

MANUAL TÉCNICO

Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Instruções de utilização do produto
AS1780

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



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany



INSTRUÇÕES DE UTILIZA-
ÇÃO DO PRODUTO
AS1780



Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification 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	4
4. Limitações de utilização do produto.....	5
5. Preparação da amostra	5
6. Antes de começar	6
6.A. Preparação da solução de lise	6
6.B. Preparação de amostras para Maxwell [®] Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges	7
6.C. Preparação do Maxwell [®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge	7
7. Configuração e execução do Maxwell [®] Instrument	9
8. Armazenar o ácido nucleico eluído	11
9. Avaliação do desempenho analítico.....	12
9.A. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de RNA	12
9.B. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de DNA	16
9.C. Reprodutibilidade	19
9.D. Substâncias interferentes (Inibição).....	20
9.E. Contaminação cruzada	21
10. Avaliação do desempenho clínico.....	22
10.A. Extração de RNA viral de amostras de UTM	22
10.B. Extração de RNA viral de amostras de saliva.....	23
10.C. Extração de RNA viral de amostras de plasma.....	24
10.D. Extração de DNA viral de amostras de plasma	25
10.E. Extração de RNA viral de amostras de soro.....	26
10.F. Reprodutibilidade	27
10.G. Contaminação cruzada	28
11. Resolução de Problemas	29
12. Bibliografia.....	30

13. Produtos Relacionados.....	31
14. Resumo das alterações.....	31

O Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit só está disponível em determinados países.

1. Descrição

O Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit^(a) é utilizado com os Maxwell® Instruments especificados na Tabela 1 para fornecer um método fácil para uma preparação das amostras eficiente e automática e purificação do ácido nucleico viral total. 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 Viral Total Nucleic Acid Kit consegue processar desde um até ao número máximo de amostras do Maxwell® Instrument em cerca de 30 minutos. O volume de eluição baixo de 50 µl resulta num ácido nucleico purificado concentrado para aplicações a jusante, como PCR quantitativo (qPCR) ou RT-PCR quantitativo (qRT-PCR). Após uma breve lise inicial, a amostra é adicionada ao Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge e o restante processamento é completamente automático.

Tabela 1. Instrumentos suportados

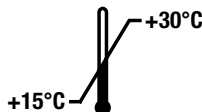
Instrumento	Cat.#	Manual técnico
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Princípio do Método: o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit purifica as amostras utilizando partículas paramagnéticas, que fornecem uma fase sólida móvel para otimizar a captura, a lavagem e a purificação de amostras de ácido nucleico. 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 ácido nucleico total ser eluído.

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

PRODUTO	TAMANHO	CAT.#
Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	48 preparações	AS1780

Para utilização em diagnóstico in vitro. Apenas para utilização profissional. Suficiente para 48 isolamentos. Os cartuchos destinam-se apenas a uma única utilização.



Inclui:

- 20 ml Tampão de lise
- 2 × 1 ml Solução de proteinase K (PK)
- 50 Êmbolos CSC/RSC
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCA)
- 50 Tubos de eluição (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Condições de armazenamento: guarde os componentes à temperatura ambiente (+15 °C a +30 °C).



Informações de segurança: os cartuchos contêm etanol, isopropanol e hidrócloro de guanidina. O etanol e o isopropanol devem ser considerados como inflamáveis, nocivos e irritantes. O hidrócloro de guanidina deve ser considerado como tóxico, nocivo e irritante. Consulte o SDS para informações detalhadas sobre segurança.



Os cartuchos foram concebidos para utilização com substâncias potencialmente infecciosas. Deve ser utilizada proteção adequada (por exemplo, luvas e óculos de proteção) ao manusear substâncias infecciosas. Cumpras as suas diretrizes institucionais quanto ao manuseamento e à eliminação de substâncias infecciosas quando utilizadas com este sistema.



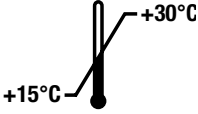













Atenção: manuseie os cartuchos com cuidado; as extremidades do selo podem ser cortantes.

