



MANUAL TÉCNICO

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Instruções de utilização do produto
AS1820

Atenção: manuseie os cartuchos com cuidado; as extremidades do selo podem ser cortantes.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany



INSTRUÇÕES DE
UTILIZAÇÃO DO PRODUTO
AS1820



Revisto 10/22
TM660

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Toda a literatura técnica está disponível na Internet em: www.promega.com/protocols/
 Visite o website para verificar se está a utilizar a versão mais atual deste Manual técnico. Se tiver quaisquer dúvidas sobre a utilização deste sistema, envie um e-mail para o nosso centro de assistência, Promega Technical Services: techserv@promega.com

1. Descrição	2
2. Componentes do produto, condições de armazenamento e legenda dos símbolos.....	3
3. Finalidade prevista/Utilização prevista do produto	5
4. Limitações de utilização do produto.....	5
5. Antes de começar	6
5.A. Preparar amostras de sangue total	6
5.B. Preparar o Maxwell [®] CSC Whole Blood DNA Cartridge	6
6. Execução do Maxwell [®] Instrument	8
7. Avaliação do desempenho analítico.....	11
7.A. Colheita de DNA.....	11
7.B. Qualidade do DNA	12
7.C. Reprodutibilidade	13
7.D. Amplificabilidade	14
7.E. Inibição (Substâncias interferentes).....	15
7.F. Contaminação cruzada	15
8. Avaliação do desempenho clínico.....	16
9. Resolução de Problemas	17
10. Bibliografia.....	17
11. Produtos Relacionados	18
12. Resumo das alterações.....	18

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit está disponível apenas em alguns países.

1. Descrição

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit^(a) é utilizado com os Maxwell® Instruments especificados na Tabela 1, de modo a proporcionar um método fácil para a preparação das amostras e a purificação automática e eficiente de DNA genómico (gDNA) a partir de amostras de sangue total humano. Os Maxwell® CSC Instruments são concebidos para serem utilizados com cartuchos de reagentes pré-dispensados e procedimentos de purificação pré-programados, proporcionando uma maior simplicidade e comodidade. O método Maxwell® para o CSC Whole Blood DNA Kit consegue processar desde um até ao número máximo de amostras do Maxwell® CSC Instrument em menos de 1 hora. O DNA purificado pode ser utilizado diretamente em diversas aplicações a jusante, como PCR.

Tabela 1. Instrumentos suportados.

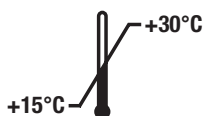
Instrumento	Cat. #	Manual técnico	Número de amostras máximo
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

Princípio do método: o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit purifica o DNA genómico (gDNA) de amostras utilizando partículas paramagnéticas, que fornecem uma fase sólida móvel que otimiza a captura, a lavagem e a purificação de amostras de gDNA. Os Maxwell® Instruments são instrumentos de manuseamento de partículas magnéticas que ligam de maneira eficiente os ácidos nucleicos à partícula paramagnética no primeiro poço de um cartucho pré-cheio. As amostras são processadas através de uma série de lavagens antes de o gDNA ser eluído.

2. Componentes do produto, condições de armazenamento e legenda dos símbolos

PRODUTO	TAMANHO	CAT.#
Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit	48 preparações	AS1820

Para utilização em diagnóstico in vitro. Apenas para utilização profissional. Contém reagentes suficientes para 48 isolamentos automáticos a partir de 500 µl de amostras de sangue total. Os cartuchos destinam-se apenas a uma única utilização.



Inclui:

- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCH)
- 50 Êmbolos CSC/RSC
- 50 Tubos de eluição (0,5 ml)
- 20 ml Tampão de eluição

Condições de armazenamento: armazene o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit entre +15 °C a +30 °C.



Informações de segurança: os Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) contêm etanol, isopropanol, hidrocloreto de guanidina e tiocianato de guanidina. O etanol e o isopropanol devem ser considerados como inflamáveis, nocivos e irritantes. O tiocianato de guanidina e o hidrocloreto de guanidina devem ser considerados como tóxicos, nocivos e irritantes. Consulte a Ficha de dados de segurança (SDS) para obter informações detalhadas sobre segurança.



Os Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) foram concebidos para utilização com substâncias potencialmente infecciosas. Deve ser utilizada proteção adequada (por exemplo, luvas e óculos de proteção) ao manusear substâncias infecciosas. A lixívia reage com tiocianato de guanidina, o qual é utilizado nos Maxwell® CSC Cartridges (CSCH), e não deve ser adicionada a resíduos de amostras destes cartuchos. Cumpras as suas diretrizes institucionais quanto ao manuseamento e à eliminação de substâncias infecciosas quando utilizadas com este sistema.



