

Istruzioni per l'uso di

MagSi-DX Pathogen

REF

MDDX00010096
MDDX00010960
MDDX0001005K
MDDX0001025K



96 Preparazioni
960 Preparazioni
5000 Preparazioni
25000 Preparazioni

IVD

Per uso
diagnostico in vitro



Rev. 2.2,
31/05/2022



magtivio B.V.
Daelderweg 9
6361 HK Nuth
Paesi Bassi

Cronologia delle revisioni

Revisione	Data di pubblicazione	Osservazioni
1	29/09/2021	Versione iniziale
2	23/11/2021	Minor text corrections, table in section 2.2 corrected, layout chapter 5 adjusted Correzioni testuali minori, correzione della tabella nella sezione 2.2, revisione del layout della sezione 5
2.1	04/01/2022	Marchio CE aggiunto
2.2	31/05/2022	Correzione nelle sezioni 2.6.1 e 6, aggiornamento sezione 9

Informazioni di contatto

magtivio B.V.

Daelderweg 9 - 6163 HK - Nuth

Tel.: +31 (0) 45 208 4810

Fax: +31 (0) 45 208 4817

E-mail: info@magtivio.com

Assistenza: support@magtivio.com

Ordini: order@magtivio.com






Sito web: www.magtivio.com

Sommario

1. Componenti.....	1
1.1 Contenuto del kit.....	1
1.2 Reagenti, materiali di consumo e apparecchiature a cura del cliente.....	1
1.3 A proposito di queste istruzioni per l'uso.....	2
2. Descrizione del prodotto.....	2
2.1 Uso previsto.....	2
2.2 Specifiche di prodotto.....	3
2.3 Limitazioni d'uso.....	3
2.4 Principio di funzionamento.....	3
2.5 Controllo qualità.....	3
2.6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni.....	4
2.6.1 Campioni sotto forma di tamponi.....	4
2.6.2 Saliva.....	4
2.7 Utilizzo con sistemi automatizzati.....	4
2.7.1 Manipolazione dei granuli magnetici.....	4
2.7.2 Sistemi di manipolazione dei liquidi.....	4
2.7.3 Impostazioni dell'agitatore.....	4
2.7.4 Sistemi di trattamento a particelle magnetiche.....	4
2.8 Condizioni di eluizione.....	5
2.9 Prestazioni caratteristiche.....	5
2.9.1 Prestazioni analitiche caratteristiche.....	5
2.9.2 Prestazioni diagnostiche caratteristiche.....	6
3. Condizioni e durata di conservazione dopo la prima apertura.....	6
4. Avvertenze e precauzioni.....	7
5. Preparazione del reagente.....	9
5.1 Ricostituzione della Proteinase K.....	9
5.2 Ricostituzione del Poly-A-RNA.....	9
5.3 Preparazione del Lysis Master Mix.....	9
5.4 Preparazione della pre-miscela Binding Buffer / granuli (facoltativa).....	10
6. Protocollo per l'estrazione di RNA virale.....	10
7. Procedura di controllo.....	12
8. Interpretazione dei risultati.....	12
9. Compatibilità.....	12
10. Appendice.....	13
10.1 Ricerca guasti.....	13
10.2 Bibliografia.....	13
10.3 Requisiti di notifica.....	14
10.4 Spiegazione dei simboli.....	14
10.5 Limitazioni d'uso del prodotto/Garanzia.....	15

1. Componenti

1.1 Contenuto del kit

	MagSi-DX Pathogen			
Nome del componente	Dimensioni della confezione: 96 preparazioni N. art.: MDDX00010096	Dimensioni della confezione: 960 preparazioni N. art.: MDDX00010960	Dimensioni della confezione: 5000 preparazioni N. art.: MDDX0001005K	Dimensioni della confezione: 25000 preparazioni N. 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 (per 1,1 mL di soluzione di lavoro)	200 mg (per 11 mL di soluzione di lavoro)	1 x 1000 mg (per 55 mL di soluzione di lavoro)	5 x 1000 mg (per 5 x 55 mL di soluzione di lavoro)
Poly-A-RNA	0,3 mg (per 120 µL di soluzione di lavoro)	3 mg (per 1,2 mL di soluzione di lavoro)	15 mg (per 6 mL di soluzione di lavoro)	3 x 25 mg (per 3 x 10 mL di soluzione di lavoro)
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 Reagenti, materiali di consumo e apparecchiature a cura del cliente

Le apparecchiature necessarie possono variare in funzione del metodo di elaborazione e dell'allestimento o della configurazione degli strumenti. Consultare il fabbricante del sistema automatizzato per quanto riguarda i materiali di consumo specifici per la piattaforma. Inoltre, fare riferimento alla sezione 2.7 per ulteriori dettagli relativi all'automazione di MagSi-DX Pathogen.

