

INSTRUKCJA TECHNICZNA

Zestaw Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Instrukcja użytkowania produktu
AS1780

Przestroga: Z kartridżami należy obchodzić się ostrożnie; krawędzie zamknięcia kartridża mogą być ostre.



PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA

EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hanower, Niemcy



INSTRUKCJA
UŻYTKOWANIA
PRODUKTU
AS1780

IVD

Zestaw Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Dokumentacja techniczna jest dostępna na stronie internetowej pod adresem: www.promega.com/protocols/
Na tej stronie internetowej można sprawdzić, czy używana wersja niniejszej instrukcji technicznej jest aktualna. W razie pytań dotyczących obsługi tego systemu prosimy o kontakt z działem Promega Technical Services pod adresem: techserv@promega.com.

1. Opis	2
2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli	3
3. Przeznaczenie/zastosowanie produktu	4
4. Ograniczenia stosowania produktu	5
5. Przygotowanie próbek	5
6. Przed rozpoczęciem	6
6.A. Przygotowywanie roztworu lizującego	7
6.B. Przygotowanie próbek do kartridży Maxwell [®] Viral Total Nucleic Acid Purification	8
6.C. Przygotowanie kartridża Maxwell [®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification	8
7. Konfiguracja i uruchamianie urządzenia Maxwell [®]	10
8. Przechowywanie eluowanego kwasu nukleinowego	12
9. Ocena wydajności analitycznej	12
9.A. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji RNA	13
9.B. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji DNA	17
9.C. Odtwarzalność	20
9.D. Substancje zakłócające (inhibicja)	21
9.E. Zanieczyszczenie krzyżowe	22
10. Ocena wydajności klinicznej	22
10.A. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek UTM	23
10.B. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek śliny	24
10.C. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek osocza	25
10.D. Ekstrakcja wirusowego DNA z próbek osocza	26
10.E. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek surowicy	27
10.F. Odtwarzalność	28
10.G. Zanieczyszczenie krzyżowe	29
11. Rozwiązywanie problemów	30
12. Źródła	31

13. Powiązane produkty	32
14. Podsumowanie zmian	32

Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit jest dostępny wyłącznie w niektórych krajach.

1. Opis

Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit^(a) jest używany wraz z urządzeniami Maxwell® określonymi w Tabeli 1 i służy do zapewniania łatwej metody wydajnego, zautomatyzowanego przygotowywania próbek i oczyszczania wirusowego kwasu nukleinowego całkowitego. Urządzenia Maxwell® CSC są przeznaczone do stosowania ze wstępnie napełnionymi kartridżami z odczynnikami i wstępnie zaprogramowanymi procedurami oczyszczania, co zwiększa wygodę i upraszcza stosowanie. Metoda Maxwell® dla zestawu the CSC Viral Total Nucleic Acid Kit może przetworzyć od jednej do maksymalnej liczby próbek w urządzeniu Maxwell® w około 30 minut. Niska objętość elucji wynosząca 50 µl skutkuje uzyskaniem stężonego, oczyszczonego kwasu nukleinowego do dalszych zastosowań, takich jak ilościowa metoda PCR (qPCR) lub ilościowa metoda RT-PCR (qRT-PCR). Po zakończeniu krótkiej, początkowej lizy próbka jest dodawana do kartridża Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification, a pozostały etap przetwarzania jest w pełni zautomatyzowany.

Tabela 1. Kompatybilny z urządzeniami

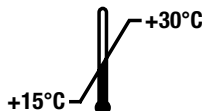
Urządzenie	Cat.#	Instrukcja techniczna
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Podstawy metody: Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit umożliwia oczyszczanie próbek przy użyciu cząsteczek paramagnetycznych, które zapewniają ruchomą fazę stałą stwarzającą optymalne warunki do wychwytywania próbki oraz przemycania i oczyszczania kwasu nukleinowego. Urządzenia Maxwell® są urządzeniami przeprowadzającymi analizy w oparciu o cząsteczki magnetyczne, które wiążą kwasy nukleinowe do cząsteczek magnetycznych w pierwszym dołku wstępnie napełnionego kartridża. Próbkę są przetwarzane w ramach cykli płukania, zanim kwas nukleinowy całkowity zostanie eluowany.

2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli

PRODUKT	ILOŚĆ	CAT.#
Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	48 preparatów	AS1780

Do stosowania w diagnostyce in vitro. Wyłącznie do użytku przez specjalistów. Wystarczy do 48 izolacji. Kartridże są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.



Zawartość zestawu:

- 20 ml buforu lizującego
- 2 × 1 ml roztworu proteiny K (PK)
- 50 tłoczków CSC/RSC
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCA)
- 50 probówek do elucji (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Warunki przechowywania: Elementy należy przechowywać w temperaturze pokojowej (od +15°C do +30°C).



Informacje dotyczące bezpieczeństwa: Kartridże zawierają etanol, izopropanol i chlorowodorek guanidyny. Etanol i izopropanol należy traktować jako substancje łatwopalne, szkodliwe i drażniące. Chlorowodorek guanidyny należy traktować jako substancję toksyczną, szkodliwą i drażniącą. Więcej informacji na temat bezpieczeństwa znajduje się w karcie SDS.



Kartridże są przeznaczone do stosowania z czynnikami potencjalnie zakaźnymi. Podczas pracy z czynnikami zakaźnymi należy nosić odpowiednie środki ochrony (np. rękawiczki i okulary ochronne). Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji wytycznych dotyczących postępowania ze wszystkimi czynnikami zakaźnymi używanymi z tym systemem oraz utylizacji takich czynników.



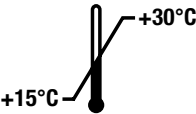
Przestroga: Z kartridżami należy obchodzić się ostrożnie; krawędzie mogą być ostre.

Informacje dodatkowe: Elementy zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit zostały dopuszczone do łącznego stosowania na podstawie odpowiednich procedur kwalifikacyjnych i testów kontroli jakości. Nie zaleca się mieszania elementów zestawu z elementami zestawów różnych serii. Należy używać wyłącznie elementów dostarczonych w zestawie. Nie używać kartridży, jeśli zamknięcie na kartridżu było naruszone w momencie dostawy. Dodatkowe informacje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się w karcie charakterystyki dostępnej na stronie:

www.promega.com

2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli (ciąg dalszy)

Objaśnienie symboli

Symbol	Objaśnienie	Symbol	Objaśnienie
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Nie używać ponownie
	Przechowywać w temperaturze od +15°C do +30°C.		Wytwórca
	Przeostroga		Łatwopalny
	Zagrożenie dla zdrowia		Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia „n” badań
	Ostrzeżenie. Niebezpieczeństwo zmiążdżenia.		Ostrzeżenie. Zagrożenie biologiczne.
	Numer serii		Numer katalogowy
	Conformité Européenne		Autoryzowany przedstawiciel

3. Przeznaczenie/zastosowanie produktu

Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit jest przeznaczony do stosowania w połączeniu z urządzeniami Maxwell® CSC oraz metodą Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Method jako wyrób medyczny do diagnostyki in vitro (IVD) w celu automatycznego wyizolowania wirusowego kwasu nukleinowego całkowitego z ludzkich próbek osocza, surowicy, wirusowego podłoża transportowego lub ustabilizowanej śliny. Oczyszczony kwas nukleinowy nadaje się do stosowania w analizach wykonywanych na potrzeby diagnostyki in vitro opartych na amplifikacji.

Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit jest przeznaczony do stosowania w temperaturze od 15°C do 30°C. Stosowanie zestawu poza tym zakresem temperatur może prowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników.

Zestaw Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit jest przeznaczony wyłącznie do użytku przez specjalistów. Wyniki diagnostyczne uzyskane na podstawie kwasu nukleinowego oczyszczonego za pomocą tego systemu należy interpretować w połączeniu z innymi danymi klinicznymi lub laboratoryjnymi.

