekund, wirując z niską prędkością przez 3 minuty przy 500 x g. Przenieść 200 µL klarownego supernatantu do dalszego przetwarzania.

Przed przystąpieniem do przygotowania:

- Sprawdzić, czy Proteinase K została przygotowana zgodnie z opisem w punkcie 3.
- Sprawdzić, czy Carrier RNA został przygotowany zgodnie z opisem w punkcie 3.
- Sprawdzić, czy dostępny jest 80 % etanol (niedenaturowany).
- Sprawdzić, czy zautomatyzowana platforma lub wytrząsarka zostały odpowiednio skonfigurowane.
- Doprowadzić próbki do temperatury pokojowej (18–25 °C). Upewnić się, że próbki są dobrze wymieszane.
- Zasadniczo nie należy mieszać odczynników z różnych zestawów i partii.
- Nie dodawać Proteinase K bezpośrednio do Lysis Buffer NPL1. Próbkę należy połączyć z Lysis Buffer NPL1 przed dodaniem Proteinase K.
- Wszystkie etapy przetwarzania należy przeprowadzać w temperaturze pokojowej (18–25 °C).

5.2 Skrócony protokół

Dodatkowy przegląd protokołu:

Przed rozpoczęciem procedury należy uważnie przeczytać szczegółowy protokół (punkt 5.3) oraz punkt 2. Poniższa procedura zawiera instrukcje ręcznego przetwarzania pojedynczej próbki w Square-well Block w połączeniu z urządzeniem Eppendorf Thermomixer comfort.

Nie zwilżać krawędzi studzienki.

1	Dostarczenie próbki i liza wirusów
1	200 µL próbki w Square-well Block
2	180 µL Lysis Buffer NPL1
3	4 µL podstawowego roztworu Carrier RNA
4	20 µL roztworu Proteinase K
5	Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając.
6	Inkubować w temperaturze pokojowej przez 15 min przy 600 obr./min

2	Wiązanie kwasów nukleinowych
7	20 µL kulek NucleoMag® B-Beads
8	600 µL Binding Buffer NPB2
9	Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając, i inkubować przez 5 minut przy 1000 obr./min
10	Separować kulki magnetyczne przez 2 min
11	Usunąć supernatant
12	Usunąć Square-well Block z NucleoMag® SEP

3 Płukanie kulek magnetycznych

- 13 600 µL Wash Buffer NPW3
 - 14 Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając, i inkubować przez 2 minuty przy 1000 obr./min
 - 15 Separować kulki magnetyczne przez 2 min
 - 16 Usunąć supernatant
 - 17 Usunąć Square-well Block z NucleoMag® SEP
 - 18 600 µL Wash Buffer NPW4
 - 19 Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając, i inkubować przez 2 minuty przy 1000 obr./min
 - 20 Separować kulki magnetyczne przez 2 min
 - 21 Usunąć supernatant
 - 22 Usunąć Square-well Block z NucleoMag® SEP
 - 23 600 µL 80 % etanolu
 - 24 Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając, i inkubować przez 2 minuty przy 1000 obr./min
 - 25 Separować kulki magnetyczne przez 2 min
 - 26 Usunąć supernatant
-

4 Suszenie

- 27 Suszyć kulki magnetyczne na powietrzu przez 10 minut w temperaturze pokojowej
-

5 Elucja kwasów nukleinowych

- 28 Usunąć Square-well Block z NucleoMag® SEP
 - 29 100 µL Elution Buffer NPE5
 - 30 Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając.
 - 31 Inkubować przez 5 min przy 1000 obr./min.
 - 32 Separować kulki magnetyczne przez 2 min
 - 33 Przenieść supernatant eluowanej próbki na płytkę do elucji
-

5.3 Protokół szczegółowy

Poniższa procedura zawiera instrukcje ręcznego przetwarzania pojedynczej próbki w bloku z kwadratowymi studzienkami w połączeniu z NucleoMag® SEP i urządzeniem Eppendorf Thermomixer comfort. Poszczególne etapy protokołu mogą różnić się w zależności od dostępnych materiałów eksploatacyjnych, sprzętu, platformy i konfiguracji aparatu i muszą zostać zwalidowane przez użytkownika.