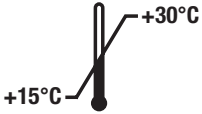














Atenção: manuseie os cartuchos com cuidado; as extremidades do selo podem ser cortantes.

Informações adicionais: os componentes do Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit são qualificados e testados de acordo com o controlo de qualidade para trabalharem em conjunto. Não é recomendado misturar componentes de kits com lotes de kits diferentes. Utilize apenas os componentes fornecidos no kit. Não utilizar os cartuchos se o selo no cartucho não estiver intacto na altura da receção. Para obter informações de segurança adicionais, consulte a Ficha de dados de segurança, disponível em: www.promega.com.

2. Componentes do produto, condições de armazenamento e legenda dos símbolos (continuação)

Legenda dos símbolos

Símbolo	Explicação	Símbolo	Explicação
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Representante autorizado
	Conserve entre +15 °C a +30 °C.		Fabricante
	Corrosivo para a pele.		Inflamável
	Irritante		Atenção
	Conformidade Europeia		Conteúdo suficiente para "n" testes
	Aviso. Perigo de entalamento.		Aviso. Riscos biológicos.
	Número de lote		Número de catálogo
	Não reutilizar		

3. Finalidade prevista/Utilização prevista do produto

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit destina-se a ser utilizado, em conjunto com os Maxwell® CSC Instruments e com o método de purificação Maxwell® CSC Whole Blood DNA, como um dispositivo médico (IVD) para diagnóstico in vitro para a realização do isolamento automático de DNA genómico a partir de amostras de sangue total humano. O DNA purificado é adequado para utilização em ensaios de diagnóstico in vitro com base na amplificação.

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit destina-se a ser utilizado a temperaturas entre 15 °C e 30 °C. A utilização fora deste intervalo de temperatura pode causar resultados subótimos.

As amostras de sangue total recolhidas em tubos para recolha de sangue que contêm anticoagulantes de EDTA, de citrato de sódio ou de heparina podem ser utilizadas com o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit. A tabela apresenta o tempo aceitável para o armazenamento de amostras sob diferentes condições antes da respetiva utilização no Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit.

Temperatura de armazenamento da amostra	Tempo de armazenamento antes da purificação
15 °C a 30 °C	Até 72 horas
2 °C a 10 °C	Até 7 dias
-65 °C ou inferior	Indefinidamente

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit não se destina a ser utilizado com amostras que tenham sido recolhidas noutros tipos de tubos para recolha de sangue ou armazenadas de outra forma que não de acordo com as condições listadas.

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit destina-se exclusivamente a utilização profissional. Os resultados do diagnóstico obtidos através da utilização de DNA genómico purificado com este sistema devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos ou laboratoriais.

4. Limitações de utilização do produto

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit não se destina a ser utilizado com amostras de tecido ou com amostras de fluidos corporais diferentes de sangue total humano.

O Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit não se destina a ser utilizado com amostras não humanas, incluindo amostras virais ou bacterianas, ou para a purificação de RNA.

O desempenho do Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit foi avaliado através do isolamento de DNA a partir de 500 µl de amostras de sangue total com uma contagem de glóbulos brancos (WBC) de 4×10^6 a $1,1 \times 10^7$ células/ml de sangue total e eluição do DNA em 60 µl.

O utilizador é responsável pelo estabelecimento das características de desempenho necessárias às aplicações de diagnóstico a jusante. Devem ser incluídos controlos adequados em todas as aplicações de diagnóstico a jusante que utilizem DNA genómico purificado com o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit.

5. Antes de começar

Materiais que devem ser fornecidos pelo utilizador

- agitador de tubos rotativo para amostras de sangue líquido
- pipetadores e pontas de pipeta para transferência de amostras para cartuchos de reagentes pré-cheios

5.A. Preparar amostras de sangue total

A colheita total de DNA genómico a partir de amostras de sangue total depende do número de glóbulos brancos na amostra. Cada um dos cartuchos fornecidos com o Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit é concebido para purificar DNA genómico a partir de 500 µl de sangue total, com uma contagem de glóbulos brancos de 4×10^6 to $1,1 \times 10^7$ células/ml de sangue total (valores de um adulto normal saudável; 1). Recomendamos a realização de uma contagem de glóbulos brancos em cada amostra antes da purificação do DNA para se certificar de que a amostra está dentro deste intervalo. As amostras fora deste intervalo podem não fornecer resultados ótimos.