4. Ograniczenia stosowania produktu

Wydajność niniejszego zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit została oceniona z wykorzystaniem surowicy, osocza i wymazów z jamy nosowo-gardłowej w uniwersalnym podłożu transportowym do wirusów (UTM) i ustabilizowanej śliny. Użytkownik jest odpowiedzialny za zweryfikowanie jego stosowania w zakresie ekstrakcji wirusowego kwasu nukleinowego z innych typów próbek.

W przypadku dalszych zastosowań diagnostycznych wykorzystujących kwas nukleinowy oczyszczony za pomocą systemu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification należy zastosować odpowiednie środki kontrolne. Użytkownik jest odpowiedzialny za weryfikację charakterystyki wydajności wymaganej do dalszych zastosowań diagnostycznych.

Użytkownicy mogą dodać egzogenne kontrole wewnętrzne (IC) do próbki lub lizatu. Niektóre kontrole wewnętrzne kwasu nukleinowego mniejsze niż 100 bp mogą zostać nieskutecznie oczyszczone przez system.

5. Przygotowanie próbki

Materiały zapewniane przez użytkownika

- próbki do próbek osocza, surowicy, UTM lub ustabilizowanej śliny



Podczas obchodzenia się z próbkami ludzkimi zaleca się podjęcie odpowiednich środków ostrożności w zakresie patogenów krwiopochodnych.

W przypadku próbek osocza pobrać krew do próbek EDTA lub próbek Vacutainer® z antykoagulantem ACD. Unikać stosowania heparyny, ponieważ może to powstrzymywać amplifikację na dalszych etapach.

Poniżej przedstawiono ogólne zalecenia dotyczące przygotowywania i przechowywania próbek (1, 2):

1. Oddzielić osocze od komórek w ciągu 1 godziny od pobrania krwi poprzez wirowanie z szybkością $1500 \times g$ przez 20 minut w temperaturze 25°C i przeniesienie warstwy osocza do czystej próbki.
2. Oddzielić surowicę od zakrzepłej krwi poprzez wirowanie z szybkością $1000 \times g$ przez 10 minut w temperaturze 25°C i przelanie do czystej próbki.

5. Przygotowanie próbki (ciąg dalszy)

3. W przypadków wymazów w UTM należy używać wyłącznie patyczków z syntetycznymi włóknami i plastikowymi trzonkami. Nie używać patyczków z alginianu wapnia ani patyczków z drewnianymi trzonkami ponieważ mogą one zawierać substancje, które inaktywują niektóre wirusy i utrudniają testowanie PCR. Natychmiast umieścić patyczki w sterylnych probówkach zawierających 2–3 ml wirusowego nośnika transportowego.

Przechowywać próbki osocza i surowicy w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 24 godziny lub zamrozić próbki, które nie zostaną przetworzone w ciągu 24 w temperaturze –20°C na maksymalnie 5 dni. Przechowywać próbki UTM i ustabilizowanej śliny w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 72 godziny lub zamrozić próbki w temperaturze –70°C. Unikać zamrażania i rozmrażania próbek. Nie wolno przechowywać próbek w zamrażarce bezszronowej. Określone warunki pobierania i przechowywania mogą się różnić, w zależności od rodzaju izolowanego wirusa.

6. Przed rozpoczęciem

Materiały zapewniane przez użytkownika

- probówki o pojemności 1,5–2,0 ml do inkubacji próbek (np. ClickFit Microtube, 1,5 ml [Cat.# V4741]; zalecana w celu zapobiegnięcia otwarcia zatyczki podczas ogrzewania)
- probówka stożkowa o pojemności 15 ml lub 50 ml do przygotowania roztworu lizującego
- wytrząsarka typu vortex
- pipetory i końcówki pipet do przenoszenia próbek do wstępnie napełnionych kartridży z odczynnikami
- blok grzewczy lub łaźnia wodna ustawiona na temperaturę 56°C

6.A. Przygotowywanie roztworu lizującego

Jeśli bufor lizujący jest mętny lub zawiera osady, należy go podgrzewać w temperaturze 37–56°C, aż stanie się przejrzysty.

Uwaga: Dla każdej partii próbek należy przygotować świeży roztwór lizujący zgodnie z opisem w Tabeli 2. Odwrócić probówkę w celu wymieszania.

Tabela 2. Przygotowywanie roztworu lizującego.

W przypadku próbki osocza lub surowicy 100 µl i 200 µl lub próbki 200 µl próbki UTM lub ustabilizowanej śliny:

Odczynnik	Ilość/Reakcje	Reakcje (liczba przebiegów + 2)	Łącznie
Bufor lizujący ¹	200 µl	n + 2	200 µl × (n + 2)
Roztwór proteiny K	20 µl	n + 2	20 µl × (n + 2)

W przypadku 300 µl próbek osocza lub surowicy:

Odczynnik	Ilość/Reakcje	Reakcje (liczba przebiegów + 2)	Łącznie
Bufor lizujący ¹	300 µl	n + 2	300 µl × (n + 2)
Roztwór proteiny K	30 µl	n + 2	30 µl × (n + 2)

¹W przypadku zastosowania kontroli wewnętrznej można ją dodać do roztworu lizującego. Kontrole wewnętrzne nie zostały dołączone do zestawu.

Uwaga: Niektóre wirusy oddechowe z typów próbek, takich jak wymazy z jamy nosowo-gardłowej, nie wymagają stosowania proteiny K.

6.B. Przygotowanie próbek do kartridży Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification

Próbki mogą być świeże lub zamrożone. Rozmrozić zamrożone próbki w temperaturze pokojowej lub na lodzie. Przed użyciem wytrząsać przez 10 sekund na wytrząsarce typu vortex.

1. Za pomocą pipety przenieść każdą próbkę osocza lub surowicy albo 200 µl próbki UTM lub ustabilizowanej śliny do 1,5 ml lub 2 ml probówki mikrowirówkowej z zatyczką.
2. Dodać roztwór lizujący przygotowany w rozdziale 6.A.
 - a. W przypadku próbek o objętości 100 µl lub 200 µl dodać 220 µl roztworu lizującego.
 - b. W przypadku próbek o objętości 300 µl dodać 330 µl roztworu lizującego.
3. Zamknąć probówki i wytrząsać na wytrząsarce typu vortex przez 10 sekund.
4. W przypadku próbek surowicy inkubować w temperaturze pokojowej (15–30°C) przez 10 minut, a następnie przejść do kroku 5.
5. Inkubować w temperaturze 56°C w bloku grzewczym lub łaźni wodnej przez 10 minut. Podczas inkubacji przejść do rozdziału 6.C, aby przygotować kartridże.

Uwaga: Ze względu na dodatkową strukturę genomu wirusa, niektóre wirusy, takie jak wirus zapalenia wątroby typu B, mogą wymagać inkubacji w temperaturze 80°C w celu optymalnego odzysku kwasu nukleinowego.

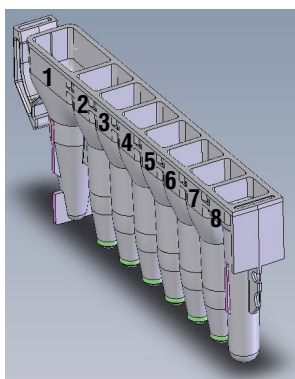
6.C. Przygotowanie kartridża Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification

1. Przed rozpoczęciem pracy z kartridżami, tłoczkami i probówkami do elucji (0,5 ml) należy zmienić rękawiczki. Umieścić kartridże na stojaku na kartridże tak, aby dołek nr 1 (największy dołek w kartridżu) był skierowany w przeciwną stronę do probówek do elucji. Nacisnąć kartridż, aby zatrzasknął się w odpowiednim położeniu. Ostrożnie zdjąć zamknięcie tak, aby usunąć cały element z tworzywa sztucznego z górnej części kartridża. Przed umieszczeniem kartridży w urządzeniu upewnić się, że cała taśma uszczelniająca i pozostałości kleju zostały usunięte.
2. Umieścić jeden tłoczek w dołku nr 8 każdego kartridża.
3. Umieścić pustą probówkę do elucji w położeniu probówki do elucji dla każdego kartridża na stojakach na kartridże.
4. Na dnie każdej probówki do elucji umieścić 50 µl Nuclease-Free Water.
5. Wymieszać próbki w mikrowirówce, aby pobrać płyn z dołu probówki. Dodać lizat próbki do dołka nr 1 (największego dołka) kartridża.

