NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD

Kit de extração de ARN/ADN viral NZY Mag, IVD

REF MD04881, 200 preps
MD04882, 2000 preps

***Dispositivo médico para diagnóstico* in vitro**

CE IVD

PT

Instruções de utilização

MD0488_IM_pt

VERSÃO 2401, janeiro 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. Utilização prevista ... 3
2. Princípio do método ... 3
3. Descrição do produto ... 3
4. Armazenamento, estabilidade e condições de manuseamento ... 3
5. Materiais e instrumentos necessários não fornecidos ... 3
6. Colheita e preparação da amostra ... 3
7. Advertências e precauções ... 4
7.1. Informação de segurança ... 4
7.2. Manuseamento e requisitos ... 4
8. Preparação de reagentes ... 4
9. Isolamento de ácidos nucleicos ... 4
10. Protocolo para extração automatizada ... 5
10.1. Preparação de placas de processamento ... 5
10.2. Preparação da placa de amostras ... 5
11. Avaliação de desempenho da extração ... 5
11.1. Limite de Deteção (LoD) – Sensibilidade Analítica ... 5
11.2. Equivalência Clínica e Isolamento Cruzado ... 5
11.3. Substâncias de Interferência ... 6
11.4. Precisão ... 7
11.4.1. Repetibilidade ... 7
11.4.2. Reprodutibilidade entre operadores ... 7
11.4.3. Reprodutibilidade diária ... 7
11.4.4. Reprodutibilidade entre lotes ... 7
11.5. Avaliação Clínica ... 7
12. Controlo de qualidade ... 7
13. Apoio técnico ... 7
14. Marcas registadas e direitos de propriedade ... 8
15. Tabela de símbolos ... 8
16. Referências ... 8
17. Declaração de conformidade ... 9

1. Utilização prevista

O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD é um dispositivo de purificação de ácidos nucleicos baseado na tecnologia de esferas magnéticas destinado à purificação rápida e simples de ARN e ADN viral de elevado grau de pureza, a partir de amostras humanas de esfregaços nasofaríngeos ou orofaríngeos. O kit foi desenhado para ser usado numa variedade de aplicações a jusante que requerem amplificação e detecção de ARN/ADN viral, em particular o RT-qPCR. O kit deve ser usado por usuários profissionais experientes e treinados em técnicas de biologia molecular, incluindo o manuseamento de zaragatoas e amostras humanas potencialmente infecciosas.

2. Princípio do método

O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, destina-se a isolar ARN e ADN de partículas virais contidas em meio de transporte de zaragatoas respiratórias humanas. O kit usa a tecnologia de esferas magnéticas para isolar, de forma reprodutível, ácidos nucleicos de elevada qualidade. O procedimento é baseado na adsorção reversível de ácidos nucleicos a esferas paramagnéticas sob condições de tampão apropriadas. Uma distribuição homogênea dos grânulos magnéticos é essencial para uma alta consistência de isolamento. Assim, antes de dispensar as NZY Mag Binding Beads, certifique-se de que os grânulos são completamente ressuspensos. A lise da amostra e a sua ligação às esferas NZY Mag são obtidas por incubação com o tampão NZY Mag Binding Buffer que contém sais caotrópicos suportados pela liberação dos ácidos nucleicos por digestão com NZY Mag Proteinase K. Após a separação magnética dos ácidos nucleicos, as esferas paramagnéticas contendo o ARN/ADN são lavadas para remover contaminantes e sais usando o tampão NZY Mag Wash Buffer e a solução de etanol a 80%. O etanol residual das etapas de lavagem anteriores é posteriormente removido por secagem ao ar. Finalmente, o ARN/ADN viral altamente puro é eluído com o tampão NZY Mag Elution Buffer. É altamente recomendável usar controlos de extração, controlos positivos e negativos, controlos internos, bem como realizar ensaios de contaminação cruzada durante o uso do kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD.