Nota: este kit foi testado com amostras de sangue total humano recolhidas em tubos de EDTA, de citrato de sódio e de heparina. O desempenho do kit não pode ser assegurado com outros tipos de tubos para recolha de sangue. As amostras de sangue podem ser frescas (armazenadas entre 15 °C a 30°C até ao máximo de 72 horas), refrigeradas (armazenadas entre 2 °C a 10 °C até ao máximo de 7 dias) ou congeladas (armazenadas a -65 °C ou inferior) antes da purificação de DNA. As amostras congeladas deverão ser descongeladas antes do processamento. Todas as amostras de sangue deverão ser muito bem misturadas antes da utilização.

5.B. Preparar o Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Cartridge

1. Troque de luvas antes de manusear os cartuchos, os êmbolos CSC/RSC e os tubos de eluição (0,5 ml). Os cartuchos estão instalados nos tabuleiros da plataforma fora do instrumento antes de transferir os tabuleiros da plataforma que contém os cartuchos e as amostras para o instrumento para purificação. Coloque cada um dos cartuchos no(s) tabuleiro(s) da plataforma com o poço n.º 1 (o poço maior do cartucho) o mais afastado possível dos tubos de eluição (Figura 2). Pressione para baixo o cartucho de forma a encaixá-lo na respetiva posição. Certifique-se de que ambas as extremidades do cartucho estão totalmente encaixadas no tabuleiro da plataforma. Remova cuidadosamente o selo de forma a retirar a totalidade do selo da parte superior do cartucho. Certifique-se de que remove a totalidade da película aderente vedante e eventuais resíduos de adesivo do cartucho.
2. Transfira 500 µl da amostra de sangue para o poço n.º 1 de cada cartucho (o poço n.º 1 é o maior).
3. Misture a amostra de sangue no poço n.º 1 pipetando 5–10 vezes para assegurar que todo o sangue foi transferido. Misturar a amostra pipetando pode melhorar o desempenho químico. Altere as pontas de pipeta entre as amostras.
4. Coloque um êmbolo no poço n.º 8 de cada cartucho.
5. Coloque um tubo de eluição vazio na posição do tubo de eluição de cada cartucho no(s) tabuleiro(s) da plataforma. Adicione 60 µl de tampão de eluição ao fundo de cada tubo de eluição.

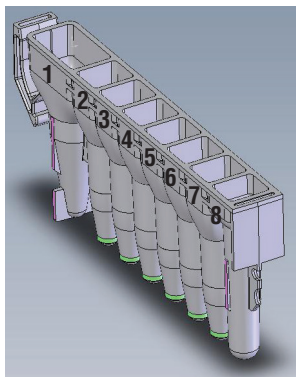
Notas:

- a. Utilize apenas os tubos de eluição fornecidos no Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit. Outros tubos de eluição podem ser incompatíveis com os Maxwell[®] CSC Instruments.
 - b. Utilize apenas o tampão de eluição fornecido no Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit. Outros tampões de eluição pode afetar o desempenho da purificação de DNA.
6. Prossiga para a Secção 6, Execução do Maxwell[®] Instrument.

Notas de preparação dos Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge:



Os pingos de reagente ou de amostra retidos em qualquer parte do tabuleiro da plataforma deverão ser limpos com uma solução de água e detergente, seguida de um spray ou toalhete bactericida e em seguida, água. Não utilize lixívia em nenhum componente do instrumento.



Adições do utilizador aos poços

1. Amostra de sangue total (500 µl)
8. Êmbolo CSC/RSC

Figura 1. Maxwell® CSC Cartridge. A amostra de sangue total é adicionada ao poço n.º 1 e um êmbolo é adicionado ao poço n.º 8.



Figura 2. Instalação e configuração do(s) tabuleiro(s) de plataforma. O tampão de eluição é adicionado aos tubos de eluição, conforme indicado. O tabuleiro da plataforma é do Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000).

6. Execução do Maxwell® Instrument

Para informações detalhadas, consulte o Manual Técnico específico do seu Maxwell® CSC Instrument. Consulte a Tabela 1.

1. Ligue o Maxwell® Instrument e o Tablet PC. Inicie a sessão no Tablet PC e inicie o software Maxwell® IVD Mode tocando duas vezes no ícone no ambiente de trabalho. O instrumento executa uma auto-verificação e coloca todas as peças móveis na respetiva posição inicial.
2. Toque em **Iniciar** no ecrã Página Inicial.
3. Digitalize ou introduza o código de barras do canto superior direito da etiqueta do Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e toque em **OK** para selecionar automaticamente o método a executar (Figura 3).