Prodotto	RIF.	Quantità
MM-Separator 96 Deepwell	MDMG0013	1 Unità

Reagenti:

- Acqua molecolare di grado biologico

Materiali di consumo:

- 96 micropiastre con fondo a U e pozzetti quadrati (2 mL) per il trattamento dei campioni (consigliate: Riplate®SW 96, PP, 2 mL, Ritter, 43001-0020)
- 96 micropiastre con fondo a U (300 µL) per il trasferimento del campione trattato (consigliate: Nunc 96-Well Microplates, Round, Nonsterile, Thermo Scientific, 267245)
- Punte per pipette (raccomandate con barriera aerosol ed esenti da nucleasi)

Apparecchiature:

- Micropipette, singole e a 8 o 12 canali (10-100 µL e 100-1000 µL)
- Agitatore per micropiastre (consigliato: ThermoMixer C, Eppendorf)

1.3 A proposito di queste istruzioni per l'uso

Si raccomanda di leggere attentamente queste istruzioni prima di utilizzare il prodotto.

2. Descrizione del prodotto

2.1 Uso previsto

MagSi-DX Pathogen è destinato ad essere utilizzato per l'isolamento e la purificazione di RNA virale per successivi scopi diagnostici in vitro. Il kit può essere utilizzato con tamponi respiratori umani e saliva. Il kit è stato studiato per essere utilizzato con qualsiasi applicazione a valle con amplificazione e rilevamento di RNA virale (in particolare, RT-qPCR, sequenziamento). Il kit è stato espressamente convalidato per i flussi di lavoro diagnostici SARS-CoV-2.

MagSi-DX Pathogen non fornisce alcun risultato diagnostico. È esclusiva responsabilità dell'utente impiegare e convalidare il kit in associazione con un saggio diagnostico in vitro a valle a seconda dell'agente patogeno target e adottare adeguati controlli per le applicazioni a valle (es. controlli interni, controlli di estrazione, controlli positivo/negativo). Tutti i risultati diagnostici prodotti con l'ausilio di acidi nucleici isolati con MagSi-DX Pathogen in associazione con un saggio diagnostico in vitro devono essere interpretati alla luce di ulteriori esiti clinici o di laboratorio.

MagSi-DX Pathogen è destinato ad essere utilizzato da utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti, formati nelle tecniche biologiche molecolari e con esperienza nella manipolazione di tamponi e di altri campioni umani potenzialmente infetti.

MagSi-DX Pathogen non adatto all'autotest o ai test di tipo near-patient.

2.2 Specifiche di prodotto

Parametro	MagSi-DX Pathogen
Tecnologia	Chimica legante degli acidi nucleici tramite granuli magnetici e agenti cootropici
Materiale campione	Tamponi respiratori e saliva
Volume campione	200 µL
Volume di eluizione	50 - 100 µL
Tempo di elaborazione	~35 min per 96 campioni (a seconda del metodo impiegato)
Metodo di elaborazione	Manuale o automatizzato

2.3 Limitazioni d'uso

MagSi-DX Pathogen è adatto per l'uso con tamponi respiratori e saliva umani. MagSi-DX Pathogen non è stato convalidato con campioni di altri materiali. Le prestazioni del prodotto sono state testate con flussi di lavoro diagnostici SARS-CoV-2. Le prestazioni caratteristiche per ogni specie virale RNA nei rispettivi campioni clinici o nel reagente di stabilizzazione dei campioni non sono state definite e devono essere convalidate dall'utente. Inoltre, l'estrazione di RNA virale con l'ausilio di MgSi-DX Pathogen su diversi sistemi automatizzati deve essere convalidata dall'utente. È richiesto il rigoroso rispetto delle istruzioni per la purificazione degli acidi nucleici. L'applicazione di corrette pratiche di laboratorio è essenziale ai fini dell'efficace utilizzo del prodotto. L'adeguata manipolazione dei reagenti è essenziale per evitare contaminazioni e impurità.

