

Instrucciones de uso para

MagSi-DX Pathogen



MDDX00010096
MDDX00010960
MDDX0001005K
MDDX0001025K



96 preparaciones
960 preparaciones
5000 preparaciones
25000 preparaciones



Para uso
diagnóstico in vitro



Rev. 2.1,
04/01/2022



magtívio B.V.
Daelderweg 9
6361 HK Nuth
Países Bajos

Historial de revisiones

Revisión	Fecha de publicación	Comentarios
1	29/09/2021	Lanzamiento inicial
2	23/11/2021	Correcciones de texto menores, tabla en la sección 2.2 corregida, diseño del capítulo 5 ajustado
2.1	04/01/2022	Marca CE añadida

Información de contacto

magtivio B.V.

Daelderweg 9 - 6163 HK - Nuth

Tel.: +31 (0) 45 208 4810

Fax: +31 (0) 45 208 4817

Correo electrónico: info@magtivio.com

Soporte: support@magtivio.com

Pedidos: order@magtivio.com

Sitio web: www.magtivio.com








ÍNDICE

1. Componentes.....	1
1.1 Contenido del kit.....	1
1.2 Reactivos, consumibles y equipo que deberá facilitar el usuario.....	1
1.3 Acerca de estas instrucciones de uso.....	2
2. Descripción del producto.....	2
2.1 Finalidad prevista.....	2
2.2 Especificaciones del producto.....	3
2.3 Limitaciones del uso.....	3
2.4 Principio de funcionamiento.....	3
2.5 Control de calidad.....	3
2.6 Recogida, manipulación y almacenamiento de muestras.....	4
2.6.1 Muestras de hisopos.....	4
2.6.2 Saliva.....	4
2.7 Uso en sistemas automatizados.....	4
2.7.1 Manejo de las esferas magnéticas.....	4
2.7.2 Sistemas de manipulación de líquido.....	4
2.7.3 Configuración del agitador.....	4
2.7.4 Sistemas de procesamiento de partículas magnéticas.....	5
2.8 Condiciones de elución.....	5
2.9 Características de rendimiento.....	5
2.9.1 Características de rendimiento analítico.....	5
2.9.2 Características de rendimiento diagnóstico.....	6
3. Almacenamiento y duración tras la primera apertura.....	6
4. Advertencias y precauciones.....	7
5. Preparación del reactivo.....	9
5.1 Reconstitución de la Proteinase K.....	9
5.2 Reconstitución de la Poly-A-RNA.....	9
5.3 Preparación de la Lysis Master Mix.....	10
5.4 Preparación de la Binding Buffer / Beads premix (opcional).....	10
6. Protocolo para la extracción de ARN vírico.....	11
7. Procedimiento de control.....	12
8. Interpretación de los resultados.....	12
9. Compatibilidad.....	12
10. Apéndice.....	13
10.1 Resolución de problemas.....	13
10.2 Referencias bibliográficas.....	14
10.3 Requisitos de notificación.....	14
10.4 Explanation of symbols.....	14
10.5 Restricción de utilización del producto/garantía.....	15

1. Componentes

1.1 Contenido del kit

	MagSi-DX Pathogen			
Nombre del componente	Tamaño del pack: 96 preparaciones N.º de art.: MDDX00010096	Tamaño del pack: 960 preparaciones N.º de art.: MDDX00010960	Tamaño del pack: 5000 preparaciones N.º de art.: MDDX0001005K	Tamaño del pack: 25 000 preparaciones N.º de art.: MDDX0001025K
Lysis Buffer PA1 	20 ml	200 ml	1000 ml	5000 ml
Binding Buffer U1 	40 ml	400 ml	2 x 1000 ml	2 x 5000 ml
Wash Buffer I 	2 x 80 ml	2 x 800 ml	8 x 1000 ml	8 x 5000 ml
Wash Buffer II 	80 ml	800 ml	4 x 1000 ml	4 x 5000 ml
Elution Buffer 	20 ml	200 ml	1000 ml	5000 ml
Proteinase K	20 mg (para solución de trabajo de 1,1 ml)	200 mg (para solución de trabajo de 11 ml)	1 x 1000 mg (para solución de trabajo de 55 ml)	5 x 1000 mg (para solución de trabajo de 5 x 55 ml)
Poly-A-RNA	0,3 mg (para solución de trabajo de 120 µl)	3 mg (para solución de trabajo de 1,2 ml)	15 mg (para solución de trabajo de 6 ml)	3 x 25 mg (para solución de trabajo de 3 x 10 ml)
Poly-A-RNA Buffer	0,5 ml	5 ml	20 ml	3 x 20 ml
MagSi-PA VII	2 ml	20 ml	100 ml	5 x 100 ml

1.2 Reactivos, consumibles y equipo que deberá facilitar el usuario

El equipo requerido puede variar en función del método de procesamiento y de la configuración o disposición del instrumental. Consulte al fabricante del sistema automatizado en cuanto a los consumibles específicos de la plataforma. Asimismo, consulte la sección 2.7 para más detalles sobre la automatización de MagSi-DX Pathogen.