Nota: o código de barras do método do Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit é necessário para a purificação de DNA no Maxwell® CSC Instruments. A etiqueta do kit contém dois códigos de barras. O código de barras do método é indicado na Figura 3. Contacte o nosso centro de assistência, Promega Technical Services, p caso o código de barras não possa ser digitalizado.

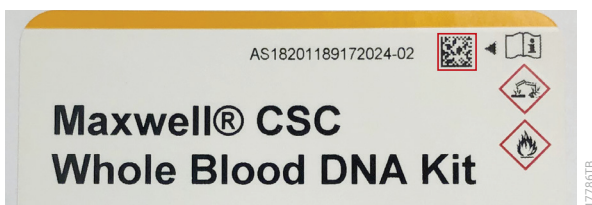


Figura 3. Etiqueta do kit que indica o código de barras a digitalizar. Digitalize o código de barras na caixa vermelha, no canto superior da etiqueta do kit, para iniciar uma execução de purificação.

4. No ecrã de "Configuração do cartucho", toque nas posições do cartucho para selecionar ou anular a seleção de qualquer posição a utilizar para a execução da extração. Introduza qualquer informação de acompanhamento de amostra e toque no botão **Proseguir** para continuar.

Nota: quando estiver a usar o Maxwell® CSC 48 Instrument, toque no botão **Anterior** ou **Posterior** para marcar ou desmarcar as posições dos cartuchos para o tabuleiro de plataforma apropriado.

5. Depois de abrir a porta, confirme que todos os itens da Lista de Verificação de Extração foram realizados. Verifique se as amostras foram adicionadas ao poço n.º 1 dos cartuchos, se os cartuchos estão carregados no instrumento, se os tubos de eluição destapados estão presentes com tampão de eluição e se os êmbolos estão colocados no poço n.º 8. Transfira o tabuleiro da plataforma que contém os cartuchos preparados para a plataforma do Maxwell® Instrument.

Inserir o(s) tabuleiro(s) da plataforma Maxwell®: segure o tabuleiro da plataforma de ambos os lados para evitar que os cartuchos saiam dos respectivos encaixes no tabuleiro da plataforma. Certifique-se de que o tabuleiro da plataforma é colocado no Maxwell® Instrument com os tubos de eluição próximos da porta. Posicione o ângulo da parte posterior do tabuleiro da plataforma para baixo e coloque no instrumento de maneira a que a parte posterior do tabuleiro da plataforma fique apoiada na parte posterior da plataforma do instrumento. Pressione a parte dianteira do tabuleiro da plataforma para baixo para assentar o tabuleiro da plataforma na plataforma de instrumentos. Se tiver dificuldade em encaixar o tabuleiro da plataforma na plataforma, verifique se o tabuleiro da plataforma está na orientação correta. Assegure-se de que o tabuleiro da plataforma se encontra nivelado com a plataforma de instrumentos e totalmente assente.

Nota: verifique o identificador nas bandejas de convés Maxwell® de 24 posições para determinar se devem ser colocadas na frente ou atrás do instrumento.

6. Toque no botão **Iniciar** para iniciar o ciclo de purificação. A plataforma vai retrair e a porta vai fechar.



Aviso: perigo de entalamento.

Nota: se utilizar o Maxwell® Instrument de 48 posições e o Sistema de Visão tiver sido ativado, os tabuleiros da plataforma serão digitalizados à medida que a plataforma se retrai. Quaisquer erros na configuração do tabuleiro de plataforma (por exemplo, êmbolos não presentes no poço n.º 8, tubos de eluição não presentes e abertos) irão causar o software regressar ao ecrã "Configuração do cartucho" e as posições problemáticas serão marcadas com um ponto de exclamação num círculo vermelho. Toque no ponto de exclamação para obter uma descrição do erro e resolver todos os estados de erro. Toque no botão **Iniciar** novamente para repetir a digitalização para repetir a leitura do tabuleiro da plataforma e iniciar a extração.

7. O Maxwell® Instrument irá iniciar imediatamente a execução de purificação. O ecrã irá apresentar os passos que estão a ser realizados e o tempo aproximado restante na execução.

