

MANUALE TECNICO

Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Istruzioni per l'uso del prodotto
AS1780

Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione; i bordi del sigillo possono essere taglienti.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germania



ISTRUZIONI PER L'USO
DEL PRODOTTO
AS1780



Revisione 10/22
TM624

Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Tutta la letteratura tecnica è disponibile via Internet all'indirizzo: www.promega.com/protocols/
 Visitare il sito web per verificare che la versione in uso del presente manuale tecnico sia quella più aggiornata.
 In caso di domande sull'utilizzo del prodotto, contattare i Promega Technical Services all'indirizzo e-mail: techserv@promega.com

1. Descrizione	2
2. Componenti del prodotto, condizioni di conservazione e legenda dei simboli	3
3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto.....	4
4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto	5
5. Preparazione del campione	5
6. Prima di iniziare	6
6.A. Preparazione della soluzione di lisi	6
6.B. Preparazione del campione per le Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges.....	7
6.C. Preparazione della Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge.....	7
7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument	9
8. Conservazione degli acidi nucleici eluiti.....	11
9. Valutazione delle prestazioni analitiche	11
9.A. Quantità, qualità e amplificabilità dell'RNA	12
9.B. Quantità, qualità e amplificabilità del DNA	16
9.C. Riproducibilità.....	19
9.D. Sostanze interferenti (inibizione).....	20
9.E. Contaminazione crociata	21
10. Valutazione delle prestazioni cliniche	22
10.A. Estrazione di RNA virale da campioni UTM.....	22
10.B. Estrazione di RNA virale da campioni di saliva	23
10.C. Estrazione dell'RNA virale da campioni di plasma.....	24
10.D. Estrazione del DNA virale da campioni di plasma	25
10.E. Estrazione dell'RNA virale da campioni di siero.....	26
10.F. Riproducibilità	27
10.G. Contaminazione crociata	28
11. Risoluzione dei problemi	29
12. Bibliografia.....	31

13. Prodotti correlati	31
14. Riepilogo delle modifiche.....	31

Il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è disponibile solo in alcuni in paesi.

1. Descrizione

Il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit^(a) viene utilizzato con i Maxwell® Instrument specificati nella Tabella 1 e fornisce un metodo semplice per la preparazione e la purificazione efficiente e automatizzata del campione di acido nucleico totale virale. I Maxwell® CSC Instrument sono progettati per l'uso con cartucce di reagenti predefinite e procedure di purificazione preprogrammate, massimizzando la semplicità e la convenienza. Il metodo Maxwell® per il CSC Viral Total Nucleic Acid Kit può elaborare da uno fino al numero massimo di campioni del Maxwell® Instrument in circa 30 minuti. Il ridotto volume di eluizione di 50 µl si traduce in acido nucleico concentrato e purificato per applicazioni a valle come la PCR quantitativa (qPCR) o la RT-PCR quantitativa (qRT-PCR). Dopo una breve lisi iniziale, il campione viene aggiunto alla Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge (cartuccia per la purificazione dell'acido nucleico totale virale) e il restante trattamento è completamente automatizzato.

Tabella 1. Strumenti supportati

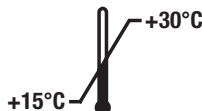
Strumento	Cat.#	Manuale tecnico
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Principio del metodo: il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit purifica i campioni utilizzando particelle paramagnetiche, che forniscono una fase solida mobile per ottimizzare la cattura del campione, il lavaggio e la purificazione dell'acido nucleico. I Maxwell® Instrument sono strumenti per la gestione di particelle magnetiche che legano efficacemente gli acidi nucleici alla particella paramagnetica nel primo pozzetto di una cartuccia preriempita. I campioni vengono processati attraverso una serie di lavaggi prima che l'acido nucleico totale venga eluito.

2. Componenti del prodotto, condizioni di conservazione e legenda dei simboli

PRODOTTO	QUANTITÀ	CAT.#
Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	48 prep	AS1780

Per uso diagnostico in vitro. Esclusivamente ad uso professionale. Sufficiente per 48 isolamenti. Le cartucce sono esclusivamente mono-uso.



Include:

- 20 ml Tampone di lisi
- 2 × 1 ml Soluzione proteinasi K (PK)
- 50 Stantuffi CSC/RSC
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCA)
- 50 Provette di eluizione (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Condizioni di conservazione: conservare i componenti a temperatura ambiente (da +15°C a +30°C).



Informazioni sulla sicurezza: le cartucce contengono etanolo, isopropanolo e cloridrato di guanidina.

L'etanolo e l'isopropanolo devono essere considerati infiammabili, dannosi e irritanti. Il cloridrato di guanidina deve essere considerato tossico, dannoso e irritante. Per informazioni dettagliate sulla sicurezza, consultare l'SDS.



Le cartucce sono progettate per essere utilizzate con sostanze potenzialmente infettive. Indossare idonee protezioni (p. es., guanti e occhiali di sicurezza) nel maneggiare le sostanze infettive. Attenersi alle linee guida della propria struttura per la gestione e lo smaltimento di tutte le sostanze infettive utilizzate con questo sistema.



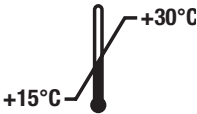













Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione; i bordi possono essere taglienti.

Informazioni aggiuntive: i componenti del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit sono qualificati e comprovati per funzionare insieme. Non è consigliato il mescolamento dei componenti di un kit tra lotti di kit differenti. Usare solo i componenti forniti nel kit. Non utilizzare le cartucce se il sigillo sulla cartuccia non è intatto al momento della ricezione. Per ulteriori informazioni sulla sicurezza, vedere la scheda di sicurezza (Safety Data Sheet) disponibile all'indirizzo: **www.promega.com**

2. Componenti del prodotto, condizioni di conservazione e legenda dei simboli (continua)

Legenda dei simboli

Simbolo	Spiegazione	Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Non riutilizzare
	Conservare a una temperatura da +15°C a +30°C.		Fabbricante
	Attenzione		Infiammabile
	Rischio per la salute		Contenuto sufficiente per “n” test
	Avvertenza. Pericolo di schiacciamento.		Avvertenza. Rischio biologico.
	Numero lotto		Numero catalogo
	Conformità alle normative europee		Rappresentante autorizzato

3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto

Il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è destinato all'uso, in combinazione con i Maxwell® CSC Instrument e il metodo di purificazione Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid, come dispositivo medico diagnostico in vitro (IVD) per eseguire l'isolamento automatico dell'acido nucleico virale totale da campioni umani di plasma, siero, mezzo di trasporto virale o saliva stabilizzati. L'acido nucleico purificato è adatto per l'impiego in analisi diagnostiche in vitro basate sull'amplificazione.

Il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è previsto per un impiego a una temperatura ambiente compresa tra 15°C e 30°C. L'impiego al di fuori di questi valori può comportare risultati non ottimali.

Il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è destinato all'uso esclusivamente professionale. I risultati diagnostici ottenuti utilizzando gli acidi nucleici purificati grazie a questo sistema devono essere interpretati congiuntamente ad altri esami clinici o di laboratorio.

4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto

Le prestazioni del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit sono state valutate con siero, plasma e tamponi nasofaringei in un mezzo di trasporto universale per virus (UTM) e saliva stabilizzata. L'utente è responsabile di convalidarne l'uso per estrarre l'acido nucleico virale da altri tipi di campioni.