6. Przejść do rozdziału 7 — Konfiguracja i uruchamianie urządzenia Maxwell®.

Uwagi:

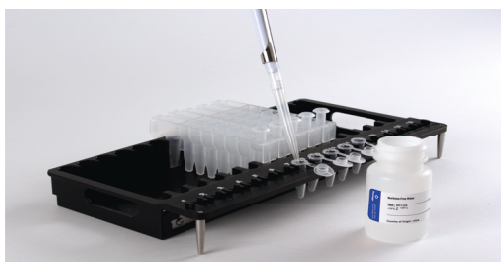
1. Wycieki próbki lub odczynnika na dowolną część stojaka na kartridże należy usuwać za pomocą roztworu detergentu i wody. Następnie należy spryskać powierzchnię sprayem bakteriobójczym lub wytrzeć ściereczką i przemyć ją wodą. Nie należy stosować wybielacza do czyszczenia części urządzenia.
2. Używać wyłącznie probówek do elucji 0,5 ml dołączonych do zestawu; inne probówki mogą być niezgodne z urządzeniem Maxwell®.



Użytkownik dodaje do dołków

1. Lizaty próbek
8. Tłoczek CSC/RSC

Rysunek 1. Przygotowanie kartridża Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification. Wstępnie przygotowana próbka jest dodawana do dołka nr 1, a tłoczek jest wprowadzany do dołka nr 8.



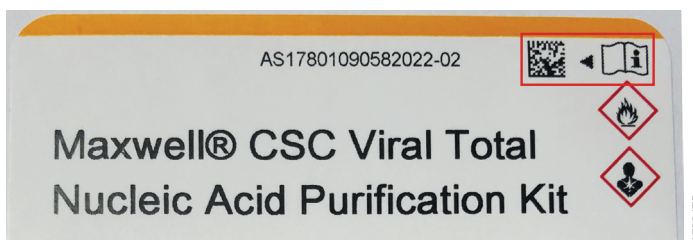
Rysunek 2. Ustawianie i konfiguracja stojaków na kartridże. Do probówek do elucji dodaje się Nuclease-Free Water, jak przedstawiono na rysunku. Tłoczki znajdują się w dołku nr 8 kartridża.

7. Konfiguracja i uruchamianie urządzenia Maxwell®

Więcej informacji znajduje się w instrukcji technicznej określonego urządzenia Maxwell® (patrz Tabela 1).

1. Włączyć urządzenie Maxwell® i tablet. Zalogować się na tablecie i uruchomić oprogramowanie Maxwell® IVD Mode, dwukrotnie dotykając ikony na pulpicie. Urządzenie włączy się, przeprowadzi autotest i ustawi w położeniu wyjściowym wszystkie ruchome części.
2. Dotknąć przycisku **Start**, aby rozpocząć proces uruchamiania przebiegu metody.
3. Zeskanować lub wprowadzić kod kreskowy metody znajdujący się w prawym górnym rogu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit, aby automatycznie wybrać metodę, która zostanie zastosowana (Rysunek 3).

Uwaga: Kod kreskowy zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit jest wymagany do procedury oczyszczania przeprowadzanej w urządzeniach Maxwell® CSC. Etykieta zestawu zawiera dwa kody kreskowe. Kod kreskowy metody pokazano na Rysunku 3 poniżej. Jeżeli nie można zeskanować kodu kreskowego, należy skontaktować się z działem Promega Technical Services.



Rysunek 3. Etykieta zestawu z kodem kreskowym metody do zeskanowania. Zeskanować kod kreskowy znajdujący się w czerwonym polu w prawym górnym rogu etykiety zestawu, aby rozpocząć cykl oczyszczania.

4. Na ekranie „Konfiguracja kartridży” dotknąć pozycji kartridża, aby zaznaczyć lub odznaczyć wszelkie położenia, które mają zostać użyte w ramach przebiegu ekstrakcji. Wprowadzić wymagane dane identyfikacyjne próbek i nacisnąć przycisk **Rozpocznij**, aby kontynuować.

Uwaga: Podczas użytkowania urządzenia Maxwell® z 48 pozycjami dotknąć przycisków **Przód** i **Wstecz**, aby zaznaczyć lub odznaczyć wybór pozycji kartridża na każdym stojaku na kartridże.

5. Po otwarciu drzwi potwierdzić, czy wykonano wszystkie czynności z listy kontrolnej ekstrakcji. Sprawdzić, czy próbki zostały dodane do dołka nr 1 kartridży, czy kartridże zostały załadowane do urządzenia, czy otwarte próbki do elucji zawierające Nuclease-Free Water są obecne oraz czy tłoczki zostały umieszczone w dołku nr 8. Przenieść stojaki na kartridże zawierające przygotowane kartridże do platformy urządzenia Maxwell®.

Wkładanie stojaka na kartridże Maxwell®: Stojak na kartridże należy trzymać za brzegi, aby uniknąć wypadnięcia kartridży. Upewnić się, że stojak na kartridże został umieszczony w urządzeniu Maxwell® w taki sposób, że próbki do elucji znajdują się najbliżej drzwi. Przetawić tył stojaka na kartridże w dół i ustawić ją na urządzeniu tak, aby jej tył był oparty o tylną część platformy urządzenia. Docisnąć przednią część stojaka na kartridże, aby osadzić go na platformie urządzenia. W przypadku trudności z ustawieniem stojaka na kartridże na platformie sprawdzić, czy stojak na kartridże jest ułożony w prawidłowej orientacji. Upewnić się, że stojak na kartridże jest odpowiednio wyrównany i osadzony na platformie urządzenia.

Uwaga: Sprawdzić identyfikator na stojakach na kartridże Maxwell® z 24 pozycjami, aby określić, czy powinny zostać umieszczone z przodu, czy z tyłu urządzenia.

6. Potwierdzić, że wszystkie czynności wskazane przed rozpoczęciem przetwarzania zostały wykonane, i dotknąć przycisku **Start**, aby zamknąć drzwi urządzenia i rozpocząć przetwarzanie.

Uwaga: W przypadku korzystania z urządzenia Maxwell® z 48 pozycjami i włączenia systemu wizualizacji skanowanie stojaków na kartridże rozpocznie się po zamknięciu drzwi. Wszelkie błędy w konfiguracji stojaków na kartridże (np. tłoczki nieznajdujące się w dołku nr 8, brak otwartych próbek do elucji) spowodują, że oprogramowanie powróci do ekranu „Konfiguracja kartridży”, a problematyczne pozycje zostaną oznaczone wykrzyknikiem w czerwonym okręgu. Dotknąć wykrzyknika, aby uzyskać opis błędu i rozwiązać problemy związane z błędami. Ponownie dotknąć przycisku **Start**, aby powtórzyć skanowanie stojaków na kartridże i rozpocząć przebieg ekstrakcji.



Ostrzeżenie: Niebezpieczeństwo zmiążdżenia.

Urządzenie Maxwell® natychmiast rozpocznie cykl oczyszczania. Na ekranie wyświetlą się informacje o użytkowniku, który uruchomił przebieg, o kroku metody, który jest obecnie wykonywany, oraz o szacowanym czasie pozostałym do końca przebiegu.

