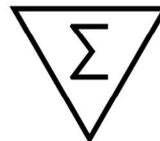


Gebrauchsanleitung

MagSi-DX Pathogen



MDDX00010096
MDDX00010960
MDDX0001005K
MDDX0001025K



96 Reaktionen
960 Reaktionen
5000 Reaktionen
25000 Reaktionen



Zur Anwendung in der
In-vitro-Diagnostik



Rev. 2.3,
11-01-2023



magtivio B.V.
Daelderweg 9
6361 HK Nuth
Niederlande

Revisionsgeschichte

Version	Datum der Veröffentlichung	Anmerkungen
1	29/09/2021	Erstversion
2	05/11/2021	Geringfügige Textkorrekturen, Tabelle in Abschnitt 2.2.korrigiert, Layout von Kapitel 5 angepasst
2.1	04/01/2022	CE-Kennzeichen hinzugefügt
2.2	31/05/2022	Korrektur in den Abschnitten 2.6.1 und 6, Aktualisierung Abschnitt 9
2.3	22/12/2022	neuen Firmenstil

Kontaktinformationen

magtivio B.V.

Daelderweg 9 - 6163 HK - Nuth

Tel.: +31 (0) 45 208 4810

Fax: +31 (0) 45 208 4817

E-mail: info@magtivio.com

Support: support@magtivio.com

Bestellungen: order@magtivio.com

website: www.magtivio.com

Inhalt

1. Komponenten.....	1
1.1 Inhalt des Kits.....	1
1.2 Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Gerätschaften.....	1
1.3 Hinweise zu dieser Gebrauchsanleitung.....	2
2. Produktbeschreibung.....	2
2.1 Verwendungszweck.....	2
2.2 Produktspezifikationen.....	3
2.3 Anwendungsbeschränkungen.....	3
2.4 Ablauf.....	3
2.5 Qualitätskontrolle.....	4
2.6 Gewinnung, Handhabung und Lagerung von Proben.....	4
2.6.1 Abstrichproben.....	4
2.6.2 Speichel.....	4
2.7 Verwendung auf automatisierten Systemen.....	4
2.7.1 Handhabung von Magnetbeads.....	4
2.7.2 Liquid-Handling-Systeme.....	4
2.7.3 Schüttler-Einstellungen.....	4
2.7.4 Magnetpartikelverarbeitungssysteme.....	5
2.8 Elutionsbedingungen.....	5
2.9 Leistungsmerkmale.....	5
2.9.1 Analytische Leistungsmerkmale.....	5
2.9.2 Diagnostische Leistungsmerkmale.....	6
3. Lagerung und Haltbarkeit nach dem ersten Öffnen.....	7
4. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	8
5. Vorbereitung der Reagenzien.....	11
5.1 Rekonstitution von Proteinase K.....	11
5.2 Rekonstitution von Poly-A-RNA.....	11
5.3 Herstellung des Lysis Master Mix.....	12
5.4 Herstellung der Binding Buffer / Beads premix (optional).....	12
6. Protokoll für die Extraktion von viraler RNA.....	13
7. Kontrollaufreinigung.....	14
8. Interpretation der Ergebnisse.....	14
9. Kompatibilität.....	14
10. Anhang.....	15
10.1 Fehlerbehebung.....	15
10.2 Literatur.....	16
10.3 Meldungspflicht.....	16
10.4 Erläuterung der Symbole.....	16
10.5 Eingeschränkte Produktverwendung/Garantie.....	17

1. Komponenten

1.1 Inhalt des Kits

		MagSi-DX Pathogen			
Bezeichnung der Komponente		Packungsgröße: 96 Reaktionen Art.-Nr.: MDDX00010096	Packungsgröße: 960 Reaktionen Art.-Nr.: MDDX00010960	Packungsgröße: 5000 Reaktionen Art.-Nr.: MDDX0001005K	Packungsgröße: 25000 Reaktionen Art.-Nr.: MDDX0001025K
Lysis Buffer PAI		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 (für 1,1 ml Arbeitslösung)	200 mg (für 11 ml Arbeitslösung)	1 x 1000 ml (für 55 ml Arbeitslösung)	5 x 1000 ml (für 5 x 55 ml Arbeitslösung)
Poly-A-RNA		0,3 mg (für 120 µl Arbeitslösung)	3 mg (für 1,2 ml Arbeitslösung)	15 mg (für 6 ml Arbeitslösung)	3 x 25 ml (für 3 x 10 ml Arbeitslösung)
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 Vom Anwender bereitzustellende Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Gerätschaften

Die erforderlichen Gerätschaften hängen von der Verarbeitungsmethode und den Geräteeinstellungen bzw. der Gerätekonfiguration ab. Bezüglich der plattformspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die Angaben des Herstellers des automatisierten Systems zu beachten. Darüber hinaus sind die Details zur Automatisierung von MagSi-DX Pathogen in Abschnitt 2.7 zu beachten.