Qualsiasi applicazione diagnostica a valle che utilizza acidi nucleici purificati con il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification System deve includere idonei controlli. L'utente è responsabile della verifica delle caratteristiche delle prestazioni necessarie per le applicazioni diagnostiche a valle.

Gli utilizzatori hanno la facoltà di aggiungere controlli interni (IC) esogeni al campione o lisato. Il sistema potrebbe non essere in grado di purificare correttamente alcuni controlli interni degli acidi nucleici inferiori ai 100 bp.

5. Preparazione del campione

Fornitura materiali a cura dell'utente

- provette per campioni di plasma, siero, terreno di trasporto universale o saliva stabilizzata



Per la manipolazione di campioni di derivazione umana, si raccomanda di seguire le precauzioni relative ai patogeni a trasmissione ematica.

Per i campioni di plasma, raccogliere il sangue in provette Vacutainer® con anticoagulante EDTA o ACD. Evitare l'uso di eparina perché potrebbe inibire le amplificazioni a valle.

Le raccomandazioni generali riportate di seguito si riferiscono alla preparazione e alla conservazione di campioni (1,2):

1. Separare il plasma dalle cellule entro 1 ora dal prelievo del sangue centrifugando a $1.500 \times g$ per 20 minuti a 25°C, quindi trasferire lo strato di plasma in una provetta pulita.
2. Separare il siero dal sangue coagulato centrifugando a $1.000 \times g$ per 10 minuti a 25°C, e quindi lasciare decantare in una provetta pulita.
3. Per i tamponi del terreno di trasporto universale, utilizzare solo tamponi in fibra sintetica con astine in plastica. Non usare tamponi di alginato di calcio o tamponi con astine di legno, perché possono contenere sostanze che inattivano alcuni virus e inibiscono il test PCR. Posizionare immediatamente i tamponi in provette sterili contenenti 2–3 ml di mezzo di trasporto virale.

Conservare i campioni di plasma e siero a 2–8°C per un massimo di 24 ore, o congelare i campioni che non vengono trattati entro 24 ore a –20°C per un massimo di 5 giorni. Conservare i campioni del terreno di trasporto universale e di saliva stabilizzata a 2–8°C per un massimo di 72 ore, oppure congelare i campioni a –70°C. Evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento e non conservare i campioni in un congelatore no frost. Le condizioni specifiche di raccolta e conservazione possono variare in base al virus isolato.

6. Prima di iniziare

Fornitura materiali a cura dell'utente

- provette da 1,5–2,0 ml per l'incubazione dei campioni (p. es., ClickFit Microtube, 1,5 ml [Cat.# V4741]; consigliate per evitare che il tappo si apra durante il riscaldamento)
- provetta conica da 15 ml o 50 ml per la preparazione della soluzione di lisi
- agitatore da banco
- pipette e puntali per il trasferimento del campione nelle cartucce preriempite di reagente
- blocco termostato o bagnetto impostato a 56°C

6.A. Preparazione della soluzione di lisi

Se il tampone di lisi è torbido o contiene precipitati, riscaldarlo a 37–56°C fino a quando tornerà chiaro.

Nota: preparare la soluzione di lisi fresca per ogni lotto di campioni come descritto nella Tabella 2. Capovolgere la provetta per miscelare.

Tabella 2. Preparazione della soluzione di lisi.

Per 100 µl e 200 µl di campioni di plasma o siero, o 200 µl di campioni di mezzo di trasporto universale o saliva stabilizzata:

Reagente	Quantità/reazioni	Reazioni (numero da eseguire + 2)	Totale
Tampone di lisi ¹	200 µl	n + 2	200 µl × (n + 2)
Soluzione Proteinasi K	20 µl	n + 2	20 µl × (n + 2)

Per 300 µl di campioni di plasma o siero:

Reagente	Quantità/reazioni	Reazioni (numero da eseguire + 2)	Totale
Tampone di lisi ¹	300 µl	n + 2	300 µl × (n + 2)
Soluzione Proteinasi K	30 µl	n + 2	30 µl × (n + 2)

¹Se è in uso un controllo interno, può essere aggiunto alla soluzione di lisi. I controlli interni non sono forniti in questo kit.

Nota: alcuni virus respiratori da tipi di campioni come i tamponi nasofaringei possono non richiedere l'uso della proteinasi K.

6.B. Preparazione del campione per le Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges

I campioni di possono essere freschi o congelati. Scongelerare i campioni a temperatura ambiente o in ghiaccio e miscelare tramite vortex per 10 secondi prima dell'uso.

1. Pipettare ogni campione di plasma o siero o 200 µl di terreno di trasporto universale o saliva stabilizzata in una provetta da microcentrifuga da 1,5 ml o 2 ml con tappo.
2. Aggiungere la soluzione di lisi preparata nella Sezione 6.A.
 - a. Per volumi di campione da 100 µl o 200 µl, aggiungere 220 µl di soluzione di lisi.
 - b. Per il volume di un campione da 300 µl, aggiungere 330 µl di soluzione di lisi.
3. Chiudere le provette e miscelare tramite vortex per 10 secondi.
4. Per campioni di siero, incubare a temperatura ambiente (15–30°C) per 10 minuti, e procedere al passaggio 5.
5. Incubare a 56°C per 10 minuti in blocco termostato o bagnetto. Durante l'incubazione, procedere alla Sezione 6.C per preparare le cartucce.

Nota: alcuni virus, come il virus dell'epatite B, potrebbero richiedere un'incubazione a 80°C per un recupero ottimale degli acidi nucleici a causa della struttura secondaria del genoma virale.

6.C. Preparazione della Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge

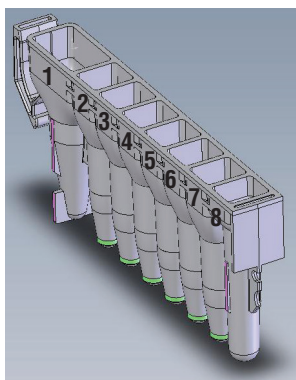
1. Cambiare i guanti prima di maneggiare cartucce, stantuffi e provette di eluizione (0,5 ml). Posizionare le cartucce da usare nel(i) vassoio(i) della piastra con la camera n.1 (la camera più grande della cartuccia) a distanza dalle provette di eluizione. Premere sulla cartuccia fino a quando non scatta in posizione. Staccare delicatamente il sigillo in modo che tutta la plastica venga rimossa dalla parte superiore della cartuccia. Prima di posizionare le cartucce nello strumento assicurarsi che siano stati rimossi il nastro sigillante e qualunque residuo di adesivo.
2. Posizionare uno stantuffo nella camera n.8 di ciascuna cartuccia.
3. Porre nell'apposita posizione una provetta di eluizione vuota per ciascuna cartuccia del vassoio.

6.C. Preparazione della Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge (continua)

4. Aggiungere 50 µl di Nuclease-Free Water sul fondo di ciascuna provetta di eluizione.
5. Pulire i campioni in una microcentrifuga per raccogliere il liquido sul fondo della provetta. Trasferire il campione lisato nella camera n.1 (la camera più grande) della cartuccia.
6. Procedere alla Sezione 7, Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument.

Note

1. Eventuali fuoriuscite di campione o reagente su qualunque parte del vassoio devono essere pulite con una soluzione a base d'acqua e detergente, per applicare poi uno spray battericida, oppure strofinando e lavando nuovamente con acqua. Non usare candeggina sulle parti dello strumento.
2. Usare esclusivamente le provette di eluizione da 0,5 ml in dotazione nel kit, perché altre provette potrebbero essere incompatibili con il Maxwell® Instrument.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere

1. Lisati campione
8. Stantuffo CSC/RSC

Figura 1. Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge. Il campione pre-elaborato viene aggiunto alla camera n.1 e uno stantuffo viene aggiunto alla camera n.8.