As opções de protocolo para o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, suportam métodos automatizados para aplicação numa variedade de plataformas, incluindo o KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor com uma cabeça de 96 poços. Fluxos de trabalho automatizados permitem que 96 espécimes de esfregaço nasofaríngeo sejam processados em <30 minutos. Além disso, um protocolo flexível acomoda volumes de amostra de entrada de 200 µL de meio de transporte com um volume de eluição de 50 µL. Os ácidos nucleicos de alta qualidade estão subsequentemente prontos para deteção usando diferentes estratégias de amplificação, como Transcrição Reversa (RT) -PCR ou RT-qPCR, por exemplo. O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, associado a testes moleculares específicos não fornece um resultado de diagnóstico. O usuário tem a responsabilidade exclusiva de usar e validar o kit em conjunto com o ensaio de diagnóstico *in vitro* posterior, dependendo do organismo patogénico alvo. Quaisquer resultados de diagnóstico gerados usando ácidos nucleicos isolados com o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, em conjunto com o ensaio de diagnóstico *in vitro*, devem ser interpretados considerando-se dados clínicos ou laboratoriais adicionais.

3. Descrição do produto

O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, fornece o conjunto de reagentes para o isolamento e purificação de ARN e ADN viral de zaragatoas nasofaríngeas humanas. Os kits NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD são projetados para a purificação de 200 (#MD04881) ou 2000 (#MD04882) amostras, respectivamente, a partir de um volume de amostra de 200 µL. O conteúdo do kit para as duas apresentações está descrito na Tabela abaixo.

COMPONENTE DO KIT	**MD04881 (200 preps)**	**MD04882 (2000 preps)**
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
NZY Mag Binding Beads	2,1 mL	21 mL

4. Armazenamento, estabilidade e condições de manuseamento

O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, é enviado a 15-25 °C. Todos os componentes devem ser armazenados entre 15 e 25 °C após a sua receção. Atender ainda a:

- Se a embalagem que protege o kit chegou danificada, entre em contato com a NZYtech.
- Tenha atenção ao prazo de validade indicado na embalagem. A NZYtech não recomenda o uso do kit após a data de validade. Nesta data, o kit deve ser descartado seguindo as instruções descritas na **seção 7.2**.

5. Materiais e instrumentos necessários não fornecidos

A instrumentação necessária pode variar dependendo da configuração selecionada para o fim em causa. Verifique com o fabricante da plataforma local sobre os consumíveis específicos da plataforma de extração. Use pontas de pipeta descartáveis (barreira de aerossol e pontas de pipeta sem RNase são recomendadas para evitar contaminações cruzadas). Use também equipamentos de proteção individual, incluindo luvas descartáveis.

6. Colheita e preparação da amostra

Diferentes fatores, como o protocolo de colheita da amostra do trato respiratório humano (zaragatoas nasofaríngeas ou orofaríngeas), transporte, armazenamento e tempo de processamento da amostra, são essenciais para obter resultados fiáveis. As amostras recolhidas devem ser testadas o mais rapidamente possível. As amostras devem ser transportadas e armazenadas a baixas temperaturas de acordo com as normas

de biossegurança. O kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, conduz ao isolamento de ácidos nucleicos totais que constituem o material de partida para os testes de diagnóstico. O kit permite que as amostras de ARN/ADN possuam o nível de pureza, concentração e integridade necessário para um teste mais eficaz. Uma razão de $A_{260\ nm}$ / $A_{280\ nm}$ de ~ 2 é geralmente aceite para ARNA/ADN puro. Sendo o etanol um forte inibidor do PCR em tempo real é necessário removê-lo antes da eluição dos ácidos nucleicos, processo que se concretiza nos passos finais do protocolo.

7. Advertências e precauções

Como em qualquer procedimento de teste analítico, as boas práticas de laboratório são essenciais. Siga cuidadosamente os procedimentos e indicações fornecidas neste manual para garantir que o procedimento é executado corretamente. Qualquer desvio relativamente ao estipulado pode resultar em falha do ensaio ou causar resultados errôneos.

