NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD

Kit di isolamento di RNA/DNA virale di NZY Mag, IVD

REF MD04881, 200 prep
MD04882, 2000 prep

Solo per uso diagnostico professionale **in vitro**

CE IVD

IT

Istruzioni per l'uso

MD0488_IM_it

VERSIONE 2401, Gennaio 2023

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

Contenuti

1. Uso previsto 3
2. Principi del Saggio 3
3. Contenuto del kit 3
4. Condizioni di conservazione, stabilità e manipolazione 3
5. Materiali e strumentazione necessari ma non forniti 3
6. Raccolta e preparazione dei campioni 3
7. Precauzioni e Avvertenze 4
   - 7.1. Informazioni sulla sicurezza 4
   - 7.2. Requisiti di manipolazione e procedurali 4
8. Preparazione del reagente 4
9. Isolamento di acido nucleico 4
10. Protocollo per l'estrazione automatica 4
    - 10.1. Preparazione delle piastre di lavorazione 4
    - 10.2. Elaborazione dei campioni 5
11. Valutazione di performance 5
    - 11.1. Limite di rilevazione (LoD) - Sensibilità analitica 5
    - 11.2. Equivalenza clinica e isolamento crociato 5
    - 11.3. Sostanze interferenti 6
    - 11.4. Precisione 7
    - 11.4.1. Ripetibilità 7
    - 11.4.2. Riproducibilità dell'operatore 7
    - 11.4.3. Riproducibilità giornaliera 7
    - 11.4.4. Riproducibilità da lotto a lotto 7
    - 11.5. Valutazione clinica 7
12. Controllo di Qualità 7
13. Supporto Tecnico 7
14. Marchi di fabbrica e Disclaimer 7
15. Spiegazione dei simboli 8
16. Bibliografia 8
17. Dichiarazione di conformità 9

1. Uso previsto

Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, è un kit di purificazione degli acidi nucleici basato su tecnologia a biglie magnetiche, progettato per la purificazione rapida e semplice di RNA e DNA virale mantenendone l'integrità partendo da tamponi nasofaringei umani. Il kit è progettato per essere utilizzato con una varietà di applicazioni downstream che richiedono amplificazione e rilevazione di RNA/DNA virale, in particolare la RT-qPCR. Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, è destinato ad essere usato da utenti professionisti esperti e formati in tecniche di biologia molecolare, compresa l'esperienza con tamponi e materiali per campioni umani potenzialmente infettivi.

2. Principi del Saggio

Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, è progettato specificamente per recuperare RNA e DNA da particelle virali contenute nel terreno di trasporto da tamponi respiratori umani. Il kit utilizza la tecnologia a biglie magnetiche per garantire un recupero riproducibile di acidi nucleici di alta qualità. La procedura si basa sull'adsorbimento reversibile di acidi nucleici su biglie paramagnetiche in buffer apposito. Una distribuzione omogenea delle biglie magnetiche è essenziale per un'elevata coerenza di isolamento. Pertanto, prima di dispensare la sospensione NZY Mag Binding Beads, assicurarsi che le biglie magnetiche siano completamente risospese. La lisi del campione e il legame alle biglie magnetiche NZY Mag viene ottenuto mediante incubazione con NZY Mag Binding Buffer contenente ioni caotropici supportati dal rilascio di acido nucleico previa digestione mediante Proteinasi K (NZY Mag Proteinase K). In seguito alla separazione magnetica degli acidi nucleici, le biglie paramagnetiche che trattengono l'RNA/DNA vengono lavate per rimuovere contaminanti e sali utilizzando buffer di lavaggio (NZY Mag Wash Buffer) ed etanolo al 80%. L'etanolo rimasto dalle precedenti fasi di lavaggio viene rimosso mediante essiccazione all'aria. Infine, l'RNA/DNA virale purificato viene eluito con buffer di eluzione (NZY Mag Elution Buffer). Si consiglia vivamente di utilizzare controlli di estrazione, controlli positivi e negativi, controlli interni e di eseguire saggi di contaminazione crociata durante l'uso del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD.