Produkt	REF	Stückzahl
MM-Separator 96 Deepwell	MDMG0013	1 Einheit

Reagenzien:

- Wasser mit molekularbiologischem Reinheitsgrad

Verbrauchsmaterialien:

- 96-Well-Mikrotiterplatten mit Rundboden und viereckigen Wells (2 ml) für die Probenverarbeitung (empfohlen: Riplate®SW 96, PP, 2 ml, Ritter, 43001-0020)
- 96-Well-Mikrotiterplatten mit Rundboden (300 µL) für den Transfer der verarbeiteten Probe (empfohlen: Nunc 96-Well-Mikrotiterplatten, rund, unsteril, Thermo Scientific, 267245)
- Pipettenspitzen (vorzugsweise mit Aerosolfilter und nukleasefrei)

Gerätschaften:

- Mikropipetten, einzeln und 8- oder 12-Kanal (10–100 µl und 100–1000 µl)
- Mikroplattenschüttler (empfohlen: ThermoMixer C, Eppendorf)

1.3 Hinweise zu dieser Gebrauchsanleitung

Es wird empfohlen, diese Gebrauchsanweisung vor der Verwendung des Produkts aufmerksam zu lesen.

2. Produktbeschreibung

2.1 Verwendungszweck

MagSi-DX Pathogen ist für die Isolierung und Aufreinigung viraler RNA für eine nachfolgende In-vitro-Diagnostik bestimmt. Das Kit kann mit menschlichen Atemwegsabstrichen und menschlichem Speichel verwendet werden. Das Kit ist für jede nachfolgende Anwendung mit Amplifikation und Nachweis viraler RNA (insbesondere RT-qPCR, Sequenzierung) geeignet. Das Kit wurde speziell für Arbeitsabläufe im Rahmen der Diagnostik von SARS-CoV-2 validiert.

MagSi-DX Pathogen liefert kein diagnostisches Ergebnis. Es liegt in der alleinigen Verantwortung des Anwenders, das Kit in Verbindung mit einem nachfolgenden In-vitro-Diagnostik-Assay in Abhängigkeit vom Zielpathogen zu verwenden und zu validieren und geeignete Kontrollen für nachfolgende Anwendungen einzusetzen (z. B. interne Kontrollen, Extraktionskontrollen, Positiv-/Negativkontrollen). Alle diagnostischen Ergebnisse, die unter Verwendung von mit MagSi-DX Pathogen isolierten Nukleinsäuren in Verbindung mit einem In-vitro-Diagnostik-Assay erzeugt werden, sollten unter Berücksichtigung zusätzlicher klinischer Befunde oder Laborbefunde interpretiert werden.

MagSi-DX Pathogen ist für die Verwendung durch professionelle Anwender wie Laboranten und Ärzte bestimmt, die in molekularbiologischen Techniken und im Umgang mit Abstrichproben und anderen potenziell infektiösen humanen Probenmaterialien erfahren und geschult sind.

MagSi-DX Pathogen ist nicht für Selbsttests oder patientennahe Tests geeignet.

2.2 Produktspezifikationen

Parameter	MagSi-DX Pathogen
Technologie	Magnetbeads und chaotrope chemische Substanzen zur Bindung von Nukleinsäuren
Probenmaterial	Atemwegsabstriche und Speichel
Probenvolumen	200 µl
Elutionsvolumen	50 – 100 µl
Verarbeitungsdauer	~35 min je 96 Proben (je nach Anwendungsmethode)
Verarbeitungsmethode	Manuell oder automatisiert

2.3 Anwendungsbeschränkungen

MagSi-DX Pathogen ist für die Anwendung mit menschlichen Atemwegsabstrichen und menschlichem Speichel geeignet. MagSi-DX Pathogen wurde nicht für andere Probenmaterialien validiert. Die Produktleistung wurde im Rahmen von Arbeitsabläufen zur Diagnostik von SARS-CoV-2 geprüft. Leistungsmerkmale für jede RNA-Virus-Spezies in den jeweiligen klinischen Proben oder dem Probenstabilisierungsreagenz wurden nicht festgelegt und müssen vom Benutzer validiert werden. Auch die Extraktion viraler RNA mit MagSi-DX Pathogen auf verschiedenen automatisierten Systemen ist vom Anwender zu validieren. Für die Aufreinigung von Nukleinsäuren ist die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung erforderlich. Die erfolgreiche Verwendung des Produkts setzt die Einhaltung empfehlenswerter Laborpraktiken voraus. Zur Vermeidung von Kontaminationen oder Verunreinigungen ist ein sachgemäßer Umgang mit den Reagenzien unerlässlich.

