NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD

Kit para la extracción de ARN/ADN viral NZY Mag, IVD

REF MD04881, 200 preparaciones
MD04882, 2000 preparaciones

Exclusivamente para uso diagnóstico* in vitro *profesional.

CE IVD

ES

Instrucciones de uso

MD0488_IM_es

VERSIÓN 2401, Enero de 2024

NZYtech genes & enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal
Tel.:+351.213643514 Fax: +351,217151168
www.nzytech.com

Índice

1. Uso previsto 3
2. Principios del ensayo 3
3. Composición del kit 3
4. Condiciones para el almacenamiento, estabilidad y manipulación 3
5. Materiales e instrumentos necesarios pero no suministrados 3
6. Recogida y preparación muestras 3
7. Precauciones y advertencias 4
   7.1. Información de seguridad 4
   7.2. Requisitos para la manipulación y el procedimiento 4
8. Preparación de los reactivos 4
9. La extracción del ácido nucleico 4
10. Protocolo para la extracción automatizada 5
   10.1. Preparación de las placas de procesamiento 5
   10.2. Procesamiento de las muestras 5
11. Evaluación del rendimiento 5
   11.1. Umbral de detección (LoD) - Sensibilidad analítica 5
   11.2. Equivalencia clínica y comparación de la extracción 5
   11.3. Sustancias interferentes 6
   11.4. Precisión 6
   11.4.1. Repetibilidad 7
   11.4.2. Reproducibilidad del operador 7
   11.4.3. Reproducibilidad diaria 7
   11.4.4. Reproducibilidad lote a lote 7
   11.5. Evaluación clínica 7
12. Control de calidad 7
13. Asistencia técnica 7
14. Marcas y descargos de responsabilidad 7
15. Explicación de símbolos 8
16. Bibliografía 8
17. Declaración de conformidad 9

1. Uso previsto

El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, es un equipo para la purificación de ácidos nucleicos mediante la tecnología de microesferas magnéticas, diseñada para la purificación rápida y sencilla de ARN y ADN viral con un alto grado de integridad a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos humanos. El kit está diseñado para ser utilizado en una variedad de aplicaciones derivadas que requieran la amplificación y detección de ARN/ADN viral, especialmente la RT-qPCR. El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, debe ser utilizado por usuarios profesionales con experiencia y formación en técnicas de biología molecular, incluyendo experiencia con hisopos y materiales de muestras humanas potencialmente infecciosas.

2. Principios del ensayo

El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, está específicamente diseñado para recuperar el ARN y el ADN procedente de las partículas virales presentes en el medio de transporte de las muestras respiratorias humanas. El kit utiliza la tecnología de microesferas magnéticas para garantizar la recuperación reproducible de ácidos nucleicos de alta calidad. El procedimiento se basa en la adsorción reversible de los ácidos nucleicos en las microesferas paramagnéticas bajo condiciones adecuadas de amortiguación. Una distribución homogénea de las microesferas magnéticas es esencial para lograr una extracción de alta consistencia. Por lo tanto, antes de dispensar las microesferas magnéticas NZY Mag, asegúrese de que las perlas estén completamente resuspendidas. La lisis de la muestra y la unión a las microesferas magnéticas NZY Mag se obtienen mediante una incubación con el NZY Mag Binding Buffer que contiene iones caotrópicos, todo ello sustentado por la liberación del ácido nucleico a través de la digestión con la NZY Mag Proteinase K. Tras la separación magnética del ácido nucleico, se realiza un lavado de las microesferas paramagnéticas que contienen el ARN/ADN para eliminar los contaminantes y las sales, utilizando el NZY Mag Wash Buffer y etanol al 80%. El etanol residual derivado de los pasos de lavado anteriores se elimina por secado al aire. Finalmente, el ARN/ADN viral de alto grado de pureza se eluye con el NZY Mag Elution Buffer. Se recomienda encarecidamente utilizar controles de extracción, controles tanto positivos como negativos, y controles internos, además de realizar pruebas de contaminación cruzada durante el uso del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD.