Producto	REF	Cantidad
MM-Separator 96 Deepwell	MDMG0013	1 unidad

Reactivos:

- Agua, grado biología molecular

Consumibles:

- Microplacas de 96 pocillos con pocillos cuadrados y de fondo en U (2 ml) para el procesamiento de muestras (sugerencia: Riplate®SW 96, PP, 2 mL, Ritter, 43001-0020)
- Microplacas de 96 pocillos con fondo en U (300 µl) para la transferencia de la muestra procesada (sugerencia: Nunc 96-Well Microplates, Round, Nonsterile, Thermo Scientific, 267245)
- Pipette tips (aerosol barrier and nuclease-free are recommended)

Equipo:

- Micropipetas, de un canal y de 8 o 12 canales (10-100 µl y 100-1000 µl)
- Agitador de microplacas (sugerencia: ThermoMixer C, Eppendorf)

1.3 Acerca de estas instrucciones de uso

Se recomienda leer detenidamente estas instrucciones de uso antes de utilizar el producto.

2. Descripción del producto

2.1 Finalidad prevista

MagSi-DX Pathogen está previsto para el aislamiento y la purificación de ARN vírico para fines diagnósticos in vitro subsiguientes. El kit se puede emplear con exudados respiratorios y saliva humanos. El kit se ha diseñado para utilizarse con cualquier aplicación posterior con amplificación y detección de ARN vírico (en particular PCR cuantitativa en tiempo real, secuenciación). El kit se ha validado específicamente para flujos de trabajo diagnósticos de SARS-CoV-2.

MagSi-DX Pathogen no proporciona un resultado diagnóstico. El usuario es el único responsable de la utilización y la validación del kit en combinación con un ensayo diagnóstico in vitro posterior, en función del patógeno objetivo, y de la utilización de controles adecuados para las aplicaciones posteriores (p. ej. controles internos, controles de extracción, controles positivos/negativos). Cualquier resultado diagnóstico generado utilizando ácidos nucleicos aislados con MagSi-DX Pathogen en combinación con un ensayo diagnóstico in vitro se debe interpretar teniendo en cuenta los hallazgos clínicos o de laboratorio adicionales.

MagSi-DX Pathogen está previsto para su uso por parte de usuarios profesionales, como técnicos y médicos con experiencia y formación en técnicas de biología molecular, incluyendo experiencia con hisopos y otros materiales de muestras humanas potencialmente infecciosas.

MagSi-DX Pathogen no es apto para el autodiagnóstico ni para análisis de cabecera.

2.2 Especificaciones del producto

Parámetro	MagSi-DX Pathogen
Tecnología	Esferas magnéticas y química de unión caotrópica del ácido nucleico
Material de las muestras	Exudados respiratorios y saliva
Volumen de las muestras	200 µl
Volumen de elución	50 - 100 µl
Tiempo de procesamiento	~35 min. para 96 muestras (en función del método de utilización)
Método de procesamiento	Manual o automatizado

2.3 Limitaciones del uso

MagSi-DX Pathogen es apto para el uso con exudados respiratorios y saliva humanos. MagSi-DX Pathogen no se ha validado para otros materiales de muestra. El rendimiento del producto se ha analizado en flujos de trabajo diagnósticos de SARS-CoV-2. No se han establecido las características de rendimiento para todas las especies de virus de ARN en las muestras clínicas respectivas o el reactivo de estabilización de las muestras y deben ser validadas por el usuario. Adicionalmente, el usuario debe validar la extracción de ARN vírico utilizando MagSi-DX Pathogen en diferentes sistemas automatizados. Se requiere un cumplimiento estricto de estas instrucciones de uso para la purificación del ácido nucleico. Es fundamental seguir unas buenas prácticas de laboratorio para la correcta utilización del producto. La manipulación adecuada de los reactivos es fundamental para evitar la contaminación o las impurezas.