Le opzioni di protocollo per il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, supportano flussi di lavoro automatizzati in una varietà di piattaforme, incluso il processore magnetico di particelle KingFisher™ Flex con testa a 96 pozzetti profondi. I flussi di lavoro automatizzati consentono di processare 96 campioni di tampone nasofaringeo in meno di 30 minuti. Inoltre, un protocollo flessibile consente di immettere un volume di campione di 200 µl di terreno di trasporto con un volume di eluizione di 50 µl. Gli acidi nucleici di alta qualità sono successivamente pronti per la rilevazione utilizzando diverse strategie di amplificazione come la Reverse Transcription (RT)-PCR, o RT-qPCR. Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD non fornisce un risultato diagnostico. È responsabilità esclusiva dell'utente utilizzare e convalidare il kit a seguito di test diagnostico *in vitro* in base al patogeno target. Qualsiasi risultato diagnostico generato utilizzando acidi nucleici isolati con il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD in combinazione con un saggio diagnostico *in vitro* deve essere interpretato tenendo conto di ulteriori risultati clinici o di laboratorio.

3. Contenuto del kit

Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD fornisce un set completo di reagenti per l'isolamento e la purificazione di RNA e DNA virali da tamponi nasofaringei umani. I NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kits, IVD sono progettati per la purificazione di 200 (#MD04881) o 2000 (#MD04882) campioni, rispettivamente, con un ingresso di volume campione di 200 µl. Il contenuto del kit per le due versioni del kit è descritto nella Tabella seguente.

COMPONENTE DEL KIT	**MD04881 (200 prep)**	**MD04882 (2000 prep)**
NZY Mag Binding Buffer	56 mL	560 mL
NZY Mag Proteinase K	1,1 mL	11 mL
NZY Mag Wash Buffer	105 mL	1050 mL
NZY Mag Elution Buffer	10,5 mL	105 mL
Mag Binding Beads	2,1 mL	21 mL

4. Condizioni di conservazione, stabilità e manipolazione

Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD viene spedito a 15-25 °C. Tutti i componenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 15 e 25 °C all'arrivo.

- Se la confezione che protegge il kit arriva danneggiata, contattare NZYtech.
- Fare attenzione alla data di scadenza indicata sulla confezione. NZYtech sconsiglia di utilizzare il kit dopo la data di scadenza. Dopo questa data, il kit deve essere smaltito seguendo le istruzioni per lo smaltimento di cui in **Sezione 7.2**.

5. Materiali e strumentazione necessari ma non forniti

La strumentazione richiesta può variare a seconda dell'elaborazione, dell'impostazione o della configurazione. Verificare con il produttore della piattaforma locale i materiali di consumo specifici della piattaforma. Utilizzare puntali per pipette usa e getta (si consiglia di utilizzare puntali per pipette RNase free e con barriera aerosol per evitare contaminazioni crociate). Utilizzare dispositivi di protezione individuale, compresi guanti monouso.

6. Raccolta e preparazione dei campioni

Per ottenere risultati ottimali, sono fondamentali diversi fattori, come il protocollo per il prelievo di campioni dal tratto respiratorio umano (tamponi nasofaringei o orofaringei), il trasporto, la conservazione e il tempo di trattamento dei campioni. I campioni prelevati devono essere analizzati non appena possibile. I campioni devono essere trasportati e conservati a basse temperature in conformità alle normative sulla biosicurezza. Il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD porta all'isolamento di acidi nucleici totali che costituiscono il materiale di partenza per

test diagnostici. Il kit assicura che i campioni di RNA/DNA siano adeguati in termini di purezza, concentrazione e integrità degli acidi nucleici. Un rapporto $A_{260/280}$ di ~2 è generalmente accettato per l'RNA/DNA puro. Dato che l'etanolo è un forte inibitore di Real time PCR, è necessario eliminarlo completamente prima dell'eluizione dell'acido nucleico durante l'estrazione, e questo si verifica nelle fasi finali dell'estrazione.