7.1. Informação de segurança

As amostras biológicas como tecidos, fluidos corporais, agentes patogénicos e sangue de humanos e outros animais têm o potencial de transmitir doenças infeciosas. Realize todo o trabalho em instalações devidamente apetrechadas com os equipamentos de segurança adequados (por exemplo, dispositivos de contenção física). Antes de usar o kit, por favor consulte a folha de dados de segurança (SDS) que está disponível no *website* da NZYtech (www.nzytech.com). A utilização deste produto de uma maneira não especificada na documentação do usuário pode resultar em ferimentos pessoais ou danos ao instrumento ou dispositivo. Certifique-se de que qualquer pessoa utilizadora deste produto recebeu instruções sobre práticas gerais de segurança para laboratórios e as informações de segurança fornecidas neste documento. O isolamento e a deteção do SARS-CoV-2 ou de outros organismos patogênicos devem ser realizados apenas por pessoal treinado nos procedimentos técnicos e de segurança relevantes, e em laboratórios devidamente equipados para o efeito. As diretrizes internacionais e nacionais sobre biossegurança laboratorial devem ser seguidas em todas as circunstâncias.

7.2. Manuseamento e requisitos

- Apenas para uso profissional em diagnóstico *in vitro*.
- Não use este kit após a data de validade.
- Não use os componentes de teste se a embalagem do kit estiver danificada.
- Não misturar reagentes de diferentes lotes de produção.
- Não utilizar reagentes de outros fabricantes juntamente com os reagentes deste kit.
- Devem ser usados consumíveis descartáveis de plástico e pipetas livres de -ADNase/ ARNase em todos os procedimentos.
- Use pontas de filtro livres de -ADNase/ARNase em todo o protocolo para evitar a contaminação por aerossol e com líquidos.
- As amostras biológicas devem ser manuseadas como sendo infeciosas, seguindo as devidas precauções de biossegurança.
- A solução NZY Mag Proteinase K pode apresentar uma ligeira precipitação; no entanto, a eficácia do kit de extração no isolamento de ácidos nucleicos virais não será comprometida.
- Os resíduos químicos são geralmente considerados resíduos perigosos. O descarte deste tipo de resíduo está regulado por leis nacionais e regionais.
- Os equipamentos de segurança também podem incluir itens de proteção pessoal, como luvas, casacos, aventais, protetores de calçado, botas, respiradores, protetores faciais, óculos de segurança ou óculos de proteção. Os indivíduos devem ser treinados de acordo com os requisitos regulamentares e da empresa/instituição aplicáveis antes de trabalhar com materiais potencialmente perigosos. Siga todos os regulamentos locais, nacionais ou europeus aplicáveis.
- A preparação da amostra, configuração da reação e amplificação de ácidos nucleicos após extração devem ser realizados em diferentes áreas de trabalho.
- Em caso de aplicação do ARN/ADN em testagem, manuseie as placas pós-amplificação com cuidado e descarte-as imediatamente após o término do ensaio; as placas devem sempre ser descartadas em um recipiente adequado para risco biológico após o uso.
- Todos os resultados devem ser interpretados por um profissional de saúde no contexto do histórico médico e dos sintomas clínicos do paciente.

8. Preparação de reagentes

Etanol a 80% (v/v): Antes de começar, prepare uma solução de etanol a 80% (v/v) [não incluído] diluindo etanol absoluto (*molecular biology grade*) em água livre de nucleases (não *DEPC-Treated*) para o número de purificações necessárias, mais 10% de excedente.

