

Instruções de utilização

MagSi-DX Pathogen



MDDX00010096
MDDX00010960
MDDX0001005K
MDDX0001025K



96 preparações
960 preparações
5000 preparações
25000 preparações



*Para utilização em
diagnóstico in vitro*



Rev. 2.2,
19/05/2022



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

Histórico de revisões

Revisão	Data de publicação	Observações
1	29/09/2021	Publicação inicial
2	23/11/2021	Pequenas correções de texto, tabela na secção 2.2 corrigida, esquema do capítulo 5 ajustado
2.1	04/01/2022	Marcação CE adicionada
2.2	19/05/2022	Correções nas secções 2.6.1 e 6, secção 9 atualizada

Informações de contacto

magtívio B.V.

Daelderweg 9 - 6163 HK - Nuth

Tel.: +31 (0) 45 208 4810

Fax: +31 (0) 45 208 4817

E-mail: info@magtívio.com

Suporte: support@magtívio.com

Encomendas: order@magtívio.com






Site: www.magtívio.com

Índice

1. Componentes.....	1
1.1 Conteúdo do kit.....	1
1.2 Reagentes, consumíveis e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador.....	1
1.3 Acerca destas instruções de utilização.....	2
2. Product description.....	2
2.1 Finalidade prevista.....	2
2.2 Especificações do produto.....	3
2.3 Limitações de utilização.....	3
2.4 Princípio de funcionamento.....	3
2.5 Controlo de qualidade.....	3
2.6 Colheita, manuseamento e armazenamento de amostras.....	4
2.6.1 Amostras por zaragatoa.....	4
2.6.2 Saliva.....	4
2.7 Utilização em sistemas automatizados.....	4
2.7.1 Manuseamento de esferas magnéticas.....	4
2.7.2 Sistemas de manuseamento de líquidos.....	4
2.7.3 Definições do agitador.....	4
2.7.4 Sistemas de processamento de partículas magnéticas.....	4
2.8 Condições de eluição.....	5
2.9 Características de desempenho.....	5
2.9.1 Características de desempenho analítico.....	5
2.9.2 Características de desempenho de diagnóstico.....	6
3. Armazenamento e prazo de validade após a primeira abertura.....	6
4. Avisos e precauções.....	7
5. Preparação de reagente.....	9
5.1 Reconstituição de Proteinase K.....	9
5.2 Reconstituição de Poly-A-RNA.....	9
5.3 Preparação de Lysis Master Mix.....	10
5.4 Preparação da pré-mistura de Binding Buffer/Beads (opcional).....	10
6. Protocolo de extração de ARN viral.....	11
7. Procedimento de controlo.....	12
8. Interpretação de resultados.....	12
9. Compatibilidade.....	12
10. Anexo.....	13
10.1 Resolução de problemas.....	13
10.2 Referências bibliográficas.....	14
10.3 Requisitos de notificação.....	14
10.4 Explicação dos símbolos.....	14
10.5 Garantia/restricção de utilização do produto.....	15

1. Componentes

1.1 Conteúdo do kit

Nome do componente	MagSi-DX Pathogen			
	Tamanho da embalagem: 96 preparações N.º de art.: MDDX00010096	Tamanho da embalagem: 960 preparações N.º de art.: MDDX00010960	Tamanho da embalagem: 5000 preparações N.º de art.: MDDX0001005K	Tamanho da embalagem: 25 000 preparações 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 uma solução de trabalho de 1,1 mL)	200 mg (para uma solução de trabalho de 11 mL)	1 x 1000 mg (para uma solução de trabalho de 55 mL)	5 x 1000 mg (para uma solução de trabalho de 5 x 55 mL)
Poly-A-RNA	0,3 mg (para uma solução de trabalho de 120 µL)	3 mg (para uma solução de trabalho de 1,2 mL)	15 mg (para uma solução de trabalho de 6 mL)	3 x 25 mg (para uma solução de trabalho 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 Reagentes, consumíveis e equipamentos a serem fornecidos pelo utilizador

Os equipamentos necessários podem variar, dependendo do método de processamento e da instalação ou configuração de instrumentos. Consulte o fabricante do sistema automatizado quanto aos consumíveis específicos da plataforma. Consulte igualmente a secção 2.7 para obter mais detalhes sobre a automatização do MagSi-DX Pathogen.