7. Precauzioni e Avvertenze

Come in qualsiasi procedura di analisi, sono essenziali buone pratiche di laboratorio. Seguire attentamente le procedure e le linee guida fornite in questo manuale per assicurarsi che il test venga eseguito correttamente. Qualsiasi deviazione da esse può causare un fallimento del saggio o dare risultati errati.

7.1. Informazioni sulla sicurezza

Campioni biologici come tessuti, fluidi corporei, agenti patogeni e sangue di esseri umani e di altri animali hanno il potenziale di trasmettere malattie infettive. Eseguire tutti i lavori in strutture adeguatamente dotate dell'attrezzatura di sicurezza appropriata (ad esempio, dispositivi di contenimento fisico). Prima di utilizzare il kit, consultare la scheda dati di sicurezza (SDS) disponibile sul sito web di NZYtech (www.nzytech.com). L'uso del prodotto in modo non specificato nella documentazione per l'utente può causare lesioni personali o danni allo strumento o dispositivo. Assicurarsi che chiunque utilizzi questo prodotto abbia ricevuto istruzioni relative alle procedure generali di sicurezza per i laboratori e le informazioni sulla sicurezza fornite in questo documento. L'isolamento e la rilevazione di SARS-CoV-2 o altri patogeni deve essere effettuata solo da personale addestrato alle procedure tecniche e di sicurezza pertinenti, e in laboratori adeguatamente attrezzati. Le linee guida internazionali e nazionali sulla biosicurezza di laboratorio devono essere seguite in ogni circostanza.

7.2. Requisiti di manipolazione e procedurali

- Solo per uso diagnostico professionale *in vitro.*
- Non utilizzare questo kit dopo la data di scadenza.
- Non utilizzare i componenti del kit se questo non risulta ben sigillato.
- Non interscambiare reagenti provenienti da lotti di produzione diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri produttori insieme ai reagenti di questo kit.
- In tutte le procedure devono essere utilizzati contenitori in plastica e pipette monouso certificate DNase/RNase free.
- Utilizzare puntali con filtro certificati DNase/RNase free per tutto il protocollo per prevenire la contaminazione da aerosol e liquidi.
- I campioni biologici devono essere manipolati come se fossero infettivi, seguendo le opportune precauzioni di biosicurezza.
- La soluzione NZY Mag Proteinase K può presentare una leggera precipitazione; questo comunque non comprometterà l`efficacia del kit nell´isolamento degli acidi nucleici virali.
- I residui chimici sono generalmente considerati rifiuti pericolosi. Lo smaltimento di questo tipo di rifiuti è regolamentato da leggi e regolamenti nazionali e regionali.
- I dispositivi di sicurezza possono anche includere articoli per la protezione personale, come guanti, camici, camici, copriscarpe, stivali, respiratori, visiere, occhiali di sicurezza o occhiali di protezione. Prima di lavorare con materiali potenzialmente a rischio biologico, gli individui devono essere addestrati in base ai requisiti normativi e aziendali/istituzionali applicabili. Attenersi a tutte le normative locali, statali/provinciali e/o nazionali applicabili.
- La preparazione del campione, l'impostazione della reazione e l'amplificazione devono essere eseguite in aree di lavoro diverse.
- In caso di test, manipolare con cura le piastre di post-amplificazione e smaltirle subito dopo il termine del test; le piastre devono sempre essere gettate in un contenitore appropriato per materiali a rischio biologico dopo l'uso.
- Tutti i risultati devono essere interpretati da un operatore sanitario nel contesto dell'anamnesi del paziente e dei sintomi clinici.

8. Preparazione del reagente

Preparazione di una soluzione di etanolo all'80% (v/v): Prima di iniziare, preparare etanolo fresco al 80% (v/v) [non incluso] diluendo etanolo assoluto per biologia molecolare in acqua priva di nucleasi (non trattata con DEPC) a un volume richiesto per il numero di reazioni di purificazione più il 10% di eccedenza.