2.4 Principio di funzionamento

La procedura è basata sull'adsorbimento reversibile degli acidi nucleici su granuli magnetici in adeguate condizioni del buffer. La lisi dei campioni è ottenuta tramite incubazione con Lysis Buffer PA1, contenente ioni caotropici supportati dalla digestione di Proteinase K. Per legare gli acidi nucleici ai granuli magnetici, Binding Buffer U1 e i granuli MagSi-PA VII vengono aggiunti al lisato. Dopo la separazione magnetica, i granuli magnetici vengono lavati con Wash Buffer I e II per eliminare gli agenti contaminanti e i sali. L'etanolo residuo proveniente dalle fasi di lavaggio precedenti viene eliminato tramite asciugatura all'aria. Infine, l'RNA virale altamente puro viene eluito con Elution Buffer a basso tenore di sali o acqua. L'RNA virale purificato può essere direttamente utilizzato per le applicazioni a valle. MagSi-DX Pathogen può essere impiegato in modalità sia manuale che automatizzata, su strumenti di manipolazione di liquidi o separatori magnetici automatizzati standard.

2.5 Controllo qualità

In linea con il Sistema di gestione qualità del fabbricante, ogni lotto di kit e i relativi componenti vengono testati in base a specifiche prestabilite per garantire una qualità costante.

2.6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

MagSi-DX Pathogen è indicato per tamponi respiratori umani freschi non trattati oppure per saliva fresca o congelata in buffer di raccolta campioni. Si raccomanda vivamente di utilizzare dispositivi di raccolta campioni che siano stati convalidati per l'inattivazione completa dei virus. Fare riferimento alle linee di guida applicabili e alle istruzioni del fabbricante per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni clinici e per altri requisiti pre-analitici. I campioni devono essere accuratamente mescolati prima dell'uso.

2.6.1 Campioni sotto forma di tamponi

Estrarre il tampone dal buffer di raccolta e trasferire 200 µL di soluzione in una micropiastra per l'estrazione dell'RNA. Se necessario, premere il tampone contro la parte della provetta per spremere via il liquido.

2.6.2 Saliva

La saliva deve essere raccolta in dispositivi indicati per il prelievo e la conservazione dei campioni. Mescolare invertendo il campione e trasferire 200 µL di soluzione in una micropiastra per l'estrazione dell'RNA.

2.7 Utilizzo con sistemi automatizzati

MagSi-DX Pathogen può essere utilizzato su diversi sistemi automatizzati di manipolazione di liquidi o su sistemi di trattamento a particelle magnetiche. Tuttavia, le prestazioni di MagSi-DX Pathogen in associazione con qualsiasi sistema automatizzato specifico devono essere convalidate dall'utente insieme ad un saggio diagnostico in vitro e con adeguati controlli per l'applicazione a valle.

2.7.1 Manipolazione dei granuli magnetici

Una sospensione omogenea di granuli magnetici è necessaria per garantire la loro giusta quantità per ogni campione e una qualità di estrazione costante. Prima dell'uso, scuotere bene il flacone di granuli. Nelle procedure di estrazione automatizzate, occorre prevedere una fase di miscelazione prima dell'aspirazione dei granuli.

2.7.2 Sistemi di manipolazione dei liquidi

MagSi-DX Pathogen può essere impiegato su postazioni di manipolazioni di liquidi insieme a MM-Separator 96 DeepWell e a 96 piastre quadrate con fondo a U e pozzetti profondi, utilizzando un adeguato dispositivo agitatore per sospendere nuovamente e mescolare i granuli magnetici e una pinza per trasferire la piastra dei campioni al/dal separatore magnetico.

2.7.3 Impostazioni dell'agitatore

Le impostazioni di velocità dell'agitatore di micropiastre, descritto nei successivi protocolli, sono state definite con uno strumento e una micropiastra specifici. Quando si utilizza dapprima un agitatore di piastre per le fasi di incubazione, la velocità deve essere impostata con cura per ogni piastra specifica, onde evitare la contaminazione incrociata e le fuoriuscite. La velocità dell'agitatore può essere impostata caricando una micropiastra con un volume di acqua tinta pari al volume di lavoro durante ogni fase, quindi aumentando progressivamente la velocità dell'agitatore fino ad osservare la presenza di goccioline sulla superficie della piastra. Regolare nuovamente la velocità dell'agitatore su un valore inferiore.

2.7.4 Sistemi di trattamento a particelle magnetiche

MagSi-DX Pathogen può essere utilizzato su sistemi di trattamento a particelle magnetiche, come PurePrep 96 Nucleic Acid Purification System, con l'ausilio dei materiali di consumo previsti per il sistema in questione. I granuli magnetici sono nuovamente sospesi e miscelati muovendo su e giù un'asta magnetica (tip-comb), quindi vengono raccolti tramite aste magnetiche ricoperte dal tip-comb. I componenti del kit vengono distribuiti nei materiali di consumo prima di avviare il sistema e rimossi successivamente. È importante non superare i volumi di lavoro massimi dei materiali di consumo.