Produto	REF	Quantidade
MM-Separator 96 Deepwell	MDMG0013	1 unidade

Reagentes:

- Água com qualidade para biologia molecular

Consumíveis:

- Microplacas com 96 poços quadrados e de fundo em U (2 mL) para processamento de amostras (Sugestão: Riplate®SW 96, PP, 2 mL, Ritter, 43001-0020)
- Microplacas com 96 poços de fundo em U (300 µL) para transferência da amostra processada (Sugestão: Nunc 96-Well Microplates, Round, Nonsterile, Thermo Scientific, 267245)
- Pontas de pipetas (recomenda-se pontas com barreira contra aerossóis e isentas de nuclease)

Equipamentos:

- Micropipetas com 1 e 8 ou 12 canais (10-100 µL e 100-1000 µL)
- Agitador de microplacas (Sugestão: ThermoMixer C, Eppendorf)

1.3 Acerca destas instruções de utilização

Recomenda-se a leitura cuidadosa destas instruções de utilização antes da utilização do produto.

2. Product description

2.1 Finalidade prevista

O MagSi-DX Pathogen destina-se a ser utilizado no isolamento e purificação de ARN viral para fins de diagnóstico *in vitro* subsequentes. O kit pode ser utilizado em amostras humanas por zaragatoa do trato respiratório e saliva. O kit foi concebido para ser utilizado com qualquer aplicação a jusante com amplificação e deteção de ARN viral (em particular, sequenciamento e RT-qPCR). O kit foi especificamente validado para fluxos de trabalho de diagnóstico de SARS-CoV-2.

O MagSi-DX Pathogen não fornece um resultado de diagnóstico. A utilização e validação do kit em conjunto com um ensaio de diagnóstico *in vitro* a jusante, dependendo do agente patogénico alvo, e a utilização de controlos adequados para aplicações a jusante são da exclusiva responsabilidade do utilizador (por ex., controlos internos, controlos de extração, controlos positivos/negativos). Quaisquer resultados de diagnóstico gerados com a utilização de ácidos nucleicos isolados com o MagSi-DX Pathogen, em conjunto com um ensaio de diagnóstico *in vitro*, devem ser interpretados tendo igualmente em consideração outros resultados laboratoriais ou clínicos.

O MagSi-DX Pathogen destina-se a ser utilizado por utilizadores profissionais como técnicos e médicos com formação e experiência em técnicas de biologia molecular, incluindo experiência com amostras por zaragatoa e outros materiais de amostra potencialmente infecciosos de origem humana.

O MagSi-DX Pathogen não é adequado para autotestes nem para testes na presença do paciente.

2.2 Especificações do produto

Parâmetro	MagSi-DX Pathogen
Tecnologia	Química de ligação de ácidos nucleicos caotrópicos e esferas magnéticas
Material de amostra	Amostras por zaragatoa do trato respiratório e saliva
Volume de amostra	200 µL
Volume de eluição	50–100 µL
Tempo de processamento	Aprox. 35 min por 96 amostras (dependendo do método de utilização)
Método de processamento	Manual ou automatizado

2.3 Limitações de utilização

O MagSi-DX Pathogen é adequado para a utilização com amostras humanas por zaragatoa do trato respiratório e saliva. O MagSi-DX Pathogen não foi especificamente validado para outros materiais de amostra. O desempenho do produto foi testado em fluxos de trabalho de diagnóstico de SARS-CoV-2. As características de desempenho para cada espécie de vírus de ARN em amostras clínicas ou reagente de estabilização de amostras não foram estabelecidas e devem ser validadas pelo utilizador. Além disso, a extração de ARN viral utilizando o MagSi-DX Pathogen em diferentes sistemas automatizados deve ser validada pelo utilizador. É necessário observar rigorosamente as instruções de utilização na purificação de ácidos nucleicos. A adoção de boas práticas laboratoriais é essencial para a utilização bem-sucedida do produto. O manuseamento adequado de reagentes é fundamental para evitar contaminações ou impurezas.