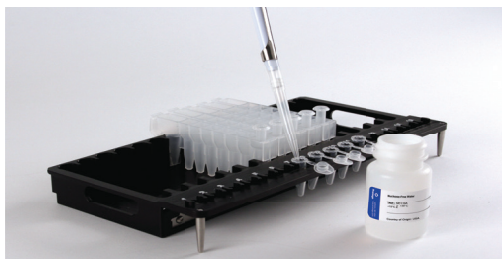


Figura 2. Preparazione e allestimento dei vassoi. La Nuclease-Free Water viene aggiunta alle provette di eluizione come indicato. Gli stantuffi sono nella camera n.8 della cartuccia.

7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument

Per informazioni dettagliate, consultare il manuale tecnico specifico del Maxwell® Instrument in uso (vedere Tabella 1).

1. Accendere il Maxwell® Instrument e il tablet PC. Accedere al tablet PC e avviare il software Maxwell® IVD mode toccando due volte l'icona sul desktop. Lo strumento si accende, procede a un'auto-verifica e tutte le parti mobili vengono portate nella posizione base.
2. Toccare **Avvia** per iniziare il processo di esecuzione di un metodo.
3. Scansionare o inserire il codice a barre del metodo nell'angolo superiore destro dell'etichetta del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit per selezionare automaticamente il metodo da eseguire (Figura 3).

Nota: il codice a barre del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è necessario per la purificazione sui Maxwell® CSC Instrument. L'etichetta del kit contiene due codici a barre. Il codice a barre del metodo è indicato nella sottostante Figura 3. Se il codice a barre non è leggibile, contattare i Promega Technical Services.

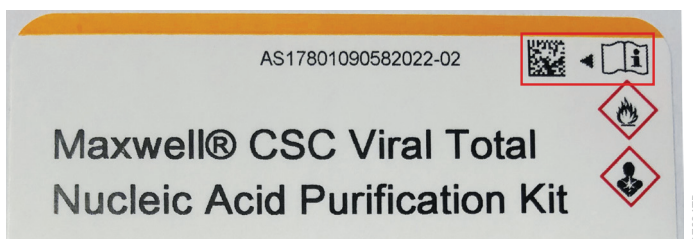


Figura 3. Etichetta del kit con l'indicazione del codice a barre del metodo da leggere. Leggere il codice a barre, mostrato nel riquadro rosso sulla parte superiore destra dell'etichetta kit reagente, per avviare un ciclo di purificazione.

4. Nella schermata 'Impostazione cartuccia' toccare le posizioni della cartuccia per selezionare/deselezionare le posizioni da usare per questo ciclo di estrazione. Immettere eventuali informazioni di tracciabilità richieste per il campione e toccare il pulsante **Procedi** per continuare.

Nota: quando si usa il Maxwell® Instrument a 48 posizioni, premere il pulsante **Anteriore** o **Posteriore** per selezionare o deselectare le posizioni delle cartucce su ciascun vassoio.

7. Impostazione ed esecuzione del Maxwell® Instrument (continua)

- Una volta aperto lo sportello, confermare che tutte le voci della lista di controllo estrazione siano state eseguite. Verificare che: i campioni siano stati aggiunti alla camera n.1 delle cartucce, le cartucce siano caricate sullo strumento, le provette di eluizione stappate siano presenti con tampone di eluizione con Nuclease-Free Water e gli stantuffi siano nella camera n.8. Trasferire il vassoio/i vassoi contenente/i le cartucce preparate sulla piattaforma del Maxwell® Instrument.

Inserimento del vassoio Maxwell®: tenere il vassoio dai lati per evitare di spostare le cartucce dal vassoio. Accertarsi che il vassoio sia posizionato nel Maxwell® Instrument con le provette di eluizione più vicine allo sportello. Inclinare la parte posteriore del vassoio verso il basso e inserirla dentro lo strumento in modo che la parte posteriore del vassoio sia a contatto con la parte posteriore della piattaforma dello strumento. Premere la parte frontale del vassoio per fissarlo saldamente sulla piattaforma dello strumento. Se si riscontrano difficoltà nel posizionare il vassoio sulla piattaforma, verificare che il vassoio sia orientato correttamente. Accertarsi che il vassoio sia a livello con la piattaforma dello strumento e ben posizionato.

Nota: controllare l'identificativo sui vassoi Maxwell® a 24 posizioni per stabilire se devono essere posizionati davanti o dietro lo strumento.

- Confermare che tutti i passaggi di pre-elaborazione sono stati eseguiti e toccare **Avvia** per chiudere lo sportello dello strumento e avviare l'elaborazione.

Nota: quando si usa un Maxwell® Instrument a 48 posizioni, se è stato abilitato il Vision System, il vassoio/i vassoi saranno scansionati quando lo sportello si ritrae. Qualsiasi errore nella configurazione dei vassoi (p. es., stantuffi non nella camera n.8, provette di eluizione non presenti e aperte) causerà il ritorno del software alla schermata "Impostazione cartuccia" e le posizioni problematiche saranno contrassegnate con un punto esclamativo racchiuso in un cerchio rosso. Toccare il punto esclamativo per visualizzare la descrizione dell'errore e risolvere tutti gli stati di errore. Toccare di nuovo il pulsante **Avvia** per ripetere la lettura dei vassoi e iniziare il ciclo di estrazione.



Avvertenza: pericolo di schiacciamento.

Maxwell® Instrument inizierà immediatamente il ciclo di purificazione. Lo schermo visualizzerà informazioni che includono l'utente che ha iniziato il ciclo, la fase del metodo in corso di esecuzione e il tempo approssimativo rimanente nel ciclo.

Note

- Toccando il pulsante **Interrompi** il ciclo sarà abbandonato. Tutti i campioni di un ciclo interrotto andranno persi.
- Se il ciclo viene annullato prima che sia completato, potrebbe essere richiesto di controllare se gli stantuffi sono ancora caricati nell'apposita barra. Se nella barra sono presenti degli stantuffi, è necessario eseguire la **Rimozione Stantuffi** quando richiesto. Se non ci sono stantuffi nell'apposita barra, si può scegliere di saltare la **Rimozione Stantuffi**. I campioni andranno persi. Non cercare di ripurificare campioni se l'esecuzione di uno strumento è stata interrotta.

7. Seguire le istruzioni a schermo al termine del metodo per aprire lo sportello. Verificare che gli stantuffi si trovino nella camera n.8 della cartuccia al termine del ciclo. Se gli stantuffi non vengono rimossi dalla barra, seguire le istruzioni del manuale tecnico del Maxwell® Instrument in uso (Tabella 1) per eseguire un processo di **Rimozione Stantuffi** per cercare di scaricare gli stantuffi.
 8. Rimuovere il vassoio/i vassoi dallo strumento. Rimuovere le provette di eluizione contenenti gli acidi nucleici virali e richiuderle. Se sono presenti particelle paramagnetiche nelle provette di eluizione, centrifugare a $10.000-20.000 \times g$ per un tempo compreso tra 30 secondi e 1 minuto. Al termine del ciclo, verrà visualizzato il report del ciclo di estrazione. Dalla schermata “Vista report”, è possibile stampare il report, esportarlo, o ambedue.
 9. Rimuovere le cartucce e gli stantuffi dal vassoio e smaltirli come rifiuti pericolosi secondo le linee guida raccomandate presso la propria struttura. Non riutilizzare le cartucce di reagenti, gli stantuffi né le provette di eluizione.
- Nota:** assicurarsi che i campioni siano rimossi prima di eseguire qualsiasi trattamento con raggi ultravioletti (UV) necessario per evitare di danneggiare l'acido nucleico.