2.8 Condizioni di eluizione

L'RNA target può essere direttamente eluito con Elution Buffer tra 50 e 100 µL. I granuli magnetici devono essere completamente immersi e nuovamente sospesi in Elution Buffer. L'eluizione può avvenire a 60°C per aumentare leggermente il recupero di RNA.

L'RNA eluito può essere conservato per brevi periodi (<24 ore) a 2-8°C o più a lungo (>24 ore) a -20°C.

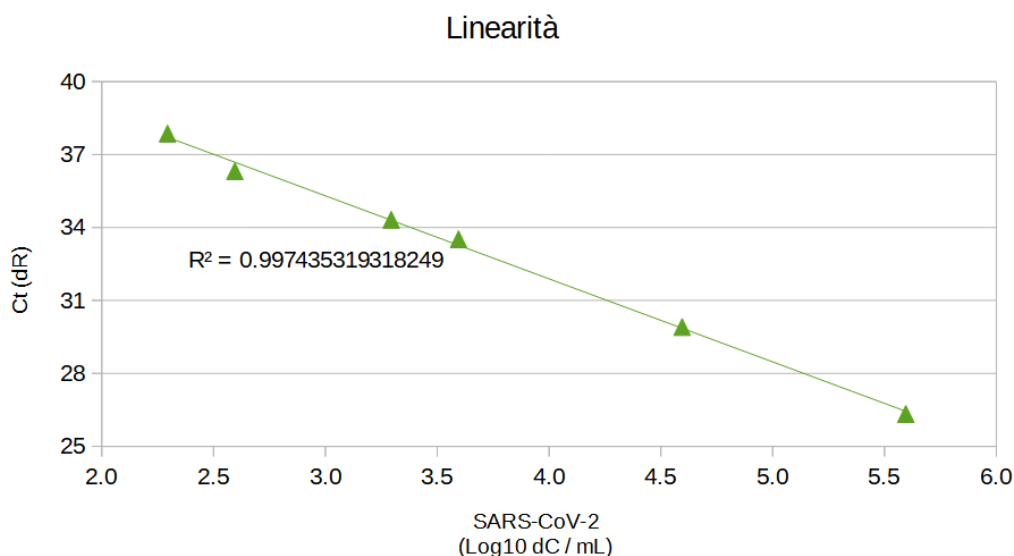
2.9 Prestazioni caratteristiche

2.9.1 Prestazioni analitiche caratteristiche

La ripetibilità è stata testata utilizzando un campione di paziente positivo e un campione virale SARS-CoV-2 commerciale inattivato tramite calore, arricchito in un campione aggregato negativo, prelevato da 15 donatori sani.

Il LOD e la linearità della procedura di estrazione, abbinati all'analisi RT-qPCR, sono stati determinati utilizzando un pannello SARS-CoV-2 Analytical Q Panel (Qnostics) inattivato tramite calore, disponibile in commercio, costituito da 8 campioni positivi con diverse concentrazioni e da 1 campione negativo. Ogni campione è stato diluito in InActive Blue Saliva Collection Buffer, in base alle istruzioni del fabbricante del kit di raccolta saliva utilizzato con il buffer. L'RNA è stato estratto da ciascun campione diluito, seguito da RT-qPCR utilizzando il kit Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR per SARS-CoV-2 (COVID-19).

Parametro	Campione di paziente positivo	Campione commerciale inattivato tramite calore
Intra-saggio CV	2,0%	1,4%
Inter-saggio CV	Non testato	3,2%
LOD	-	2,3 Log ₁₀ dC / mL
Linearità	-	R ² = 0,997



2.9.2 Prestazioni diagnostiche caratteristiche

MagSi-DX Pathogen è stato convalidato con flussi di lavoro diagnostici SARS-CoV-2. Le prestazioni cliniche sono esemplificate utilizzando il pannello LEQA prodotto e quantificato in RIVM tramite dPCR. Flussi di lavoro comprendenti MagSi-DX Pathogen con score 100% sul pannello, costituiti da 10 campioni clinici simulati, contenenti SARS-CoV-2 inattivato tramite calore, inclusa una variante di interesse (VOC) B.1.1.7; 20B/501Y.V1, o altri virus respiratori o materiali genetici [1].

3. Condizioni e durata di conservazione dopo la prima apertura

Tutti i componenti del kit, inclusi Proteinase K (liofilizzata), Poly-A-RNA (liofilizzato) e MagSi-PA VII, possono essere conservati a 18-25°C. Se conservato nelle condizioni indicate, il kit è stabile fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta.

Conservare le soluzioni pronte di Proteinasi K in aliquote a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelamento. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per 3 mesi.

Conservare le soluzioni pronte di Poly-A-RNA a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelamento. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per 3 mesi.