Uwagi:

1. Dotknięcie przycisku **Przerwij** spowoduje przerwanie przebiegu. Wszystkie próbki z przerwane przebiegu zostaną utracone.
2. Jeśli przebieg zostanie przerwany przed ukończeniem, może wyświetlić się informacja z prośbą o sprawdzenie, czy tłoczki są nadal załadowane na słupku tłoczków. Jeśli tłoczki znajdują się na słupku tłoczków, należy przeprowadzić procedurę **Czyszczenie** po wyświetleniu informacji. Jeśli tłoczki nie znajdują się na słupku tłoczków, można pominąć procedurę **Czyszczenie**. Probki zostaną utracone. Nie wolno podejmować prób ponownego oczyszczenia próbek, jeśli przebieg urządzenia został przerwany.

7. Konfiguracja i uruchamianie urządzenia Maxwell® (ciąg dalszy)

7. Po zakończeniu metody postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie, aby otworzyć drzwi. Sprawdzić, czy tłoczki znajdują się w dolku nr 8 kartridża po zakończeniu cyklu. Jeśli tłoczki nie zostaną usunięte ze słupka tłoczków, należy postępować zgodnie z wytycznymi przedstawionymi w instrukcji technicznej określonego urządzenia Maxwell® (patrz Tabela 1), aby przeprowadzić procedurę **Czyszczenie** i podjąć próbę rozładunku tłoczków.
8. Wyjąć stojaki na kartridże z urządzenia. Wyjąć próbówki do elucji zawierające wirusowy kwas nukleinowy całkowity, a następnie zatkać próbówki. Jeśli cząsteczki paramagnetyczne występują w próbówkach do elucji, odwirować z szybkością $10\,000\text{--}20\,000 \times g$ przez okres od 30 sekund do 1 minuty. Po zakończeniu przebiegu wyświetlony zostanie raport z przebiegu ekstrakcji. Na ekranie „Widok raportu” można wydrukować lub eksportować niniejszy raport albo wykonać obie te czynności.



9. Kartridże i tłoczki należy usunąć ze stojaków na kartridże i utylizować jako odpady niebezpieczne zgodnie z zalecanymi procedurami instytucjonalnymi. Nie wolno ponownie używać kartridży z odczynnikami, tłoczków ani rurek do elucji.

Uwaga: Przed użyciem promieniowania ultrafioletowego upewnić się, że próbki zostały usunięte z urządzenia w celu zapobieżenia uszkodzeniu kwasu nukleinowego.

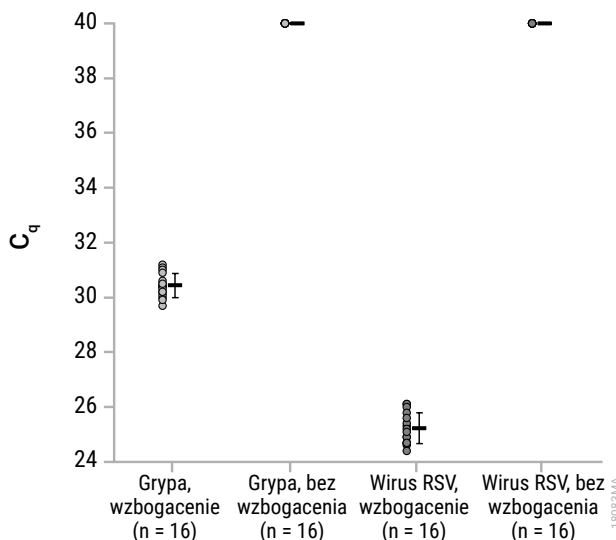
8. Przechowywanie eluowanego kwasu nukleinowego

Jeśli próbki nie zostaną przetworzone natychmiast, można przechowywać eluowane wirusowe DNA na lodzie lub w temperaturze 4°C przez maksymalnie 24 godziny. W przypadku przechowywania przez dłuższy czas należy zamrozić próbki w temperaturze –20°C lub –70°C. Wirusowe RNA jest mniej stabilne, w związku z czym należy je testować w dalszych analizach natychmiast po izolacji. Eluowane wirusowe RNA można również przechowywać w temperaturze –70°C. Aby uzyskać szczegółowe informacje na temat przechowywania i obsługi próbek, należy zapoznać się z instrukcjami dotyczącymi dalszych zastosowań.

9. Ocena wydajności analitycznej

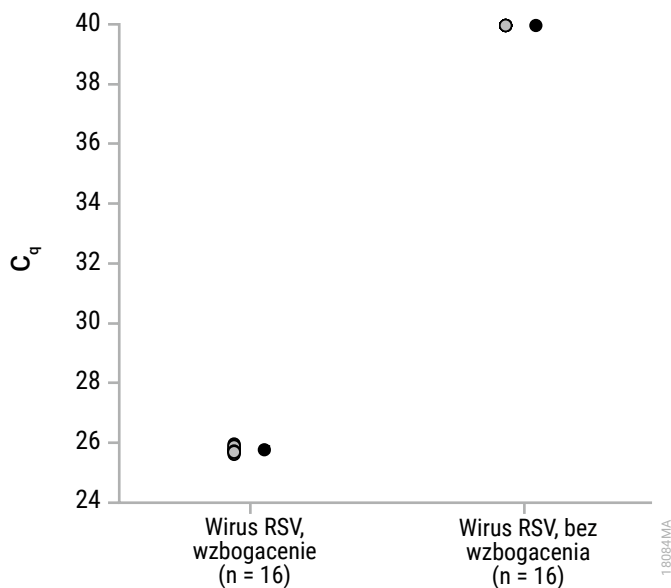
Ocenę wydajności analitycznej zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit przeprowadzono w urządzeniach Maxwell® CSC i Maxwell® CSC 48 za pomocą uniwersalnego podłoża transportowego (UTM), próbek śliny i próbek osocza.

9.A. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji RNA

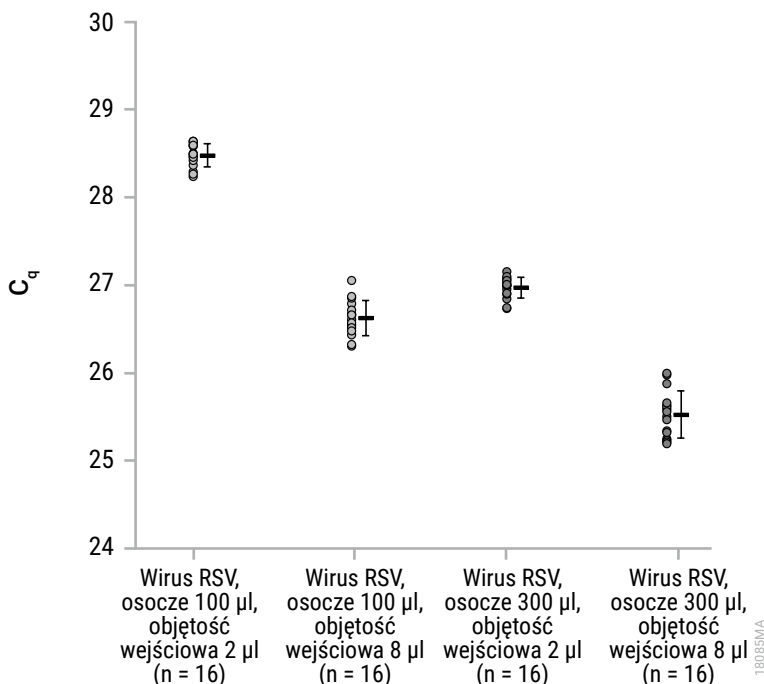


Rysunek 4. Wartości RT-qPCR C_q dla eluatów określono przy użyciu uniwersalnego podłoża transportowego (UTM). „Wzbogacone próbki” składały się z podłoża UTM ze zdezaktywowanym wirusem grypy (Inf) lub syncytialnym wirusem oddechowym (RSV). „Niewzbogacone próbki” stanowiły kontrole UTM bez dodanego zdezaktywowanego wirusa. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkom bez wartości C_q przypisano wartość C_q wynoszącą 40 na potrzeby obliczania średniej. Eluaty próbek wzbogaconych wirusem grypy uzyskały średnią wartość C_q wynoszącą 30,4, a eluaty próbek wzbogaconych wirusem RSV uzyskały średnią wartość C_q wynoszącą 25,2. Kontrole bez wzbogacenia uzyskały wartość C_q wynoszącą 40.