2.4 Principio de funcionamiento

El procedimiento se basa en la adsorción reversible de ácidos nucleicos a las esferas magnéticas con las condiciones de tampón adecuadas. Se consigue la lisis de la muestra mediante la incubación con el Lysis Buffer PA1 que contiene iones caotrópicos apoyados mediante la digestión de la Proteinase K. Para la unión de los ácidos nucleicos a las esferas magnéticas, se añade el Binding Buffer U1 y las esferas MagSi-PA VII al lisado. Tras la separación magnética, se lavan las esferas magnéticas para eliminar los contaminantes y sales usando los Wash Buffer I y Wash Buffer II. El etanol residual de los pasos de lavado previos se elimina mediante secado al aire. Finalmente se hace un eluido del ARN vírico muy puro con Elution Buffer de baja salinidad o agua. El ARN vírico purificado se puede usar directamente en aplicaciones posteriores. MagSi-DX Pathogen se puede utilizar de forma manual o automatizada en instrumentos de manipulación de líquidos estándar o en separadores magnéticos automatizados.

2.5 Control de calidad

De conformidad con el Sistema de gestión de calidad del fabricante, cada lote de kits y sus componentes se han analizado comparándolos con especificaciones predeterminadas para asegurar una calidad consistente.

2.6 Recogida, manipulación y almacenamiento de muestras

MagSi-DX Pathogen es apto para exudados respiratorios y saliva fresca o congelada, humanos y no tratados, en tampones de recogida de muestras. Se recomienda encarecidamente utilizar dispositivos de recogida de muestras que se hayan validado para la inactivación completa de virus. Consulte las guías aplicables y las instrucciones del fabricante para la recogida, manipulación y almacenamiento de muestras clínicas y otros requisitos preanalíticos. Las muestras se deben mezclar minuciosamente antes del uso.

2.6.1 Muestras de hisopos

Retire el hisopo del tampón de recogida y transfiera 200 µl de la solución a una microplaca para la extracción del ARN. En caso necesario, presione el hisopo contra la pared del tubo para expulsar el líquido. Para los hisopos secos, incube primero los hisopos en PBS, cloruro de sodio o un medio de cultivo celular durante 30 minutos con agitación, asegurándose de que la cabeza del hisopo esté completamente sumergida.

2.6.2 Saliva

La saliva se debe recoger en dispositivos aptos para la recogida y la preservación de muestras de saliva. Mézclela invirtiendo la muestra y transfiera 200 µl de la solución a una microplaca para la extracción del ARN.

2.7 Uso en sistemas automatizados

MagSi-DX Pathogen se puede usar en muchos sistemas automatizados diferentes de manipulación de líquido o de procesamiento de partículas magnéticas. Sin embargo, el usuario debe validar el rendimiento de MagSi-DX Pathogen en combinación con cualquier sistema automatizado específico junto con un ensayo diagnóstico in vitro y en combinación con controles adecuados para la aplicación posterior.

2.7.1 Manejo de las esferas magnéticas.

Se requiere una suspensión homogénea de las esferas magnéticas para asegurar la cantidad correcta de esferas magnéticas por muestra y una calidad de extracción consistente. Antes del uso, agite bien el bote de esferas. En los procedimientos de extracción automatizada, se debe integrar un paso de mezcla antes de aspirar las esferas.

2.7.2 Sistemas de manipulación de líquido

MagSi-DX Pathogen se puede utilizar en estaciones de trabajo de manipulación de líquido en combinación con el separador MM 96 DeepWell y con placas de 96 pocillos profundos con fondo en U y de pocillo cuadrado utilizando un dispositivo de agitación adecuado para la resuspensión y la mezcla de esferas magnéticas y un accesorio de agarre de microplacas para transportar la placa de las muestras hacia y desde el separador magnético.

2.7.3 Configuración del agitador

El ajuste de velocidad para el agitador de microplacas que se describe en los protocolos siguientes fue definido con un instrumento y una microplaca específicos. Cuando se usa un agitador de placas por primera vez para los pasos de incubación, se debe configurar con cuidado el ajuste de velocidad para cada placa específica, a fin de evitar la contaminación cruzada y el vertido. La configuración de la velocidad del agitador se puede realizar mediante la carga de una microplaca con un volumen de agua teñida igual al volumen de trabajo durante cada paso y aumentando gradualmente la velocidad del agitador hasta que se observen gotitas en la superficie de la placa. Configure de nuevo una velocidad del agitador más baja.

2.7.4 Sistemas de procesamiento de partículas magnéticas

MagSi-DX Pathogen se puede utilizar en sistemas de procesamiento de partículas magnéticas, como el sistema de purificación de ácidos nucleicos PurePrep 96, utilizando los consumibles previstos para el sistema específico. Las esferas magnéticas se vuelven a poner en suspensión y se mezclan moviendo una tapa de varillas magnéticas (con puntas de peine) hacia arriba y hacia abajo y son captadas por las varillas magnéticas cubiertas por las puntas del peine. Los componentes del kit se dispensan previamente en los consumibles antes de iniciar el sistema y se retiran del sistema posteriormente. Es importante no superar los volúmenes de trabajo máximos de los consumibles.