Alternatywnie izolację wirusowego RNA i wirusowego DNA można przeprowadzić w probówkach reakcyjnych z odpowiednimi separatorami magnetycznymi. Ten protokół jest przeznaczony do użytku ręcznego i służy jako wytyczna przy dostosowywaniu zestawu do instrumentów platform automatycznych.

Nie zwilżać krawędzi studzienki.

-
- 1 Do każdej studzienki Square-well Block należy wprowadzić **200 µL próbki**

 - 2 Do każdej próbki dodać **180 µL Lysis Buffer NPL1**.

 - 3 Do każdej próbki dodać **4 µL roztworu podstawowego Carrier RNA**.

 - 4 Do każdej próbki dodać **20 µL roztworu Proteinase K**.

 - 5 Dobrze wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsając.
Opcjonalnie: Uszczelnić płytkę odpowiednią folią samoprzylepną

 - 6 Inkubować przez **15 min w temperaturze** pokojowej z prędkością 600 obr./min
Opcjonalnie: W przypadku płytki uszczelnionej lub zamkniętej. Krótco odwirować, aby pobrać próbki z zatycki.

 - 7 Do każdej próbki dodać **20 µL ponownie zawieszonych kulek NucleoMag® B-Beads**.
Uwaga: Upewnić się, że kulki NucleoMag® B-Beads są całkowicie zawieszane przed wyjęciem ich z butelki. Worteksować butelkę do przechowywania aż do uzyskania jednorodnej zawiesiny kulek.

 - 8 Do każdej próbki dodać **600 µL Binding Buffer NPB2**.

 - 9 Dobrze wymieszać przez pipetowanie w górę i w dół lub wytrząsanie i inkubować przez 5 minut przy 1000 obr./min.
Uwaga: Powinien być widoczny jednorodny roztwór.

 - 10 Umieścić Square-well Block na separatorze magnetycznym NucleoMag® SEP.

 - 11 Odczekać co najmniej 2 minuty, aż wszystkie kulki zostaną przyciągnięte do magnesu.
Uwaga: W zależności od rodzaju próbki powinien być widoczny klarowny roztwór.

 - 12 Ostrożnie usunąć i wyrzucić supernatant przez pipetowanie.
Uwaga: Nie zakłócać przyciągniętych kulek magnetycznych podczas zasysania supernatantu.

 - 13 Wyjąć Square-well Block z separatora magnetycznego NucleoMag® SEP.

 - 14 Do każdej próbki dodać **600 µL Buffer NPW3**.

 - 15 Przenieść Square-well Block na termomikser.

 - 16 Zawiesić kulki magnetyczne, wytrząsając z prędkością 1000 obr./min przez 2 min, aż zostaną całkowicie zawieszane.
-

- 17 Umieścić Square-well Block na separatorze magnetycznym NucleoMag® SEP.
- 18 Odczekać co najmniej 2 minuty, aż wszystkie kulki zostaną przyciągnięte do magnesu.
- 19 Ostrożnie usunąć i wyrzucić supernatant przez pipetowanie.
- 20 Wyjąć Square-well Block z separatora magnetycznego NucleoMag® SEP.
- 21 Do każdej próbki dodać **600 µL Buffer NPW4**.
- 22 Przenieść Square-well Block na termomikser.
- 23 Zawiesić kulki magnetyczne, wytrząsając z prędkością 1000 obr./min przez 2 min, aż zostaną całkowicie zawieszane.
- 24 Umieścić Square-well Block na separatorze magnetycznym NucleoMag® SEP.
- 25 Odczekać co najmniej 2 minuty, aż wszystkie kulki zostaną przyciągnięte do magnesu.
- 26 Ostrożnie usunąć i wyrzucić supernatant przez pipetowanie.
- 27 Wyjąć Square-well Block z separatora magnetycznego NucleoMag® SEP.
- 28 Do każdej próbki dodać **600 µL 80 % etanolu**.
- 29 Przenieść Square-well Block na termomikser.
- 30 Zawiesić kulki magnetyczne, wytrząsając z prędkością 1000 obr./min przez 2 min, aż zostaną całkowicie zawieszane.
- 31 Umieścić Square-well Block na separatorze magnetycznym NucleoMag® SEP.
- 32 Odczekać co najmniej 2 minuty, aż wszystkie kulki zostaną przyciągnięte do magnesu.
- 33 Ostrożnie usunąć i wyrzucić supernatant przez pipetowanie.
- 34 Osad kulek magnetycznych suszyć na powietrzu przez 10 minut w temperaturze pokojowej.
Uwaga: Należy pamiętać, aby usunąć cały 80 % etanolowy roztwór do płukania z ostatniego płukania przed etapem suszenia.
- 35 Wyjąć Square-well Block z separatora magnetycznego NucleoMag® SEP.
- 36 Dodać **100 µL buforu do elucji NPE5** do każdego pojemnika reakcyjnego.
- 37 Przenieść Square-well Block na termomikser.
- 38 Zawiesić kulki magnetyczne przez umiarkowane wytrząsanie aż do całkowitego ponownego zawieszenia przez 5 minut w temperaturze pokojowej przy 1000 obr./min.
- 39 Umieścić Square-well Block na separatorze magnetycznym NucleoMag® SEP.
- 40 Odczekać co najmniej 2 minuty, aż wszystkie kulki zostaną przyciągnięte do magnesu.