9.A. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji RNA (ciąg dalszy)

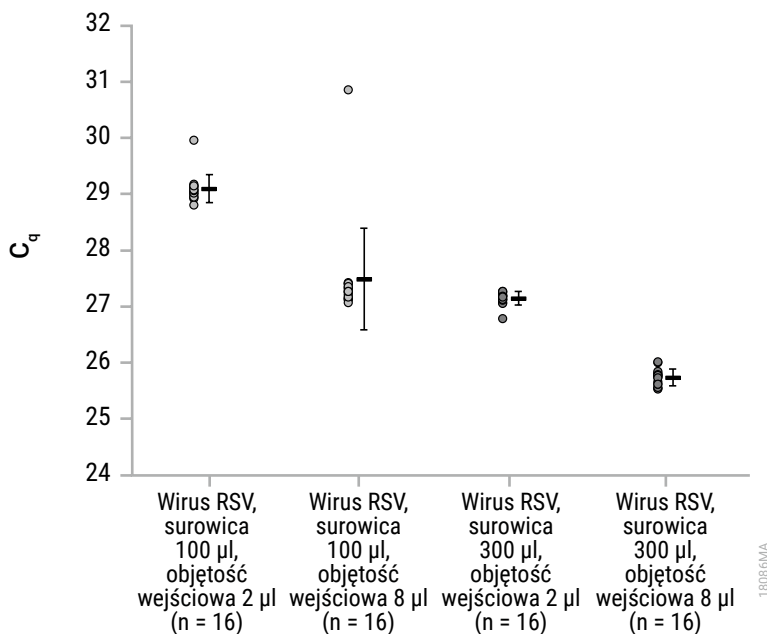


Rysunek 5. Wartości RT-qPCR C_q dla eluatów określone na podstawie śliny. „Wzbogacone próbki” składały się ze śliny ze syncytialnym wirusem oddechowym (RSV). „Niewzbogacone próbki” stanowiły próbki śliny bez dodanego zdezaktywowanego wirusa. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkom bez wartości C_q przypisano wartość C_q wynoszącą 40 na potrzeby obliczania średniej. Eluaty próbek wzbogaconych wirusem RSV uzyskały średnią wartość C_q wynoszącą 25,8, a kontrole bez wzbogacenia uzyskały wartość C_q wynoszącą 40.



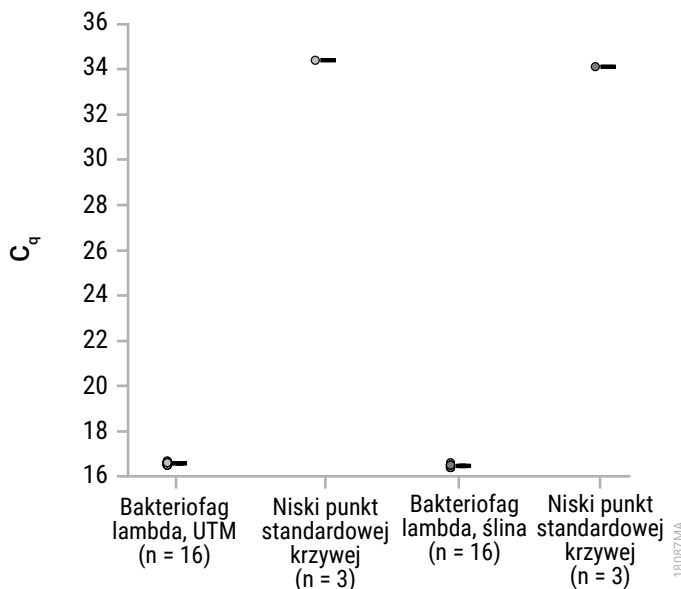
Rysunek 6. Wartości RT-qPCR C_q dla eluatów określone na podstawie osocza. Próbkę osocza (100 µl lub 300 µl) zostały wzbogacone syncytialnym wirusem oddechowym (RSV), a następnie użyte do oczyszczania. Inhibicję oceniono za pomocą objętości wejściowych 2 µl i 8 µl jako czterokrotną różnicę pomiędzy objętościami wejściowymi, co powinno skutkować różnicą w zakresie wartości C_q wynoszącą około 2 cykle. Eluaty (objętość wejściowa 2 µl lub 8 µl) z każdego oczyszczania osocza zostały zamplikowane przez RT-qPCR. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkę osocza 100 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 28,5, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 26,6. Próbkę osocza 300 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 27,0, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 25,5.

9.A. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji RNA (ciąg dalszy)



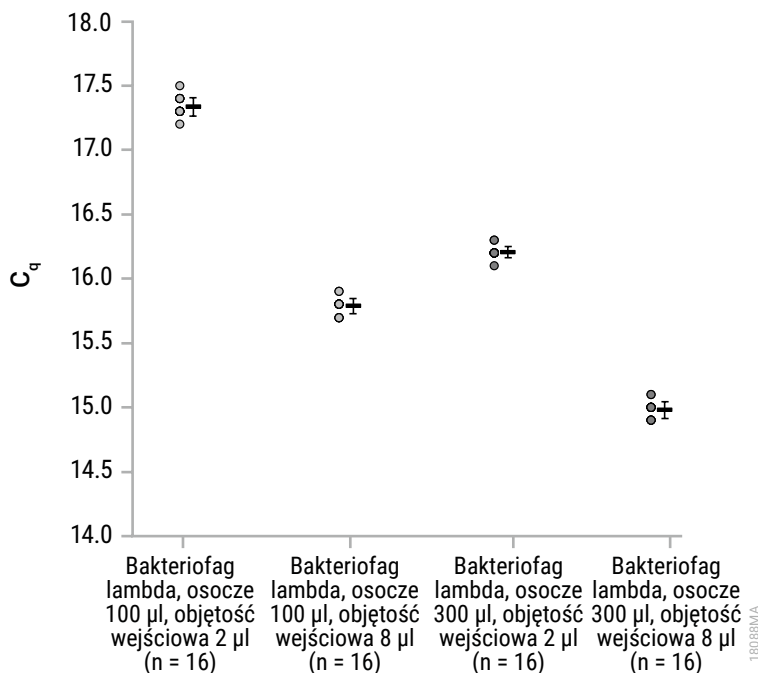
Rysunek 7. Wartości RT-qPCR C_q dla eluatów określone na podstawie surowicy. Próbkę surowicy (100 µl lub 300 µl) zostały wzbogacone syncytialnym wirusem oddechowym (RSV), a następnie użyte do oczyszczania. Inhibicję oceniono za pomocą objętości wejściowych 2 µl i 8 µl jako czterokrotną różnicę pomiędzy objętościami wejściowymi, co powinno skutkować różnicą w zakresie wartości C_q wynoszącą około 2 cykle. Eluaty (objętość wejściowa 2 µl lub 8 µl) z każdego oczyszczania surowicy zostały zamplifikowane przez RT-qPCR. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkę surowicy 100 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 29,1, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 27,5. Próbkę surowicy 300 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 27,1, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie RT-qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 25,7.