2.4 Princípio de funcionamento

O procedimento baseia-se na adsorção reversível de ácidos nucleicos em esferas magnéticas sob condições adequadas de tampão. A lise da amostra é conseguida através de incubação com Lysis Buffer PA1 contendo iões caotrópicos suportados pela digestão de Proteinase K. Para a ligação de ácidos nucleicos às esferas magnéticas, adiciona-se Binding Buffer U1 e esferas MagSi-PA VII ao lisado. Após a separação magnética, as esferas magnéticas são lavadas para a remoção de contaminantes e sais, utilizando Wash Buffer I e Wash Buffer II. O etanol residual de anteriores passos de lavagem é removido por secagem ao ar. Finalmente, o ARN viral de elevada pureza é eluído com água ou o Elution Buffer com baixo teor de sal. O ARN viral purificado pode ser diretamente utilizado em aplicações a jusante. O MagSi-DX Pathogen pode ser utilizado de forma manual ou automatizada em instrumentos padrão de manuseamento de líquidos ou em separadores magnéticos automatizados.

2.5 Controlo de qualidade

Em conformidade com o sistema de gestão da qualidade do fabricante, cada lote de kits e respetivos componentes são testados em relação a especificações predeterminadas, de forma a assegurar uma qualidade consistente.

2.6 Colheita, manuseamento e armazenamento de amostras

O MagSi-DX Pathogen é adequado para amostras humanas por zaragatoa do trato respiratório não tratadas e frescas ou para saliva fresca ou congelada em tampões de colheita de amostras. Recomenda-se vivamente a utilização de dispositivos de colheita de amostras validados para a inativação completa de vírus. Consulte as instruções do fabricante e as diretrizes aplicáveis para colheita, manuseamento e armazenamento de amostras clínicas e outros requisitos pré-analíticos. As amostras devem ser cuidadosamente misturadas antes da utilização.

2.6.1 Amostras por zaragatoa

Remova a zaragatoa do tampão de colheita e transfira 200 µL da solução para uma microplaca para a extração de ARN. Se necessário, pressione a zaragatoa contra a parede do tubo para extrair o líquido.

2.6.2 Saliva

A saliva deve ser colhida em dispositivos adequados para a colheita e preservação de amostras de saliva. Misture invertendo a amostra e transfira 200 µL da solução para uma microplaca para a extração de ARN.

2.7 Utilização em sistemas automatizados

O MagSi-DX Pathogen pode ser utilizado em vários sistemas de manuseamento de líquidos automatizados ou em sistemas de processamento de partículas magnéticas. No entanto, o desempenho do MagSi-DX Pathogen com qualquer sistema automatizado específico deve ser validado pelo utilizador em conjunto com um ensaio de diagnóstico in vitro e os controlos adequados para a aplicação a jusante.

2.7.1 Manuseamento de esferas magnéticas

É necessária uma suspensão homogénea de esferas magnéticas para assegurar uma quantidade correta de esferas magnéticas por amostra e uma qualidade de extração consistente. Antes da utilização, agite bem o frasco de esferas. Em procedimentos de extração automatizados, deve ser integrado um passo de mistura antes da aspiração das esferas.

2.7.2 Sistemas de manuseamento de líquidos

O MagSi-DX Pathogen pode ser utilizado em estações de trabalho de manuseamento de líquidos em conjunto com o MM-Separator 96 DeepWell e placas com 96 poços quadrados profundos e de fundo em U, sendo igualmente utilizado um dispositivo de agitação adequado para a ressuspensão e mistura de esferas magnéticas e uma ferramenta de pinça para microplacas para transportar a placa de amostras de e para o separador magnético.

2.7.3 Definições do agitador

As definições de velocidade do agitador de microplacas descritas nos protocolos seguintes foram definidas com um conjunto específico de instrumento e microplaca. Na primeira utilização de um agitador de microplacas nos passos de incubação, as definições de velocidade devem ser cuidadosamente estabelecidas para cada placa específica, de forma a evitar derrames e contaminação cruzada. A definição da velocidade do agitador pode ser efetuada carregando durante cada passo uma microplaca com um volume de água corada igual ao volume de trabalho e aumentando, de passo em passo, a velocidade do agitador até serem observadas gotículas na superfície da placa. Em seguida, defina novamente uma velocidade mais baixa para o agitador.

2.7.4 Sistemas de processamento de partículas magnéticas

O MagSi-DX Pathogen pode ser utilizado em sistemas de processamento de partículas magnéticas, tais como o PurePrep 96 Nucleic Acid Purification System, utilizando os consumíveis previstos para o sistema específico. As esferas magnéticas são ressuspensas e misturadas, movendo para cima e para baixo uma manga de vareta magnética (pente de pontas), e colhidas por varetas magnéticas cobertas pelo pente de pontas. Os componentes do kit são previamente dispensados nos consumíveis antes de iniciar o sistema e, em seguida, removidos do sistema. É importante não exceder os volumes de trabalho máximos dos consumíveis.