41 Ostrożnie przenieść eluat na odpowiednią płytkę do elucji

Uwaga: Nie naruszać osadu kulek magnetycznych.

6 Załącznik

6.1 Rozwiązywanie problemów

Problem	Możliwa przyczyna i sugestie
Niewielki uzysk / niska czułość	<p><i>Niepełna liza próbek</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Próbka zmieszana z Lysis Buffer i Proteinase K nie została dokładnie zhomogenizowana i zmieszana z Lysis Buffer, Proteinase K. Mieszaninę należy ciągle wytrząsać. Ewentualnie przedłużyć czas inkubacji z Proteinase K.
	<p><i>Niewystarczająca objętość buforu elucyjnego</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Osad kulek musi być całkowicie pokryty buforem do elucji i musi zostać całkowicie ponownie zawieszony.
	<p><i>Niewystarczająca wydajność buforu elucyjnego podczas etapu elucji</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Po wiązaniu i płukaniu całkowicie usunąć wszystkie bufony z osadu kulek. Pozostały bufor zmniejsza wydajność kolejnych czynności.
	<p><i>Zasysanie przyciągniętego osadu kulek</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Nie zakłócać przyciągniętych kulek podczas zasysania supernatantu. Wymaga to szczególnej ostrożności podczas usuwania lizatu z kulek, ponieważ lizat jest zwykle zbyt nieprzezroczysty, aby umożliwić wizualną kontrolę grudek.
Niska czystość / niska czułość	<p><i>Aspiracja i utrata kulek</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Zbyt krótki czas separacji magnetycznej lub zbyt duża prędkość aspiracji.
	<p><i>Niewystarczająca procedura płukania</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Używać tylko odpowiednich kombinacji separatora i płytki (na przykład Square-well Block w połączeniu z NucleoMag[®] SEP). Upewnić się, że kulki zostały całkowicie zawieszony (np. równomiernie brązowawy płyn) podczas procedury mycia. Jeśli wytrząsanie nie wystarcza do ponownego zawieszenia kulek, należy je całkowicie wymieszać, powtarzając pipetowanie w górę i w dół.

Problem	Możliwa przyczyna i sugestie
Słabe działanie RNA/DNA w dalszych aplikacjach / hamowanie (RT)-qPCR	<p><i>Przenoszenie etanolu z buforów płuczących</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Należy pamiętać, aby usunąć cały 80 % etanolewy roztwór do płukania z ostatniego płukania. Resztki etanolu zakłócają dalsze zastosowania. Po każdej separacji magnetycznej należy całkowicie odessać supernatant. Po każdym usunięciu supernatantu sprawdzić dwukrotnie pod kątem pozostałości buforu płuczącego. Dostosować wysokości aspiracji w przypadku nadmiaru pozostałości buforu po usunięciu supernatantu. <p><i>Odparowywanie etanolu z buforów do płukania.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Zamknąć szczelnie butelki z buforami, unikać parowania etanolu z butelek z buforami, jak również z buforów napełnionych w zbiornikach. Nie używać ponownie buforów ze zbiorników na bufor.
Przeniesienie kulek	<p><i>Zbyt krótki czas na separację magnetyczną</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Wydłużyć czas separacji, aby kulki mogły zostać całkowicie przyciągnięte do kołków magnetycznych przed zassaniem jakiegokolwiek cieczy ze studzienki. <p><i>Zbyt wysoka prędkość aspiracji (etap elucji)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Wysoka prędkość aspiracji lub suboptymalne wysokości aspiracji podczas etapu elucji mogą powodować przeniesienie kulek. Zmniejszyć prędkość aspiracji i dostosować wysokość aspiracji dla etapu elucji.