El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, es compatible con distintas configuraciones de protocolo, tales como flujos de trabajo automatizados en una variedad de plataformas, incluido el procesador de partículas magnéticas KingFisher™ Flex con cabezal para 96 pocillos profundos. Los flujos de trabajo automatizados permiten procesar 96 muestras de hisopos nasofaríngeos en <30 minutos. Además, al poder utilizar un protocolo flexible, se puede añadir un volumen de muestra de 200 µL de medio de transporte con un volumen de elución de 50 µL. Después de esto, los ácidos nucleicos de alta calidad están listos para utilizarse en el proceso de detección mediante diferentes estrategias de amplificación, tales como la transcripción inversa (RT)-PCR o la RT-qPCR. El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, no proporciona un resultado de diagnóstico. El usuario es responsable de utilizar y validar el kit junto con un posterior ensayo de diagnóstico *in vitro* correspondiente al patógeno en cuestión. Cualquier resultado de diagnóstico que se genere utilizando ácidos nucleicos aislados con el NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, en combinación con un ensayo de diagnóstico *in vitro*, debe interpretarse con base en los resultados clínicos o de laboratorio adicionales.

3. Composición del kit

El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, proporciona un amplio conjunto de reactivos para la extracción y la purificación del ARN y ADN viral a partir de muestras de hisopos nasofaríngeos humanos. Los NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kits, IVD están diseñados para la purificación de 200 (#MD04881) o 2000 (#MD04882) muestras, respectivamente, y admiten un volumen de muestra de 200 µL. El contenido de ambos kits se describe en la siguiente tabla.

COMPONENTES DEL KIT	**MD04881 (200 preparaciones)**	**MD04882 (2000 preparaciones)**
NZY Mag Binding Buffer (Tampón de unión)	56 mL	560 mL
NZY Mag Proteinase K (Proteinasa K)	1,1 mL	11 mL
NZY Mag Wash Buffer (Tampón de lavado)	105 mL	1050 mL
NZY Mag Elution Buffer (Tampón de elución)	10,5 mL	105 mL
NZY Mag Binding Beads (Microesferas de unión)	2,1 mL	21 mL

4. Condiciones para el almacenamiento, estabilidad y manipulación

El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, se envía a 15-25 °C. Todos los componentes deben almacenarse a 15-25 °C en cuanto se reciban.

- Si el embalaje que protege el kit llegara dañado, póngase en contacto con NZYtech.
- Tenga en cuenta la fecha de caducidad indicada en el embalaje. NZYtech no recomienda utilizar el kit después de la fecha de caducidad. En esa fecha, el kit se debe desechar siguiendo las instrucciones de eliminación indicadas en la **Sección 8.2**.

5. Materiales e instrumentos necesarios pero no suministrados

Los instrumentos necesarios pueden variar en función del procesamiento y la instalación o configuración. Consulte al fabricante local para conocer los consumibles específicos disponibles. Utilice puntas de pipeta desechables (se recomienda utilizar puntas de pipeta con filtro para aerosoles y libres de RNasa para evitar contaminaciones cruzadas). Utilice equipo de protección personal, incluyendo guantes desechables.

6. Recogida y preparación muestras

Existen diferentes factores que resultan críticos para conseguir resultados óptimos, entre ellos se destaca el protocolo utilizado para la obtención de muestras respiratorias humanas (hisopos nasofaríngeos u orofaríngeos), el transporte, almacenamiento y tiempo de procesamiento de las

muestras. Las muestras recogidas se deben analizar lo antes posible. Las muestras se deben transportar y almacenar a bajas temperaturas, de acuerdo con los reglamentos de bioseguridad. El NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, permite aislar los ácidos nucleicos totales que sirven como material de partida para las pruebas de diagnóstico. El kit permite obtener muestras de ARN/ADN idóneas en términos de pureza, concentración e integridad de los ácidos nucleicos. En general, se acepta una relación de $A_{260/280}$ de ~2 para el ARN/ADN puro. Dado que el etanol es un potente inhibidor de PCR en tiempo real, es necesario eliminarlo completamente antes de la elución del ácido nucleico al momento de la extracción, lo que ocurre en las etapas finales de la misma.