2.8 Condições de eluição

O ARN alvo pode ser diretamente eluído com Elution Buffer entre 50 e 100 µL. As esferas magnéticas devem ser completamente submersas e ressuspensas em Elution Buffer. A eluição pode ser efetuada a 60 °C para aumentar ligeiramente a recuperação de ARN.

O ARN eluído pode ser armazenado a curto prazo (<24 horas) entre 2 e 8 °C, e a longo prazo (>24 horas) a -20 °C.

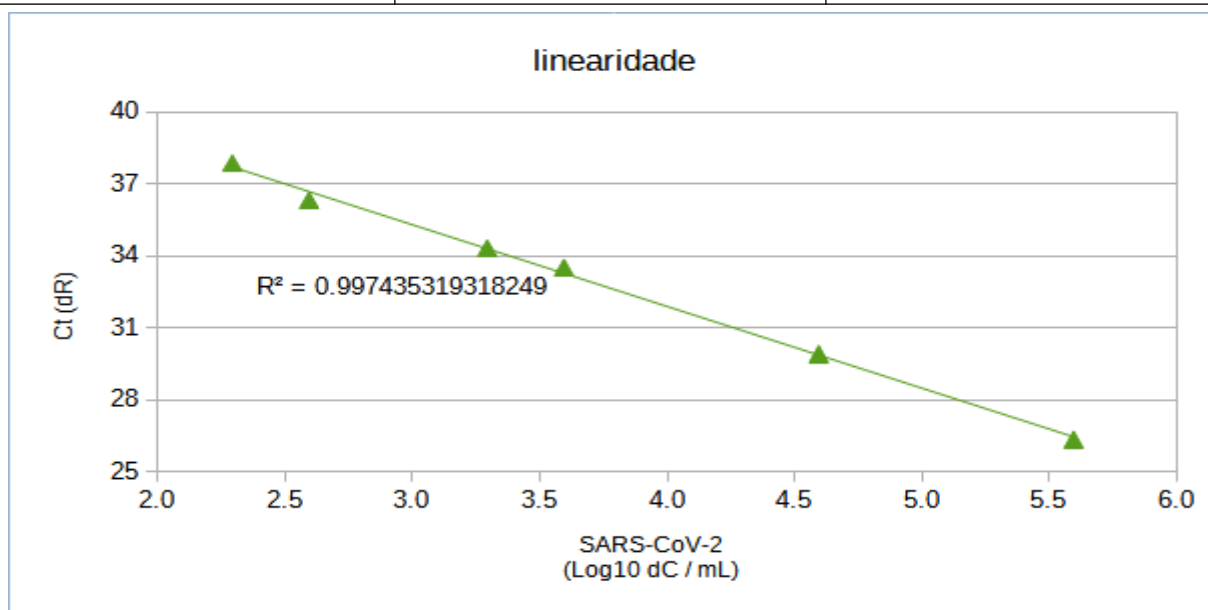
2.9 Características de desempenho

2.9.1 Características de desempenho analítico

A repetibilidade foi testada utilizando uma amostra de paciente positiva e uma amostra viral de SARS-CoV-2 comercial inativada por calor misturada em amostra negativa combinada, colhida de 15 dadores saudáveis.

O LdD e a linearidade do procedimento de extração em combinação com análise RT-qPCR foram determinados utilizando um SARS-CoV-2 Analytical Q Panel (Qnostics), ou seja, um vírus inteiro inativado por calor e disponível comercialmente, que consiste em 8 amostras positivas com várias concentrações e 1 amostra negativa. Cada amostra foi diluída em InActive Blue Saliva Collection Buffer, de acordo com as instruções do fabricante do Saliva Collection Kit em que o tampão é utilizado. Extraíu-se ARN de cada amostra diluída sendo, em seguida, efetuada a RT-qPCR utilizando o Kyt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR kit for SARS-CoV-2 (COVID-19).