2.8 Condiciones de elución

La elución del ARN objetivo se puede realizar directamente con el Elution Buffer entre 50 y 100 µl. Las esferas magnéticas deben estar completamente sumergidas y resuspendidas en el Elution Buffer. La elución se puede realizar a 60 °C para aumentar ligeramente la recuperación del ARN.

El ARN eluido se puede almacenar a corto plazo (<24 horas) a 2-8 °C, el almacenamiento a largo plazo (>24 horas) se debe realizar a -20 °C.

2.9 Características de rendimiento

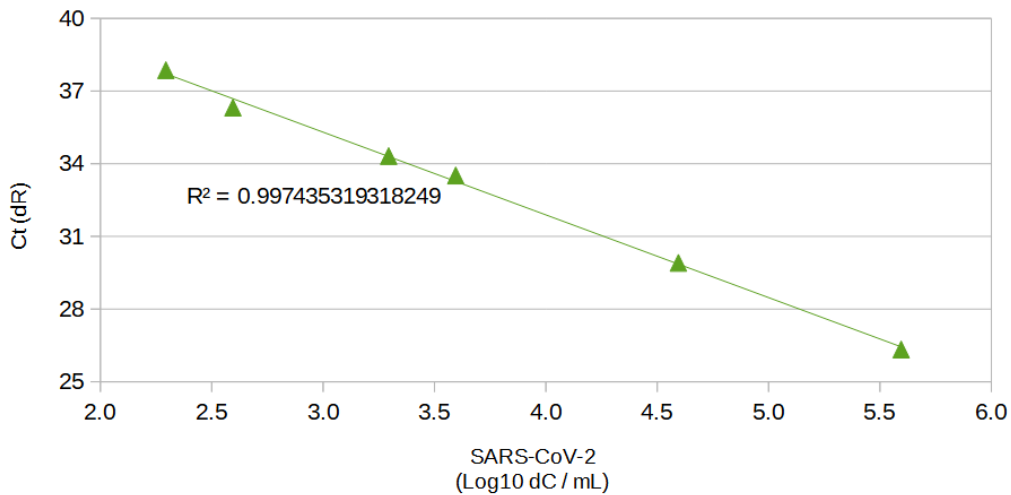
2.9.1 Características de rendimiento analítico

Se analizó la repetibilidad usando una muestra de paciente positiva y una muestra vírica comercial de SARS-CoV-2 inactivado con calor y añadida a una muestra negativa combinada, tomada de 15 donantes sanos.

El límite de detección (LdD) y la linealidad del procedimiento de extracción en combinación con un análisis de PCR cuantitativa en tiempo real se determinaron utilizando un SARS-CoV-2 Analytical Q Panel de virus completo, inactivado con calor y comercialmente disponible (Qnostics) compuesto por 8 muestras positivas con diferentes concentraciones y 1 muestra negativa. Cada muestra se diluyó en InActive Blue Saliva Collection Buffer, de conformidad con las instrucciones del fabricante para el Saliva Collection Kit con el cual se utilizó el tampón. Se extrajo el ARN de cada muestra diluida y a continuación se realizó la PCR cuantitativa en tiempo real con el Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR kit for SARS-CoV-2 (COVID-19).

Parámetro	Muestra de paciente positiva	Muestra comercial inactivada con calor
CV intraensayo	2,0 %	1,4 %
CV interensayo	No analizado	3,2 %
LdD	-	2,3 Log 10 dC/ml
Linealidad	-	R ² = 0,997

Linealidad



2.9.2 Características de rendimiento diagnóstico

MagSi-DX Pathogen se ha validado en flujos de trabajo diagnósticos para SARS-CoV-2. El rendimiento clínico se ejemplifica usando el panel LEQA producido y cuantificado en el RIVM por PCR digital. Los flujos de trabajo, incluyendo MagSi-DX Pathogen, lograron una puntuación del 100 % en el panel, compuesto por 10 muestras clínicas simuladas que contenían SARS-CoV-2 inactivado por calor, incluyendo una variante problemática (VOC) B.1.1.7; 20B/501Y.V1, u otros virus respiratorios o material genético [1].

3. Almacenamiento y duración tras la primera apertura

Todos los componentes del kit, incluyendo la Proteinase K (liofilizada), Poly-A-RNA (liofilizada) y MagSi-PA VII, se pueden almacenar a 18-25 °C. Cuando se almacenan en las condiciones mencionadas, el kit es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Almacene las soluciones preparadas de Proteinase K en alícuotas a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante 3 meses.