9.B. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji DNA

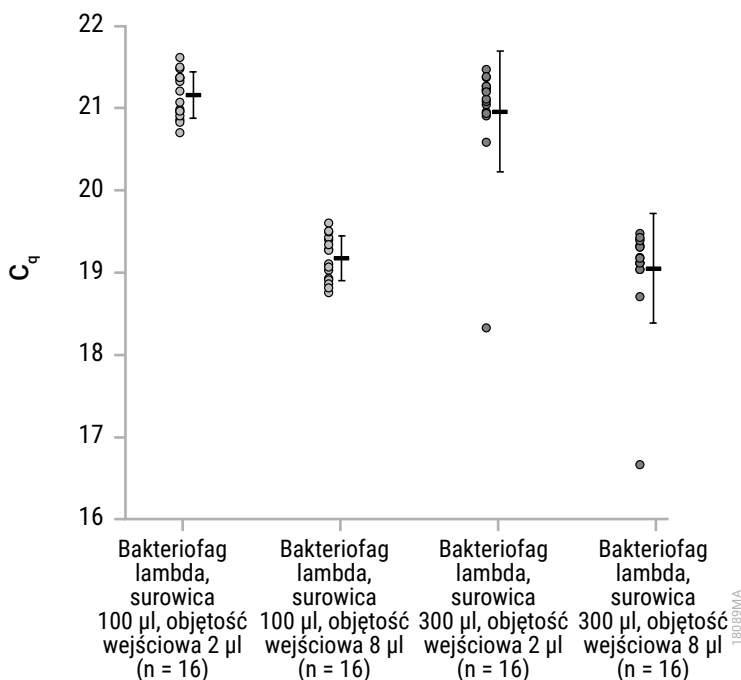


Rysunek 8. Wartości qPCR C_q dla eluatów określone przy użyciu podłoża UTM lub śliny. Próbkę podłoża UTM lub śliny zostały wzbogacone bakteriofagiem lambda na potrzeby uzyskania próbek „lambda”. Niski punkt standardowej krzywej („Std.”) został przedstawiony jako relatywna kontrola ilościowa. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Eluaty próbek UTM wzbogaconych bakteriofagiem lambda uzyskały średnią wartość C_q wynoszącą 16,6, a eluaty próbek śliny wzbogaconych bakteriofagiem lambda uzyskały średnią wartość C_q wynoszącą 16,5. Najniższy punkt na standardowej krzywej w badaniu podłoża UTM miał wartość C_q wynoszącą 34,4, a w badaniu śliny najniższy punkt miał wartość C_q wynoszącą 34,1.

9.B. Ilość, jakość i zdolność do amplifikacji DNA (ciąg dalszy)



Rysunek 9. Wartości qPCR C_q dla eluatów określone na podstawie osocza. Próbkę osocza (100 µl lub 300 µl) zostały wzbogacone bakteriofagiem lambda, a następnie użyte do oczyszczania. Inhibicję oceniono za pomocą objętości wejściowych 2 µl i 8 µl jako czterokrotną różnicę pomiędzy objętościami wejściowymi, co powinno skutkować różnicą w zakresie wartości C_q wynoszącą około 2 cykle. Eluaty (dawka 2 µl lub 8 µl) z każdego oczyszczania osocza zostały zamplifikowane przez qPCR. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkę osocza 100 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 17,3, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 15,8. Próbkę osocza 300 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 16,2, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 15,0.



Rysunek 10. Wartości qPCR C_q dla eluatów określone na podstawie surowicy. Próbkę surowicy (100 µl lub 300 µl) zostały wzbogacone bakteriofagiem lambda, a następnie użyte do oczyszczania. Inhibicję oceniono za pomocą objętości wejściowych 2 µl i 8 µl jako czterokrotną różnicę pomiędzy objętościami wejściowymi, co powinno skutkować różnicą w zakresie wartości C_q wynoszącą około 2 cykle. Eluaty (dawka 2 µl lub 8 µl) z każdego oczyszczania surowicy zostały zamplifikowane przez qPCR. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają wartości C_q danej próbki, a średnia z odchyleniem standardowym jest widoczna po prawej stronie. Próbkę surowicy 100 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 21,2, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 19,2. Próbkę surowicy 300 µl z objętością wejściową 2 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość C_q wynoszącą 21,0, a z objętością wejściową 8 µl w metodzie qPCR uzyskała średnią wartość wynoszącą 19,1.

9.C. Odtwarzalność

Tabela 3. Wartości RT-qPCR C_q . Eluaty przygotowano poprzez ekstrakcję wirusowego całkowitego kwasu nukleinowego z próbek PBS za pomocą transkrypcji in vitro. W teście uwzględniono trzy partie zestawów, trzech użytkowników i trzy przebiegi urządzenia, aby zbadać odtwarzalność w ramach przebiegu i między przebiegami. Każdy zestaw próbek zawierał 8 replikatów. Wyniki przedstawiono w tabeli.

Zmienna		Średnia wartość C_q (cykle) n = 8	Relatywne odchylenie standardowe (cykle)
Zmienność między partiami	Partia A	30,9	0,4
	Partia B	30,9	0,2
	Partia C	31,1	0,5
Średnia dla trzech różnych partii		31,0	0,4
Zmienność między użytkownikami	Użytkownik A	32,4	0,1
	Użytkownik B	31,7	0,3
	Użytkownik C	31,7	0,5
Średnia dla trzech różnych użytkowników		31,9	0,4
Zmienność między przebiegami (1 użytkownik, 3 przebiegi urządzenia)	Przebieg 1	30,9	0,4
	Przebieg 2	31,7	0,3
	Przebieg 3	31,0	0,5
Średnia dla trzech różnych przebiegów ekstrakcji		31,2	0,5

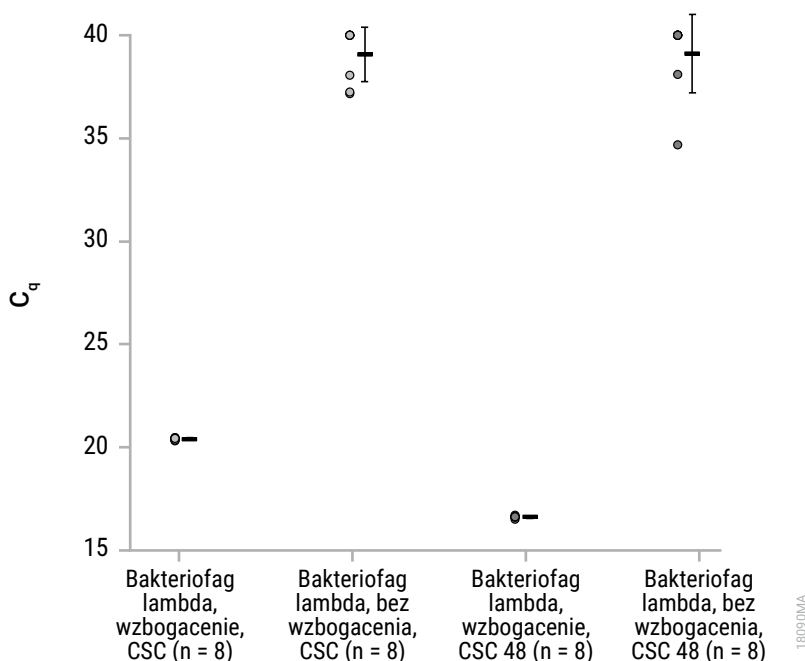
9.D. Substancje zakłócające (inhibicja)

Tabela 4. Wartości RT-qPCR C_q dla wirusowego RNA. Wpływ zakłócających substancji przetestowano poprzez uwzględnienie inhibicji amplifikacji podczas porównywania wartości C_q uzyskanej dzięki czterokrotnemu wzrostowi objętości wejściowej kwasu nukleinowego z wartością C_q początkowej objętości wejściowej. Wirusowe RNA zostało oczyszczone z podłoża UTM wzbogaconego zdezaktywowanym syncytialnym wirusem oddechowym i wstępnie przetworzone bez ogrzewania i dodawania proteinazy K. Wyniki przedstawiono dla wartości RT-qPCR przy zawartości 2 μ l lub 8 μ l wirusowego RNA. Inhibicję oceniono za pomocą objętości wejściowych 2 μ l i 8 μ l jako czterokrotną różnicę pomiędzy objętościami wejściowymi, co powinno skutkować różnicą w zakresie wartości C_q wynoszącą około 2 cykle. Wartość ΔC_q między objętościami wejściowymi 2 μ l i 8 μ l wynosiła średnio 1,2 w urządzeniu Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000) i średnio 1,5 w urządzeniu Maxwell® CSC 48 Instrument (Cat.# AS8000).