I granuli MagSi-PA VII possono essere pre-miscelati con Binding Buffer U1 per l'aggiunta simultanea ai campioni. Tuttavia, la miscela deve essere preparata fresca il giorno di utilizzo e ben mescolata nel vortex prima di essere trasferita ai campioni.

Attenzione:

- Verificare l'integrità di tutti i componenti inclusi nella confezione. In presenza di danni o perdite, contattare l'assistenza tecnica e il servizio clienti magtivio.
- Non utilizzare componenti danneggiati.
- Utilizzare apparecchiature esenti da RNAsi.
- Tutti i buffer sono pronti per l'uso.
- Non congelare il prodotto.







4. Avvertenze e precauzioni

I seguenti componenti di MagSi-DX Pathogen contengono ingredienti pericolosi.

Indossare adeguati indumenti, guanti e occhiali di protezione. Seguire le istruzioni di sicurezza riportate nella presente sezione.

Classificazione GHS

Solo le caratteristiche nocive non devono essere etichettate con frasi H e P fino a 125 mL o 125 g.

Componente	Ingredienti pericolosi	Simbolo GHS	Frasi di pericolo	Frasi di precauzione
Lysis Buffer PA1	Cloridrato di guanidina (20-25%) CAS 50-01-1	 AVVERTENZA	H302 H319 H315	P264, P280, P302+P352 P305+P351+P338 P337+P313, P501
Binding Buffer U1	Perclorato di sodio (50-55%) 2-Propanolo (20-25%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PERICOLO	H225 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer I	Perclorato di sodio (35-40%) 2-Propanolo (50-55%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PERICOLO	H225 H302 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer II	Etanolo (70-75%) CAS 64-17-5	 PERICOLO	H225 H319	P210, P233, P305+P351+P338 P403+P235, P501
Proteinase K	Proteinasi K (100%) CAS 39450-01-6	 PERICOLO	H315 H319 H334 H335	P261, P280 P284, P304+P340 P342+P311, P501
Poly-A-RNA Buffer	Tiocianato di guanidinio (30-35%) CAS 593-84-0	 PERICOLO	H302+H332 H314 H412	P260, P264 P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310

Frasi di pericolo:

H225	Liquido e vapori facilmente infiammabili.
H302+332	Nocivo se ingerito.
H315	Provoca irritazione cutanea.
H319	Provoca grave irritazione oculare.
H334	Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
H335	Può irritare le vie respiratorie.
H336	Può provocare sonnolenza o vertigini.
H373	Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

Fraasi di precauzione:

P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P233	Tenere il recipiente ben chiuso.
P260	Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P264	Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso/l'udito.
P284	Indossare un apparecchio di protezione respiratoria.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: Lavare abbondantemente con acqua e sapone.
P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o i capelli): Togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle con acqua o fare una doccia.
P304+P340	IN CASO DI INALAZIONE: Trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo, in una posizione che favorisca la respirazione.
P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente con acqua per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto, se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
P337+P313	Se l'irritazione degli occhi persiste: Consultare un medico.
P342+P311	In caso di sintomi respiratori: Contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico.
P403+P235	Conservare in un luogo ben ventilato. Conservare in un luogo fresco.
P501	Smaltire il prodotto/recipiente in base alla legislazione vigente.



Il simbolo riportato sulle etichette si riferisce a ulteriori informazioni di sicurezza presenti in questa sezione.

Quando si lavora con MagSi-DX Pathogen, indossare adeguati indumenti di protezione (es. camice da laboratorio, guanti usa e getta, occhiali di protezione). Per maggiori informazioni, consultare le relative Schede dei dati di sicurezza (disponibili tramite support@magtivio.com).

ATTENZIONE:

Lysis Buffer PA1, Binding Buffer U1, Wash Buffer I e Poly-A-RNA Buffer contengono sale caotropico (cloridrato di guanidina e/o perclorato di sodio), il quale può formare composti altamente reattivi se combinato con candeggina (ipoclorito di sodio)! EVITARE il contatto diretto della candeggina con i materiali esposti ai buffer indicati. Indossare adeguati indumenti, guanti e occhiali di protezione!

I rifiuti prodotti con MagSi-DX Pathogen non sono stati testati per quanto riguarda i materiali infetti residui. La contaminazione dei rifiuti liquidi con materiale infetto residuo è altamente improbabile a causa del potente trattamento denaturante del buffer di lisi e della Proteinasi K, ma non può essere del tutto esclusa. Di conseguenza, i rifiuti liquidi devono essere considerati infetti e manipolati e smaltiti in base ai regolamenti di sicurezza locali.

Smaltimento

Smaltire i materiali pericolosi, infetti o biologicamente contaminati in maniera sicura e accettabile, nel rispetto di tutti i requisiti normativi locali.