Almacene las soluciones preparadas de Poly-A-RNA a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante 3 meses.

Las esferas MagSi-PA VII se pueden mezclar previamente con el Binding Buffer U1 para la adición simultánea a las muestras. Sin embargo, la mezcla se debe preparar reciente cada día de utilización y mezclarse bien mediante agitador vórtex antes de su transferencia a las muestras.

Atención:

- Compruebe todos los componentes incluidos en el paquete en busca de daños. Si hubiera algún daño o fuga, póngase en contacto con el soporte técnico y el servicio de atención al cliente de magtívio.
- No utilice los componentes dañados.
- Utilice equipo sin ARNasa
- Todos los tampones están listos para el uso.
- No congele el producto.







4. Advertencias y precauciones

Los siguientes componentes de MagSi-DX Pathogen contienen ingredientes peligrosos.

Lleve ropa, guantes y gafas de protección adecuados y siga las instrucciones de seguridad indicadas en esta sección.

Clasificación GHS

Solo las características que no son peligrosas no necesitan etiquetarse con las frases H y P hasta 125 ml o 125 g.

Componente	Ingredientes peligrosos	Símbolos GHS	Frases de peligro	Frases de precaución
Lysis Buffer PA1	Hidrocloruro de guanidina (20-25 %) CAS 50-01-1	 ADVERTENCIA	H302 H319 H315	P264, P280, P302+P352 P305+P351+P338 P337+P313, P501
Binding Buffer U1	Perclorato de sodio (50-55 %) 2-Propanol (20-25 %) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PELIGRO	H225 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer I	Perclorato de sodio (35-40 %) 2-Propanol (50-55 %) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PELIGRO	H225 H302 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer II	Etanol (70-75 %) CAS 64-17-5	 PELIGRO	H225 H319	P210, P233, P305+P351+P338 P403+P235, P501
Proteinase K	Proteinasa K (100 %) CAS 39450-01-6	 PELIGRO	H315 H319 H334 H335	P261, P280 P284, P304+P340 P342+P311, P501
Poly-A-RNA Buffer	Tiocianato de guanidina (30-35 %) CAS 593-84-0	 PELIGRO	H302+H332 H314 H412	P260, P264 P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310

Frases de peligro:

H225	Líquido y vapor muy inflamables.
H302+332	Nocivo en caso de ingesta.
H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
	Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación
H334	
H335	Puede provocar irritación respiratoria.
H336	Puede provocar somnolencia o mareos.
H373	Puede provocar daño en los órganos por exposición prolongada o repetida.

Frases de precaución:

P210	Mantener alejado del calor, de superficies calientes, chispas, llamas abiertas y otras fuentes de ignición. No fumar.
P233	Mantener el recipiente bien cerrado.
P260	No inhalar el polvo/humo/gas/bruma/vapores/spray.
P261	Evite inhalar el polvo/humo/gas/bruma/vapores/spray.
P264	Lávese las manos minuciosamente después de la manipulación.
P280	Lleve guantes/ropa de protección/protección ocular/facial/auditiva.
P284	Lleve protección respiratoria.
P302+P352	SI ENTRA EN CONTACTO CON LA PIEL: Lávela con abundante agua y jabón.
P303+P361+P353	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quítese de inmediato toda la ropa contaminada. Enjuáguese con agua o dúchese.
P304+P340	EN CASO DE INHALACIÓN: Saque a la persona al aire libre y manténgala cómoda para que respire.
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Enjuague con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quítese las lentes de contactos, si las tiene y le resulta fácil. Siga enjuagando.
P310	Llame de inmediato a un médico/CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA.
P337+P313	Si la irritación ocular persiste: Busque atención/consejo médico.
P342+P311	Si experimenta síntomas respiratorios: Llame a un médico/CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA.
P403+P235	Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener fresco.
P501	Elimine los residuos de conformidad con la legislación aplicable.



El símbolo mostrado en las etiquetas hace referencia a más información de seguridad de esta sección.

Al trabajar con MagSi-DX Pathogen, lleve ropa de protección adecuada (p. ej. bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección). Para más información, consulte la ficha de datos de seguridad apropiada (disponible en support@magtívio.com).

ATENCIÓN:

El Lysis Buffer PA1, Binding Buffer U1, Wash Buffer I y Poly-A-RNA Buffer contienen sal caotrópica (p. ej. hidrocloreuro de guanidina y/o perclorato de sodio, los cuales pueden formar compuestos muy reactivos al combinarse con lejía (hipoclorito de sodio). La lejía NO DEBE entrar en contacto directo con los materiales expuestos a los tampones mencionados. Lleve ropa, guantes y gafas de seguridad adecuados.