REAGENTE	VOLUME DE AMOSTRA DE ENTRADA - 200 µL		
	VOLUME POR PREP	VOLUME PARA 10 PREPS (+10%)	VOLUME PARA 96 PREPS (+10%)
Etanol a 80% (v/v)	500 µL	5,50 mL	52,8 mL

9. Isolamento de ácidos nucleicos

Por favor, leia cuidadosamente as instruções antes de realizar o protocolo de extração dos ácidos nucleicos. Reveja a documentação do ensaio para determinar a necessidade de incluir um controlo de extração de modo a verificar a eficácia do isolamento de ácidos nucleicos. Siga as instruções indicadas para o controlo de extração fornecidas na documentação do kit. Determine o número de reações necessárias com base no número de amostras de pacientes a serem processadas, incluindo mais uma reação para um controlo negativo por placa.

10. Protocolo para extração automatizada

10.1. Preparação de placas de processamento

Na plataforma automatizada, prepare as seguintes placas de acordo com a tabela seguinte:

1. **Placa de Lavagem 1,** adicione 0,5 mL de NZY Mag Wash Buffer por poço/amostra.
2. **Placa de Lavagem 2,** adicione 0,5 mL de Etanol a 80% (v/v) [não incluído; ver instruções de preparação descritas em cima] por poço/amostra.
3. **Placa de Eluição,** adicione 50 µL de NZY Mag Elution Buffer por poço/amostra.

NOME DA PLACA	TIPO DE PLACA	COMPONENTE	VOLUME POR PREP
Placa de Lavagem 1	*Deep Well Plate*	NZY Mag Wash Buffer	0,5 mL
Placa de Lavagem 2	*Deep Well Plate*	Etanol a 80% (v/v)	0,5 mL
Placa de Eluição	*Deep Well Plate*	NZY Mag Elution Buffer	50 µL

10.2. Preparação da placa de amostras

1. Cuidadosamente pipete 265 µL de NZY Mag Binding Buffer para cada poço da Placa de Amostras, assim como para o poço do controlo negativo.
Nota: *NZY Mag Binding Buffer é uma solução viscosa e deve ser pipetada lentamente utilizando pontas de baixa retenção. Para adicionar o NZY Mag Binding Buffer não reutilize pontas uma vez que pode causar variações nos volumes adicionados.*
2. Adicione 200 µL de amostra a cada poço de amostra. Pode pipetar cuidadosamente para cima e para baixo para misturar. Adicione o volume correspondente de água livre de nucleases (não DEPC-Treated) ao poço do controlo negativo.
3. Adicione 5 µL de NZY Mag Proteinase K a cada poço, incluindo o poço do controlo negativo.
Nota: *Caso seja necessário, pode adicionar neste passo o controlo de extração.*
4. Misture bem pipetando repetidamente para cima e para baixo ou agitando.
5. Incube a reação durante pelo menos 15 minutos à temperatura ambiente **(durante este período, pode preparar as placas de processamento como descrito em cima).**
6. Agite as NZY Mag Binding Beads no vórtex para garantir uma mistura homogénea de esferas magnéticas. Adicione 10 µL de NZY Mag Binding Beads por poço/amostra.
7. Se a plataforma automatizada inclui o KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor, certifique-se que o programa NZY_2Wash_200_Flex foi carregado no equipamento.
8. Inicie a extração automatizada configurando as placas de processamento de acordo com o protocolo do sistema de extração.
9. Quando a extração estiver concluída, remova a **Placa de Eluição** do instrumento e cubra a placa com um revestimento adesivo apropriado.
10. Coloque a Placa de Eluição no gelo para uso imediato em RT-qPCR em tempo real ou armazene conforme apropriado para análise posterior.
11. Para armazenamento de curto prazo de até 24 horas, recomendamos armazenar o ARN/ADN viral a 2–8 °C. Para armazenamentos superiores a 24 horas, recomendamos o armazenamento dos ácidos nucleicos a temperatura < -70 °C.