7. Precauciones y advertencias

Como en cualquier procedimiento de prueba analítico, las buenas prácticas de laboratorio resultan fundamentales. Siga con atención los procedimientos y directrices proporcionados en este manual para garantizar que el test se realiza correctamente. Cualquier desviación de los mismos puede hacer que la prueba falle o provocar resultados erróneos.

7.1. Información de seguridad

Las muestras biológicas, tales como tejidos, fluidos corporales, agentes patógenos y sangre de seres humanos y otros animales, tienen el potencial de transmitir enfermedades infecciosas. Todo el proceso se debe realizar en instalaciones que cuenten con el equipo de seguridad adecuado (por ejemplo, dispositivos de contención física). Antes de utilizar el kit consulte la Hoja de seguridad (SDS, por sus siglas en inglés) que se encuentra disponible en la página web de NZYtech (www.nzytech.com). El uso de este producto de una manera no especificada en la guía del usuario puede provocar lesiones o a daños en el instrumento o dispositivo. Toda persona que utilice este producto debe conocer las instrucciones sobre las prácticas generales de seguridad en los laboratorios y la información de seguridad proporcionada en este documento. Solo el personal capacitado en los procedimientos técnicos y de seguridad pertinentes debe realizar la extracción y la detección del SARS-CoV-2 u otros organismos patógenos en laboratorios debidamente equipados. Las directrices internacionales y nacionales sobre bioseguridad en el laboratorio deberán aplicarse bajo cualquier circunstancia.

7.2. Requisitos para la manipulación y el procedimiento

- Exclusivamente para diagnóstico profesional *in vitro*.
- No utilice este kit después de la fecha de caducidad.
- No utilice los componentes de la prueba si el sellado del kit está dañado.
- No intercambie los reactivos de distintos lotes de producción.
- No se deben utilizar reactivos de otros fabricantes con los reactivos de este kit de prueba.
- En todos los procedimientos se deben utilizar pipetas y elementos de plástico desechables y libres de DNasa/RNasa.
- Utilice puntas de pipeta con filtro, libres de DNasa/RNasa, durante todo el protocolo para evitar la contaminación por aerosoles y líquidos.
- Las muestras biológicas se deben manipular como si estuvieran infectadas, siguiendo las precauciones de bioseguridad adecuadas.
- Por favor, tenga en cuenta que la solución de NZY Mag poteinasa K puede presentar una ligera precipitación; sin embargo, esto no comprometerá la eficacia del kit de extracción en el aislamiento de ácidos nucleicos virales.
- Los residuos de preparaciones y sustancias químicas se suelen considerar residuos peligrosos. La eliminación de esta clase de residuos está regulada mediante reglamentos y leyes locales y nacionales.
- El equipo de seguridad también puede incluir artículos para la protección personal, tales como guantes, batas, cubiertas para los zapatos, botas, respiradores, protectores faciales, gafas de seguridad o anteojos. Antes de trabajar con materiales potencialmente biopeligrosos, todo el personal debe recibir la formación necesaria en función de los requisitos reglamentarios y de la empresa/institución. En este sentido, se deben seguir todas las regulaciones aplicables a nivel local, estatal/provincial y nacional.
- La preparación de la muestra, la configuración de la reacción y la amplificación se deben realizan en distintas zonas de trabajo.
- Al realizar la prueba, manipule con cuidado las placas post-amplificación y deséchelas inmediatamente una vez realizado el análisis; las placas siempre se deben desechar en un contenedor de residuos biológicos adecuado después de usarlas.
- Todos los resultados deben ser interpretados por un profesional de la salud teniendo en cuenta los síntomas clínicos y la historia clínica del paciente.

8. Preparación de los reactivos

Preparación de la solución de etanol al 80% (v/v): Antes de comenzar, preparar el etanol fresco al 80 % (v/v) [no incluido] diluyendo etanol absoluto de grado de biología molecular en agua libre de nucleasas (no tratada con DEPC) hasta alcanzar el volumen necesario para el número de reacciones de purificación, más un 10% de exceso.