Parâmetro	Amostra de paciente positiva	Amostra comercial inativada por calor
CV intraensaio	2,0%	1,4%
CV interensaio	Não testado	3,2%
LdD	-	2,3 Log ₁₀ dC/mL
Linearidade	-	R ² = 0,997



2.9.2 Características de desempenho de diagnóstico

O MagSi-DX Pathogen foi validado em fluxos de trabalho de diagnóstico de SARS-CoV-2. O desempenho clínico foi exemplificado utilizando o painel LEQA produzido e quantificado no RIVM por dPCR. Os fluxos de trabalho que incluem o MagSi-DX Pathogen obtiveram uma classificação de 100% no painel, que consiste em 10 espécimes clínicos simulados com SARS-CoV-2 inativado por calor, incluindo uma variante de preocupação (VDP) B.1.1.7, 20B/501Y.V1 ou outros vírus respiratórios ou material genético [1].

3. Armazenamento e prazo de validade após a primeira abertura

Todos os componentes do kit, incluindo Proteinase K (liofilizada), Poly-A-RNA (liofilizado) e MagSi-PA VII, podem ser armazenados a 18–25 °C. Quando armazenados sob as condições mencionadas, o kit permanece estável até à data de validade indicada no rótulo.

Armazene as soluções prontas de Proteinase K em alíquotas a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante 3 meses.

Armazene as soluções prontas de Poly-A-RNA a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante 3 meses.

As esferas MagSi-PA VII podem ser previamente misturadas com Binding Buffer U1 para adição simultânea a amostras. No entanto, a mistura deve ser preparada de fresco em cada dia de utilização e bem misturada através de agitação em vórtex antes da transferência para as amostras.

Atenção:

- Verifique todos os componentes incluídos na embalagem quanto a danos. Se existirem danos ou fugas, contacte o apoio ao cliente e a assistência técnica da magtívio.
- Não utilize componentes danificados.
- Utilize equipamentos isentos de RNase
- Todos os tampões estão prontos a utilizar.
- Não congele o produto.







4. Avisos e precauções

Os componentes seguintes do MagSi-DX Pathogen contêm ingredientes perigosos.

Use óculos, luvas e vestuário de proteção adequados, e siga as instruções de segurança indicadas nesta secção.

Classificação GHS

As substâncias nocivas contendo até 125 mL ou 125 g não necessitam de ser classificadas com frases H e P.

Componente	Ingredientes perigosos	Símbolo GHS	Frases de perigo	Frases de precaução
Lysis Buffer PA1	Cloridrato de guanidina (20-25%) CAS 50-01-1	 AVISO	H302 H319 H315	P264, P280, P302+P352 P305+P351+P338 P337+P313, P501
Binding Buffer U1	Perclorato de sódio (50-55%) 2-propanol (20-25%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PERIGO	H225 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer I	Perclorato de sódio (35-40%) 2-propanol (50-55%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 PERIGO	H225 H302 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer II	Etanol (70-75%) CAS 64-17-5	 PERIGO	H225 H319	P210, P233, P305+P351+P338 P403+P235, P501
Proteinase K	Proteinase K (100%) CAS 39450-01-6	 PERIGO	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	 PERIGO	H302+H332 H314 H412	P260, P264 P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310

Frases de perigo:

H225	Líquido e vapor altamente inflamáveis.
H302+332	Nocivo por ingestão.
H315	Provoca irritação na pele.
H319	Provoca irritação ocular grave.
H334	Pode causar sintomas de alergia ou asma ou dificuldades respiratórias se inalado.
H335	Pode causar irritação respiratória.
H336	Pode provocar sonolência ou vertigens.
H373	Pode provocar danos aos órgãos por exposição prolongada ou repetida.

Frases de precaução:

P210	Manter afastado do calor, superfícies quentes, faísca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
P233	Manter o recipiente bem fechado.
P260	Não respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray.
P261	Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray.
P264	Lavar cuidadosamente as mãos após o manuseio.
P280	Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva.
P284	Usar proteção respiratória.
P302+P352	EM CASO DE CONTACTO COM A PELE: lavar abundantemente com água e sabão.
P303+P361+P353	EM CASO DE CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Lavar a pele com água ou tomar banho.
P304+P340	EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.
P305+P351+P338	EM CASO DE CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
P310	Contactar imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
P337+P313	Se a irritação ocular persistir: consultar um médico.
P342+P311	Em caso de sintomas respiratórios: contactar um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
P403+P235	Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco.
P501	Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com a legislação em vigor quanto a tratamento de resíduos.



O símbolo apresentado nos rótulos refere-se a informações adicionais de segurança nesta secção.