Urządzenie	Identyfikator próbki	2 μ l C_q (cykle)	8 μ l C_q (cykle)	ΔC_q dla 2 μ l i 8 μ l (cykle)	NTC C_q * (cykle)	ΔC_q dla 2 μ l i NTC (cykle)
Urządzenie 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
	Średnia	28,0	26,8	1,2	40	12,0
Urządzenie 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
	Średnia	28,1	26,6	1,4	40	11,9

* Wszystkie kontrole bez szablonów (NTC) nie miały wartości C_q i przypisano im wartość C_q wynoszącą 40 cykli.

9.E. Zanieczyszczenie krzyżowe



Rysunek 11. Wartości C_q dla DNA oczyszczonego z uniwersalnego podłoża transportowego. DNA zostało oczyszczone z próbek UTM z i bez dodanego DNA bakteriofagu lambda za pomocą zestawu Maxwell® CSC Total Viral Nucleic Acid Kit oraz urządzeń Maxwell® CSC i Maxwell® CSC 48 Instrument. Próbkę z i bez dodanego DNA bakteriofagu lambda zostały zmodyfikowane na stojaku urządzeń. Wyniki przedstawiono dla wartości qPCR przy zawartości 2 µl wirusowego DNA. W przypadku każdego zestawu danych kropki po lewej stronie oznaczają pojedyncze replikaty, a odchylenie standardowe jest widoczne po prawej stronie. Średnie wartości C_q dla wzbogaconych próbek oczyszczonych w urządzeniach Maxwell® CSC i Maxwell® CSC 48 wynosiły odpowiednio 20,4 i 16,6. Próbkom bez wartości C_q przypisano wartość C_q wynoszącą 40 na potrzeby obliczania średniej. Średnia wartość C_q dla ujemnych próbek wynosiła 39,1 w każdym badaniu.

10. Ocena wydajności klinicznej

Wydajność kliniczna została oceniona poprzez ekstrakcję wirusowego RNA lub DNA z określonych typów próbek klinicznych za pomocą testu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument, a także poprzez amplifikację kwasu nukleinowego w ramach oznaczenia klinicznego.

10.A. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek UTM

Tabela 5. Wirusowe RNA SARS-CoV-2 w próbkach UTM. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek podłoża UTM z wirusem SARS-CoV-2 zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. RNA zostało również oczyszczane za pomocą tych próbek przy użyciu standardowej laboratoryjnej metody oczyszczania na potrzeby odniesienia. Dziewięć na 10 próbek dodatnich i 10 na 10 próbek ujemnych odpowiadało wynikom w systemie Maxwell® i laboratoryjnej metodzie referencyjnej. Wszystkie próbki Maxwell® pasowały do przypuszczalnego statusu próbki, który oparto na poprzednim teście SARS-CoV-2 przeprowadzonym na próbce.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	System Maxwell®	Laboratoryjna metoda referencyjna	Maxwell® pasuje do metody referencyjnej	Maxwell® pasuje do przypuszczalnego statusu
21432233	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21880339	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21202162	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21213630	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21590664	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21315054	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21823123	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21180346	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21102471	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21147196	Dodatni	Dodatni	Ujemny	Nie	Tak
21182913	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21296504	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21189671	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21676213	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21396949	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21856471	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21152493	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21960831	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21618705	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21530939	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak

10.B. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek śliny

Tabela 6. Wirusowe RNA oczyszczone z próbek śliny z wirusem SARS-CoV-2. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek śliny z wirusem SARS-CoV-2 zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. RNA zostało również oczyszczone za pomocą tych próbek przy użyciu standardowej laboratoryjnej metody oczyszczania na potrzeby odniesienia. Wszystkie próbki Maxwell® były zgodne w systemie Maxwell® i laboratoryjnej metodzie referencyjnej. Wszystkie próbki systemu Maxwell® pasowały do przypuszczalnego statusu próbki, który oparto na poprzednim teście SARS-CoV-2 przeprowadzonym na próbce.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	System Maxwell®	Laboratoryjna metoda referencyjna	Maxwell® pasuje do metody referencyjnej	Maxwell® pasuje do przypuszczalnego statusu
12204502	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12207992	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12200960	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12203868	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12206897	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12200453	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12208750	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12209126	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12201677	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21744360	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
12204630	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12203230	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12202781	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12202953	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12204617	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12206702	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12209395	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12201994	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12205532	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
12206575	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak

10.C. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek osocza

Tabela 7. RNA wirusa dengi w próbkach osocza. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek osocza z wirusem dengi zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. RNA zostało również oczyszczone za pomocą tych próbek przy użyciu standardowej laboratoryjnej metody oczyszczania na potrzeby odniesienia. Dziesięć na 10 próbek dodatnich i 8 na 10 próbek ujemnych odpowiadało wynikom w systemie Maxwell® i laboratoryjnej metodzie referencyjnej. Wszystkie próbki Maxwell® pasowały do przypuszczalnego statusu próbki, który oparto na poprzednim teście wirusa dengi przeprowadzonym na próbce.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	System Maxwell®		Laboratoryjna metoda referencyjna	Maxwell® pasuje do metody referencyjnej	Maxwell® pasuje do przypuszczalnego statusu
		Próbka 100 µl	Próbka 300 µl	Próbka 300 µl		
21364611	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21964895	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21836674	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21485868	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21949507	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21232505	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21092389	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21443444	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21839389	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21960608	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21017143	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21478268	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21598671	Ujemny	NT*	Ujemny	Dodatni	Nie	Tak
21363671	Ujemny	NT*	Ujemny	Dodatni	Nie	Tak
21323109	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21004789	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21893607	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21993638	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21121581	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21514345	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak

NT*: Nie testowano.

10.D. Ekstrakcja wirusowego DNA z próbek osocza

Tabela 8. DNA wirusa cytomegalii (CMV) w próbkach osocza. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek osocza z wirusem CMV zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. DNA zostało również oczyszczone za pomocą tych próbek przy użyciu standardowej laboratoryjnej metody oczyszczania na potrzeby odniesienia. Wszystkie próbki Maxwell® były zgodne w systemie Maxwell® i laboratoryjnej metodzie referencyjnej. Wszystkie próbki Maxwell® pasowały do przypuszczalnego statusu próbki, który oparto na poprzednim teście CMV przeprowadzonym na próbce.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	System Maxwell®		Laboratoryjna metoda referencyjna	Maxwell® pasuje do metody referencyjnej	Maxwell® pasuje do przypuszczalnego statusu
		Próbka 100 µl	Próbka 300 µl	Próbka 300 µl		
38375075	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
38535155	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
37293873	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
37271420	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
38133737	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
38212566	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
38228092	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
37975220	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
37924077	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
38757118	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
30615407	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
23916496	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
22380697	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
33545486	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
40639511	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
40346295	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21423543	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
20341215	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
215139202	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
40503484	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak

NT*: Nie testowano.

10.E. Ekstrakcja wirusowego RNA z próbek surowicy

Tabela 9. RNA wirusa dengi w próbkach surowicy. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek surowicy z wirusem dengi zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. RNA zostało również oczyszczone za pomocą tych próbek przy użyciu standardowej laboratoryjnej metody oczyszczania na potrzeby odniesienia. Wszystkie próbki były zgodne w systemie Maxwell® i laboratoryjnej metodzie referencyjnej. Wszystkie próbki systemu Maxwell® pasowały do przypuszczalnego statusu próbki, który oparto na poprzednim teście wirusa dengi przeprowadzonym na próbce.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	Laboratoryjna metoda referencyjna			Maxwell® pasuje do metody referencyjnej	Maxwell® pasuje do przypuszczalnego statusu
		System Maxwell®		Próbka 300 µl		
		Próbka 100 µl	Próbka 300 µl			
21837552	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21923921	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21489704	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21125739	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21095976	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21783122	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21936932	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21738559	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21176258	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21542794	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak	Tak
21441970	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21090946	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21247913	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21109632	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21792527	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21905523	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21165524	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21510977	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21826187	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak
21117238	Ujemny	NT*	Ujemny	Ujemny	Tak	Tak

NT*: Nie testowano.