Informações adicionais: os componentes do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification 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 utilize os cartuchos se o selo no cartucho não estiver intacto no momento 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		Não reutilizar
	Conserve entre +15 °C e +30 °C.		Fabricante
	Atenção		Inflamável
	Risco de saúde		Conteúdo suficiente para "n" testes
	Aviso. Perigo de entalamento.		Aviso. Riscos biológicos.
	Número de lote		Número de catálogo
	Conformidade Europeia		Representante autorizado

3. Finalidade prevista/Utilização prevista do produto

O Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit destina-se a ser utilizado, em conjunto com o Maxwell® CSC Instruments e com o método de purificação Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid, como um dispositivo médico (IVD) para diagnóstico in vitro para a realização do isolamento automático do ácido nucleico viral total de amostras de plasma humano, soro, meio de transporte viral ou saliva estabilizada. O ácido nucleico purificado é adequado para utilização em ensaios de diagnóstico in vitro com base na amplificação.

O Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit destina-se a ser utilizado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. A utilização fora deste intervalo de temperatura pode dar origem a resultados subótimos.

O Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit destina-se exclusivamente a utilização profissional. Os resultados do diagnóstico obtidos através da utilização de ácido nucleico purificado com este sistema devem ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos ou laboratoriais.

4. Limitações de utilização do produto

O desempenho do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit foi avaliado com soro, plasma, zaragatoas nasofaríngeas em Meio de Transporte Universal (UTM) para vírus e saliva estabilizada. O utilizador é responsável por validar a sua utilização para extrair de ácido nucleico viral de outros tipos de amostra.

Será necessário incluir os controlos apropriados em todas as aplicações de diagnóstico a jusante que utilizem ácido nucleico purificado com o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit. O utilizador é responsável por estabelecer as características de desempenho necessárias às aplicações de diagnóstico a jusante.

Poderá optar por adicionar controlos internos exógenos (IC) à amostra ou lisato. Determinados controlos de ácido nucleico inferiores a 100 bp poderão não ser purificados de forma eficaz utilizando o sistema.

5. Preparação da amostra

Materiais que devem ser fornecidos pelo utilizador

- Tubos para plasma, soro, UTM ou amostras de saliva estabilizada



Recomenda-se a observância de precauções relativas a patógenos no sangue no manuseamento de amostras derivadas de humanos.

No caso de amostras de plasma, colha o sangue em tubos Vacutainer® com anticoagulante EDTA ou ACD. Evite a utilização de heparina, uma vez que pode inibir amplificações a jusante.

As recomendações gerais a seguir apresentadas destinam-se à preparação e armazenamento de amostras (1,2):

1. Separe o plasma das células no prazo de 1 hora após a colheita do sangue com centrifugação a $1500 \times g$ durante 20 minutos a 25 °C e, em seguida, transferir a camada de plasma para um tubo limpo.
2. Separe o soro do sangue coagulado, centrifugando a $1000 \times g$ durante 10 minutos a 25 °C e, em seguida, decante para um tubo limpo.
3. No caso de zaragatoas em UTM, use apenas zaragatoas de fibra sintética com hastes plásticas. Não use zaragatoas de alginato de cálcio ou zaragatoas com hastes de madeira, visto que podem conter substâncias que tornam inativos alguns vírus e inibem os testes de PCR. Coloque as zaragatoas imediatamente em tubos estéreis contendo 2–3 ml do meio de transporte viral.

Guarde as amostras de plasma e soro a 2–8 °C durante um máximo de 24 horas, ou congele as amostras que não sejam processadas no prazo de 24 horas a –20 °C durante um máximo de 5 dias. Guarde o UTM e amostras de saliva estabilizada a 2–8 °C durante até 72 horas, ou congele as amostras a –70 °C. Evite a realização de ciclos congelação-descongelação repetidos e não guarde as amostras num congelador sem gelo. As condições específicas de colheita e armazenamento podem variar, dependendo do vírus isolado.

6. Antes de começar

Materiais que devem ser fornecidos pelo utilizador

- tubos de 1,5–2,0 ml para a incubação de amostras (por exemplo, ClickFit Microtube, 1,5 ml [Cat. # V4741]; recomendados para impedir a abertura da tampa durante o aquecimento)
- tubo cónico de 15 ml ou 50 ml para preparação da solução de lise
- agitador vortex de bancada
- pipetadores e pontas de pipeta para transferência de amostras para cartuchos de reagentes pré-cheios
- placa térmica ou banho de água a 56 °C

6.A. Preparação da solução de lise

Se o tampão de lise se apresentar turvo ou contiver precipitado, aqueça a 37–56 °C até clarear o tampão de lise.