Los residuos generados con MagSi-DX Pathogen no se han analizado para material infeccioso residual. Es muy improbable que se dé contaminación de los residuos líquidos con material infeccioso residual debido al fuerte tratamiento desnaturizante con el Lysis Buffer PA1 y la Proteinase K, pero no se puede excluir por completo esta posibilidad. Por tanto, los residuos líquidos se deben considerar infecciosos y se deben manipular y desechar de conformidad con las normativas de seguridad locales.

Eliminación

Elimine los materiales peligrosos, infecciosos o contaminados con material biológico de forma segura y aceptable y de conformidad con todos los requisitos nacionales y reguladores.

5. Preparación del reactivo

5.1 Reconstitución de la Proteinase K

- MDDX00010096 (96 preparaciones), añada 1,1 ml de agua de grado biología molecular al vial de Proteinase K y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Almacene las soluciones de Proteinase K en alícuotas a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.
- MDDX00010960 (10x96 preparaciones), añada 11 ml de agua de grado biología molecular al vial de Proteinase K y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Para el alicuotado para 96 muestras, haga alícuotas de 1,05 ml y almacene las soluciones a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.
- MDDX0001005K (5000 preparaciones) y MDDX0001025K (25 000 preparaciones), añada 55 ml de agua de grado biología molecular a cada vial de Proteinase K y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Para el alicuotado para 96 muestras, haga alícuotas de 1,05 ml y almacene las soluciones a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.

5.2 Reconstitución de la Poly-A-RNA

- MDDX00010096 (96 preparaciones), añada 120 µl de Poly-A-RNA Buffer al vial de Poly-A-RNA (0,3 mg) y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Almacene las soluciones de Poly-A-RNA a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.
- MDDX00010960 (10x96 preparaciones), añada 1,2 µl de Poly-A-RNA Buffer al vial de Poly-A-RNA (3 mg) y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Para el alicuotado para 96 muestras, haga alícuotas de 110 µl y almacene las soluciones a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.
- MDDX0001005K (5000 preparaciones), añada 6 ml de Poly-A-RNA Buffer al vial de Poly-A-RNA (15 mg) y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Para el alicuotado para 96 muestras, haga alícuotas de 110 µl y almacene las soluciones a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.
- MDDX0001025K (25 000 preparaciones), añada 10 ml de Poly-A-RNA Buffer a cada vial de Poly-A-RNA (25 mg) y aplique el agitador vórtex para disolverlo. Para el alicuotado para 96 muestras, haga alícuotas de 110 µl y almacene las soluciones a -20 °C. Evite congelarlas y descongelarlas repetidamente. En caso de almacenamiento correcto, las soluciones son estables durante al menos 3 meses.

Si hay algo de precipitado presente en los tampones, caliente el tampón hasta 25-37 °C para disolver el precipitado antes del uso.

5.3 Preparación de la Lysis Master Mix

- Para cada muestra, prepare la Lysis Master Mix:

Lysis Buffer PA1	200 µl
Solución de Poly-A-RNA	1 µl
Solución de Proteinase K	10 µl
Total	211 µl

- Prepare un exceso de la mezcla maestra de lisis para compensar la inexactitud al pipetear, sobre todo al usar pipetas multicanal, etc. Utilice la mezcla maestra de lisis inmediatamente después de la preparación.

5.4 Preparación de la Binding Buffer / Beads premix (opcional)

Las esferas MagSi-PA VII se pueden mezclar previamente con el Binding Buffer U1 para la adición simultánea a las muestras. Para cada muestra, prepare la Binding Buffer / Beads premix:

Binding Buffer U1	400 µl
MagSi-PA VII	20 µl
Total	420 µl

La mezcla se debe usar el mismo día de la preparación y debe mezclarse bien con el agitador vórtex antes de transferirla a las muestras.

6. Protocolo para la extracción de ARN vírico

Antes de empezar:

- Prepare la mezcla maestra de lisis según la sección 5.
- Realice el tratamiento previo de las muestras (si se requiere) según la sección 2.6.
- Someta a las esferas magnéticas al agitador vórtex minuciosamente hasta lograr una suspensión homogénea.

Este protocolo está previsto para el uso manual del kit. También se puede usar como guía para configurar un procedimiento automatizado en instrumentos de manipulación de líquido. Para ello, se pueden utilizar placas de 96 pocillos y accesorios adecuados. Asegúrese de que el sistema de manipulación de líquido está equipado con los dispositivos requeridos (agitador, incubadora, separador magnético, etc.).