2.4 Ablauf

Das Verfahren basiert auf der reversiblen Adsorption von Nukleinsäuren an Magnetbeads unter geeigneten Pufferbedingungen. Die Proben werden zunächst durch Inkubation mit Lysis Buffer PA1 (enthält chaotrope Ionen) und Verdau mit Proteinase K lysiert. Zur Bindung von Nukleinsäuren an die magnetischen Beads werden dem Lysat Binding Buffer U1 und MagSi-PA VII Beads zugesetzt. Nach der magnetischen Trennung werden die Magnetbeads mit Wash Buffer I und II gewaschen, um Verunreinigungen und Salze zu entfernen. Ethanolrückstände aus vorherigen Waschschrritten werden durch Lufttrocknen entfernt. Schließlich wird hochreine virale RNA mit Elution Buffer mit niedrigem Salzgehalt oder Wasser eluiert. Die gereinigte virale RNA kann im Anschluss direkt für weitere Anwendungen verwendet werden. MagSi-DX Pathogen kann entweder manuell oder automatisiert auf Liquid-Handling-Standardgeräten oder automatisierten Magnetabscheidern verwendet werden.

2.5 Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem Qualitätsmanagementsystem des Herstellers werden jede Kit-Charge und ihre Komponenten auf vorgegebene Spezifikationen geprüft, um eine gleichbleibende Qualität zu gewährleisten.

2.6 Gewinnung, Handhabung und Lagerung von Proben

MagSi-DX Pathogen ist für frische, unbehandelte menschliche Atemwegsabstriche und frischen oder gefrorenen menschlichen Speichel in Probensammelpuffer geeignet. Es wird dringend empfohlen, für die Probengewinnung Vorrichtungen zu verwenden, die für die vollständige Inaktivierung von Viren validiert sind. Bei der Entnahme, Handhabung und Lagerung von klinischen Proben sind die geltenden Richtlinien und Herstelleranweisungen sowie andere präanalytische Anforderungen zu beachten. Die Proben sollten vor der Verwendung gründlich gemischt werden.

2.6.1 Abstrichproben

Nehmen Sie das Abstrichstäbchen aus dem Sammelpuffer und überführen Sie 200 µl der Lösung zur RNA-Extraktion in eine Mikrotiterplatte. Pressen Sie das Abstrichstäbchen gegebenenfalls gegen die Wand des Röhrchens, um die Flüssigkeit herauszudrücken.

2.6.2 Speichel

Speichel sollte in Vorrichtungen gesammelt werden, die für die Gewinnung und Konservierung von Speichelproben geeignet sind. Mischen Sie die Probe durch Umdrehen der Vorrichtung und überführen Sie 200 µl der Lösung in eine Mikrotiterplatte zur RNA-Extraktion.

2.7 Verwendung auf automatisierten Systemen

MagSi-DX Pathogen kann auf vielen verschiedenen automatisierten Liquid-Handling-Systemen oder Magnetpartikel-Verarbeitungssystemen verwendet werden. Die Leistung von MagSi-DX Pathogen in Kombination mit einem bestimmten automatisierten System muss jedoch vom Anwender in Verbindung mit einem In-vitro-Diagnostik-Assay und in Kombination mit geeigneten Kontrollen für die nachfolgende Anwendung validiert werden.

2.7.1 Handhabung von Magnetbeads

Die Magnetbead-Suspension muss homogen sein, damit eine korrekte Menge an Magnetbeads je Probe und eine konstante Extraktionsqualität gewährleistet sind. Schütteln Sie die Flasche mit den Beads vor Gebrauch gut. Auch bei automatisierten Extraktionsverfahren muss vor dem Aspirieren der Beads ein Mischschritt erfolgen.

2.7.2 Liquid-Handling-Systeme

MagSi-DX Pathogen kann auf Liquid-Handling-Workstations in Kombination mit dem MM-Separator 96 DeepWell und 96 Deepwell-Platten mit Rundboden und viereckigen Wells unter Verwendung einer geeigneten Schüttelvorrichtung zum Resuspendieren und Mischen von Magnetbeads und eines Mikrotiterplatten-Greifens zum Transportieren der Probenplatte zum und vom Magnetabscheider eingesetzt werden.

2.7.3 Schüttler-Einstellungen

Die in den folgenden Protokollen beschriebenen Geschwindigkeitseinstellungen für den Mikrotiterplatten-Schüttler wurden mit einem bestimmten Gerät und einer bestimmten Mikrotiterplatte ermittelt. Bei der ersten Verwendung eines Plattenschüttlers für Inkubationsschritte muss die Geschwindigkeit für jede verwendete Platte sorgfältig eingestellt werden, um Kreuzkontamination und Verspritzen zu vermeiden. Zur Einstellung der Geschwindigkeit des Schüttlers kann eine Mikrotiterplatte

mit gefärbtem Wasser geladen werden, dessen Menge dem Arbeitsvolumen in jedem Schritt entspricht. Dann wird die Schüttlergeschwindigkeit schrittweise erhöht, bis Spritzer auf der Oberfläche der Platte zu sehen sind. Daraufhin wird die Schüttlergeschwindigkeit wieder soweit reduziert, bis keine Spritzer mehr auftreten.