11. Avaliação de desempenho da extração

A avaliação de desempenho do kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech foi realizada utilizando a plataforma automatizada KingFisher™ Flex Magnetic Particle Processor, com uma cabeça de 96 poços profundos e um volume de eluição de 50 µL. Os estudos de desempenho descritos aqui foram realizados através da extração de ácidos nucleicos de dois vírus, o Citomegalovírus (CMV), um vírus de ADN da família Herpes, e o SARS-CoV-2, um vírus com genoma de ARN. A eficácia de extração foi testada por PCR em tempo real usando 8 µL de cada ácido nucleico extraído, e ensaios específicos com testes da NZYtech (ref. MD0341 para o vírus CMV; ref. MD0483 para o vírus SARS-CoV-2). Estes ensaios foram realizados no equipamento de PCR em tempo real 7500 FAST da Applied Biosystems™.

11.1. Limite de Deteção (LoD) – Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica foi definida como a concentração mais baixa do virus a partir da qual podem ser extraídos ácidos nucleicos com 95% de confiança. Este parâmetro foi avaliado através da extração dos ácidos nucleicos de amostras contendo diferentes números de cópias dos vírus CMV e SARS-CoV-2 misturados em amostras humanas negativas da nasofaringe, usando 3 lotes diferentes do kit e seguindo as condições de reação recomendadas. Os testes foram repetidos durante 2 dias, produzindo 24 réplicas para cada concentração de CMV e SARS-CoV-2 testadas. A análise conjunta dos dados revelou que o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech tem capacidade para extrair ácidos nucleicos de 50 cópias dos vírus CMV e SARS-CoV-2, por reação, com uma confiança ≥95%. Assim, a sensibilidade analítica do kit, expressa como o Limite de Deteção (LoD), é de 0,25 cópias/µL na amostra de entrada.

11.2. Equivalência Clínica e Isolamento Cruzado

A equivalência clínica foi testada através de ensaios de isolamento de ácidos nucleicos dos vírus CMV e SARS-CoV-2 usando o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech e um kit comercial, com certificação IVD, seguindo ambos o mesmo protocol de extração (Applied Biosystems™, MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation Kit, CE-IVD, #A48383). Os testes foram realizados com quatro números de cópias diferentes de cada um dos vírus (1000, 500, 100 e 50 cópias virais/reação 200 µL) misturados com um pool de esfregaços de nasofaringe negativos humanos. Para um total de 80 amostras extraídas com cada um dos kits para cada vírus (resultando em 160 amostras extraídas por vírus), os dados mostram não existir diferenças significativas de eficácia entre os kits testados, como é apresentado na Tabela abaixo.´

EQUIVALÊNCIA CLÍNICA DO KIT NZY MAG VIRAL RNA/DNA ISOLATION KIT, IVD				
SARS-COV-2 (CÓPIAS/REAÇÃO)	**CT MÉDIA**	**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
CMV (CÓPIAS/REAÇÃO)	**CT MÉDIA**	**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

A capacidade do kit NZYtech NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, para co-isolar RNA/DNA de origem endógena (humana), ao isolar ácidos nucleicos virais de amostras humanas, foi avaliada. A análise da capacidade de co-purificação do kit NZYtech foi avaliada em comparação com o equivalente do kit Applied Biosystems™ (#A48383). Assim, as amostras acima foram testadas quanto à presença do alvo RP humano no contexto da detecção de SARS-CoV-2 de amostras humanas. Os resultados obtidos revelaram que ambos os kits apresentam um desempenho semelhante na extração de ácidos nucleicos de origem humana (Cts médios de 24,54 com desvio padrão de 0,22, e coeficiente de variação de 0,90%, para n=160). A deteção do gene RP humano é usada para validar os ensaios RT-qPCR a partir de esfregaços de nasofaringe humanos.