Nota: prepare uma solução de lise fresca para cada lote de amostras conforme descrito na Tabela 2. Inverta o tubo para misturar.

Tabela 2. Preparar a solução de lise.

No caso de amostras de plasma ou soro de 100 µl e 200 µl ou 200 µl de UTM ou amostras de saliva estabilizada.

Reagente	Quantidade/reações	Reações (número a executar + 2)	Total
Tampão de lise ¹	200 µl	n + 2	200 µl × (n + 2)
Solução de proteinase K	20 µl	n + 2	20 µl × (n + 2)

No caso de 300 µl de amostras de plasma ou soro:

Reagente	Quantidade/reações	Reações (número a executar + 2)	Total
Tampão de lise ¹	300 µl	n + 2	300 µl × (n + 2)
Solução de proteinase K	30 µl	n + 2	30 µl × (n + 2)

¹Se for utilizado um controlo interno, este pode ser adicionado à solução de lise. Os controlos internos não são fornecidos com este kit.

Nota: alguns vírus respiratórios de tipos de amostra, como zaratogas nasofaríngeas, pode não exigir o uso da proteinase K.

6.B. Preparação de amostras para Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges

As amostras podem ser frescas ou congeladas. Descongele as amostras congeladas à temperatura ambiente ou em gelo e misture por rotação durante 10 segundos, antes de usar.

1. Pipete cada amostra de plasma ou soro ou 200 µl de UTM ou saliva estabilizada para dentro de um tubo de microcentrifugação de 1,5 ml ou 2 ml com tampa.
2. Adicione solução de lise preparada conforme descrito na Secção 6.A.
 - a. No caso de volumes de amostra de 100 µl ou 200 µl, adicione 220 µl de solução de lise.
 - b. No caso de um volume de amostra de 300 µl, adicione 330 µl de solução de lise.
3. Feche os tubos e agite por rotação durante 10 segundos.
4. Para amostras de soro, incube à temperatura ambiente (15–30 °C) durante 10 minutos e, em seguida, prossiga para o Passo 5.
5. Incube a 56 °C numa placa térmica ou banho de água, durante 10 minutos. Durante a incubação, prossiga para a Secção 6.C para preparar os cartuchos.

Nota: alguns vírus, tais como o vírus da hepatite B, podem requerer incubação a 80 °C para recuperação óptima do ácido nucleico devido à estrutura secundária do genoma viral.

6.C. Preparação do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge

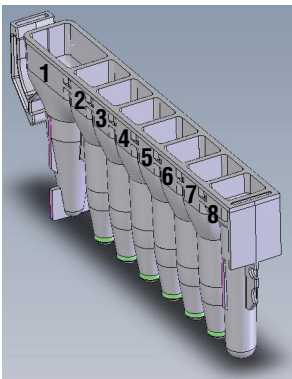
1. Troque de luvas antes de manusear os cartuchos, os êmbolos e os tubos de eluição (0,5 ml). Coloque os cartuchos a utilizar no(s) tabuleiro(s) da plataforma com o poço n.º 1 (o poço maior do cartucho) virado na direção contrária aos tubos de eluição. Pressione para baixo o cartucho de forma a encaixá-lo na respetiva posição. Remova cuidadosamente o selo, de forma retirar toda a película plástica da parte superior do cartucho. Certifique-se de que remove a totalidade da película aderente vedante e eventuais resíduos de adesivo, antes de colocar os cartuchos no instrumento.
2. Coloque um êmbolo no poço n.º 8 de cada cartucho.
3. Coloque um tubo de eluição vazio na posição do tubo de eluição de cada cartucho no(s) tabuleiro(s) da plataforma.

6.C. Preparação do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge (continuação)

4. Adicione 50 µl de Nuclease-Free Water ao fundo de cada tubo de eluição.
5. Centrifugue as amostras numa microcentrifugadora para recolher o líquido no fundo do tubo. Transfira o lisato da amostra para o poço n.º 1 (o poço maior) do cartucho.
6. Prossiga para a Secção 7, Configuração e execução do Maxwell® Instrument.