2.7.4 Magnetpartikelverarbeitungssysteme

MagSi-DX Pathogen kann in Magnetpartikelverarbeitungssystemen wie dem PurePrep 96 Nukleinsäureaufreinigungssystem mit den für das jeweilige System vorgesehenen Verbrauchsmaterialien verwendet werden. Die Magnetbeads werden resuspendiert und gemischt, indem Magnetstäbe (unter einem Spitzenkamm) auf und ab bewegt werden, sodass die Magnetbeads daran binden. Die Kitkomponenten werden vor dem Start des Systems in die Verbrauchsmaterialien dosiert und anschließend aus dem System genommen. Es ist wichtig, das maximale Arbeitsvolumen der Verbrauchsmaterialien nicht zu überschreiten.

2.8 Elutionsbedingungen

Ziel-RNA kann direkt mit 50 bis 100 µl Elution Buffer eluiert werden. Die Magnetbeads müssen vollständig mit Elutionspuffer überdeckt und resuspendiert werden. Die Elution kann bei 60 °C durchgeführt werden, um die RNA-Ausbeute etwas zu erhöhen.

Eluierte RNA kann kurzfristig (< 24 Stunden) bei 2–8 °C gelagert werden, für längere Zeiträume (> 24 Stunden) bei -20 °C lagern.

Steinbrenner
Laborsysteme GmbH

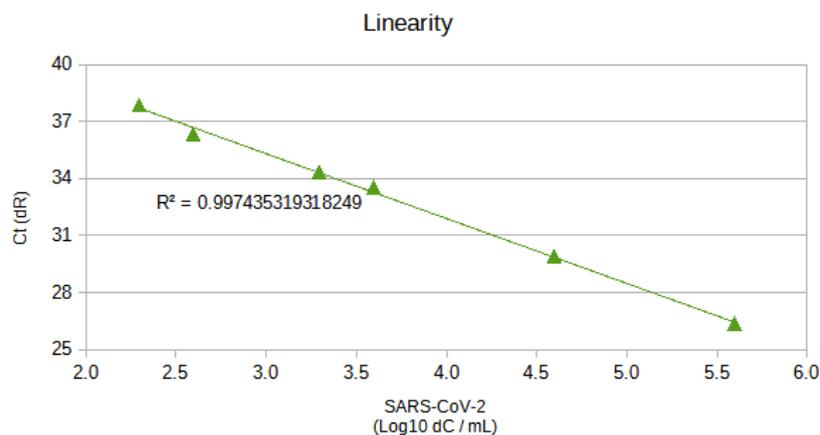
2.9 Leistungsmerkmale

2.9.1 Analytische Leistungsmerkmale

Die Wiederholpräzision wurde mit einer positiven Patientenprobe und einer kommerziellen hitzeinaktivierten SARS-CoV-2-Virusprobe, mit der eine gepoolte negative Probe von 15 gesunden Spendern versetzt wurde, getestet.

Die Nachweisgrenze (LoD) und die Linearität des Extraktionsverfahrens in Kombination mit der RT-qPCR-Analyse wurden mit einem kommerziell erhältlichen hitzeinaktivierten Ganzvirus-SARS-CoV-2 Analytical Q Panel (Qnostics) bestimmt, das aus 8 positiven Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen und 1 negativen Probe bestand. Jede Probe wurde nach den Anweisungen des Herstellers für das Saliva Collection Kit in InActive Blue Saliva Collection Buffer (im Saliva Collection Kit enthalten) verdünnt. Aus jeder verdünnten Probe wurde RNA extrahiert, gefolgt von RT-qPCR unter Verwendung des Kylt® SARS-CoV-2 Complete 2.0 Real-Time PCR-Kit für SARS-CoV-2 (COVID-19).

Parameter	Positive Patientenprobe	Hitzeinaktivierte kommerzielle Probe
Intra-Assay-VK	2,0 %	1,4 %
Inter-Assay-VK	Nicht getestet	3,2 %
LoD	-	2,3 Log10 dC/ml
Linearität	-	R2 = 0,997



2.9.2 Diagnostische Leistungsmerkmale

MagSi-DX Pathogen wurde im Rahmen von Arbeitsabläufen zur Diagnostik von SARS-CoV-2 geprüft. Die klinische Leistung wird anhand des LEQA-Panels veranschaulicht, das am RIVM zusammengestellt und mittels dPCR quantifiziert wurde. In Arbeitsabläufen, bei denen der MagSi-DX Pathogen zum Einsatz kam, wurde das Panel aus 10 simulierten klinischen Proben, die hitzeinaktiviertes SARS-CoV-2, einschließlich einer besorgniserregenden Variante (VOC) B.1.1.7; 20B/501Y.V1 oder andere Atemwegsviren oder genetisches Material enthielten, zu 100 % erkannt [1].

3. Lagerung und Haltbarkeit nach dem ersten Öffnen

Alle Kit-Komponenten, einschließlich Proteinase K (lyophilisiert), Poly-A-RNA (lyophilisiert) und MagSi-PA VII, können bei 18–25 °C gelagert werden. Bei Lagerung unter den genannten Bedingungen ist das Kit bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Fertige Lösungen von Proteinase K sind in Aliquots bei -20 °C zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen 3 Monate stabil.