1. Transfiera 200 µl de la muestra a una microplaca para su procesamiento. Si el volumen es inferior a 200 µl, aumentelo a 200 µl con 1 tampón de fosfato salino o agua de grado biología molecular.
2. Añada 211 µl de la mezcla maestra de lisis a cada muestra. Incúbelo en un agitador durante 10 minutos a 1000 RPM.
3. Añada 20 µl de esferas MagSi-PA VII y 400 µl de Binding Buffer U1. Incúbelo en un agitador durante 5 minutos a 1000 RPM.
4. Coloque la microplaca de procesamiento en el separador magnético y espere al menos 1 minuto para recoger las esferas. Retire el sobrenadante sin alterar la bola de esferas magnéticas atraídas.
5. Retire la placa de muestras del separador magnético y añada 800 µl de Wash Buffer I a los tubos. Vuelva a poner en suspensión las esferas incubando las muestras en un agitador durante 1 minuto a 1000 RPM. Coloque las muestras en un separador magnético y espere al menos 1 minuto para recoger las esferas. Retire el sobrenadante sin alterar la bola de esferas atraídas.
6. Repita el paso 5 una vez más con 800 µl de Wash Buffer I y una vez más con 800 µl de Wash Buffer II.
7. Seque las esferas al aire durante 10 minutos para que el etanol se evapore completamente. En caso necesario, centrifugue brevemente y retire cualquier residuo de los tampones antes de secar las esferas magnéticas atraídas.
8. Retire las muestras del separador magnético y añada 100 µl del Elution Buffer. Incúbelo en un agitador durante 10 minutos a 1000 RPM.
9. Coloque los tubos en un separador magnético y espere al menos 1 minuto para recoger las esferas. Transfiera los eluidos a nuevos tubos. Los ácidos nucleicos purificados del eluido ahora están listos para usarse en aplicaciones posteriores.

7. Procedimiento de control

MagSi-DX Pathogen no incluye un procedimiento de control. El usuario es el único responsable de la utilización de controles adecuados en las aplicaciones posteriores. Se recomienda usar controles internos basados en ARN para ensayos de PCR cuantitativa en tiempo real a fin de eliminar el riesgo de resultados falsos negativos como consecuencia de la contaminación potencial con ARNasa.

8. Interpretación de los resultados

MagSi-DX Pathogen no proporciona un resultado diagnóstico. El usuario es el único responsable de la utilización y la validación del kit en combinación con una aplicación diagnóstica in vitro posterior, en función del patógeno objetivo.

9. Compatibilidad

MagSi-DX Pathogen se ha validado junto con los siguientes dispositivos:

- Saliva Collection Kit, REF: IB_COL, InActiv Blue
- eNAT®, REF: 608CS01R, Copan Italia
- Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR kit for SARS-CoV-2 (COVID-19), REF: 31469, Kylt
- SARS-CoV-2 Q Control 01, REF: SCV2QC01-A, Qnostics
- SARS-CoV-2 Analytical Q Panel 01, REF: SCV2AQP01-A, Qnostics

10. Apéndice

10.1 Resolución de problemas

Problema	Posible causa	Comentarios y sugerencias
Baja producción de ARN	Degradación del ARN	Use y almacene el dispositivo de recogida de muestras según las instrucciones del fabricante
	Unión ineficiente a las partículas magnéticas	Use la cantidad correcta de todos los reactivos Aumente los pasos de mezcla y el tiempo de incubación para el paso de unión Mezcle la muestra durante la lisis/incubación de la unión
	Procedimiento de lavado insuficiente	Asegúrese de que las esferas están completamente resuspendidas en los pasos de lavado.
	Elución incompleta	El secado del Wash Buffer II puede haber sido incompleto, aumente el tiempo de secado Resuspenda completamente las esferas en el paso de elución
Problemas en las aplicaciones posteriores/contaminación en la muestra	Etanol en el ADN eluido	Aumente el tiempo de secado a 15 minutos
	Sal en el eluido	Use los tampones en el orden correcto Asegúrese de que se han eliminado correctamente todos los sobrenadantes. Evite la transferencia de la mezcla maestra de lisis, el Binding Buffer U1 o los tampones de lavado al eluido.
	Queda una elevada cantidad de esferas magnéticas en el eluido	Coloque los tubos con eluidos de nuevo en el separador magnético y transfiera el sobrenadante a un nuevo recipiente.