Notas:

1. 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 nos componentes do instrumento.
2. Utilize apenas os tubos de eluição de 0,5 ml fornecidos com o kit. Outros tubos poderão ser incompatíveis com o Maxwell® Instrument.



Adições do utilizador aos poços

1. Lisatos da amostra
8. Êmbolo CSC/RSC

Figura 1. Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge. A amostra pré-processada é adicionada ao poço n.º 1 e um êmbolo é adicionado ao poço n.º 8.

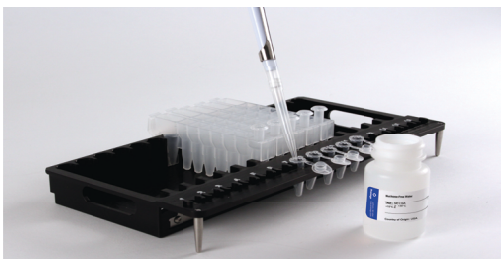


Figura 2. Instalação e configuração do(s) tabuleiro(s) de plataforma. A Nuclease-Free Water é adicionada aos tubos de eluição, conforme apresentado. Os êmbolos encontra-se no poço n.º 8 do cartucho.

7. Configuração e execução do Maxwell® Instrument

Consulte o Manual Técnico específico do seu Maxwell® Instrument (ver Tabela 1) para obter informações detalhadas.

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 arranca, executa uma autoteste e coloca todas as peças móveis na respetiva posição inicial.
2. Toque em **Iniciar** para iniciar o processo de execução de um método.
3. Digitalize ou introduza o código de barras do método no canto superior direito da etiqueta do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit para selecionar automaticamente o método a executar (Figura 3).

Nota: o código de barras do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit é necessário para a purificação nos Maxwell® CSC Instruments. A etiqueta do kit contém dois códigos de barras. O código de barras do método é indicado na Figura 3 abaixo. Caso o código de barras não possa ser digitalizado, contacte o nosso centro de assistência, Promega Technical Services.

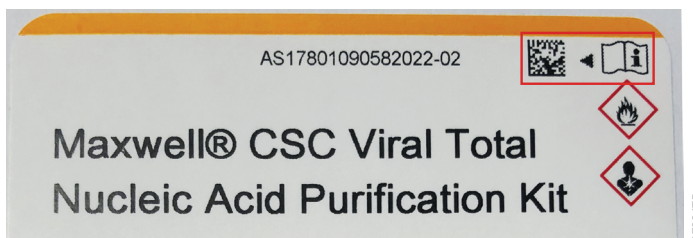


Figura 3. Etiqueta do kit que indica o código de barras do método a digitalizar. Digitalize o código de barras, exibido na caixa vermelha, no canto superior direito da etiqueta do kit, para começar a executar a purificação.

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 **Prosseguir** para continuar.

Nota: quando estiver a usar os Maxwell® Instruments de 48 posições, toque no botão **Anterior** e **Posterior** para marcar ou desmarcar as posições dos cartuchos em cada tabuleiro de plataforma.

7. Configuração e execução do Maxwell® Instrument (continuação)

- Depois de abrir a porta, confirme que todos os itens da Lista de Verificação de Extração foram realizados. Verifique se as amostras pré-processadas 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 Nuclease-Free Water e se os êmbolos estão colocados no poço n.º 8. Transfira o(s) tabuleiro(s) da plataforma que contém os cartuchos preparados para a plataforma do Maxwell® Instrument.

Inserir o tabuleiro 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 no(s) tabuleiro(s) da plataforma Maxwell® de 24 posições para determinar se devem ser colocadas na frente ou atrás do instrumento.

- Confirme se todos os pré-processamentos indicados foram realizados e toque em **Iniciar** para fechar a porta do instrumento e iniciar o processamento.

Nota: ao utilizar o Maxwell® Instrument de 48 posições, se o Sistema de Visão tiver sido ativado, o(s) tabuleiro(s) da plataforma serão digitalizados à medida que a porta se retrai. Quaisquer erros na configuração do tabuleiro de plataforma (por exemplo, êmbolos não estão 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 do tabuleiro da plataforma e iniciar a extração.