Fertige Lösungen von Poly-A-RNA sind bei -20 °C zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen 3 Monate stabil.

MagSi-PA VII-Beads können vorab mit Binding Buffer U1 gemischt werden, sodass die Zugabe zu den Proben gleichzeitig erfolgen kann. Die Mischung muss jedoch an jedem Anwendungstag frisch zubereitet und vor dem Überführen in die Proben durch Vortexen gut gemischt werden.

Achtung:

- Überprüfen Sie alle Komponenten in der Packung auf Beschädigung. Bei Beschädigungen oder Undichtigkeiten wenden Sie sich an den technischen Support und Kundendienst von magtivio.
- Beschädigte Komponenten dürfen nicht verwendet werden.
- Verwenden Sie RNase-freie Gerätschaften.
- Alle Puffer sind gebrauchsfertig.
- Frieren Sie das Produkt nicht ein.

Steinbrenner
Laborsysteme GmbH

4. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Die folgenden Komponenten von MagSi-DX Pathogen enthalten Gefahrenstoffe.

Tragen Sie geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzbrille und befolgen Sie die Sicherheitshinweise in diesem Abschnitt.

GHS-Einstufung

Lediglich schädliche Merkmale müssen bis 125 ml oder 125 g nicht mit Gefahrensätzen und Sicherheitshinweisen gekennzeichnet werden.

Component	Hazardous ingredients	GHS Symbol	Hazard phrases	Precaution phrases
Lysis Buffer PA1	Guanidinhydrochlorid (20-25%) CAS 50-01-1	 WARNUNG	H302 H319 H315	P264, P280, P302+P352 P305+P351+P338 P337+P313, P501
Binding Buffer U1	Natriumperchlorat (50-55%) 2-Propanol (20-25%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 GEFAHR	H225 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer I	Natriumperchlorat (35-40%) 2-Propanol (50-55%) CAS 67-63-0, 7791-07-3	 GEFAHR	H225 H302 H319 H336 H373	P210, P233, P260, P280, P403+P235, P501
Wash Buffer II	Ethanol (70-75%) CAS 64-17-5	 GEFAHR	H225 H319	P210, P233, P305+P351+P338 P403+P235, P501
Proteinase K	Proteinase K (100%) CAS 39450-01-6	 GEFAHR	H315 H319 H334 H335	P261, P280 P284, P304+P340 P342+P311, P501
Poly-A-RNA Buffer	Guanidinthiocyanat (30-35%) CAS 593-84-0	 GEFAHR	H302+H332 H314 H412	P260, P264 P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P310

Gefahrensätze:

H225	Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H302+332	Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H315	Verursacht Hautreizungen.
H319	Verursacht schwere Augenreizung.
H334	Atembeschwerden verursachen.
H335	Kann die Atemwege reizen.
H336	Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H373	Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.

Sicherheitshinweise:

P210	Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offenen Flammen sowie anderen Zündquellenarten fernhalten. Nicht rauchen.
P233	Behälter dicht verschlossen halten.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P261	Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P264	Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P284	Atemschutz tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
P303+P361+P353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen oder duschen.
P304+P340	BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.
P305+P351+P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.
P337+P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P342+P311	Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.
P403+P235	An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. Kühl halten.
P501	Abfall nach geltenden Vorschriften entsorgen.



Das auf den Etiketten dargestellte Symbol weist auf weitere Sicherheitshinweise in diesem Abschnitt hin.

Tragen Sie bei der Arbeit mit MagSi-DX Pathogen geeignete Schutzkleidung (z. B. Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille). Weitere Informationen sind in den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern enthalten (erhältlich auf support@magtivio.com).

ACHTUNG:

Lysis Buffer PA1, Binding Buffer U1, Wash Buffer I und Poly-A-RNA-Buffer enthalten chaotrope Salze (z. B. Guanidinhydrochlorid und/oder Natriumperchlorat), die in Kombination mit Bleichmittel (Natriumhypochlorit) hochreaktive Verbindungen bilden können! Bleichmittel NICHT direkt mit Materialien in Kontakt bringen, die den genannten Puffern ausgesetzt sind. Geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzbrille tragen!

Der mit MagSi-DX Pathogen erzeugte Abfall wurde nicht auf infektiöses Restmaterial getestet. Eine Kontamination des Flüssigabfalls mit Rückständen von infektiösem Material ist aufgrund der Behandlung mit stark denaturierendem Lysis Buffer PA1 und Proteinase K sehr unwahrscheinlich, aber nicht vollständig auszuschließen. Daher ist der Flüssigabfall als infektiös zu betrachten und sollte im Einklang mit den örtlichen Sicherheitsvorschriften gehandhabt und entsorgt werden.

Entsorgung

Entsorgen Sie gefährliche, infektiöse oder biologisch kontaminierte Materialien auf sichere und akzeptable Weise und im Einklang mit allen vor Ort geltenden und behördlichen Anforderungen.