REAGENTE	INGRESSO VOLUME CAMPIONE, 200 µL		
	VOLUME PER PREPARAZIONE	VOLUME PER 10 PREP (+10%)	VOLUME PER 96 PREP (+10%)
etanolo all'80% (v/v)	500 ml	5,50 ml	52,8 ml

9. Isolamento di acido nucleico

Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di eseguire la procedura di estrazione. Esaminare la documentazione del saggio per determinare se si raccomanda un controllo di estrazione per verificare l'efficacia della preparazione di acidi nucleici. Seguire le linee guida per il controllo dell'estrazione fornite nella documentazione del saggio. Determinare il numero di reazioni richieste in base al numero di campioni di pazienti da trattare, più un controllo negativo per piastra.

10. Protocollo per l'estrazione automatica

10.1. Preparazione delle piastre di lavorazione

Nella piattaforma automatizzata, preparare le seguenti piastre di lavorazione:

1. **Lavare la piastra 1**, con 0,5 ml di buffer di lavaggio (NZY Mag Wash Buffer) per pozzetto/campione.
2. **Lavare la piastra 2** con 0,5 ml di etanolo al 80% (v/v) [non fornito; vedere sopra le linee guida per la preparazione] per pozzetto/campione.
3. **Piastra di eluizione**, con 50 µl di buffer di eluizione (NZY Mag Elution Buffer) per pozzetto/campione.

PIASTRA	TIPO DI PIASTRA	COMPONENTE	VOLUME PER PREPARAZIONE
Piastra di lavaggio 1	Piastra a pozzetti profondi	Buffer di lavaggio NZY Mag (NZY Mag Wash Buffer)	0,5 ml
Piastra di lavaggio 2	Piastra a pozzetti profondi	etanolo all'80% (v/v)	0,5 ml
Piastra di eluizione	Piastra a pozzetti profondi	Buffer di eluizione (NZY Mag Elution Buffer)	50 µl

10.2. Elaborazione dei campioni

1. Nella **piastra per campioni,** pipettare con cautela 265 µl di buffer legante (NZY Mag Binding Buffer) su ciascun pozzetto del campione e sul pozzetto di controllo negativo.
Nota: *NZY Mag Binding Buffer è intrinsecamente viscoso e deve essere pipettato delicatamente utilizzando puntali a bassa ritenzione. Non riutilizzare i puntali usati per NZY Mag Binding Buffer perché il volume aggiunto successivamente potrebbe non essere preciso.*
2. Aggiungere quindi 200 µl di campione a ciascun pozzetto. Risospendere delicatamente. Aggiungere il volume corrispondente di acqua priva di nucleasi (non trattata con DEPC) al pozzetto di controllo negativo.
3. Aggiungere 5 µl di Proteinasi K (NZY Mag Proteinase K) a ciascun pozzetto, incluso il pozzetto di controllo negativo.
Nota: *In questa fase si può aggiungere il Controllo di estrazione se necessario*.
4. Risospendere bene pipettando ripetutamente su e giù o agitare.
5. Incubare la reazione per almeno 15 minuti a temperatura ambiente **(nell'attesa, si possono preparare lastre di lavorazione come descritto sopra).**
6. Vortexare NZY Mag Binding Beads per garantire che la sospensione di biglie magnetiche sia omogenea. Aggiungere 10 µl di NZY Mag Binding Beads per pozzetto/campione.
7. Se si utilizza il processore magnetico di particelle KingFisher™ Flex, assicurarsi che il programma NZY_2Wash_200_Flex sia stato caricato sullo strumento.
8. Avviare l'estrazione automatica impostando le piastre di lavorazione in base al protocollo del sistema di estrazione.
9. Al termine dell'esecuzione, rimuovere la piastra di eluizione dallo strumento e ricoprirlo con un'apposita pellicola adesiva trasparente.
10. Collocare la piastra di eluizione su ghiaccio per l'uso immediato in PCR RT-q in tempo reale o conservarla come appropriato per le analisi successive.
11. Per una conservazione a breve termine fino a 24 ore, si consiglia di conservare RNA e DNA virali purificati a 2–8 °C. Per una conservazione superiore a 24 ore, si consiglia di conservare acidi nucleici purificati a < -70 °C.