11.3. Substâncias de Interferência

O impacto de 17 substâncias potencialmente interferentes foi avaliado em extrações de ácidos nucleicos de amostras humanas de nasofaringe negativas misturadas com amostras positivas contendo o vírus SARS-CoV-2. As substâncias potencialmente interferentes foram adicionadas às amostras artificiais em concentrações que representam os níveis mais elevados esperados em amostras respiratórias artificiais com base na revisão da literatura. Todas as extrações de ácidos nucleicos foram realizadas com cinco réplicas e os resultados foram comparados com os resultados obtidos para um controlo negativo onde não foi adicionada substância de interferência. Estes ensaios demonstraram que estas substâncias, às concentrações testadas, não interferem na sensibilidade de extração do vírus quantificada por RT-PCR. A tabela abaixo resume os resultados obtidos nas experiências mencionadas. Todas as experiências foram realizadas no instrumento de PCR em tempo real 7500 FAST (Applied Biosystems™).

POTENCIAL INTERFERENTE	**SUBSTÂNCIA ATIVA**	**CONCENTRAÇÃO FINAL NA AMOSTRA**	**INTERFERÊNCIA SIM (S) NÃO (N)**
Água do Mar isotónica (Rhinomer)	NaCl	15% v/v	N
Spray para a garganta, anestésico e analgésico oral (Strepfen)	Flurbiprofeno	5% v/v	N
Solução de lavagem nasal (Spray para alergias – Vibrocil)	Propionato de Fluticasona	5% v/v	N
Corticosteroides em spray nasal (Nasomet)	Furoato de Mometasona	5% v/v	N
Corticosteroides em spray nasal (Pulmicort)	Budesonida	5% v/v	N
Antimicrobiano, Sistémico (Trobex)	Trobacina	10 µg/mL	N
Solução bucal anti-inflamatória, analgésica e anti-séptica (Pyralvex)	Extrato de Ruibardo e Ácido salicílico	5% v/v	N
Tópico orofaríngeo, antifúngico e Antimicrobiano (Daktarin)	Nitrato de Miconazol	5 mg/mL	N
Elixir Bucal Antisséptico (Eludril Gé)	Gluconato de Clorhexidina, Clorbutanol hemihidratado	5% v/v	N
Xarope Antitússico (Codipront)	Codeína, Citrato de feniltoloxamina	5% v/v	N
Sangue (humano)	-	4% v/v	N
Antiviral (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N
Mucolítico (Mucosolvan)	Cloridrato de ambroxol	5% v/v	N
Solução gotas nasais (Nasarox)	Cloridrato de Oximetazolina	10% v/v	N
Antibiótico, pomada nasal (Bactroban)	Mupirocina	5 mg/mL	N
Saliva (humana)	-	25% v/v	N
Etanol absoluto	Álcool	5% v/v	N

11.4. Precisão

A precisão do ensaio para o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech foi determinada pela extração de ácidos nucleicos SARS-CoV-2 de 24 esfregaços de nasofaringe humanos positivos com cargas virais variáveis, usando 3 lotes diferentes do kit e seguindo as condições de reação típicas num volume de eluição de 50 µL. A precisão foi expressa através da média de Cq, do coeficiente de variação Cq e da percentagem (%) de deteção dos replicados, conforme descrito de seguida para cada caso. O kit utilizado para quantificação dos ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 extraídos foi o SARS-CoV-2 One-Step RT-qPCR kit, IVD (ref. MD0483, da NZYtech). Os dados são resumidos na tabela apresentada na página seguinte.

11.4.1. Repetibilidade

A repetibilidade foi avaliada por um operador na extração de 24 amostras diferentes, usando 3 lotes diferentes do kit, contabilizando um total de 72 isolamentos de ácidos nucleicos executados.

11.4.2. Reprodutibilidade entre operadores

A reprodutibilidade do operador foi avaliada pela extração de 3 réplicas de 24 amostras, usando três lotes diferentes do kit, por dois operadores diferentes (72 extrações de amostras realizadas por operador), num total de 144 amostras extraídas.

11.4.3. Reprodutibilidade diária

A reprodutibilidade diária foi avaliada por um operador na extração de 3 réplicas de 24 amostras, usando três lotes diferentes do kit, em dois dias consecutivos, num total de 144 isolamentos de ácidos nucleicos executados.