Notas:

1. Pressionar o botão **Abortar** irá abandonar a execução. Todas as amostras de uma execução abortada serão perdidas.
 2. Se a execução for abandonada antes da conclusão, poderá ser-lhe pedido para verificar se os êmbolos ainda estão carregados na barra do êmbolo. Se os êmbolos estão presentes na barra do êmbolo, deve desempenhar uma **Limpeza** quando pedido. Se os êmbolos não estão presentes na barra do êmbolo, pode escolher saltar a **Limpeza** quando pedido. As amostras serão perdidas.
8. Uma vez concluída a execução, a interface do utilizador irá apresentar uma mensagem que o método terminou.


6. Execução do Maxwell® Instrument (continuação)

Fim da execução

9. Siga as instruções apresentadas no ecrã no final do método para abrir a porta. Verifique se os êmbolos se encontram no poço n.º 8 do cartucho, no final da execução. Se os êmbolos não forem removidos da barra de êmbolo, siga as instruções do Manual Técnico adequadas para o seu Maxwell® Instrument (ver Tabela 1) para desempenhar um processo de **Limpeza** para tentar descarregar os êmbolos.
10. Remova os tabuleiros da plataforma do instrumento imediatamente a seguir à execução para evitar a evaporação dos eluatos. Remova os tubos de eluição que contêm DNA e tape os tubos.

Nota: a seguir a um procedimento de execução automática, o(s) tabuleiro(s) da plataforma pode(m) estar quente(s). Para remover um tabuleiro da plataforma do instrumento, segure em ambos os lados do tabuleiro da plataforma.

Certifique-se de que as amostras foram removidas do instrumento antes de executar o protocolo de desinfeção UV, para evitar danificar o ácido nucleico purificado.

- 
11. Remova os cartuchos e os êmbolos do(s) tabuleiro(s) de plataforma Maxwell®. Elimine os resíduos perigosos de acordo com os procedimentos da sua instituição. Não reutilize os Maxwell® CSC Cartridges, os êmbolos CSC/RSC ou os tubos de eluição.



7. Avaliação do desempenho analítico

O desempenho analítico foi avaliado utilizando amostras de sangue total humano com o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e os Maxwell® CSC and Maxwell® CSC 48 Instruments.

7.A. Colheita de DNA

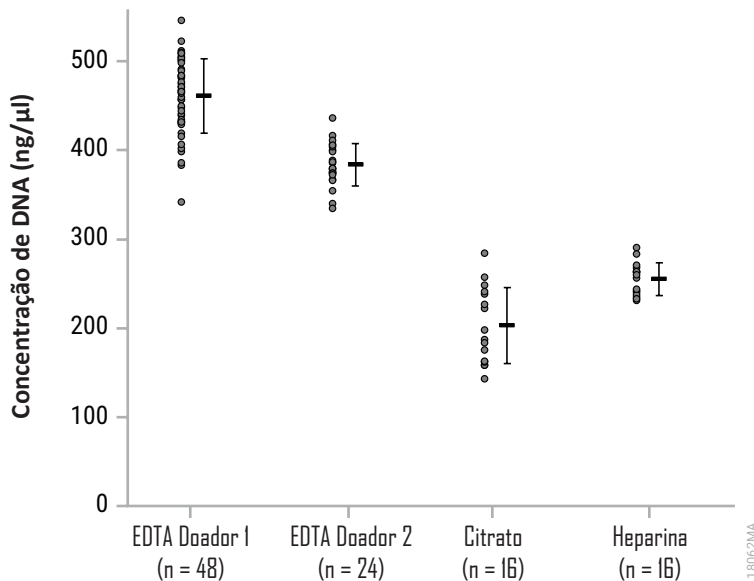


Figura 4. A concentração de DNA medida pela absorvância (A_{260}). Os replicados de DNA foram extraídos a partir de 500 μ l de sangue total recolhido em tubos anticoagulantes listados. Para cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam medições individuais, ao passo que a concentração de DNA média em todos os replicados com o desvio padrão é apresentada à direita. As concentrações de DNA médias estavam no intervalo de 203,0–461,0 ng/ μ l.