8. Conservazione degli acidi nucleici eluiti

Se i campioni non vengono elaborati immediatamente, conservare il DNA virale eluito su ghiaccio a 4°C per massimo 24 ore. Per conservarli più a lungo, congelare a -20°C o -70°C. L'RNA virale è meno stabile e pertanto è preferibile testarlo nelle analisi a valle immediatamente dopo l'isolamento. In alternativa, conservare l'RNA virale a -70°C. Consultare le istruzioni per le applicazioni a valle per la conservazione di campioni specifici e le raccomandazioni per la manipolazione.

9. Valutazione delle prestazioni analitiche

La valutazione delle prestazioni analitiche del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit è stata eseguita sugli strumenti Maxwell® CSC e Maxwell® CSC 48 utilizzando campioni di mezzo di trasporto universali (UTM), saliva e plasma.

9.A. Quantità, qualità e amplificabilità dell'RNA

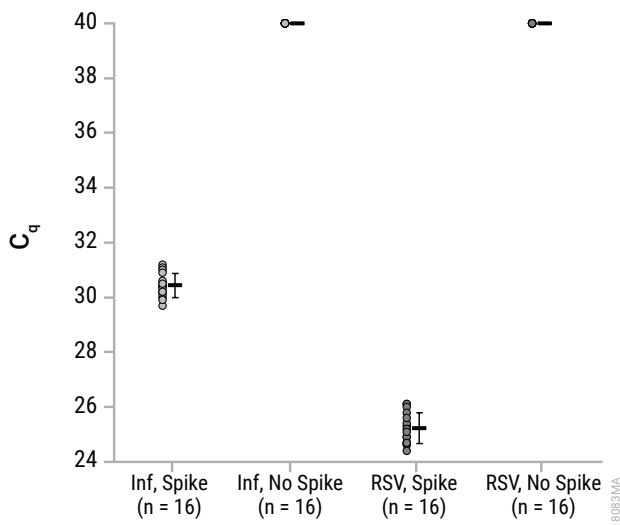


Figura 4. Valori C_q della RT-qPCR per eluiti preparati dal mezzo di trasporto universale (UTM). I campioni “Spike” erano campioni UTM arricchiti con influenza inattivata (Inf) o virus respiratorio sinciziale (RSV). I campioni “No spike” erano controlli UTM senza aggiunta di virus inattivato. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Ai campioni senza valori C_q è stato assegnato un valore C_q di 40 ai fini del calcolo della media. Per gli eluiti dei campioni arricchiti con influenza è stato rilevato un valore C_q medio di 30,4, mentre per gli eluiti dei campioni arricchiti con RSV è stato calcolato un valore C_q medio di 25,2. I controlli non arricchiti hanno mostrato un valore C_q di 40.

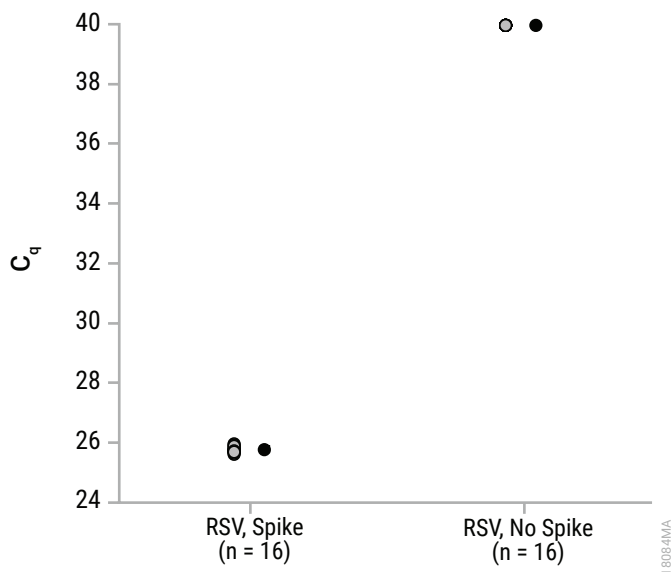


Figura 5. Valori C_q della RT-qPCR per eluiti preparati da saliva. I campioni “Spike” erano campioni di saliva arricchita con virus respiratorio sinciziale (RSV). I campioni “No spike” erano campioni di saliva senza alcuna aggiunta di virus inattivato. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Ai campioni senza valori C_q è stato assegnato un valore C_q di 40 ai fini del calcolo della media. Per gli eluiti dei campioni arricchiti con RSV è stato rilevato un valore C_q medio di 25,8, mentre per i controlli senza picchi è stato calcolato un valore C_q di 40.

9.A. Quantità, qualità e amplificabilità dell'RNA (continua)

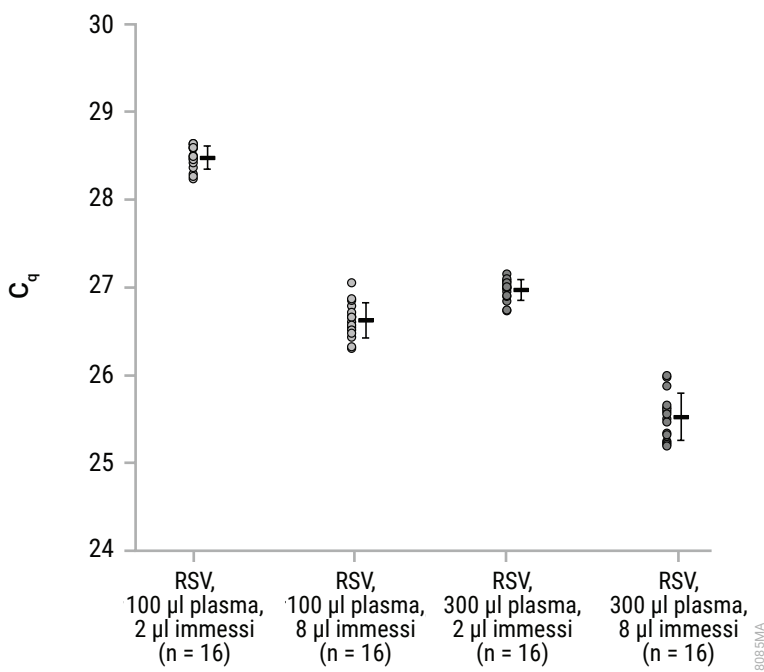


Figura 6. Valori C_q della RT-qPCR per eluiti preparati dal plasma. I campioni di plasma (100 µl o 300 µl) sono stati arricchiti con virus respiratorio sinciziale (RSV) e quindi utilizzati per la purificazione. L'inibizione è stata valutata utilizzando 2 µl e 8 µl, con una differenza di volume immesso pari a quattro volte, che dovrebbe risultare in una differenza nel valore C_q di circa 2 cicli. Gli eluiti (2 µl o 8 µl immessi) di ogni purificazione del plasma sono stati amplificati mediante RT-qPCR. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Nella RT-qPCR, il campione di plasma da 100 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un valore C_q medio di 28,5, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore medio di 26,6. Nella RT-qPCR, il campione di plasma da 300 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un valore C_q di 27,0, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore medio di 25,5.