11. Valutazione di performance

La valutazione del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, è stata effettuata utilizzando un flusso di lavoro automatizzato in un processore di particelle magnetiche KingFisher™ Flex con una testa a 96 pozzetti profondi con un volume di eluizione di 50 µl. Gli studi di prestazione qui descritti sono stati eseguiti estraendo acidi nucleici da citomegalovirus (CMV), un herpesvirus a DNA, e SARS-CoV-2, un virus con un genoma a RNA. L'efficacia dell'estrazione è stata testata tramite RT-qPCR utilizzando 8 µl di ciascun estratto di acido nucleico con saggi CMV (#MD0341) e SARS-CoV-2-specifici NZYtech (SARS-COV-2 One-Step RT-qPCR kit, Cat. N. MD0483) su una piattaforma Applied Biosystems™ 7500 FAST.

11.1. Limite di rilevazione (LoD) - Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è stata definita come la concentrazione più bassa di analita che può essere rilevata con affidabilità del 95%. Questo è stato valutato testando l'estrazione di diversi numeri di copie di acidi nucleici CMV e SARS-COV-2 inseriti in un gruppo di tamponi nasofaringei umani negativi, usando 3 differenti lotti di kit e seguendo condizioni tipiche per l'isolamento di acidi nucleici. I test sono stati ripetuti su 2 giorni, producendo 24 replicati per ciascuna concentrazione testata di CMV di SARS-CoV-2. Insieme, i dati hanno rivelato che il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, rileva 50 copie di CMV e virus SARS-COV-2 per reazione con una confidenza ≥95%. Quindi, il Limite provvisorio di Rilevazione (LoD) è stato determinato come 0,25 copie/µl nel campione analizzato.

11.2. Equivalenza clinica e isolamento crociato

L'equivalenza clinica è stata testata attraverso l'isolamento di acidi nucleici CMV e SARS-COV-2 utilizzando il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, e un kit IVD commerciale che impiega lo stesso protocollo di estrazione (Applied Biosystems™, MagMAX™ Viral/pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit, CE-IVD, #A48383). I test sono stati eseguiti utilizzando un gruppo di tamponi nasofaringei umani negativi artificialmente addizionati dei due virus con quattro diversi numeri di copie per reazione (1000, 500, 100 e 50 copie virali/reazione). Sono stati isolati acidi nucleici da 80 campioni con i due kit (per un totale di 160 campioni estratti per virus). I test sono stati effettuati con i virus CMV e SARS-CoV-2. I dati non hanno rivelato differenze significative tra i due kit nell'efficacia di estrazione, come riportato nella Tabella che segue.

EQUIVALENZA CLINICA DEL NZY MAG VIRAL RNA/DNA ISOLATION KIT, IVD				
SARS-COV-2 COPIE/REAZIONE	**CT MEDIA**	**SD**	**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
COPIE/REAZIONE CMV	**CT MEDIA**	**SD**	**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

È stata inoltre valutata la capacità del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD di co-isolare di RNA/DNA endogeno (umano) e acidi nucleici virali da campioni biologici di origine umana. Quest'analisi è stata confrontata con il kit equivalente Applied Biosystems™ (#A48383). I campioni sopracitati sono dunque stati testati per la presenza di target RP umano in sede di rilevazione di SARS-CoV-2. I dati hanno rivelato che entrambi i kit hanno mostrato prestazioni simili nell'estrazione di acidi nucleici di origine umana (Cts media di 24,54 con una deviazione standard di 0,22 e un Coefficiente di Variazione di 0,90%, n=160) durante l'isolamento di RNA/DNA virale. La rilevazione del gene RP umano viene utilizzata per convalidare test RT-qPCR usando tamponi nasofaringei umani.