6.2 Konieczność powiadomienia

Należy pamiętać, że każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z produktem, należy niezwłocznie zgłaszać producentowi i właściwemu organowi europejskiego państwa członkowskiego, w którym incydent miał miejsce. Europejskie punkty kontaktowe ds. nadzoru: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Piśmiennictwo ogólne

Thiemann F. et al. (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik – Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, 1st ed., ISBN 3-527-31471-7.

Paysic J. et al. (2015). Standardization of Nucleic Acid Tests for Clinical Measurements of Bacteria and Viruses. J Clin Microbiol., 53(7), 2008 – 14.

Cohen, J. et al. (2016) Infectious Diseases, Elsevier, 4th ed., ISBN: 9780702062858.

Vemula S. V. et al. (2016) Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans, Viruses 8(4), 96.

6.4 Zamawianie

Produkt	REF	Opakowanie
Zestawy z oznaczeniem CE-IVD		
NucleoMag [®] Dx Pathogen	744215.4	384 preparaty
NucleoSpin [®] Dx Virus	740895.50	50 preparatów
NucleoSpin [®] Dx Blood	740899.50 740899.250	50 preparatów 250 preparatów
NucleoSpin [®] Dx RNA Blood	740201.50	50 preparatów
Zestaw do celów badawczych		
NucleoMag [®] Pathogen (RUO)	744210.1 744210.4	1 × 96 preparatów 4 × 96 preparatów
NucleoMag [®] Pathogen Prefilled Plates (RUO)	744211	96 preparatów
Produkty dodatkowe		
NucleoMag [®] SEP	744900	1
Bloki z kwadratowymi studzienkami	740481 740481.24	4 24

Więcej szczegółowych informacji o produkcie można znaleźć na stronie www.mn-net.com.

6.5 Objaśnienie symboli

-  Numer produktu
-  Identyfikator partii
-  Producent
-  Produkty do diagnostyki *in vitro*
-  Należy przeczytać instrukcję obsługi
-  Wystarcza na < n > testów
-  Dopuszczalny zakres temperatur przechowywania
-  Termin ważności
-  Przestroga: Dalsze informacje w instrukcji obsługi
-  Nie używać ponownie
-  384

6.6 Ograniczenie stosowania produktu / gwarancja

Zestaw NucleoMag® Dx Pathogen to uniwersalny system do izolacji i oczyszczania RNA wirusowego z ludzkich próbek z dróg oddechowych i śliny lub RNA wirusowego i DNA wirusowego z nieprzygotowanych próbek kału w celu dalszej diagnostyki *in vitro*.

Zestaw jest przeznaczony do dalszych zastosowań z użyciem enzymatycznej amplifikacji i detekcji RNA lub DNA (np. RT-PCR, qPCR).

Wszelkie wyniki diagnostyczne uzyskane przy użyciu kwasów nukleinowych wyizolowanych za pomocą zestawu **NucleoMag® Dx Pathogen** w połączeniu z testem diagnostycznym należy interpretować z uwzględnieniem dodatkowych wyników badań klinicznych lub laboratoryjnych.

Zestaw **NucleoMag® Dx Pathogen** nie dostarcza wyniku diagnostycznego. Użytkownik ponosi wyłączną odpowiedzialność za używanie i walidację zestawu w połączeniu z dalszym testem do diagnostyki *in vitro*. TYLKO produkty firmy MACHEREY-NAGEL specjalnie oznaczone jako IVD nadają się do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Instrukcje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się w odpowiednim rozdziale instrukcji obsługi lub MSDS. Zestaw **NucleoMag® Dx Pathogen** może być używany wyłącznie w odpowiednim środowisku testowym, tj. w odpowiednich warunkach laboratoryjnych. Użytkownik ponosi odpowiedzialność za wszelkie szkody wynikające z zastosowania zestawu **NucleoMag® Dx Pathogen** niezgodnie z przeznaczeniem określonym w instrukcji obsługi.