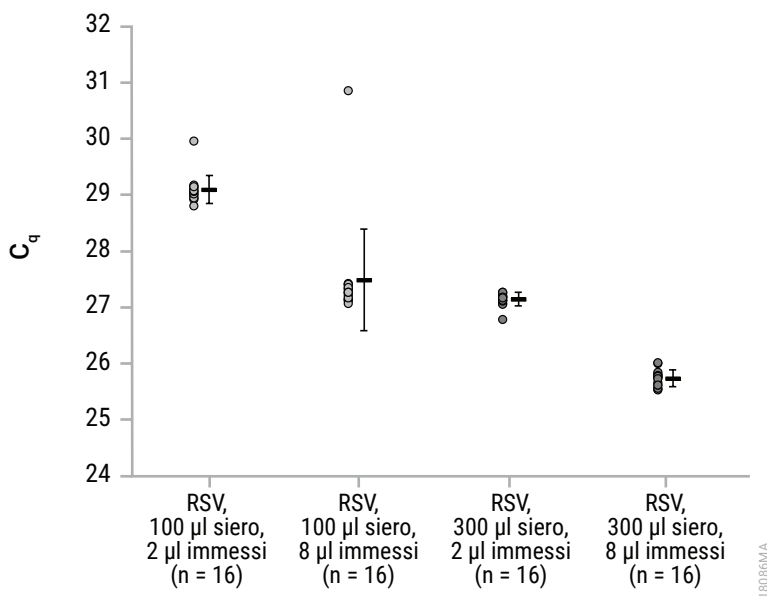


Figura 7. Valori C_q nella RT-qPCR per eluiti preparati da siero. I campioni di siero (100 µl o 300 µl) sono stati arricchiti con virus respiratorio sinciziale (RSV) e quindi utilizzati per la purificazione. L'inibizione è stata valutata utilizzando 2 µl e 8 µl, con una differenza di volume immesso pari a quattro volte, che dovrebbe risultare in una differenza nel valore C_q di circa 2 cicli. Gli eluiti (2 µl o 8 µl immessi) di ogni purificazione del siero sono stati amplificati mediante RT-qPCR. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Nella RT-qPCR, il campione di siero da 100 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un valore C_q medio di 29,1, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore C_q medio di 27,5. Nella RT-qPCR, il campione di siero da 300 µl con 2 µl di input ha ottenuto un valore C_q medio di 27,1, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore C_q medio di 25,7.

9.B. Quantità, qualità e amplificabilità del DNA

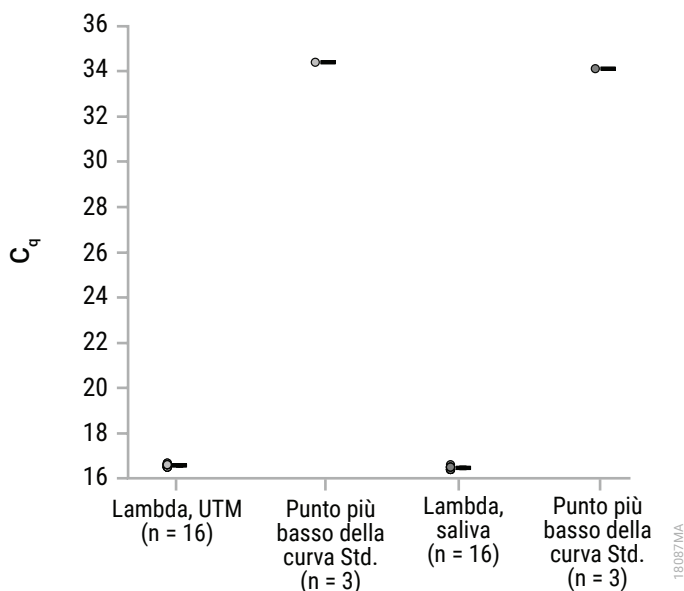


Figura 8. Valori C_q della qPCR per eluiti preparati da UTM o saliva. I campioni di UTM o di saliva sono stati arricchiti con fago lambda per i campioni “lambda”. Il punto più basso della curva standard (“Std.”) è mostrato come controllo di quantificazione relativa. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Per gli eluiti del campione UTM arricchiti con lambda è stato rilevato un valore C_q medio di 16,6, mentre per gli eluiti del campione di saliva arricchito con lambda è stato calcolato un valore C_q medio di 16,5. Il punto più basso della curva standard lambda nell’esperimento UTM aveva un valore C_q di 34,4, e nell’esperimento con la saliva il valore C_q del punto più basso era 34,1.

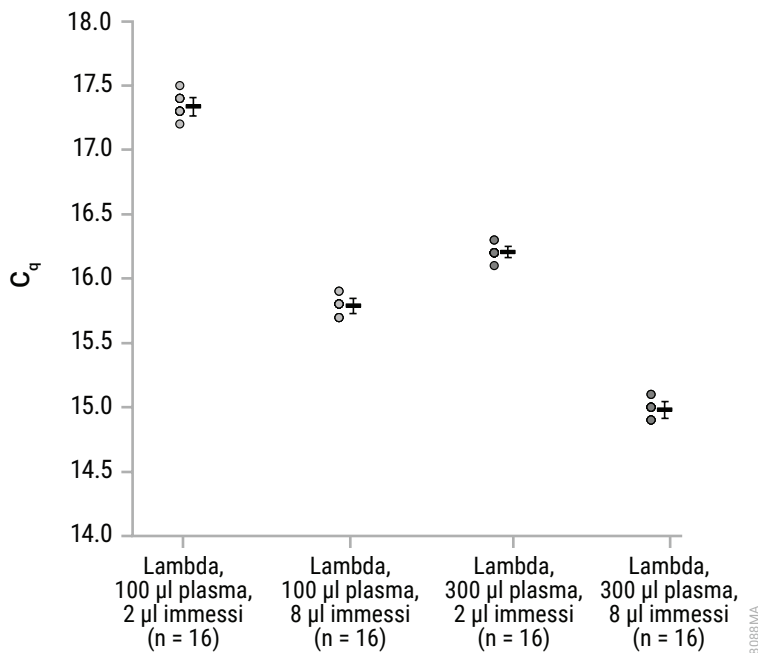


Figura 9. Valori C_t della qPCR per eluiti preparati dal plasma. I campioni di plasma (100 µl o 300 µl) sono stati arricchiti con il fago lambda e quindi utilizzati per la purificazione. L'inibizione è stata valutata utilizzando 2 µl e 8 µl, con una differenza di volume immesso pari a quattro volte, che dovrebbe risultare in una differenza nel valore C_t di circa 2 cicli. Gli eluiti (2 µl o 8 µl immessi) di ogni purificazione del plasma sono stati amplificati mediante qPCR. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_t dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Nella qPCR, il campione di plasma da 100 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un valore C_t di 17,3, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore medio di 15,8. Nella qPCR, il campione di plasma da 300 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un C_t medio di 16,2, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto una media di 15,0.