Ao trabalhar com o MagSi-DX Pathogen, use vestuário de proteção adequado (por ex., bata de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção). Para obter mais informações, consulte as Fichas de dados de segurança adequadas (disponíveis através de: support@magtívio.com).

CUIDADO:

O Lysis Buffer PA1, o Binding Buffer U1, o Wash Buffer I e o Poly-A-RNA Buffer contêm sal caotrópico (por ex., cloridrato de guanidina e/ou perclorato de sódio) que pode formar compostos altamente reativos quando combinado com lixívia (hipoclorito de sódio)! A lixívia NÃO PODE entrar diretamente em contacto com materiais que foram expostos aos tampões mencionados. Use óculos de segurança, luvas e vestuário de proteção adequados!

Os resíduos gerados com o MagSi-DX Pathogen não foram testados quanto a materiais infecciosos residuais. É altamente improvável que ocorra uma contaminação dos resíduos líquidos com materiais infecciosos residuais devido ao forte tampão de lise desnaturante e ao tratamento de Proteinase K, mas tal contaminação não pode ser completamente excluída. Por este motivo, os resíduos líquidos devem ser considerados infecciosos e manuseados e eliminados de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Eliminação

Elimine os materiais perigosos, infecciosos ou biologicamente contaminados de uma forma segura e aceitável, de acordo com todos os requisitos locais e regulamentares.

5. Preparação de reagente

5.1 Reconstituição de Proteinase K

- MDDX00010096 (96 preparações), adicione 1,1 mL de água com qualidade para biologia molecular ao frasco de Proteinase K e agite em vórtex para dissolver. Armazene as soluções de Proteinase K em alíquotas a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.
- MDDX00010960 (10 x 96 preparações), adicione 11 mL de água com qualidade para biologia molecular ao frasco de Proteinase K e agite em vórtex para dissolver. Para a alíquotagem por 96 amostras, prepare alíquotas de 1,05 mL e armazene soluções a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.
- MDDX0001005K (5000 preparações) e MDDX0001025K (25 000 preparações), adicione 55 mL de água com qualidade para biologia molecular a cada frasco de Proteinase K e agite em vórtex para dissolver. Para a alíquotagem por 96 amostras, prepare alíquotas de 1,05 mL e armazene soluções a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.

5.2 Reconstituição de Poly-A-RNA

- MDDX00010096 (96 preparações), adicione 120 µL de Poly-A-RNA Buffer ao frasco de Poly-A-RNA (0,3 mg) e agite em vórtex para dissolver. Armazene as soluções de Poly-A-RNA a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.
- MDDX00010960 (10 x 96 preparações), adicione 1,2 mL de Poly-A-RNA Buffer ao frasco de Poly-A-RNA (3 mg) e agite em vórtex para dissolver. Para a alíquotagem por 96 amostras, prepare alíquotas de 110 µL e armazene soluções a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.
- MDDX0001005K (5000 preparações), adicione 6 mL de Poly-A-RNA Buffer ao frasco de Poly-A-RNA (15 mg) e agite em vórtex para dissolver. Para a alíquotagem por 96 amostras, prepare alíquotas de 110 µL e armazene soluções a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.
- MDDX0001025K (25 000 preparações), adicione 10 mL de Poly-A-RNA Buffer a cada frasco de Poly-A-RNA (25 mg) e agite em vórtex para dissolver. Para a alíquotagem por 96 amostras, prepare alíquotas de 110 µL e armazene soluções a -20 °C. Evite congelar e descongelar repetidamente. Quando armazenadas em conformidade, as soluções permanecem estáveis durante, pelo menos, 3 meses.

Se existir qualquer precipitado nos tampões, aqueça o tampão entre 25 e 37 °C para dissolver o precipitado, antes da utilização.

5.3 Preparação de Lysis Master Mix

Para cada amostra, prepare Lysis Master Mix:

Lysis Buffer PA1	200 µL
Solução Poly-A-RNA	1 µL
Solução Proteinase K	10 µL
Total	211 µL

Prepare um excedente de Lysis Master Mix para compensar a inexatidão da pipetagem, especialmente se utilizar pipetas multicanal etc. Utilize a Lysis Master Mix imediatamente após a preparação.

5.4 Preparação da pré-mistura de Binding Buffer/Beads (opcional)

As esferas MagSi-PA VII podem ser previamente misturadas com Binding Buffer U1 para adição simultânea a amostras. Para cada amostra, prepare pré-mistura de Binding Buffer/Beads:

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

A mistura deve ser utilizada no dia da preparação e bem misturada através de agitação em vórtex, antes da transferência para amostras.