11.3. Sostanze interferenti

L'impatto di 17 potenziali sostanze interferenti è stato valutato mediante test consistenti di campioni nasofaringei negativi, addizionati con campioni positivi a SARS-CoV-2. Ai campioni artificiali sono state aggiunte potenziali sostanze interferenti a concentrazioni che rappresentano i livelli più elevati attesi in campioni respiratori umani sulla base dei dati in letteratura. Tutti i test sono stati eseguiti in quintuplicato. L'efficacia dell'estrazione degli acidi nucleici è stata calcolata come sopra descritto, rilevando/quantificando la presenza di RNA virale tramite RT-qPCR. I risultati sono stati poi confrontati con i dati ottenuti da campioni analizzati con lo stesso protocollo ma che non contenevano le sostanze intereferenti. Alle concentrazioni testate, i risultati hanno rivelato che nessuna delle molecole in esame ha influenzato la sensibilità della rilevazione tramite RT-qPCR. La tabella seguente riepiloga i dati raccolti in base a questi esperimenti. Tutti gli esperimenti sono stati eseguiti con lo strumento per PCR in tempo reale 7500 FAST (Applied Biosystems™).

POTENZIALE INTERFERENCE	**PRINCIPIO ATTIVO**	**CONCENTRAZIONE FINALE NEL CAMPIONE**	**INTERFERENZA SI (S) OR NO (N)**
Acqua di mare isotonica (Rhinomer)	NaCl	15% v/v	N
Spray gola, anestetico orale e analgesico (Strepfen)	Flurbiprofene	5% v/v	N
Soluzione per lavaggio nasale (Allergy spray – Vibrocil)	Fluticasone propinato	5% v/v	N
Spray nasale ai corticosteroidi (Nasomet)	Mometasone furoato	5% v/v	N
Spray nasale ai corticosteroidi (Pulmicort)	Budesonide	5% v/v	N
Antimicrobico, sistemico (Trobex)	Trobamicina	10 µg/mL	N
Analgesocp orale, antinfiammatorio e antisettico (Pyralvex)	Estratto di rabarbaro, acido salicilico	5% v/v	N
Argomento oralfaringeo antimicotico e antibatterico (Daktarin)	Miconazolo	5 mg/mL	N
Soluzione di collutorio antisettici (Eludril Gé)	Clorexidina gluconato, Clorobutanolo emiidrato	5% v/v	N
Antitosse, Sciroppo (Codipront)	Codeina, citrato di feniltoloxamina	5% v/v	N
Sangue inteiro (umano)	-	4% v/v	N
Farmaco antivirale (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N
Mucolitico (Mucosolvan)	Ambroxolo cloridrato	5% v/v	N
Soluzione di gocce nasali (Nasarox)	Ossimetazolina cloridrato	10% v/v	N
Antibiotico, ungento nasale (Bactroban)	Mupirocina	5 mg/mL	N
Saliva (umana)	-	25% v/v	N
Etanolo assoluto	Alcol	5% v/v	N

11.4. Precisione

La precisione del saggio per il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, di NZYtech è stata determinata testando l'estrazione di acidi nucleici di SARS-CoV-2 da 24 tamponi nasofaringei umani positivi diversi con cariche virali variabili, utilizzando 3 diversi lotti di kit e seguendo condizioni di estrazione tipiche con eluizione in 50 µl. La precisione è stata valutata misurando la media Cq, il coefficiente di variazione Cq e la % di rilevazione replicati, come descritto di seguito per ciascun caso e usando il kit NZYtech SARS-CoV-2 One-Step RT-qPCR, IVD (NZYtech MD0483 per quantificare acidi nucleici virali. I dati sono riepilogati nella Tabella seguente.

11.4.1. Ripetibilità

La ripetibilità è stata valutata da un operatore estraendo 24 campioni differenti usando tre differenti lotti di kit, tenendo conto di un numero finale di 72 isolamenti di acido nucleico eseguiti.

11.4.2. Riproducibilità dell'operatore

La riproducibilità dell'operatore è stata valutata mediante l'estrazione di 3 replicati di 24 campioni, utilizzando tre diversi lotti di kit, da parte di due operatori diversi, con 72 estrazioni di campioni eseguite per operatore con un totale di 144 campioni estratti.

11.4.3. Riproducibilità giornaliera

La riproducibilità giornaliera è stata valutata da un operatore attraverso l'estrazione di 3 replicati di 24 campioni, utilizzando tre diversi lotti di kit, in due giorni diversi, tenendo conto di un numero finale di 144 isolati di acidi nucleici eseguiti.