9.B. Quantità, qualità e amplificabilità del DNA (continua)

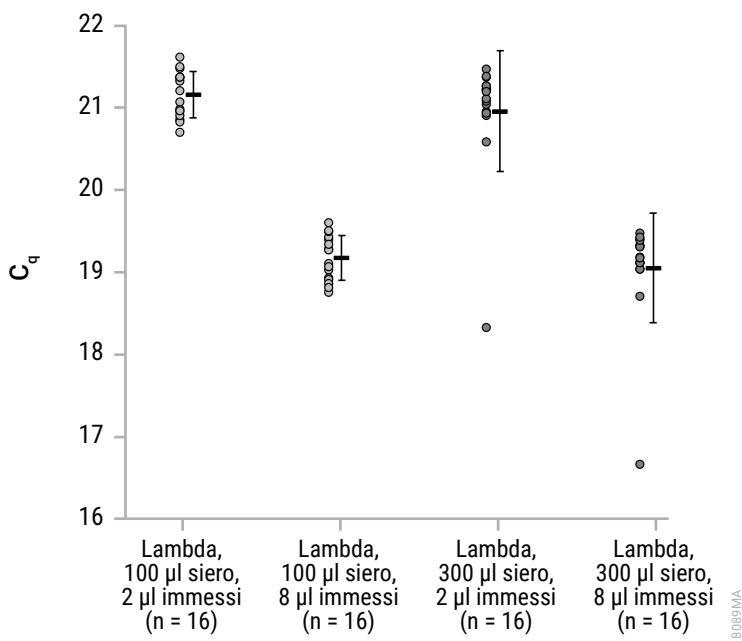


Figura 10. Valori C_q della qPCR per eluiti preparati da siero. I campioni di siero (100 µl o 300 µl) sono stati arricchiti con il fago lambda e quindi utilizzati per la purificazione. L'inibizione è stata valutata utilizzando 2 µl e 8 µl, con una differenza di volume immesso pari a quattro volte, che dovrebbe risultare in una differenza nel valore C_q di circa 2 cicli. Gli eluiti (2 µl o 8 µl immessi) di ogni purificazione del siero sono stati amplificati mediante qPCR. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i valori C_q dei singoli campioni, mentre la media con la deviazione standard si trova sulla destra. Nella qPCR, il campione di siero da 100 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un valore C_q di 21,2, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto un valore medio di 19,2. Nella qPCR, il campione di siero da 300 µl con 2 µl immessi ha ottenuto un C_q medio di 21,0, mentre quello con 8 µl immessi ha raggiunto una media di 19,1.

9.C. Riproducibilità

Tabella 3. Valori C_q della RT-qPCR. Gli eluiti sono stati preparati estraendo l'acido nucleico totale virale da campioni di PBS arricchiti con una trascrizione in vitro. Sono stati testati tre lotti di kit, tre utenti e tre cicli dello strumento per esaminare la riproducibilità all'interno di un ciclo tra più cicli dello strumento. Ogni set di campioni conteneva 8 replicati. I risultati sono mostrati nella tabella.

Variabile		C_q medio (cicli) n = 8	Deviazione standard relativa (cicli)
Variabilità da lotto a lotto	Lotto A	30,9	0,4
	Lotto B	30,9	0,2
	Lotto C	31,1	0,5
Media di tre lotti differenti		31,0	0,4
Variabilità tra utenti	Utente A	32,4	0,1
	Utente B	31,7	0,3
	Utente C	31,7	0,5
Media di tre utenti differenti		31,9	0,4
Variabilità tra più cicli (1 utente, 3 cicli strumento)	Ciclo 1	30,9	0,4
	Ciclo 2	31,7	0,3
	Ciclo 3	31,0	0,5
Media di tre cicli di estrazione differenti		31,2	0,5

9.D. Sostanze interferenti (inibizione)

Tabella 4. Valori C_q della RT-qPCR per l'RNA virale. L'effetto delle sostanze interferenti è stato testato per valutare l'inibizione dell'amplificazione tramite il confronto del valore C_q ottenuto da un aumento di quattro volte dell'acido nucleico immesso con il valore C_q del volume originale. L'RNA virale è stato purificato dall'UTM arricchito con il virus respiratorio sinciziale inattivato e pre-processato senza riscaldamento o trattamento con proteinasi K. I risultati sono mostrati per la RT-qPCR con 2 μ l o 8 μ l di RNA virale. L'inibizione è stata valutata utilizzando 2 μ l e 8 μ l, con una differenza di volume immesso pari a quattro volte, che dovrebbe risultare in una differenza nel valore C_q di circa 2 cicli. Il ΔC_q tra gli input di 2 μ l e 8 μ l è stato in media pari a 1,2 sul Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000) e a 1,5 sul Maxwell® CSC 48 Instrument (Cat.# AS8000).

Strumento	ID campione	C_q 2 μ l (cicli)	C_q 8 μ l (cicli)	ΔC_q per 2 μ l e 8 μ l (cicli)	C_q * NTC (cicli)	ΔC_q per 2 μ l e NTC (cicli)
Maxwell® CSC Instrument	U17	28,1	26,8	1,3	40	11,9
	U18	28,1	26,8	1,3	40	11,9
	U19	28,1	27,0	1,1	40	11,9
	U20	28,0	26,7	1,3	40	12,0
	U21	27,8	26,5	1,3	40	12,2
	U22	28,1	27,0	1,1	40	11,9
	U23	28,0	26,7	1,3	40	12,0
	U24	28,1	27,0	1,1	40	11,9
	Media	28,0	26,8	1,2	40	12,0
Maxwell® CSC 48 Instrument	U25	27,9	26,3	1,6	40	12,1
	U26	28,2	26,8	1,4	40	11,8
	U27	28,4	26,9	1,5	40	11,6
	U28	28,1	26,7	1,4	40	11,9
	U29	27,7	26,2	1,5	40	12,3
	U30	27,9	26,3	1,6	40	12,1
	U31	28,3	27,2	1,1	40	11,7
	U32	28,2	26,7	1,5	40	11,8
	Media	28,1	26,6	1,4	40	11,9

*Tutti i controlli senza template (NTC) non hanno ottenuto alcun valore C_q ; a essi è stato assegnato un valore C_q di 40 cicli.

9.E. Contaminazione crociata

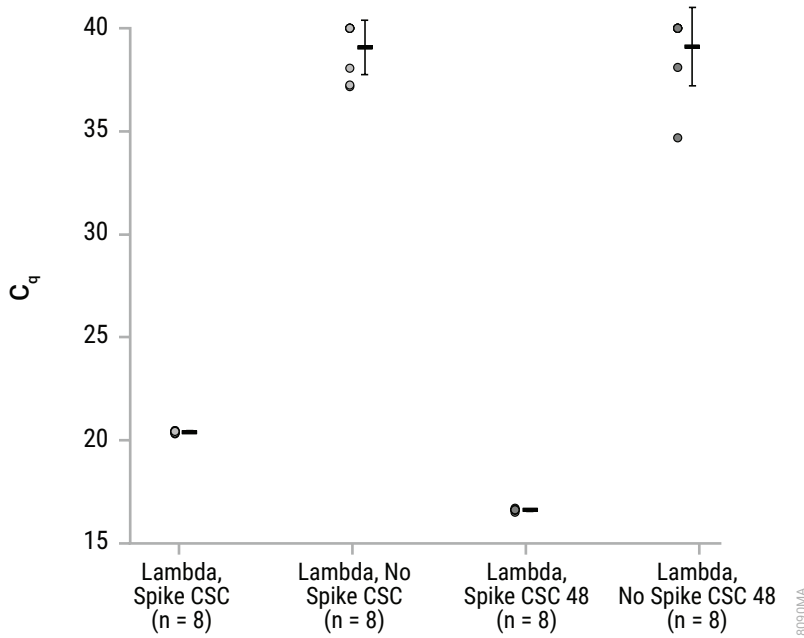


Figura 11. Valori C_q per il DNA purificato dal mezzo di trasporto universale. Il DNA è stato purificato da campioni TM con e senza aggiunta di DNA lambda utilizzando il Maxwell® CSC Total Viral Nucleic Acid Kit e i Maxwell® CSC e Maxwell® CSC 48 Instrument. I campioni con e senza aggiunta di lambda DNA sono stati posti in posizioni alternate sul vassoio degli strumenti. Vengono mostrati i risultati per le qPCR contenenti 2 µl di DNA lambda. Per ogni set di dati, i punti sulla sinistra rappresentano i singoli replicati, mentre la deviazione standard si trova sulla destra. I valori C_q medi per i campioni arricchiti sul Maxwell® CSC e sul Maxwell® CSC 48 ottenuti rispettivamente sono stati 20,4 e 16,6. Ai campioni senza valori C_q è stato assegnato un valore C_q di 40 ai fini del calcolo della media. Il valore C_q medio calcolato per i campioni negativi è stato 39,1 in ciascuno degli esperimenti.