Steinbrenner
Laborsysteme GmbH

5. Vorbereitung der Reagenzien

5.1 Rekonstitution von Proteinase K

- MDDX00010096 (96 Reaktionen), 1,1 ml Wasser mit molekularbiologischem Reinheitsgrad in das Fläschchen mit Proteinase K geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Lösungen von Proteinase K sind in Aliquots bei -20 °C zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.
- MDDX00010960 (10 x 96 Reaktionen), 11 ml Wasser mit molekularbiologischem Reinheitsgrad in das Fläschchen mit Proteinase K geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Für 96 Proben Aliquots mit je 1,05 ml herstellen und die Lösungen bei -20 °C lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.
- MDDX0001005K (5000 Reaktionen) und MDDX0001025K (25000 Reaktionen), 55 ml Wasser mit molekularbiologischem Reinheitsgrad in jedes Fläschchen mit Proteinase K geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Für 96 Proben Aliquots mit je 1,05 ml herstellen und die Lösungen bei -20 °C lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.

5.2 Rekonstitution von Poly-A-RNA

- MDDX00010096 (96 Reaktionen), 120 µl Poly-A-RNA-Puffer in das Fläschchen mit Poly-A-RNA (0,3 mg) geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Poly-A-RNA-Lösungen sind bei -20 °C zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.
- MDDX00010960 (10 x 96 Reaktionen), 1,2 ml Poly-A-RNA-Puffer in das Fläschchen mit Poly-A-RNA (3 mg) geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Für 96 Proben Aliquots mit je 110 µl herstellen und die Lösungen bei -20 °C lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.
- MDDX0001005K (5000 Reaktionen), 6 ml Poly-A-RNA-Puffer in das Fläschchen mit Poly-A-RNA (15 mg) geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Für 96 Proben Aliquots mit je 110 µl herstellen und die Lösungen bei -20 °C lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.
- MDDX0001025K (25000 Reaktionen), 10 ml Poly-A-RNA-Puffer in jedes Fläschchen mit Poly-A-RNA (25 mg) geben und zum Auflösen auf dem Vortex mischen. Für 96 Proben Aliquots mit je 110 µl herstellen und die Lösungen bei -20 °C lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sind zu vermeiden. Bei entsprechender Lagerung sind die Lösungen mindestens 3 Monate stabil.

Wenn in den Puffern ein Niederschlag vorhanden ist, erwärmen Sie den Puffer vor der Verwendung auf 25–37 °C, um den Niederschlag aufzulösen.

5.3 Herstellung des Lysis Master Mix

- Stellen Sie die folgende Menge an Lysis Master Mix je Probe her:

Lysis Buffer PA1	200 µL
Poly-A-RNA solution	1 µL
Proteinase K solution	10 µL
Gesamt	211 µL

- Stellen Sie eine etwas größere Menge an Lysis Master Mix her, um Pipettierungenauigkeiten auszugleichen, insbesondere bei der Verwendung von Mehrkanalpipetten usw. Der Lysis Master Mix muss direkt nach der Herstellung verwendet werden.

5.4 Herstellung der Binding Buffer / Beads premix (optional)

MagSi-PA VII Beads können vorab mit Binding Buffer U1 gemischt werden, sodass die Zugabe zu den Proben gleichzeitig erfolgen kann. Stellen Sie die folgende Menge an Binding Buffer / Beads premix je Probe her:

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

Die Mischung muss jedoch noch am Tag der Herstellung verwendet und vor dem Überführen in die Proben durch Vortexen gut gemischt werden.

Steinbrenner
Laborsysteme GmbH

6. Protokoll für die Extraktion von viraler RNA

Bevor Sie beginnen:

- Stellen Sie den Lysis Master Mix nach den Angaben in Abschnitt 5.3 her.
- Führen Sie eine Vorbehandlung der Proben (sofern erforderlich) nach den Angaben in Abschnitt Error: Reference source not found durch.
- Vortexen Sie die Magnetbeads gründlich, um eine homogene Lösung zu erzeugen.

Dieses Protokoll ist für die manuelle Verwendung des Kits bestimmt. Es kann auch als Anleitung für die Einrichtung eines automatisierten Verfahrens auf Liquid-Handling-Geräten mit geeigneten 96-Well-Platten und geeignetem Zubehör verwendet werden. Stellen Sie sicher, dass das Liquid-Handling-System mit den erforderlichen Geräten (Schüttler, Inkubator, Magnetabscheider usw.) ausgestattet ist.