REACTIVO	VOLUMEN DE LLENADO DE LA MUESTRA, 200 ML		
	VOLUMEN POR PREPARACIÓN	VOLUMEN PARA 10 PREPARACIONES (+10%)	VOLUMEN PARA 96 PREPARACIONES (+10%)
etanol al 80% (v/v)	500 µL	5,50 mL	52,8 mL

9. La extracción del ácido nucleico

Lea atentamente las instrucciones de uso antes de comenzar el procedimiento de extracción. Revise la documentación del análisis correspondiente para determinar si se recomienda el uso de un control de extracción para verificar la eficacia de la preparación del ácido nucleico. Siga las guías de control de extracción proporcionadas en la documentación del análisis. Determine el número de reacciones necesarias en función del número de muestras de pacientes que debe procesar, más un control negativo por placa.

10. Protocolo para la extracción automatizada

10.1. Preparación de las placas de procesamiento

En la plataforma automatizada, prepare las siguientes placas de procesamiento:

1. **Placa de lavado 1**, con 0,5 mL de NZY Mag Wash Buffer por pocillo/muestra.
2. **Placa de lavado 2**, con 0,5 mL de etanol al 80% (v/v) [no suministrado; ver las directrices de preparación anteriores] por pocillo/muestra.
3. **Placa de elución**, con 50 µL de NZY Mag Elution Buffer por pocillo/muestra.

PLACA	TIPO DE PLACA	COMPONENTE	VOLUMEN POR PREPARACIÓN
Placa de lavado 1	Placa de pocillos profundos	NZY Mag Wash Buffer	0,5 mL
Placa de lavado 2	Placa de pocillos profundos	Etanol al 80% (v/v)	0,5 mL
Placa de elución	Placa de pocillos profundos	NZY Mag Elution Buffer	50 µL

10.2. Procesamiento de las muestras

1. En la **placa de muestras**, pipetee cuidadosamente 265 µL del NZY Mag Binding Buffer en cada pocillo de muestra, así como en los pocillos del control negativo.
Nota: *el NZYBinding Buffer es relativamente viscoso y debe pipetearse cuidadosamente, utilizando puntas de baja retención. No reutilizar las puntas para añadir el NZY Mag Binding Buffer ya que puede provocar variaciones en los volúmenes añadidos.*
2. A continuación, añada 200 µL de muestra a cada pocillo de muestra. Mezcle con un pipeteo delicado de arriba hacia abajo. Añada el volumen correspondiente de agua libre de nucleasas (no tratada con DEPC) al pocillo del control negativo.
3. Añada 5 µL de NZY Mag Proteinase K a cada pocillo, incluido el del control negativo.
Nota: *en esta etapa puede añadir el control de extracción, si se requiere.*
4. Mezcle bien pipeteando repetidamente hacia arriba y hacia abajo o agitando.
5. Deje incubar la reacción durante al menos 15 minutos a temperatura ambiente (***durante este período, puede proceder a preparar las placas de procesamiento como se describió anteriormente***).
6. Agite en vórtex las NZY Mag Binding Beads para obtener una mezcla de microesferas homogénea. Añada 10 µL de las NZY Mag Binding Beads por pocillo/muestra.
7. En caso de que se utilice el procesador de partículas magnéticas KingFisher™ Flex, asegúrese de que se haya instalado el programa NZY_2Wash_200_Flex en el instrumento.
8. Inicie la extracción automatizada colocando las placas de procesamiento de acuerdo con lo establecido en el protocolo del sistema de extracción.
9. Una vez finalizado el proceso, retire la placa de elución del instrumento y cúbrala con una película adhesiva transparente adecuada.
10. Coloque la placa de elución en hielo para su uso inmediato en la RT-qPCR en tiempo real o guárdela de forma adecuada para su posterior análisis.
11. Para un almacenamiento a corto plazo de hasta 24 horas, recomendamos almacenar el ARN y el ADN viral purificado a una temperatura de 2-8 °C. Para un almacenamiento de más de 24 horas, recomendamos almacenar los ácidos nucleicos purificados a <-70 °C.