11.4.4. Reprodutibilidade entre lotes

A reprodutibilidade entre lotes foi avaliada pela análise de 216 extrações, usando 3 lotes diferentes do kit, num total de 72 extrações por cada lote.

Precisão do kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech. Ácidos nucleicos de amostras humanas de nasofaringe positivas foram extraídas e quantificadas por RT-PCR usando o kit SARS-CoV-2 One-Step RT-qPCR kit, IVD (ref. MD0483, da NZYtech), que utiliza o gene RP humano como controlo interno.

VARIÁVEL TESTADA		SARS-CoV-2	RP
REPETIBILIDADE	n	72	72
	Média Cq	30,90	24,65
	Coeficiente de Variação (%)	3,38	1,42
	% Réplicas detetadas	100	100
REPRODUTIBILIDADE ENTRE OPERADORES	n	144	144
	Média Cq	30,86	24,28
	Coeficiente de Variação (%)	3,31	1,92
	% Réplicas detetadas	99	99
REPRODUTIBILIDADE DIÁRIA	n	144	144
	Média Cq	30,86	24,39
	Coeficiente de Variação (%)	3,28	1,63
	% Réplicas detetadas	99	99
REPRODUTIBILIDADE ENTRE LOTES	n	216	216
	Média Cq	30,85	24,23
	Coeficiente de Variação (%)	3,26	1,70
	% Réplicas detetadas	99	99

11.5. Avaliação Clínica

O desempenho do kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech foi avaliado num laboratório de testagem externo, a partir de amostras de esfregaço nasofaríngeo. No total, ácidos nucleicos virais foram extraídos de 62 amostras clínicas positivas em paralelo com um segundo kit com certificação IVD. Os resultados revelaram que o kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD (MD0488) apresenta uma sensibilidade idêntica quando comparado com o kit MagMAX™ Viral/Pathogen II Nucleic Acid Isolation (ref. A48383, da Applied Biosystems™).

12. Controlo de qualidade

Todos os componentes do kit NZY Mag Viral RNA/DNA Isolation Kit, IVD, da NZYtech foram testados seguindo os protocolos descritos anteriormente para a extração de ácidos nucleicos (ARN e ADN) de vírus. A inclusão de amostras negativas e positivas, para além de amostras controlo sem ácidos nucleicos, foi usada para testar a eficácia de extração do kit assim como a contaminação cruzada com outros ácidos nucleicos.

13. Apoio técnico

Para apoio técnico, por favor contactar por telefone a nossa equipa dedicada de apoio técnico: +351 213643514 ou através do correio eletrónico: info@nzytech.com.

14. Marcas registadas e direitos de propriedade

Todas as marcas registadas que surgem neste manual são propriedade dos seus respetivos representantes.

15. Tabela de símbolos

IVD	Dispositivo de diagnóstico médico *in vitro*		Consultar instruções para utilização
REF	Número de catálogo		Fabricante
LOT	Código do lote		Usado por
	Limite de temperatura		Suficiente para
	Aviso de segurança*		Perigo para a saúde*

* Para mais informações consultar a Ficha de Dados de Segurança e as Instruções de Segurança

16. Referências

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. Declaração de conformidade

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

Número de catálogo: MD04881 e MD04882

Utilização: Isolamento de ácidos nucleicos a partir de amostras virais

Classificação: Classe A

Fabricante: NZYtech - Genes & Enzymes

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038, Lisboa

Portugal

Nós, NZYtech, Lda – Genes & Enzymes, declaramos que este produto, a que esta declaração de conformidade diz respeito, está em conformidade com as normas padrão e outras normativas da ISO 9001:2015 e da ISO 13485:2016, seguindo as disposições do regulamento (EU) 2017/746 aplicado aos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*, transposta para as leis nacionais dos Estados Membros da União Europeia.

A ficha técnica do produto é mantida na NZYtech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisboa, Portugal.

Joana Brás, PhD

Pessoa responsável pela observância da regulamentação