1. Überführen Sie 200 µl Probe zur Verarbeitung in eine Mikrotiterplatte.
2. Geben Sie zu jeder Probe 211 µl Lysis Master Mix und inkubieren Sie 10 min auf einem Schüttler bei 1000 U/min.
3. Geben Sie 20 µl MagSi-PA VII und 400 µl Binding Buffer U1 dazu und inkubieren Sie 5 min auf einem Schüttler bei 1000 U/min.
4. Stellen Sie die Mikrotiterplatte für die Verarbeitung auf den Magnetabscheider und warten Sie mindestens 1 Minute, um die Beads zu binden. Nehmen Sie die Überstände ab, ohne das magnetisch gebundene Bead-Pellet aufzuwirbeln.
5. Nehmen Sie die Probenplatte vom Magnetabscheider und geben Sie 800 µl Wash Buffer I in die Röhrchen. Resuspendieren Sie die Beads durch Inkubation der Proben auf einem Schüttler für 1 min bei 1000 U/min. Stellen Sie die Proben in einen Magnetabscheider und warten Sie mindestens 1 min, um die Beads zu binden. Nehmen Sie die Überstände ab, ohne das magnetisch gebundene Bead-Pellet aufzuwirbeln.
6. Wiederholen Sie Schritt 5 noch einmal mit 800 µl Wash Buffer I und noch einmal mit 800 µl Wash Buffer II.
7. Lassen Sie die Beads 10 min an der Luft trocknen, damit das Ethanol vollständig verdunstet. Zentrifugieren Sie gegebenenfalls kurz und entfernen Sie alle Pufferrückstände, bevor Sie die magnetisch gebundenen Beads trocknen lassen.
8. Nehmen Sie die Proben vom Magnetabscheider und geben Sie 100 µl Elution Buffer dazu. Inkubieren Sie 10 min auf einem Schüttler bei 1000 U/min.
9. Stellen Sie die Röhrchen in einen Magnetabscheider und warten Sie mindestens 1 min, um die Beads zu binden. Überführen Sie die Eluate in neue Röhrchen. Die gereinigten Nukleinsäuren in dem Eluat können nun für nachfolgende Anwendungen verwendet werden.

7. Kontrollaufreinigung

MagSi-DX Pathogen enthält keine Kontrollen. Es liegt in der alleinigen Verantwortung des Anwenders, geeignete Kontrollen für nachfolgende Anwendungen einzusetzen. Es wird empfohlen, RNA-basierte interne Kontrollen für RT-qPCR-Assays zu verwenden, um das Risiko falsch negativer Ergebnisse als Folge einer möglichen RNase-Kontamination auszuschließen.

8. Interpretation der Ergebnisse

MagSi-DX Pathogen liefert kein diagnostisches Ergebnis. Es liegt in der alleinigen Verantwortung des Anwenders, das Kit in Verbindung mit einer nachfolgenden Anwendung für die In-vitro-Diagnostik in Abhängigkeit vom Zielpathogen zu verwenden und zu validieren.

9. Kompatibilität

MagSi-DX Pathogen wurde in Verbindung mit den folgenden Geräten validiert:

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

MagSi-DX Pathogen ist mit den folgenden Instrumenten zur Nukleinsäureextraktion kompatibel (Protokolldateien und Anweisungen für MagSi-DX Pathogen sind auf Anfrage erhältlich):

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

10. Anhang

10.1 Fehlerbehebung

Problem	Mögliche Ursache	Anmerkungen und Empfehlungen zur Vorgehensweise
Niedrige Ausbeute an RNA	RNA-Abbau	<ul style="list-style-type: none"> - Probenentnahmevorrichtung nach Herstelleranweisungen verwenden und aufbewahren.
	Unzureichende Bindung an die Magnetpartikel	<ul style="list-style-type: none"> - Alle Reagenzien in der korrekten Menge verwenden. - Dauer der Mischschritte und der Inkubation beim Bindungsschritt erhöhen. - Die Probe beim Lysieren/beim Inkubieren während des Schritts der Bindung mischen.
	Unzureichendes Waschen	<ul style="list-style-type: none"> - Darauf achten, dass die Beads in den Waschschritten vollständig resuspendiert werden.
	Unvollständige Elution	<ul style="list-style-type: none"> - Möglicherweise war das Trocknen nach Wash Buffer II unvollständig. Länger trocknen lassen. - Die Beads in Elutionsschritt vollständig resuspendieren.
Probleme bei nachfolgenden Anwendungen/ Kontamination in der Probe	Ethanol in der eluierten DNA	<ul style="list-style-type: none"> - Trocknen auf 15 min verlängern.
	Salz im Eluat	<ul style="list-style-type: none"> - Puffer in der richtigen Reihenfolge verwenden. - Darauf achten, dass alle Überstände korrekt entfernt werden. - Ein Verschleppen von Lysis Master Mix, Binding Buffer U1 oder der Wash Buffer I in das Eluat vermeiden.
	Hohe Zahl an Magnetbeads im Eluat	<ul style="list-style-type: none"> - Die Röhrchen mit den Eluaten noch einmal auf den Magnetabscheider stellen und den Überstand in ein neues Behältnis überführen.