10.F. Odtwarzalność

Tabela 10. Odtwarzalność oczyszczania RNA. Dziesięć dodatnich i 10 ujemnych próbek osocza z wirusem dengi zostało oczyszczonych przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit i urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument przez dwóch badaczy. Wyniki wszystkich próbek były zgodne u badacza A i badacza B.

Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	System Maxwell®		Wynik badacza A pasuje do wyniku badacza B
		Badacza A	Badacza B	
21364611	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21964895	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21836674	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21485868	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21949507	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21232505	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21092389	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21443444	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21839389	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21960608	Dodatni	Dodatni	Dodatni	Tak
21017143	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21478268	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21598671	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21363671	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21323109	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21004789	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21893607	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21993638	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21121581	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak
21514345	Ujemny	Ujemny	Ujemny	Tak

10.G. Zanieczyszczenie krzyżowe

Tabela 11. Wirusowe DNA z próbek osocza z wirusem CMV. Dziewięć potencjalnie ujemnych próbek osocza z wirusem CMV zostało użytych naprzemiennie wraz z 10 dodatnimi próbkami osocza z wirusem CMV na stojaku urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument. Dziewięć na 9 ujemnych próbek użytych naprzemiennie z dodatnimi próbkami uzyskało wynik ujemny, co świadczy o braku występowania wykrywalnego zanieczyszczenia krzyżowego.

System Maxwell®			
Identyfikator próbki	Przypuszczalny status	Wartość C_q przy objętości wejściowej 300 μ l	Wynik próbek z wirusem CMV
30615407	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
23916496	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
22380697	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
33545486	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
40639511	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
40346295	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
21423543	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
20341215	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny
40503484	Ujemny	bez wartości C_q	Ujemny

11. Rozwiązywanie problemów

W przypadku pytań, na które nie można znaleźć odpowiedzi w niniejszym dokumencie, należy skontaktować się z lokalnym oddziałem firmy Promega lub jej dystrybutorem. Informacje kontaktowe są dostępne pod adresem: **www.promega.com**. Adres e-mail: **techserv@promega.com**

Objawy

Niższy odzysk wirusowego kwasu nukleinowego, niż oczekiwano (np. kontrole wewnętrzne zapewnione przez klienta)

Przyczyny i komentarze

Próbki początkowe zostały naruszone. Upewnić się, że próbki były pobierane, transportowane i przechowywane zgodnie z zalecanymi wytycznymi.

W przypadku wirusowych próbek RNA upewnić się, że procesy przygotowania próbki i konfiguracji testu odbywały się w warunkach wolnych od RNazy, z uwzględnieniem próbek i końcówek pipet wolnych od RNazy.

Etap przetwarzania nie był optymalny.

- Przygotować bufor lizujący i proteinazę K tuż przed użyciem, a następnie zutylizować nieużyte roztwory, postępując zgodnie z zalecanymi wytycznymi instytucjonalnymi.
- Używać wyłącznie buforu lizującego dołączonego do tego zestawu.
- Niekompletne mieszanie może ograniczyć lizę. Wytrząsać próbkę z roztworem lizującym na wytrząsarce typu vortex zgodnie z zaleceniami.
- Niekompletne dodanie proteinazy w celu usunięcia kapsydów wirusowych. Sprawdzić temperaturę bloku grzewczego lub łaźni wodnej i inkubować przez cały zalecany czas.
- Inkubacja trwająca 10 minut w temperaturze pokojowej przed rozpoczęciem inkubacji w temperaturze 56°C może zapewnić skuteczniejszy odzysk z niektórych próbek osocza.
- Niektóre wirusy mogą wymagać wyższych temperatur inkubacji.
- Dodanie większej liczby próbek, niż jest to zalecane, może spowodować ograniczenie odzysku kwasu nukleinowego.

Niższy odzysk wirusowego kwasu nukleinowego, niż oczekiwano (np. kontrole wewnętrzne zapewnione przez klienta)

Sprawdzić, czy tłoczek został umieszczony w kartridżu.

Przed rozpoczęciem przetwarzania upewnić się, że wszystkie kartridże są odpowiednio zamocowane do stojaka na kartridże.

Problemy związane z przechowywaniem po oczyszczeniu.

- Usunąć eluaty i przechowywać w zalecanej temperaturze natychmiast po zakończeniu przebiegu w urządzeniu Maxwell®.
- Przed dalszymi oznaczeniami nie wolno wielokrotnie zamrażać i rozmrażać eluatów.

Objawy	Przyczyny i komentarze
	Kontrole wewnętrzne kwasu nukleinowego mniejsze niż 100 bp mogą zostać nieskutecznie oczyszczone przez system. Użytkownik jest odpowiedzialny za określenie wydajności każdej kontroli wewnętrznej.
Niewystarczająca amplifikacja	Przenoszenie cząsteczek paramagnetycznych może spowodować zakłócenie w zakresie reakcji amplifikacji. Usunąć cząsteczki z próbki do elucji poprzez wirowanie. Dodano nieprawidłowy bufor do elucji. Należy używać wyłącznie wody Nuclease-Free Water z zestawu Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit.
Zanieczyszczenie krzyżowe	Używać świeżych końcówek pipet do każdej próbki, aby zapobiec zanieczyszczeniu między próbkami. Unikać rozbryzgów podczas dodawania lizatów do kartridży. Kartridże można wyciągnąć ze stojaka na kartridże w celu dodania próbki, aby ograniczyć ryzyko zanieczyszczenia sąsiednich kartridży.
Urządzenie nie jest w stanie podnieść tłoczków	Upewnić się, że używany jest zestaw substancji chemicznych zgodny z urządzeniem CSC; tłoczki do zestawów odczynników Maxwell® CSC pasują do obsługiwanego urządzenia Maxwell® przeznaczonego do stosowania z tym zestawem.

Wszelkie poważne incydenty, które miały miejsce w związku z urządzeniem, które doprowadziły lub mogą prowadzić do śmierci lub poważnych obrażeń użytkownika lub pacjenta, należy niezwłocznie zgłaszać producentowi. Użytkownicy mający siedzibę w Unii Europejskiej powinni również zgłaszać wszelkie poważne incydenty właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę.

12. Źródła

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

13. Powiązane produkty

Produkt	Ilość	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	1 szt.	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	1 szt.	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50/zestaw	1 szt.	AS1331
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 szt.	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 szt.	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 szt.	AS8402
ClickFit Microtube, 1,5 ml	1000 szt./zestaw	V4741

Zestawy odczynników Maxwell® CSC

Na stronie www.promega.com znajduje się lista dostępnych zestawów do oczyszczania Maxwell® CSC.

14. Podsumowanie zmian

W wersji 10/22 niniejszego dokumentu wprowadzono następujące zmiany:

1. Rozdziale 3 została zmieniona na Przeznaczenie/zastosowanie produktu.
2. Dodano rozdziały 9 i 10, a kolejne zmieniły numerację.
3. Dokument zaktualizowany pod kątem zgodności z Rozporządzeniem (UE) 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.

^(a)Amerykańska publikacja patentowa nr 7,329,488 oraz południowokoreańska publikacja patentowa nr 100483684.

© 2020–2022 Promega Corporation. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Maxwell jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Promega Corporation.

Vacutainer jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Becton, Dickinson and Company.

Produkty mogą być przedmiotem zgłoszonych bądź przyznanych patentów lub mogą podlegać pewnym ograniczeniom. Więcej informacji można znaleźć na naszej stronie internetowej.

Wszystkie ceny i dane techniczne mogą ulec zmianie bez wcześniejszego powiadomienia.

Oświadczenia dotyczące produktów mogą ulec zmianie. Aby uzyskać aktualne informacje na temat produktów firmy Promega, należy skontaktować się z działem Promega Technical Services lub zapoznać się z katalogiem produktów firmy Promega dostępnym w Internecie.