5. Preparazione del reagente

5.1 Ricostituzione della Proteinase K

- MDDX00010096 (96 preparazioni), aggiungere 1,1 mL di acqua molecolare di grado biologico nella fiala di Proteinase K e utilizzare il vortex per disciogliere. Conservare le soluzioni di Proteinase K in aliquote a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.
- MDDX00010960 (10x96 preparazioni), aggiungere 11 mL di acqua molecolare di grado biologico nella fiala di Proteinase K e utilizzare il vortex per disciogliere. Per l'aliquotazione ogni 96 campioni, effettuare aliquote di 1,05 mL e conservare le soluzioni a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.
- MDDX0001005K (5000 preparazioni) e MDDX0001025K (25000 preparazioni), aggiungere 55 mL di acqua molecolare di grado biologico in ogni fiala di Proteinase K e utilizzare il vortex per disciogliere. Per l'aliquotazione ogni 96 campioni, effettuare aliquote di 1,05 mL e conservare le soluzioni a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.

5.2 Ricostituzione del Poly-A-RNA

- MDDX00010096 (96 preparazioni), aggiungere 120 µL di Poly-A-RNA Buffer nella fiala di Poly-A-RNA (0,3 mg) e utilizzare il vortex per disciogliere. Conservare le soluzioni di Poly-A-RNA a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.
- MDDX00010960 (10x96 preparazioni), aggiungere 1,2 mL di Poly-A-RNA Buffer nella fiala di Poly-A-RNA (3 mg) e utilizzare il vortex per disciogliere. Per l'aliquotazione ogni 96 campioni, effettuare aliquote di 110 µL e conservare le soluzioni a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.
- MDDX0001005K (5000 preparazioni), aggiungere 6 mL di Poly-A-RNA Buffer nella fiala di Poly-A-RNA (15 mg) e utilizzare il vortex per disciogliere. Per l'aliquotazione ogni 96 campioni, effettuare aliquote di 110 µL e conservare le soluzioni a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.
- MDDX0001025K (25000 preparazioni), aggiungere 10 mL di Poly-A-RNA Buffer in ogni fiala di Poly-A-RNA (25 mg) e utilizzare il vortex per disciogliere. Per l'aliquotazione ogni 96 campioni, effettuare aliquote di 110 µL e conservare le soluzioni a -20°C. Evitare i cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Se adeguatamente conservate, le soluzioni sono stabili per almeno 3 mesi.

In presenza di precipitato nei buffer, riscaldarli a 25-37°C per scioglierlo prima dell'uso.

5.3 Preparazione del Lysis Master Mix

- Per ogni campione, preparare il Lysis Master Mix:

Lysis Buffer PA1	200 μ L
Soluzione Poly-A-RNA	1 μ L
Soluzione di Proteinase K	10 μ L
Totale	211 μ L

- Preparare una quantità eccedente di Lysis Master Mix per compensare l'imprecisione di pipettamento, soprattutto se si utilizzano pipette multi-canale, ecc. Utilizzare il Lysis Master Mix immediatamente dopo la preparazione.

5.4 Preparazione della pre-miscela Binding Buffer / granuli (facoltativa)

I granuli MagSi-PA VII possono essere pre-miscelati con Binding Buffer U1 per l'aggiunta simultanea ai campioni. Per ogni campione, preparare la pre-miscela Binding Buffer / granuli:

Binding Buffer U1	400 μ L
MagSi-PA VII	20 μ L
Totale	420 μ L

La miscela deve essere utilizzata il giorno di preparazione e ben mescolata nel vortex prima di essere trasferita ai campioni.

6. Protocollo per l'estrazione di RNA virale

Before starting:

- Preparare il Lysis Master Mix come illustrato nella sezione 5.
- Pre-trattare i campioni (se necessario) come illustrato nella sezione 2.6
- Trattare accuratamente i granuli magnetici nel vortex fino ad ottenere una sospensione omogenea.

Questo protocollo riguarda l'utilizzo manuale del kit. Può essere impiegato anche come linea guida per impostare una procedura automatizzata su strumenti di manipolazione dei liquidi. In tal caso, possono essere utilizzate piastre a 96 pozzetti e appositi accessori. Verificare che il sistema di manipolazione dei liquidi sia dotato dei dispositivi richiesti (agitatore, incubatrice, separatore magnetico, ecc.).