7.B. Qualidade do DNA

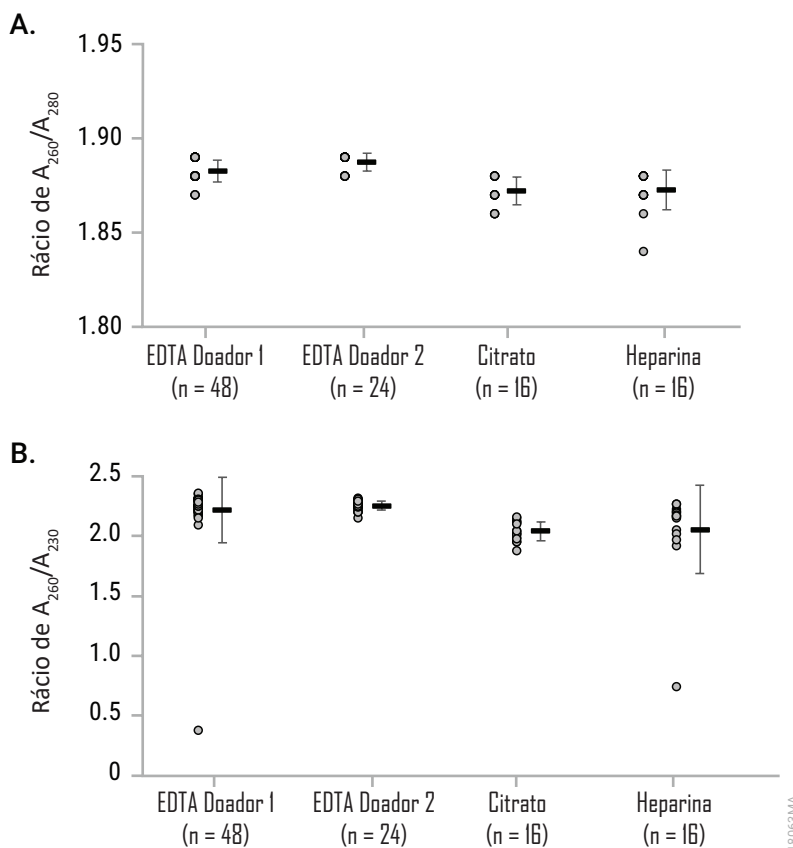


Figura 5. Rácios de pureza de A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} . A qualidade do DNA foi determinada calculando os rácios de absorvância dos eluatos obtidos a partir de múltiplos replicados de 500 μ l de amostras de sangue total recolhidas em tubos para recolha que contêm anticoagulantes de EDTA, de citrato de sódio ou de heparina. A figura apresenta rácios de A_{260}/A_{280} (**Painel A**) e A_{260}/A_{230} (**Painel B**). Para cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam medições individuais, ao passo que o rácio médio com desvio padrão é apresentado à direita. Os rácios de A_{260}/A_{280} médios estavam no intervalo de 1,87–1,89. Os rácios de A_{260}/A_{230} médios estavam no intervalo de 2,04–2,25.

7.C. Reprodutibilidade

Tabela 2. Reprodutibilidade da colheita de DNA. O coeficiente de variação percentual inter-execução (% CV) da colheita de DNA purificada a partir de 3 execuções de 8 replicados de sangue total (500 µl cada) utilizando o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit realizado nos instrumentos Maxwell® n.º 1 e n.º 2. A colheita de DNA média foi avaliada através de espectroscopia de absorvância.

Número do instrumento (n = 24)	Colheita média (µg)	Desvio padrão (µg)	% CV
1	17,8	1,9	10,7
2	16,7	1,4	8,5

Tabela 3. O coeficiente de variação percentual inter-execução. A variabilidade intra-execução foi determinada para múltiplas execuções de instrumento abrangendo cada tipo de tubo para recolha de sangue. Cada execução incluiu 8 amostras de 500 µl de replicado de sangue total. A colheita média de DNA purificado de 8 replicados em cada execução, conforme avaliado através de espectroscopia de absorvância, desvio padrão e coeficiente de variação percentual (% CV) é apresentada na tabela abaixo. Os valores de CV percentual para as execuções variaram entre 2,7–11,6.

Número de execução (n = 8)	Tipo de tubo para recolha de sangue	Colheita média (µg)	Desvio padrão (µg)	% CV
1	EDTA ¹	18,8	1,4	7,3
2	EDTA ¹	18,0	1,9	10,3
3	EDTA ¹	16,5	1,9	11,6
4	Heparina	10,1	0,3	2,7
5	EDTA ²	14,8	0,8	5,5
6	Citrato	9,3	0,9	9,4
7	EDTA ¹	17,0	1,5	9,0
8	EDTA ¹	17,3	1,2	7,2
9	EDTA ¹	15,9	1,2	7,7
10	EDTA ²	16,1	0,7	4,1
11	EDTA ²	14,9	0,6	4,3
12	Citrato	6,6	0,6	9,0
13	Heparina	9,2	0,5	5,4