10. Valutazione delle prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche sono state valutate estraendo l'RNA o il DNA virale dai tipi di campioni clinici specificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e il Maxwell® CSC 48 Instrument, e amplificando l'acido nucleico in un test clinicamente rilevante.

10.A. Estrazione di RNA virale da campioni UTM

Tabella 5. RNA virale di SARS-CoV-2 da campioni UTM. Dieci campioni in mezzo di trasporto universale positivi al SARS-CoV-2 UTM e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e un Maxwell® CSC 48 Instrument. L'RNA è stato inoltre purificato da questi campioni utilizzando il metodo di purificazione standard del laboratorio come riferimento. Nove dei 10 campioni positivi e 10 dei 10 campioni negativi hanno mostrato risultati concordanti tra il sistema Maxwell® e il metodo di riferimento del laboratorio. Tutti i campioni Maxwell® concordavano con lo stato presunto del campione basato su un precedente test SARS-CoV-2 eseguito sul campione.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®	Metodo di riferimento del laboratorio	Corrispondenza tra Maxwell® e il metodo di riferimento	Corrispondenza tra Maxwell® e lo stato presunto
21432233	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21880339	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21202162	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21213630	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21590664	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21315054	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21823123	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21180346	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21102471	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21147196	Positivo	Positivo	Negativo	No	Sì
21182913	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21296504	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21189671	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21676213	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21396949	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21856471	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21152493	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21960831	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21618705	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21530939	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì

10.B. Estrazione di RNA virale da campioni di saliva

Tabella 6. RNA virale purificato da campioni SARS-CoV-2 di saliva. Dieci campioni di saliva positivi al SARS-CoV-2 e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit su un Maxwell® CSC 48 Instrument. L'RNA è stato inoltre purificato da questi campioni utilizzando il metodo di purificazione standard del laboratorio come riferimento. Tutti i risultati sono stati concordanti tra il Maxwell® System e il metodo di riferimento del laboratorio. Tutti i campioni del Maxwell® System concordavano con lo stato presunto del campione basato su un precedente test SARS-CoV-2 eseguito sul campione.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®	Metodo di riferimento del laboratorio	Corrispondenza tra Maxwell e il metodo di riferimento	Corrispondenza tra Maxwell® e lo stato presunto
12204502	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12207992	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12200960	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12203868	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12206897	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12200453	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12208750	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12209126	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12201677	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21744360	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
12204630	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12203230	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12202781	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12202953	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12204617	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12206702	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12209395	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12201994	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12205532	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì
12206575	Negativo	Negativo	Negativo	Sì	Sì

10.C. Estrazione dell'RNA virale da campioni di plasma

Tabella 7. RNA del virus della febbre dengue nei campioni di plasma. Dieci campioni di plasma positivi al virus della febbre dengue e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit su un Maxwell® CSC 48 Instrument. L'RNA è stato inoltre purificato da questi campioni utilizzando il metodo di purificazione standard del laboratorio come riferimento. Nove dei 10 campioni positivi e 8 dei 10 campioni negativi hanno mostrato risultati concordanti tra il sistema Maxwell® e il metodo di riferimento del laboratorio. Tutti i campioni Maxwell® concordavano con lo stato presunto del campione basato su un precedente test del virus della febbre dengue eseguito sul campione.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®		Metodo di riferimento del laboratorio	Corrispondenza tra Maxwell® e il metodo di riferimento	Corrispondenza tra Maxwell® e lo stato presunto
		100 µl immessi	300 µl immessi	300 µl immessi		
21364611	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21964895	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21836674	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21485868	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21949507	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21232505	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21092389	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21443444	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21839389	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21960608	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21017143	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21478268	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21598671	Negativo	NT*	Negativo	Positivo	No	Sì
21363671	Negativo	NT*	Negativo	Positivo	No	Sì
21323109	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21004789	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21893607	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21993638	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21121581	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21514345	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì

*NT: non testato/i.

10.D. Estrazione del DNA virale da campioni di plasma

Tabella 8. DNA del citomegalovirus (CMV) nei campioni di plasma. Dieci campioni di plasma positivi al CMV e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit su un Maxwell® CSC 48 Instrument. Il DNA è stato inoltre purificato da questi campioni utilizzando il metodo di purificazione standard del laboratorio come riferimento. Tutti i risultati sono stati concordanti tra il Maxwell® System e il metodo di riferimento del laboratorio. Tutti i campioni Maxwell® concordavano con lo stato presunto del campione basato su un precedente test CMV eseguito sul campione.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®		Metodo di riferimento del laboratorio	Corrispondenza tra Maxwell® e il metodo di riferimento	Corrispondenza tra Maxwell® e lo stato presunto
		100 µl immessi	300 µl immessi	300 µl immessi		
38375075	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
38535155	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
37293873	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
37271420	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
38133737	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
38212566	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
38228092	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
37975220	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
37924077	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
38757118	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
30615407	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
23916496	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
22380697	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
33545486	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
40639511	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
40346295	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21423543	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
20341215	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
215139202	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
40503484	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì

*NT: non testato/i.

10.E. Estrazione dell'RNA virale da campioni di siero

Tabella 9. RNA del virus della febbre dengue in campioni di siero. Dieci campioni di siero positivi al virus della febbre dengue e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit su un Maxwell® CSC 48 Instrument. L'RNA è stato inoltre purificato da questi campioni utilizzando il metodo di purificazione standard del laboratorio come riferimento. Tutti i campioni hanno ottenuto risultati concordanti con il Maxwell® System e il metodo di riferimento del laboratorio. Tutti i campioni del sistema Maxwell® concordavano con lo stato presunto del campione basato su un precedente test del virus della febbre dengue eseguito sul campione.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®		Metodo di riferimento del laboratorio	Corrispondenza tra Maxwell® e il metodo di riferimento	Corrispondenza tra Maxwell® e lo stato presunto
		100 µl immessi	300 µl immessi	300 µl immessi		
21837552	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21923921	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21489704	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21125739	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21095976	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21783122	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21936932	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21738559	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21176258	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21542794	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sì	Sì
21441970	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21090946	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21247913	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21109632	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21792527	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21905523	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21165524	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21510977	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21826187	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì
21117238	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sì	Sì

*NT: non testato/i.