11.4.4. Riproducibilità da lotto a lotto

La riproducibilità tra lotti è stata valutata mediante l'analisi di 216 estrazioni utilizzando 3 differenti lotti di kit con un totale di 72 estrazioni per lotto.

Precisione del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, di NZYtech. Gli acidi nucleici sono stati estratti da tamponi nasofaringei umani positivi a SARS-Cov-2 e quantificati attraverso RT-qPCR utilizzando un kit SARS-cov-2 One-Step RT-qPCR, IVD (NZYtech MD0483) che utilizza il gene RP umano come controllo interno.

VARIABILE TESTATA		SARS-CoV-2	RP
RIPETIBILITÀ	n	72	72
	Cq media	30,90	24,65
	Coefficiente di variazione (%)	3,38	1,42
	% Rilevazione replicato	100	100
OPERATORE RIPRODUCIBILITÀ	n	144	144
	Cq media	30,86	24,28
	Coefficiente di variazione (%)	3,31	1,92
	% Rilevazione replicato	99	99
TUTTI I GIORNI RIPRODUCIBILITÀ	n	144	144
	Cq media	30,86	24,39
	Coefficiente di variazione (%)	3,28	1,63
	% Rilevazione replicato	99	99
DA LOTTO A LOTTO RIPRODUCIBILITÀ	n	216	216
	Cq media	30,85	24,23
	Coefficiente di variazione (%)	3,26	1,70
	% Rilevazione replicato	99	99

11.5. Valutazione clinica

Le prestazioni cliniche del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, di NZYtech sono state valutate da un laboratorio esterno tramite estrazione di acidi nucleici da campioni prelevati di tampone nasofaringeo infettato con il virus. In totale, 62 campioni clinici positivi sono stati analizzati in parallelo con un secondo kit IVD. I dati hanno rivelato che il NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD (MD0488) ha mostrato sensibilità identica quando confrontato con il kit di isolamento dell'acido nucleico MagMAX™ Virale/patogeno II (#A48383; Applied Biosystems™).

12. Controllo di Qualità

Tutti i componenti del NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, sono testati seguendo i protocolli sopra descritti mediante estrazione di acidi nucleici da virus a DNA e virus a RNA. L'inclusione di campioni negativi e positivi in aggiunta ai controlli senza stampo viene utilizzata per testare l'efficacia dell'estrazione e la contaminazione crociata con acidi nucleici non mirati.

13. Supporto Tecnico

Per il Supporto tecnico, contattare il nostro team di supporto tecnico dedicato al numero telefonico: +351 (0) 21 364 35 14 o tramite e-mail: info@nzytech.com.

14. Marchi di fabbrica e Disclaimer

Tutti i marchi di fabbrica presenti in questo manuale sono proprietà dei rispettivi proprietari.

15. Spiegazione dei simboli

	Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*		Consultare le istruzioni per l'uso
	Numero di catalogo		Produttore
	Codice lotto		Utilizzare fino a
	Limite di temperatura		Sufficiente per
	Avvertenza di sicurezza*		Pericolo per la salute*

* Per ulteriori informazioni, consultare la Scheda dei Dati di Sicurezza e le Istruzioni di Sicurezza.

16. Bibliografia

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. Dichiarazione di conformità

Nome prodotto: NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD

Numero di catalogo MD04881 e MD04882

Uso previsto: Isolamento di acido nucleico da virus

Classificazione: classe A

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

Noi, NZYtech, Lda – Genes & Enzymes, dichiariamo che questo prodotto, al quale si riferisce la presente dichiarazione di conformità, è conforme ai seguenti standard e ad altri documenti normativi ISO 9001:2015 e ISO 13485:2016, ai sensi delle disposizioni del Regolamento (EU) 2017/746 su dispositivi medico-diagnostici *in vitro*, così come trasposti nelle legislazioni nazionali degli Stati Membri dell'Unione Europea.

La scheda tecnica del prodotto è conservata presso NZYtech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício e, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.

Joana Brás, PhD
Persona responsabile del rispetto della normativa