1. Trasferire 200 μ L di campione in una micropiastre per il trattamento.
2. Aggiungere 211 μ L di Lysis Master Mix ad ogni campione. Incubare su un agitatore per 10 minuti a 1000 giri/min.
3. Aggiungere 20 μ L di granuli MagSi-PA VII e 400 μ L di Binding Buffer U1. Incubare su un agitatore per 5 minuti a 1000 giri/min.
4. Collocare la micropiastre di trattamento sul separatore magnetico e attendere almeno 1 minuto prima di raccogliere i granuli. Eliminare i surnatanti senza disturbare il pellet di granuli magnetici attirati.
5. Togliere la piastra dei campioni dal separatore magnetico e aggiungere 800 μ L di Wash Buffer I nelle provette. Sospendere nuovamente i granuli tramite incubazione dei campioni su un agitatore per 1 minuto a 1000 giri/min. Collocare i campioni in un separatore magnetico e attendere almeno 1 minuto prima di raccogliere i granuli. Eliminare i surnatanti senza disturbare il pellet di granuli attirati.
6. Ripetere la fase 5 ancora una volta con 800 μ L di Wash Buffer I e un'altra volta con 800 μ L di Wash Buffer II.
7. Asciugare i granuli all'aria per 10 minuti, affinché l'etanolo evapori completamente. Se necessario, rallentare brevemente la rotazione ed eliminare ogni residuo di buffer prima di asciugare i granuli magnetici attirati.
8. Togliere i campioni dal separatore magnetico e aggiungere 100 μ L di Elution Buffer. Incubare su un agitatore per 10 minuti a 1000 giri/min.
9. Collocare le provette in un separatore magnetico e attendere almeno 1 minuto prima di raccogliere i granuli. Trasferire gli eluati in nuove provette. Gli acidi nucleici purificati presenti nell'eluato sono ora pronti per essere utilizzati nelle applicazioni a valle.

7. Procedura di controllo

MagSi-DX Pathogen non comprende alcuna procedura di controllo. È esclusiva responsabilità dell'utente predisporre controlli adeguati per le applicazioni a valle. Si raccomanda di utilizzare controlli interni basati sull'RNA per i saggi RT-qPCR, al fine di eliminare i rischi di risultati falsi negativi conseguenti alla potenziale contaminazione da RNAsi.

8. Interpretazione dei risultati

MagSi-DX Pathogen non fornisce alcun risultato diagnostico. È esclusiva responsabilità dell'utente impiegare e convalidare il kit in associazione con un'applicazione diagnostica in vitro a valle, a seconda dell'agente patogeno target.

9. Compatibilità

MagSi-DX Pathogen è stato convalidato insieme ai seguenti dispositivi:

- Saliva Collection Kit, REF: IB_COL, InActiv Blue
- eNAT®, REF: 608CS01R, Copan Italia
- eSWAB, REF: 480CE, Copan Italia
- ORAcollect, REF: ORE-100, DNA Genotek
- OMNIgene Oral, REF: OME-505, DNA Genotek
- SARS-CoV-2 Complete RTU 2.0 100, REF: 31469, LaBorga Service
- Bio-T kit® SARS-CoV-2 UK & N501Y Variants, BIOTK125, BioSellal
- SARS-CoV-2 RealFast™ Assay, REF 8-410 / 8-412, ViennaLab Diagnostics
- SARS-CoV-2 Q Control 01, REF: SCV2QC01-A, Qnostics
- SARS-CoV-2 Analytical Q Panel 01, REF: SCV2AQP01-A, Qnostics

MagSi-DX Pathogen è compatibile con i seguenti strumenti per l'estrazione di acidi nucleici (file di protocollo e istruzioni per MagSi-DX Pathogen sono disponibili su richiesta):

- PurePrep 96 Nucleic Acid Purification System, REF AS0001, magtivio
- PurePrep 32 Nucleic Acid Purification System, REF AS0002, magtivio
- KingFisher™ Flex Purification System, KingFisher with 96 Deep-well Head, REF 5400630, Thermo Fisher Scientific

10. Appendice

10.1 Ricerca guasti

Problem	Possible cause	Comments and suggestions
Basso rendimento di acidi RNA	Degradazione dell'RNA	Utilizzare e conservare il dispositivo di raccolta dei campioni in base alle istruzioni del fabbricante
	Insufficiente effetto legante con le particelle magnetiche	Utilizzare tutti i reagenti nella giusta quantità Aumentare le fasi di miscelazione e i tempi di incubazione della fase legante Mescolare i campioni durante l'incubazione lisi/legante
	Procedura di lavaggio insufficiente	Verificare che i granuli siano sottoposti ad una nuova sospensione completa durante le fasi di lavaggio
	Eluizione incompleta	È possibile che il Wash Buffer II sia stato incompleto, aumentare i tempi di asciugatura Sottoporre i granuli ad una nuova sospensione completa durante la fase di eluizione
Problemi nelle applicazioni a valle / contaminazione del campione	Presenza di etanolo nel DNA eluito	Aumentare i tempi di asciugatura a 15 minuti
	Presenza di sale nell'eluato	Utilizzare i buffer nel giusto ordine Provvedere ad eliminare correttamente tutti i surnatanti Evitare il trasferimento di Lysis Master Mix, Binding Buffer U1 o Wash Buffer nell'eluato.
	Elevata quantità residua di granuli magnetici nell'eluato	Collocare nuovamente le provette con gli eluati nel separatore magnetico e trasferire il surnatante in un nuovo contenitore.