Ten produkt firmy MACHEREY-NAGEL jest dostarczany z dokumentacją określającą specyfikację i inne informacje techniczne. Firma MACHEREY-NAGEL gwarantuje spełnienie podanych specyfikacji. Jedynym zobowiązaniem firmy MACHEREY-NAGEL i jedynym środkiem

zaradczym wobec klienta jest bezpłatna wymiana produktów w przypadku, gdy produkty nie będą działać zgodnie z gwarancją. Dodatkowo należy zapoznać się z ogólnymi warunkami handlowymi firmy MACHEREY-NAGEL, które są wydrukowane w cenniku. W razie chęci otrzymania dodatkowej kopii należy skontaktować się z naszą firmą.

Firma MACHEREY-NAGEL nie ponosi odpowiedzialności za uszkodzenia lub wady powstałe podczas transportu i obsługi (z wyłączeniem ubezpieczenia transportowego dla klientów) lub w wyniku wypadku, lub niewłaściwego lub nieprawidłowego użytkowania tego produktu; wad produktów lub komponentów niewyprodukowanych przez firmę MACHEREY-NAGEL lub uszkodzeń wynikających z takich komponentów lub produktów firm innych niż MACHEREY-NAGEL.

Firma MACHEREY-NAGEL nie udziela żadnych innych gwarancji, a W SZCZEGÓLNOŚCI ZRZEKA SIĘ I WYKLUCZA WSZELKIE INNE GWARANCJE JAKIEGOKOLWIEK RODZAJU LUB NATURY, BEZPOŚREDNIO LUB POŚREDNIO, WYRAŻNE LUB DOROZUMIANE, W TYM MIĘDZY INNYMI DOTYCZĄCE PRZYDATNOŚCI, TRWAŁOŚCI, ODTWARZALNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU LUB UŻYTKOWANIA, WARTOŚCI HANDLOWEJ, STANU LUB INNYCH KWESTII DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW FIRMY MACHEREY-NAGEL.

W żadnym wypadku firma MACHEREY-NAGEL nie ponosi odpowiedzialności za roszczenia z tytułu jakichkolwiek innych szkód, bezpośrednich, pośrednich, przypadkowych, kompensacyjnych, przewidywalnych, następczych lub specjalnych (w tym m.in. utraty użytkowania, przychodów lub zysków), niezależnie od tego, czy są one oparte na gwarancji, umowie, czynnie niedozwolonym (w tym zaniedbaniu) lub ścisłej odpowiedzialności powstałej w związku ze sprzedażą lub niezgodnością produktów firmy MACHEREY-NAGEL z określonymi specyfikacjami. Niniejsza gwarancja ma charakter wyłączny. Firma MACHEREY-NAGEL nie udziela żadnych innych gwarancji wyraźnych ani dorozumianych.

Gwarancja opisana w niniejszym dokumencie oraz dane, specyfikacje i opisy tego produktu firmy MACHEREY-NAGEL pojawiające się w opublikowanych katalogach i dokumentacji produktu firmy MACHEREY-NAGEL są wyłącznymi oświadczeniami firmy MACHEREY-NAGEL dotyczącymi produktu i gwarancji. Żadne inne oświadczenia lub deklaracje, pisemne lub ustne, składane przez pracowników, agentów lub przedstawicieli firmy MACHEREY-NAGEL, z wyjątkiem oświadczeń pisemnych podpisanych przez należycie upoważnionego przedstawiciela firmy MACHEREY-NAGEL, nie są dozwolone; klient nie powinien na nich polegać i nie stanowią one części umowy sprzedaży ani niniejszej gwarancji.