¹Doador 1

²Doador 2

7.D. Amplificabilidade

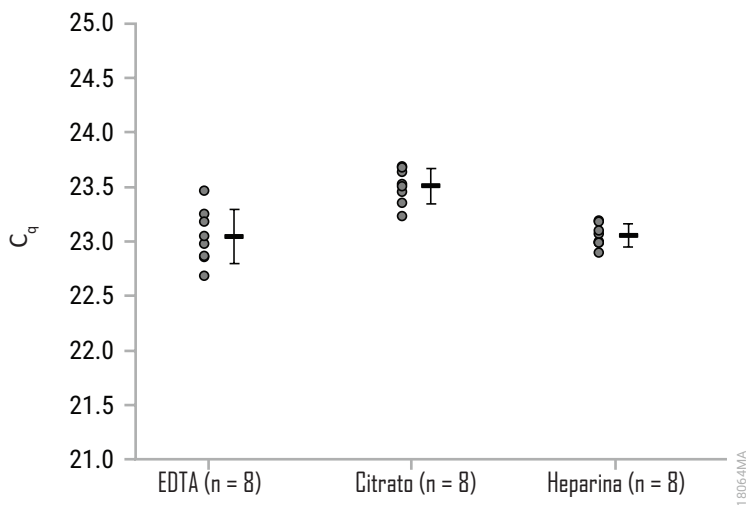


Figura 6. Amplificação por qPCR. Os eluatos foram analisados por qPCR após diluição até uma concentração dentro da curva padrão de qPCR. Os eluatos de EDTA foram diluídos 50 vezes, ao passo que os eluatos de citrato e heparina foram diluídos 20 vezes. Estas amostras originaram uma colheita de valores de autossomos C_q no intervalo de 22,69–23,69 ciclos, que estavam abaixo do valor de C_q médio para o padrão de DNA de 0,0032 ng/μl (35,12 ciclos).

7.E. Inibição (Substâncias interferentes)

Tabela 4. Os eluatos de DNA foram analisados por qPCR para identificar a potencial inibição de substâncias interferentes. Os eluatos de DNA foram diluídos até duas concentrações dentro da curva padrão de qPCR que representam uma diferença por oito na concentração de DNA e analisados por qPCR para determinar a diferença dos valores de C_q (ΔC_q) obtidos entre as duas diluições. Espera-se que o valor de ΔC_q resultante seja de 3 ± 1 ciclos com base neste fator de diluição. Os eluatos da amostra resultaram num ΔC_q de 2,5–3,3 ciclos, não indicando qualquer inibição detetável da amplificação de DNA.

Número de amostras	C_q inicial	C_q da diluição por oito	ΔC_q
1	23,3	26,1	2,8
2	23,1	26,0	2,9
3	22,9	25,6	2,7
4	23,5	26,1	2,5
5	23,6	26,5	3,0
6	23,2	26,4	3,2
7	23,1	26,1	3,0
8	23,1	26,2	3,1
9	23,3	26,0	2,8
10	22,9	25,8	2,9
11	22,7	25,5	2,8
12	23,0	25,9	2,9
13	23,5	26,3	2,8
14	23,1	26,0	3,0
15	22,9	26,0	3,1
16	23,2	26,5	3,3

7.F. Contaminação cruzada

As amostras de sangue total masculinas e femininas, 500 μ l cada, foram processadas em posições alternadas na plataforma no Maxwell[®] CSC Instrument no IVD Mode. Os eluatos resultantes foram analisados utilizando qPCR de um alvo de DNA cromossómico Y para detetar qualquer contaminação cruzada de DNA masculino nas amostras femininas. Não foi detetada qualquer contaminação cruzada. Os eluatos da amostra masculina foram diluídas 50 vezes e forneceu valores de C_q que variaram entre 22,69–23,55. As amostras de DNA feminino não tinham quaisquer valores de C_q detetáveis do alvo de DNA cromossómico Y.

8. Avaliação do desempenho clínico

O desempenho clínico foi avaliado utilizando amostras de sangue total humano com o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e o Maxwell® CSC 48 Instrument.

Tabela 5. Ensaio HLA-B27 com sangue total humano. Um ensaio HLA-B27 foi realizado por um laboratório externo utilizando DNA extraído de sangue total humano de 12 amostras presumidas positivas e 12 amostras presumidas negativas. A extração de DNA foi realizada por dois dispositivos de teste utilizando o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e de acordo com o método de extração de DNA padrão do laboratório (Método de referência laboratorial). Os eluatos de DNA obtidos utilizando o Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit foram diluídos cinco vezes e executados num ensaio de qPCR com os eluatos de DNA do método de referência laboratorial. As 24 amostras demonstraram uma concordância entre os dois dispositivos de teste do sistema Maxwell® CSC e o método de referência laboratorial.