6. Protocolo de extração de ARN viral

Antes de começar:

- Prepare Lysis Master Mix de acordo com a secção 5.
- Trate previamente as amostras (se necessário) de acordo com a secção 2.6.
- Agite bem em vórtex as esferas magnéticas de forma a criar uma suspensão homogénea.

Este protocolo destina-se a uma utilização manual do kit. Também pode ser utilizado como orientação para a configuração de um procedimento automatizado em instrumentos de manuseamento de líquidos. Para tal, podem ser utilizadas placas com 96 poços e acessórios. Certifique-se de que o sistema de manuseamento de líquidos está equipado com os dispositivos necessários (agitador, incubadora, separador magnético etc.).

1. Transfira 200 μ L de amostra para uma microplaca para processamento.
2. Adicione 211 μ L de Lysis Master Mix a cada amostra. Incube num agitador durante 10 min com agitação a 1000 RPM.
3. Adicione 20 μ L de esferas MagSi-PA VII e 400 μ L de Binding Buffer U1. Incube num agitador durante 5 min com agitação a 1000 RPM.
4. Coloque a microplaca em processamento no separador magnético e aguarde, pelo menos, 1 minuto para recolher as esferas. Remova os sobrenadantes sem perturbar o aglomerado de esferas magnéticas atraídas.
5. Remova a placa de amostra do separador magnético e adicione 800 μ L de Wash Buffer I aos tubos. Ressuspenda as esferas através de incubação das amostras num agitador durante 1 min a 1000 RPM. Coloque as amostras num separador magnético e aguarde, pelo menos, 1 minuto para recolher as esferas. Remova os sobrenadantes sem perturbar o aglomerado de esferas atraídas.
6. Repita novamente o passo 5 com 800 μ L de Wash Buffer I e, em seguida, com 800 μ L de Wash Buffer II.
7. Seque as esferas ao ar durante 10 min de forma a evaporar completamente o etanol. Se necessário, agite com uma velocidade inferior e remova quaisquer resíduos de tampão antes de secar as esferas magnéticas atraídas.
8. Remova as amostras do separador magnético e adicione 100 μ L de Elution Buffer. Incube num agitador durante 10 min a 1000 RPM.
9. Coloque os tubos num separador magnético e aguarde, pelo menos, 1 minuto para recolher as esferas. Transfira os eluatos para novos tubos. Os ácidos nucleicos purificados no eluato estão agora prontos a utilizar em aplicações a jusante.

7. Procedimento de controlo

O MagSi-DX Pathogen não inclui um procedimento de controlo. A utilização de controlos adequados para aplicações a jusante é da exclusiva responsabilidade do utilizador. Recomenda-se a utilização de controlos internos baseados em ARN em ensaios de RT-qPCR para eliminar o risco de resultados falso-negativos resultantes de potencial contaminação por RNase.

8. Interpretação de resultados

O MagSi-DX Pathogen não fornece um resultado de diagnóstico. A utilização e validação do kit em conjunto com uma aplicação de diagnóstico in vitro a jusante, dependendo do agente patogénico alvo, são da exclusiva responsabilidade do utilizador.

9. Compatibilidade

O MagSi-DX Pathogen foi validado em conjunto com os seguintes dispositivos:

- 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

O MagSi-DX Pathogen é compatível com os seguintes instrumentos para extração de ácido nucleico (os ficheiros de protocolo e as instruções do MagSi-DX Pathogen são disponibilizados mediante pedido):

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

10. Anexo

10.1 Resolução de problemas

Problema	Causa possível	Comentários e sugestões
Obtenção reduzida de ácido de ARN	Degradação do ARN	- Utilize e armazene o dispositivo de colheita de amostras de acordo com as instruções do fabricante
	Ligação ineficiente às partículas magnéticas	- Utilize uma quantidade correta de todos os reagentes - Aumente os passos de mistura e o tempo de incubação do passo de ligação - Misture a amostra durante a incubação de ligação/lise
	Procedimento de lavagem insuficiente	- Certifique-se de que as esferas estão completamente ressuspensas nos passos de lavagem.
	Eluição incompleta	- A secagem de Wash Buffer II pode não ter sido concluída, aumente o tempo de secagem - Ressuspenda completamente as esferas no passo de eluição
Problemas em aplicações a jusante/contaminação da amostra	Etanol no ADN eluído	- Aumente o tempo de secagem para 15 minutos
	Sal no eluato	- Utilize os tampões pela ordem correta - Certifique-se de que todos os sobrenadantes foram adequadamente removidos. - Evite a transferência de Lysis Master Mix, Binding Buffer U1 ou tampões de lavagem para o eluato.
	Uma elevada quantidade de esferas magnéticas permanece no eluato	- Coloque novamente os tubos com eluatos no separador magnético e transfira o sobrenadante para um novo recipiente.