Oświadczenia dotyczące produktów mogą ulec zmianie. W związku z tym prosimy o kontakt z naszym zespołem działu obsługi technicznej w celu uzyskania najbardziej aktualnych informacji na temat produktów firmy MACHEREY-NAGEL. W celu uzyskania ogólnych informacji naukowych można również skontaktować się z lokalnym dystrybutorem. Zastosowania wymienione w dokumentacji firmy MACHEREY-NAGEL są dostarczane wyłącznie w celach informacyjnych. Firma MACHEREY-NAGEL nie gwarantuje, że wszystkie zastosowania zostały przetestowane w laboratoriach firmy MACHEREY-NAGEL przy użyciu produktów firmy MACHEREY-NAGEL. Firma MACHEREY-NAGEL nie gwarantuje poprawności żadnego z tych zastosowań.

Ostatnia aktualizacja: Lipiec 2025 r. / Wer. 04

Powód zmiany:

- Odniesienie do nowych języków instrukcji obsługi.
- Rozszerzenie zakresu stosowania o wirusowe RNA i wirusowe DNA z niestabilizowanych/ nieprzygotowanych próbek kału ludzkiego. W rezultacie zaktualizowano następujące punkty: ograniczenia dotyczące użytkowania produktu (2.2), podstawowa zasada (2.4), przygotowanie próbek materiałów (2.6), działanie analityczne i kliniczne (2.9),

przygotowanie materiałów próbki (5.1). Podsumowanie zmian: Dodano użycie próbek kału, a kontekst „wirusowego RNA” zmieniono na „wirusowe RNA i wirusowe DNA”.

- W skróconym protokole (5.2) „Wiązanie/elucja RNA” zmieniono na „Wiązanie/elucja kwasów nukleinowych”.
- Zaktualizowano dane kontaktowe MACHEREY NAGEL. Informacje dotyczące składania zamówień zostały zaktualizowane o płytki NucleoSpin® Dx RNA Blood i NucleoMag® Pathogen Prefilled Plates (RUO). Materiał próbki zaktualizowano o „próbki kału”.

Kontakt:

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG

Tel.: +49 24 21 969-333

support@mn-net.com

Znaki towarowe:

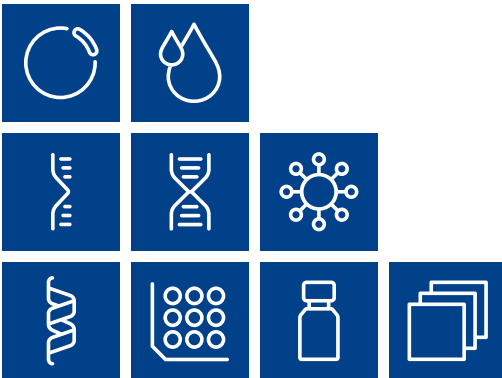
NucleoMag® i NucleoSpin® są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Niemcy.

KingFisher i AgPath-ID są znakami towarowymi firmy Thermo Fisher Scientific, USA.

Te-Shake jest znakiem towarowym firmy Tecan Group Ltd., Szwajcaria.

epMotion jest znakiem towarowym firmy Eppendorf AG, Niemcy.

Wszystkie użyte nazwy i oznaczenia mogą być markami, znakami towarowymi lub zastrzeżonym oznakowaniem ich odpowiednich właścicieli – także jeśli nie stanowią specjalnego oznaczenia. Wymienianie produktów i marek jest tylko rodzajem informacji (tzn. nie obraża znaków towarowych i marek i nie może być traktowane jako rodzaj rekomendacji lub oceny). W odniesieniu do tych produktów lub usług nie możemy udzielić żadnych gwarancji dotyczących doboru, skuteczności lub działania



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

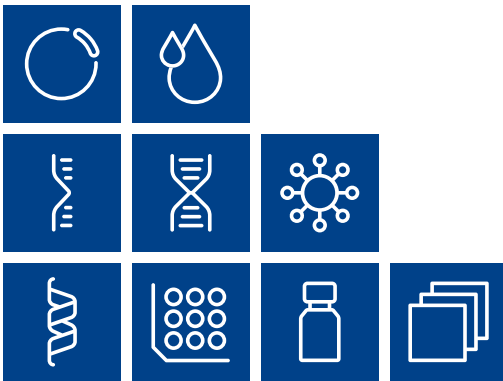
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany

DE +49 24 21 969-0 info@mn-net.com

CH +41 62 388 55 00 sales-ch@mn-net.com

FR +33 388 68 22 68 sales-fr@mn-net.com

US +1 888 321 62 24 sales-us@mn-net.com