Amostras do doente únicas e estado HLA-B27 presumido	Sistema de purificação Maxwell® CSC		Método de referência laboratorial
	Dispositivo de teste A	Dispositivo de teste B	
12 Positivos	12 Positivos	12 Positivos	12 Positivos
12 Negativos	12 Negativos	12 Negativos	12 Negativos

9. Resolução de Problemas

Contacte a filial ou o distribuidor local da Promega para obter resposta a questões não abordadas neste manual. As informações de contacto estão disponíveis em: **www.promega.com**. E-mail: **techserv@promega.com**

Sintomas

Causas e observações

Concentração mais baixa do que a esperada

O sangue que tenha sido submetido a diversos ciclos de congelamento/descongelamento pode apresentar DNA degradado. Utilize amostras que tenham sido recolhidas e armazenadas em conformidade com as condições listadas na Secção 3.

A amostra de sangue total continha uma baixa contagem de glóbulos brancos. A concentração de DNA genómico a partir de amostras de sangue depende do número de glóbulos brancos presentes na amostra.

A amostra de sangue total não foi misturada antes do processamento. Certifique-se de que mistura as amostras de sangue total antes do processamento para se certificar de que os glóbulos brancos ficam em suspensão.

Pureza mais baixa do que a esperada

O sangue foi armazenado descongelado durante um período prolongado ou foi sujeito a múltiplos ciclos de congelamento-descongelamento. Utilize amostras que tenham sido recolhidas e armazenadas em conformidade com as condições listadas na Secção 3.

O sangue não foi misturado no conteúdo do poço n.º 1 quando adicionado ao cartucho. Misture a amostra de sangue no poço n.º 1 pipetando 5–10 vezes.

Transporte de resina

O transporte de resina é normal e não afeta o desempenho a jusante. Se necessário, use um Elution Magnet ([Cat.# AS4017, Cat.# AS4018 ou ambos]) para transferir a eluição para um novo tubo. Consulte a Secção 11, Produtos Relacionados.

Qualquer incidente grave que ocorresse em relação ao dispositivo que originou, ou pudesse originar, morte ou lesão grave de um utilizador ou doente deve ser relatado imediatamente ao fabricante. Os utilizadores sediados na União Europeia devem também relatar quaisquer incidentes graves à Autoridade Competente do Estado-Membro no qual o utilizador e/ou doente está estabelecido.

10. Bibliografia

1. Henry, J.B. (2001) *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed., W.B. Saunders Company, 509.

11. Produtos Relacionados

Instrumento e acessórios

Produto	Tamanho	Cat.#
Maxwell® CSC 48 Instrument*	1 de cada	AS8000
Maxwell® CSC Instrument*	1 de cada	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 de cada	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 de cada	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 de cada	AS8402
Elution Tubes (0,5 ml)	50/pacote	AS6201
Elution Magnet, 16 Position	1 de cada	AS4017
Elution Magnet, 24 Position	1 de cada	AS4018

*Para utilização em diagnóstico in vitro. Este produto está disponível apenas em alguns países.

Maxwell® CSC Reagent Kits

Visite www.promega.com para obter uma lista dos Maxwell® CSC Purification Kits disponíveis.

12. Resumo das alterações

Foram realizadas as seguintes alterações à revisão 10/22 do presente documento:

1. O título da Secção 3 foi alterado para Finalidade prevista/Utilização prevista do produto.
2. Secções 7 e 8 adicionadas e secções subsequentes renumeradas.
3. Documento atualizado em conformidade com a Regulamentação (UE) 2017/746 sobre dispositivos médicos para diagnóstico in vitro.
4. Desmentido adicionado.

^(a)Pat. dos EUA N.º 7,329,488 e S. Korean Pat. N.º 100483684.

© 2021–2022 Promega Corporation. Todos os direitos reservados.

Maxwell é uma marca comercial registada da Promega Corporation.

Os produtos podem estar cobertos por patentes pendentes ou por patentes emitidas ou podem ter algumas limitações. Visite o nosso Web site para obter mais informações.

Todos os preços e especificações estão sujeitos a alterações sem aviso prévio.

As características dos produtos estão sujeitas a alteração. Contacte o nosso centro de assistência, Promega Technical Services, ou aceda ao catálogo da Promega online para obter as informações mais recentes acerca dos produtos da Promega.