11. Evaluación del rendimiento

La evaluación del rendimiento del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, se realizó utilizando un flujo de trabajo automatizado, en un procesador de partículas magnéticas KingFisher™ Flex con cabezal para 96 pocillos profundos, con un volumen de elución de 50 µL. Los estudios de rendimiento que se describen a continuación se realizaron extrayendo ácidos nucleicos de citomegalovirus (CMV), un herpesvirus ADN, y de SARS-CoV-2, un virus con un genoma de ARN. La eficacia de la extracción se comprobó mediante una prueba PCR en tiempo real, utilizando 8 µL de cada extracto de ácido nucleico con pruebas de NZYtech específicas para CMV (nº MD0341) y SARS-CoV-2 (kit de detección por RT-PCR en un solo paso para el SARS-CoV-2, cat. nº MD0483) en una plataforma Applied Biosystems™ 7500 FAST.

11.1. Umbral de detección (LoD) - Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se ha definido como la carga viral más baja en una muestra clínica a partir de la cual los ácidos nucleicos podían aislarse de forma fiable con un 95% de confianza. Esto se evaluó analizando la extracción de distintos números de copias del CMV y SARS-CoV-2, añadidos a una mezcla de muestras nasofaríngeas negativas, usando 3 lotes de kit distintos y siguiendo las condiciones típicas de reacción de la prueba. Las pruebas se repitieron durante 2 días, produciendo 24 duplicados para cada una de las concentraciones del CMV o del SARS-CoV-2 probadas. En conjunto, los datos revelaron que NZYtech NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, puede aislar de manera eficiente los ácidos nucleicos de muestras clínicas que contienen 50 copias del virus CMV o SARS-CoV-2 por reacción, con una confianza ≥95%. Así, se determinó que el umbral de detección (LoD, por sus siglas en inglés) era de 0,25 copias virales/µL en la muestra de referencia.

11.2. Equivalencia clínica y comparación de la extracción

La equivalencia clínica se comprobó mediante la extracción de ácidos nucleicos de CMV y SARS-CoV-2 utilizando el NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, y un kit comercial de IVD que usa el mismo protocolo de extracción (Applied Biosystems™, kit para el la extracción de ácidos nucleicos virales/patógenos MagMAX™ II, CE-IVD, #A48383). Las pruebas se llevaron a cabo utilizando un conjunto de muestras negativas de hisopos nasofaríngeos a las que se han añadido los dos virus utilizando cuatro números de copias diferentes (1000, 500, 100 y 50 copias virales/reacción). Tras la extracción de un total de 80 muestras con cada kit para los dos virus (extracción de 160 muestras por cada virus), no se observaron diferencias significativas en la eficacia de las extracciones, como se indica en la tabla siguiente.

EQUIVALENCIA CLÍNICA DEL NZY MAG VIRAL RNA/DNA ISOLATION KIT, IVD				
COPIAS DEL SARS-COV-2/REACCIÓN	**MEDIA DE CT**	**DE**	**CV (%)**	**n**
1000	29,71	0,30	1,02	40
500	31,06	0,26	0,83	40
100	33,56	0,32	0,96	40
50	34,74	0,80	2,32	40
COPIAS DE CMV/REACCIÓN	**MEDIA DE CT**	**DE**	**CV (%)**	**n**
1000	29,60	0,50	1,68	40
500	30,95	0,64	2,06	40
100	33,61	0,67	2,01	40
50	34,71	0,81	2,34	40

Para comprobar la capacidad del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, para coaislar RNA/DNA de origen endógeno (humano), al aislar ácidos nucleicos virales de muestras humanas. El análisis de la capacidad de co-purificación del kit NZYtech se evaluó en comparación con el kit equivalente de Applied Biosystems™ (#A48383). Por lo tanto, las muestras anteriores se analizaron para detectar la presencia del target RP humano en el contexto de la detección del SARS-CoV-2. Los datos revelaron que ambos kits tuvieron un rendimiento similar en la extracción de ácidos nucleicos de origen humano (media de Ct de 24,54 con una desviación estándar de 0,22 y un coeficiente de variación de 0,90%, n=160). La detección del gen RP humano se utiliza para validar las pruebas de RT-qPCR a partir de hisopos nasofaríngeos humanos.