10.2 Referências 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 notificação

Tenha em atenção que qualquer incidente grave que ocorra e que esteja relacionado com o produto deve ser imediatamente comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro europeu onde o incidente ocorreu. Pontos de contacto de vigilância europeia: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en.

10.4 Explicação dos símbolos

	Número de catálogo
	Número de lote
	Fabricante
	Data de fabrico
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Consultar as instruções de utilização
	Suficiente para <n> testes
	Limite de temperatura
	Válido até
	Cuidado: informações adicionais nas instruções de utilização
	Não reutilizar

10.5 Garantia/restrição de utilização do produto

Este produto é enviado com documentação que inclui especificações e outras informações técnicas. A magtívio garante o cumprimento das especificações indicadas. A única obrigação da magtívio e a única solução para o cliente está limitada à substituição gratuita de produtos se os mesmos não oferecerem o desempenho garantido. Existem referências adicionais aos termos e condições comerciais gerais da magtívio impressas na tabela de preços. Contacte-nos se pretender uma cópia adicional.

A magtívio não se responsabiliza nem oferece garantia relativamente a danos ou defeitos resultantes de transporte e manuseamento (salvo em caso de seguro de transporte para clientes), acidente ou utilização indevida ou anormal deste produto; defeitos em produtos ou componentes não fabricados pela magtívio ou danos resultantes de tais componentes ou produtos não pertencentes à magtívio.

A magtívio não oferece nenhum outro tipo de garantia, REJEITANDO E EXCLUINDO ESPECIFICAMENTE QUAISQUER OUTRAS GARANTIAS DE QUALQUER TIPO OU NATUREZA, SEJAM DIRETAS OU INDIRETAS, EXPRESSAS OU IMPLÍCITAS, INCLUINDO, ENTRE OUTRAS, GARANTIAS RELATIVAS A ADEQUABILIDADE, REPRODUTIBILIDADE, DURABILIDADE, ADEQUAÇÃO A UMA FINALIDADE OU UTILIZAÇÃO ESPECÍFICA, COMERCIALIZAÇÃO, CONDIÇÃO OU QUALQUER OUTRA MATÉRIA RESPEITANTE A PRODUTOS magtívio.

Em caso algum a magtívio será responsabilizada por reclamações resultantes de quaisquer outros danos, sejam diretos, indiretos, acidentais, compensatórios, previsíveis, consequentes ou especiais (incluindo, entre outros, perda de utilização, receitas ou lucros), com base em garantia, contrato, dolo (incluindo negligência) ou responsabilidade objetiva resultante da venda ou da inconsistência de desempenho dos produtos magtívio relativamente às especificações indicadas. Esta garantia é exclusiva e a magtívio não oferece qualquer outro tipo de garantia expressa ou implícita.

A garantia concedida pelo presente, e os dados, as especificações e as descrições deste produto magtívio fornecidos na literatura dos produtos e nos catálogos publicados da magtívio, são a única representação da magtívio relativamente ao produto e à garantia. São proibidas quaisquer outras declarações ou representações, escritas ou verbais, por parte de funcionários, agentes ou representantes da magtívio, as quais, se existentes, devem ser desconsideradas pelo cliente e não fazem parte do contrato de venda nem desta garantia, à exceção de declarações escritas assinadas por um responsável devidamente autorizado da magtívio.

As declarações de produto estão sujeitas a alterações. Para obter as informações mais atualizadas sobre produtos magtívio, contacte a nossa equipa de assistência técnica. Pode igualmente contactar o distribuidor local para obter informações científicas gerais. As aplicações mencionadas na literatura da magtívio são fornecidas apenas para fins informativos. A magtívio não garante que todas as aplicações foram testadas em laboratórios da magtívio utilizando produtos magtívio. A magtívio não garante a exatidão de nenhuma dessas aplicações.