10.2 Referencias bibliográficas

1. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM). External Quality Assessment of laboratories Performing SARS-CoV-2 Diagnostics for the Dutch Population, February 2021. John Sluimer, Garbiel Goderski, Sharon van den Brink, Lisa Wijsman, Chantal Reusken, Marion Koopmans, Richard Molenkamp, Adam Meijer.
2. Fox, J. D. Nucleic Acid amplification tests for detection of respiratory viruses, Elsevier, Journal of Clinical Virology 40 Suppl. 1, S15 – S23 (2007).
3. Wang et al. An Overview of Nucleic Acid Testing for the Novel Coronavirus SARS-CoV-2, Frontiers in Medicine, Volume 7, Article 571709 (2021).
4. Mizoguchi, M. et al. Comparative performance and cycle threshold values of 10 nucleic acid amplification tests for SARS-CoV-2 on clinical samples, PloS ONE 16(6): e0252757 (2021).
5. Wölfel, R. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019, Nature, Vol. 581, 465-469 (2020).

10.3 Requisitos de notificación

Tenga en cuenta que cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto se debe notificar de inmediato al fabricante y a la autoridad competente del estado europeo miembro en el que se produjo dicho incidente. Puntos de contacto de la vigilancia europea: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en.

10.4 Explanation of symbols

	Número de artículo
	Número de lote
	Fabricante
	Fecha de fabricación
	Producto sanitario para el diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso
	Suficiente para <n> pruebas
	Limitación de temperatura
	Usar antes del
	Atención: Más información en las instrucciones de uso
	No reutilizar

10.5 Restricción de utilización del producto/garantía

Este producto se envía con documentación que indica las especificaciones y otra información técnica. magtívio garantiza el cumplimiento de las especificaciones mencionadas. La única obligación de magtívio y el único recurso del cliente se limitan a la sustitución de los productos sin cargo en caso de que el producto no tenga el rendimiento garantizado. La referencia complementaria se ha elaborado de acuerdo con los términos y condiciones generales de magtívio, los cuales están impresos en la lista de precios. Póngase en contacto con nosotros si desea obtener una copia adicional.

magtívio no se responsabiliza ni ofrece una garantía por daños o defectos derivados del envío y la manipulación (excluyendo el seguro de transporte para clientes), o por accidente o utilización indebida o anómala de este producto; por defectos en productos o componentes no fabricados por magtívio, ni por daños derivados de dichos componentes o productos que no sean de magtívio.

magtívio no emite ninguna otra garantía de ningún tipo y **ESPECÍFICAMENTE NIEGA Y EXCLUYE TODA GARANTÍA DE CUALQUIER TIPO O NATURALEZA, DIRECTA O INDIRECTA, EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO SIN LIMITACIÓN, EN CUANTO A LA SOSTENIBILIDAD, REPRODUCTIVIDAD, DURABILIDAD, IDONEIDAD PARA CUALQUIER FINALIDAD O USO, COMERCIALIZACIÓN, ESTADO O CUALQUIER OTRO ASUNTO RESPECTO A PRODUCTOS DE magtívio.**

magtívio no será responsable en ningún caso de reclamaciones por ningún otro daño, ya sea directo, indirecto, fortuito, compensatorio, previsible, consecuente o especial (incluyendo sin limitación la pérdida de uso, ingresos o beneficio), tanto si se basa en la garantía, un contrato, agravio (incluyendo negligencia) o responsabilidad estricta en conexión con la venta o el fallo de rendimiento de productos de magtívio según las especificaciones mencionadas. Esta garantía es exclusiva y magtívio no emite ninguna otra garantía expresa ni implícita.

La garantía proporcionada aquí y los datos, especificaciones y descripciones de este producto de magtívio que aparecen en los catálogos publicados de magtívio y en la bibliografía del producto son las únicas representaciones de magtívio en cuanto al producto y la garantía. No cuenta con autorización ninguna otra declaración o representación, ya sea escrita u oral, por parte de empleados, agentes o representantes de magtívio, salvo las declaraciones escritas firmadas por un oficial debidamente autorizado de magtívio; el cliente no debe fiarse de ellas y no forman parte del contrato de venta ni de la presente garantía.

Las reivindicaciones del producto están sujetas a cambios. Por consiguiente, póngase en contacto con nuestro equipo de soporte técnico para obtener la información más actualizada sobre los productos de magtívio. También puede ponerse en contacto con su distribuidor local para obtener información científica general. Las aplicaciones mencionadas en la bibliografía de magtívio se facilitan únicamente con fines informativos. magtívio no garantiza que todas las aplicaciones se hayan analizado en laboratorios de magtívio usando productos de magtívio. magtívio no garantiza la corrección de ninguna de esas aplicaciones.