11.3. Sustancias interferentes

Se evaluó el impacto de 17 posibles sustancias interferentes en extracciones con muestras nasofaríngeas negativas a las que se añadieron ejemplares positivos de SARS-CoV-2 con un LoD de ~3x. Las posibles sustancias interferentes se añadieron a las muestras a concentraciones que representaban los niveles más altos esperados en las muestras de las vías respiratorias de pacientes humanos, con base en la bibliografía clínica. Todas las extracciones de ácido nucleico se realizaron por pentaplicado y los resultados se compararon con los datos obtenidos con una prueba de control que no contenía interferentes. Los resultados revelaron que, para las concentraciones probadas, ninguna de las moléculas analizadas afectaba a la sensibilidad de la extracción, cuantificado mediante una RT-qPCR. En la siguiente tabla se resumen los datos recopilados en estos experimentos. Todos los experimentos se realizaron en el sistema automatizado para PCR en tiempo real FAST 7500 (Applied Biosystems™).

INTERFERENTE POTENCIAL	PRINCIPIO ACTIVO	CONCENTRACIÓN FINAL EN LA MUESTRA	INTERFERENCIA SÍ (S) O NO (N)
Agua de mar isotónica (Rhinomer)	NaCl	15% v/v	N
Spray para la garganta. Anestésico y analgésico oral (Strepfen)	Flurbiprofeno	5% v/v	N
Solución de lavado nasal (Spray antialérgico - Vibroal)	Propionato de fluticasona	5% v/v	N
Corticosteroides nasales en spray (Nasomet)	Furoato de mometasona	5% v/v	N
Corticosteroides nasales en spray (Pulmicort)	Budesonida	5% v/v	N
Antimicrobiano, sistémico (Trobex)	Tobramicina	600 µg/mL	N
Analgésico bucal, antiinflamatorio y antiséptico (Pyralvex)	Extracto de ruibarbo, ácido salicílico	5% v/v	N
Antifúngico y antibacteriano orofaríngeo tópico (Daktarin)	Miconazol	5 mg/mL	N
Antiséptico en solución bucal (Eludril Gé)	Gluconato de clorhexidina, hemihidrato de clorobutanol	5% v/v	N
Antitusivo, jarabe (Codipront)	Codeína, citrato de feniltoloxamina	5% v/v	N
Sangre entera (humana)	.	4% v/v	N
Medicamento antiviral (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N
Mucolítico (Mucolsovan)	Clorhidrato de ambroxol	5% v/v	N
Solución de gotas nasales (Nasarox)	Clorhidrato de oximetazolina	10% v/v	N
Antibiótico, unguento nasal (Bactroban)	Mupirocina	5 mg/mL	N
Saliva (humana)	–	25% v/v	N
Etanol absoluto	Alcohol	5% v/v	N

11.4. Precisión

La precisión de la prueba para el NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, se determinó mediante el análisis de la extracción de los ácidos nucleicos de 24 muestras nasofaríngeas positivas con distintos niveles de carga viral, usando 3 lotes de kit distintos y siguiendo las condiciones típicas de extracción, con una elución de 50 µL. La precisión se evaluó midiendo el promedio de Cq, el coeficiente de variación Cq y el porcentaje

de detección de duplicados, tal y como se describe más adelante para cada uno de los casos, usando el kit de detección por RT-PCR en un solo paso para el SARS-CoV-2, IVD, de NZYtech (NZYtech MD0483). Los datos se resumen en la tabla que se muestra al final de esta sección.

11.4.1. Repetibilidad

La repetibilidad fue evaluada por un operador, mediante la extracción de 24 muestras diferentes utilizando tres lotes diferentes del kit, lo que supone un total de 72 extracciones de ácidos nucleicos realizadas.

11.4.2. Reproducibilidad del operador

La reproducibilidad del operador fue evaluada mediante la extracción de 3 duplicados de 24 muestras, utilizando tres lotes diferentes del kit, realizada por dos operadores diferentes, con 72 extracciones de muestras realizadas por operador, dando un total de 144 muestras extraídas.