10.F. Riproducibilità

Tabella 10. Riproducibilità della purificazione dell'RNA. Dieci campioni di plasma positivi al virus della febbre dengue e 10 campioni negativi sono stati purificati utilizzando il Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit su un Maxwell® CSC 48 Instrument da due tester. Tutti i campioni hanno ottenuto risultati concordanti con il Tester A e il Tester B.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®		Corrispondenza tra risultati del tester A e del tester B
		Tester A	Tester B	
21364611	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21964895	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21836674	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21485868	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21949507	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21232505	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21092389	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21443444	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21839389	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21960608	Positivo	Positivo	Positivo	Sì
21017143	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21478268	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21598671	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21363671	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21323109	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21004789	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21893607	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21993638	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21121581	Negativo	Negativo	Negativo	Sì
21514345	Negativo	Negativo	Negativo	Sì

10.G. Contaminazione crociata

Tabella 11. DNA virale da campioni CMV di plasma. Nove campioni di plasma presunti negativi al CMV sono stati alternati con 10 campioni di plasma positivi al CMV sul vassoio del Maxwell® CSC 48 Instrument. Nove dei 9 campioni negativi alternati a campioni positivi sono risultati negativi, dimostrando che non si è verificata contaminazione crociata rilevabile.

ID campione	Stato presunto	Sistema Maxwell®	
		C _q con 300 µl immessi	Risultato CMV
30615407	Negativo	no C _q	Negativo
23916496	Negativo	no C _q	Negativo
22380697	Negativo	no C _q	Negativo
33545486	Negativo	no C _q	Negativo
40639511	Negativo	no C _q	Negativo
40346295	Negativo	no C _q	Negativo
21423543	Negativo	no C _q	Negativo
20341215	Negativo	no C _q	Negativo
40503484	Negativo	no C _q	Negativo

11. Risoluzione dei problemi

Per domande non specificamente trattate nel presente manuale, rivolgersi alla filiale o al distributore Promega locale.

Le informazioni relative ai contatti sono disponibili all'indirizzo: **www.promega.com**.

e-mail: **techserv@promega.com**

Problema	Cause e commenti
Recupero di acido nucleico virale inferiore al previsto (p. es., per i controlli interni forniti dal cliente)	<p>I campioni iniziali erano compromessi. Assicurarsi che i campioni siano stati prelevati, spediti e conservati secondo le linee guida raccomandate.</p> <hr/> <p>Per i campioni di RNA virale, assicurarsi di aver usato condizioni prive di RNasi per la preparazione del campione e nell'impostazione dell'analisi, incluse provette e puntali privi di RNasi.</p> <hr/> <p>Il passaggio di elaborazione non è stato ottimale.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Preparare il tampone di lisi e la proteinasi K immediatamente prima dell'uso ed eliminare le soluzioni non utilizzate seguendo le linee guida raccomandate dalla propria struttura. • Usare esclusivamente il tampone di lisi fornito con il presente kit. • Una miscelazione incompleta potrebbe ridurre la lisi. Mescolare il campione tramite agitatore con la soluzione di lisi secondo quanto raccomandato. • Trattamento della proteasi incompleto per rimuovere i capsidi virali. Verificare la temperatura del blocco termostato o del bagnetto e incubare per tutto il tempo raccomandato. • L'incubazione per 10 minuti a temperatura ambiente prima dell'incubazione a 56°C può migliorare il recupero per alcuni campioni di plasma. • Alcuni virus necessitano di temperature di incubazione più elevate. • L'aggiunta di una quantità superiore di campione rispetto a quella raccomandata potrebbe ridurre il recupero degli acidi nucleici.

11. Risoluzione dei problemi (continua)

Problema	Cause e commenti
Recupero di acido nucleico virale inferiore al previsto (p. es., per i controlli interni forniti dal cliente) (continua)	<p>Verificare che lo stantuffo sia stato aggiunto alla cartuccia.</p> <p>Assicurarsi che tutte le cartucce siano inserite saldamente nel vassoio prima dell'elaborazione.</p> <p>Problemi di conservazione post-purificazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Rimuovere gli eluiti e conservarli alla temperatura raccomandata immediatamente dopo il ciclo del Maxwell® Instrument. • Non sottoporre gli eluiti a più cicli di congelamento-scongelo prima delle analisi a valle. <p>Il sistema potrebbe non essere in grado di purificare correttamente alcuni controlli interni degli acidi nucleici inferiori ai 100 bp. L'utilizzatore è responsabile di stabilire le prestazioni di ciascun controllo interno.</p>
Scarsa amplificazione	<p>Il carryover delle particelle paramagnetiche può causare un'interferenza nella reazione di amplificazione. Rimuovere, tramite centrifugazione, le particelle nella provetta di eluizione.</p> <p>Aggiunta del tampone di eluizione errato. Utilizzare esclusivamente la Nuclease-Free Water in dotazione al Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit.</p>
Contaminazione crociata	<p>Usare puntali nuovi per ciascun campione per evitare la contaminazione tra campioni.</p> <p>Evitare le fuoriuscite quando si aggiungono i lisati alle cartucce. Le cartucce possono essere rimosse dal vassoio per l'aggiunta del campione per ridurre al minimo la contaminazione delle cartucce adiacenti.</p>
Non è possibile prelevare gli stantuffi con lo strumento	<p>Assicurarsi di utilizzare un kit di prodotti chimici specifici per il CSC; gli stantuffi dei kit reagente Maxwell® CSC sono specifici per i Maxwell® Instrument supportati da questo kit.</p>

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo che ha portato, o potrebbe portare, alla morte o a lesioni gravi di un utente o di un paziente deve essere immediatamente segnalato al fabbricante. Gli utenti con sede nell'Unione Europea devono inoltre segnalare qualsiasi incidente grave all'Autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utente e/o il paziente.

12. Bibliografia

1. Clinical Laboratory Standards Institute (2007). Handling, transport, and storage of specimens for molecular methods. Consultabile online all'indirizzo: www.clsi.org
2. Murray, P.R. et al. (2007) *Manual of Clinical Microbiology*, 9th Edition, ASM Press.

13. Prodotti correlati

Prodotto	Quantità	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	1 cadauno	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	1 cadauno	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50/conf	1 cadauno	AS1331
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 cadauno	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 cadauno	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 cadauno	AS8402
ClickFit Microtube, 1,5 ml	1.000/conf.	V4741

Kit di reagenti Maxwell® CSC

Visitare www.promega.com per l'elenco dei Maxwell® CSC purification kit disponibili.

14. Riepilogo delle modifiche

Sono state apportate le seguenti modifiche alla revisione del 10/22 di questo documento:

1. La Sezione 3 è stata rinominata in Finalità prevista/uso previsto del prodotto.
2. Sono state aggiunte le Sezioni 9 e 10 e rinumerate le sezioni seguenti.
3. Documento aggiornato in conformità al Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medici diagnostici in vitro.

^(a)Brevetti USA n. 7.329.488 e brevetto Sud Corea n. 100483684.

© 2020–2022 Promega Corporation. Tutti i diritti riservati.

Maxwell è un marchio registrato di Promega Corporation.

Vacutainer è un marchio registrato di Becton, Dickinson and Company.

I prodotti possono essere coperti da brevetti già rilasciati o in corso di rilascio o possono essere soggetti a determinate limitazioni. Per ulteriori informazioni visitare il nostro sito Web.

Specifiche e prezzi sono soggetti a modifica senza preavviso.

Le descrizioni dei prodotti sono soggette a modifica. Per informazioni aggiornate sui prodotti Promega rivolgersi ai Promega Technical Services oppure consultare il catalogo Promega online