10.2 Literatur

1. National Institute of Public Health and the Environment (RIVM). External Quality Assessment of laboratories Performing SARS-CoV-2 Diagnostics for the Dutch Population, Februar 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, Artikel 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 Meldungspflicht

Bitte beachten Sie, dass jeder schwerwiegende Vorfall, der in Bezug auf das Produkt aufgetreten ist, unverzüglich dem Hersteller und der zuständigen Behörde des europäischen Mitgliedstaats, in dem der Vorfall aufgetreten ist, gemeldet werden muss. Vigilanz-Kontaktstellen in Europa: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en.

10.4 Erläuterung der Symbole

-  Artikelnummer
-  Losnummer
-  Hersteller
-  Herstellungsdatum
-  In-vitro-Diagnostikum
-  Gebrauchsanleitung beachten
-  Ausreichend für <n> Tests
-  Temperaturbeschränkung
-  Verwendbar bis
-  Achtung: Weitere Informationen in der Gebrauchsanleitung
-  Nicht wiederverwenden

10.5 Eingeschränkte Produktverwendung/Garantie

Dieses Produkt wird mit Angaben zu Spezifikationen und anderen technischen Informationen geliefert. magtivio gewährleistet die Einhaltung der angegebenen Spezifikationen. Die einzige Verpflichtung von magtivio und der einzige Rechtsbehelf des Kunden beschränken sich auf den kostenlosen Ersatz von Produkten für den Fall, dass Produkte nicht wie zugesichert funktionieren. Ergänzend wird auf die Allgemeinen Geschäftsbedingungen von magtivio verwiesen, die in der Preisliste abgedruckt sind. Bitte kontaktieren Sie uns, wenn Sie ein zusätzliches Exemplar erhalten möchten.

magtivio erteilt keine Garantie und übernimmt keine Haftung für Schäden oder Mängel, die bei Versand und Handhabung (Transportversicherung für Kunden ausgeschlossen) oder durch Unfall oder unsachgemäßen oder nicht bestimmungsgemäßen Gebrauch dieses Produkts entstehen, für Mängel an Produkten oder Komponenten, die nicht von magtivio hergestellt wurden, oder für Schäden, die auf solche nicht von magtivio hergestellten Komponenten oder Produkte zurückzuführen sind.

magtivio übernimmt keinerlei andere Garantien jeglicher Art und SCHLIESST SPEZIELL ALLE ANDEREN GARANTIEEN JEGLICHER ART, OB DIREKT ODER INDIREKT, AUSDRÜCKLICH ODER STILLSCHWEIGEND, EINSCHLIESSLICH, OHNE EINSCHRÄNKUNG, BEZÜGLICH DER EIGNUNG, REPRODUZIERBARKEIT, HALTBARKEIT, EIGNUNG FÜR EINEN BESTIMMTEN ZWECK ODER EINE BESTIMMTE VERWENDUNG, MARKTFÄHIGKEIT, ZUSTAND ODER ANDERES IN BEZUG AUF magtivio PRODUKTE AUS.

In keinem Fall haftet magtivio für Ansprüche wegen sonstiger Schäden, seien sie direkt, indirekt, zufällig, kompensatorisch, vorhersehbar, Folgeschäden oder besondere Schäden (einschließlich, aber nicht beschränkt auf Verwendungs-, Umsatz- oder Gewinnausfall), weder auf Basis einer Garantie, eines Vertrags, von Schadenersatzrecht (einschließlich Fahrlässigkeit) oder verschuldensunabhängiger Haftung im Zusammenhang mit dem Verkauf oder der Nichteinhaltung angegebener Spezifikationen von magtivio Produkten. Diese Garantie ist exklusiv, und magtivio gewährt keine sonstige ausdrückliche oder stillschweigende Garantie.

Die hierin gewährte Garantie und die Daten, Spezifikationen und Beschreibungen dieses magtivio Produkts, die in den von magtivio veröffentlichten Katalogen und der Produktliteratur erscheinen, sind die alleinigen Zusicherungen von magtivio in Bezug auf das Produkt und die Garantie. Es werden keine anderen schriftlichen oder mündlichen Erklärungen oder Zusicherungen von Mitarbeitern, Vertretern oder Bevollmächtigten von magtivio autorisiert, mit Ausnahme von schriftlichen Erklärungen, die von einem ordnungsgemäß bevollmächtigten Vertreter von magtivio unterzeichnet wurden, auf die der Kunde sich jedoch nicht verlassen sollte und die nicht Bestandteil des Kaufvertrags oder dieser Garantie sind.

Produktansprüche können sich ändern. Wenden Sie sich daher bitte an unseren technischen Kundendienst, um die jeweils aktuellsten Informationen zu magtivio Produkten zu erhalten. Für allgemeine wissenschaftliche Informationen können Sie sich auch an Ihren lokalen Händler wenden. Anwendungen, die in der magtivio Literatur erwähnt werden, dienen nur zu Informationszwecken. magtivio übernimmt keine Garantie dafür, dass alle Anwendungen in magtivio Laboren mit magtivio Produkten getestet wurden. magtivio erteilt keine Gewähr für die Richtigkeit dieser Anwendungen.