11.4.3. Reproducibilidad diaria

La reproducibilidad diaria fue evaluada por un operador, mediante la extracción de 3 duplicados de 24 muestras, utilizando tres lotes diferentes del kit, en dos días distintos, lo que supone un total de 144 extracciones de ácidos nucleicos realizadas.

11.4.4. Reproducibilidad lote a lote

La reproducibilidad entre lotes fue evaluada mediante el análisis de 216 extracciones, utilizando tres lotes diferentes del kit, lo que supone un total de 72 extracciones por cada lote.

Precisión del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, de NZYtech Se extrajeron los ácidos nucleicos de muestras de hisopos nasofaríngeos humanos que contenían el SARS-CoV-2 y se cuantificaron mediante una RT-qPCR, utilizando un kit de detección por RT-PCR en un solo paso para el SARS-CoV-2, IVD (NZYtech MD0483) que utiliza el gen RP humano como control interno.

VARIABLE ANALIZADA		SARS-CoV-2	RP
REPETIBILIDAD	n	72	72
	Media de Cq	30,90	24,65
	Coeficiente de variación (%)	3,38	1,42
	% de detección del duplicado	100	100
REPRODUCIBILIDAD DEL OPERADOR	n	144	144
	Media de Cq	30,86	24,28
	Coeficiente de variación (%)	3,31	1,92
	% de detección del duplicado	99	99
REPRODUCIBILIDAD DIARIA	n	144	144
	Media de Cq	30,86	24,39
	Coeficiente de variación (%)	3,28	1,63
	% de detección del duplicado	99	99
REPRODUCIBILIDAD LOTE A LOTE	n	216	216
	Media de Cq	30,85	24,23
	Coeficiente de variación (%)	3,26	1,70
	% de detección del duplicado	99	99

11.5. Evaluación clínica

El rendimiento clínico del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, de NZYtech fue evaluado por un laboratorio externo a través de la extracción de ácidos nucleicos de muestras de hisopos nasofaríngeos humanos infectados con virus. En total, se analizaron 62 muestras clínicas positivas en paralelo con un segundo kit IVD. Los datos han revelado que el NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD (MD0488) mostró una sensibilidad idéntica al kit para la extracción de ácidos nucleicos virales/patógenos MagMAX™ II (#A48383; Applied Biosystems™).

12. Control de calidad

Todos los componentes del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, de NZYtech se probaron siguiendo los protocolos antes descritos y mediante la extracción de ácidos nucleicos de ADN y ARN viral. La inclusión de muestras negativas y positivas, además de controles sin placa, se utiliza para probar la eficacia de la extracción y la contaminación cruzada con ácidos nucleicos no previstos.

13. Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, puede ponerse en contacto con nuestro equipo de soporte técnico en el teléfono: +351 (0) 21 364 35 14 o por correo electrónico: info@nzytech.com.

14. Marcas y descargos de responsabilidad

Todas las marcas que aparecen en este manual son propiedad de sus respectivos propietarios.

15. Explicación de símbolos

	Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*		Consultar las instrucciones de uso
	Número de catálogo		Fabricante
	Código de lote		Usado por
	Limitación de temperatura		Suficiente para
	Advertencia de seguridad*		Peligro para la salud*

* Para obtener más información, consulte la Hoja de datos de seguridad y las Instrucciones de seguridad

16. Bibliografía

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

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

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

17. Declaración de conformidad

Nombre del producto: NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD

Número de catálogo: MD04881 y MD04882

Uso previsto: la extracción del ácido nucleico de un virus

Clasificación: clase A

Fabricante: NZYtech - Genes & Enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar
Edifício E, R/C,
1649-038, Lisboa
Portugal

Nosotros, NZYtech, Lda - Genes & Enzymes, por medio de la presente declaramos que este producto, al cual se refiere esta declaración de conformidad, cumple con las siguientes normas y otros documentos normativos ISO 9001:2015 e ISO 13485:2016, siguiendo las disposiciones del Reglamento (UE) 2017/746 sobre productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*, tal y como han sido transpuestos a las legislaciones nacionales de los Estados miembros de la Unión Europea.

El archivo técnico del producto se conserva en NZYtech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.

Joana Brás, PhD
Persona responsable del cumplimiento de la normativa