10.2 Bibliografia

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 Requisiti di notifica

Qualsiasi incidente grave avvenuto in relazione al prodotto dovrà essere immediatamente riferito al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro nel quale si è verificato l'incidente in questione. European vigilance contact points: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en.

10.4 Spiegazione dei simboli

	N. articolo
	N. lotto
	Fabbricante
	Data di fabbricazione
	Dispositivo medicale diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Sufficiente per <n> test
	Limite di temperatura
	Utilizzare entro il
	Attenzione: Ulteriori informazioni nelle istruzioni per l'uso
	Non riutilizzare

10.5 Limitazioni d'uso del prodotto/Garanzia

Questo prodotto viene spedito insieme ad una documentazione contenente le specifiche e altre informazioni tecniche. magtivio garantisce il rispetto delle specifiche indicate. L'unico obbligo di magtivio e l'unico ricorso dell'utente sono limitati alla sostituzione gratuita dei prodotti qualora essi non offrano le prestazioni garantite. Viene inoltre fatto riferimento ai termini e alle condizioni commerciali generali di magtivio, riportate nel listino. Si prega di contattare magtivio per richiederne un'ulteriore copia.

magtivio non offre nessuna garanzia e declina qualsiasi responsabilità per danni o difetti derivanti dalle operazioni di spedizione e movimentazione (esclusa l'assicurazione trasporto dei clienti), da incidenti o dall'uso improprio o anormale di questo prodotto; danni di prodotti o componenti non fabbricati da magtivio; danni derivanti da tali componenti o prodotti non fabbricati da magtivio.

magtivio non offre nessun'altra garanzia speciale di alcun tipo. IN PARTICOLARE, DECLINA ED ESCLUDE TUTTE LE ALTRE GARANZIE DI QUALSIASI TIPO O NATURA, DIRETTE O INDIRETTE, ESPRESSE O IMPLICITE, COMPRESSE - MA SENZA ALCUN INTENTO LIMITATIVO - LE GARANZIE DI ADEGUATEZZA, RIPRODUCIBILITÀ, DURATA, IDONEITÀ AD UN PARTICOLARE SCOPO O UTILIZZO, COMMERCIALIZZABILITÀ, CONDIZIONE O ALTRO IN RELAZIONE AI PRODOTTI magtivio.

magtivio declina in ogni caso qualsiasi responsabilità per danni di ogni altro tipo, diretti, indiretti, accessori, compensatori, prevedibili, conseguenti o speciali (compreso, ma senza alcun intento limitativo, il mancato uso, guadagno o profitto), basati su garanzia, contratto, colpa (inclusa la negligenza) o stretta responsabilità derivante dalla vendita o dal mancato funzionamento dei prodotti magtivio in base alle specifiche riportate. La presente garanzia è esclusiva e magtivio non offre nessun'altra garanzia espressa o implicita.

La garanzia ivi fornita e i dati, le specifiche e le descrizioni di questo prodotto, riportate nei cataloghi e documenti di prodotto pubblicati da magtivio, costituiscono le uniche dichiarazioni espresse da magtivio in relazione al prodotto e alla garanzia. Ad eccezione delle dichiarazioni firmate da un funzionario debitamente autorizzato, nessun'altra dichiarazione o affermazione scritta o verbale, espressa da dipendenti, agenti o rappresentanti di magtivio, sarà ritenuta valida, potrà essere invocata dal cliente e sarà considerata parte del contratto di vendita o della presente garanzia.

Le caratteristiche del prodotto sono soggette a modifiche. Si prega perciò di contattare il nostro Team di assistenza tecnica per ottenere le informazioni più aggiornate sui prodotti magtivio. Il cliente può inoltre rivolgersi al distributore locale per procurarsi informazioni scientifiche generali. Le applicazioni citate nella documentazione di magtivio sono indicate a semplice scopo informativo. magtivio non garantisce che tutte le applicazioni siano state testate presso i propri laboratori in associazione con i prodotti magtivio. magtivio non garantisce la correttezza di tali applicazioni.