Aviso: perigo de entalamento.

O Maxwell® Instrument irá iniciar imediatamente a execução de purificação. O ecrã irá apresentar informações incluindo o utilizador que iniciou a execução, o atual passo do método que está a ser realizado e o tempo restante aproximado da execução.

Notas:

- Pressionar o botão **Abortar** irá abandonar a execução. Todas as amostras de uma execução abortada serão perdidas.
- 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**. As amostras serão perdidas. Não tente voltar a purificar as amostras se uma execução do instrumento tiver sido abortada.

7. 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 do Maxwell® Instrument (Tabela 1) para desempenhar um processo de **Limpeza** para tentar descarregar os êmbolos.
8. Remova o(s) tabuleiro(s) de plataforma do instrumento. Retire os tubos de eluição contendo ácido nucleico viral total e feche os tubos. Se estiver presentes partículas paramagnéticas nos tubos de eluição, centrifugue a $10.000\text{--}20.000 \times g$ durante 30 segundos até 1 minuto. Após a conclusão da execução, será apresentado o relatório de execução da extração. No ecrã "Vista de Relatório", pode imprimir ou exportar este relatório ou ambos.
-  9. Remova os cartuchos e os êmbolos do tabuleiro de plataforma e elimine os resíduos perigosos cumprindo as diretrizes recomendadas da sua instituição. Não reutilize os cartuchos de reagentes, êmbolos ou tubos de eluição.
 **Nota:** certifique-se de que as amostras foram removidas antes de realizar qualquer tratamento por luz ultravioleta (UV) necessário, para evitar danificar o ácido nucleico.

8. Armazenar o ácido nucleico eluído

Caso as amostras não sejam processadas imediatamente, aguarde o DNA eluído em gelo, ou a 4 °C até um máximo de 24 horas. Para um tempo de armazenamento superior, congele a –20 °C ou –70 °C. A estabilidade do RNA viral é inferior, devendo ser preferencialmente testada em ensaios a jusante, imediatamente após o isolamento. Em alternativa, guarde o RNA viral eluído a –70 °C. Consulte as instruções para obter informações sobre aplicações a jusante relativas às recomendações de armazenamento e manuseamento de amostras específicas.

9. Avaliação do desempenho analítico

A avaliação do desempenho analítico do Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit foi realizada com os instrumentos Maxwell® CSC e Maxwell® CSC 48 utilizando amostras em meio de transporte universal (UTM), de saliva e amostras.

9.A. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de RNA

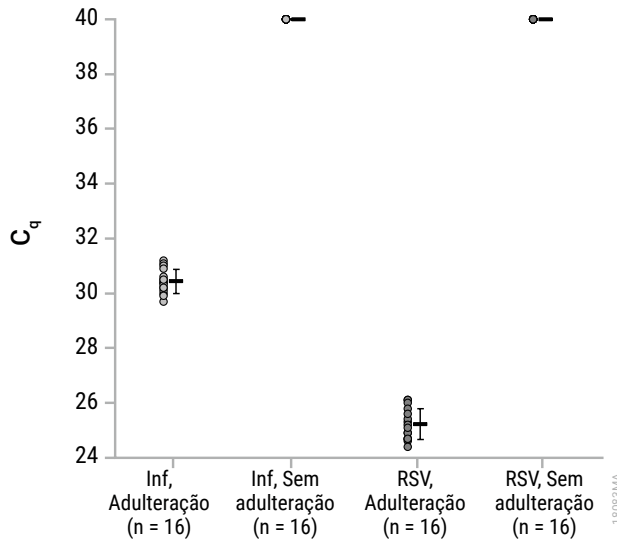


Figura 4. Os valores de RT-qPCR C_q de eluatos preparados a partir do meio de transporte universal (UTM). As amostras com "adulteração" foram adulteradas com UTM com vírus de influenza inativo (Inf) ou vírus sincicial respiratório (RSV). Nenhuma amostra com "adulteração" foram controles UTM sem nenhum vírus inativo adicionado. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_q da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. Às amostras sem C_q foi atribuído um C_q de 40 para fins de cálculo da média. Os eluatos da amostra com adulteração de influenza tinham uma média de C_q de 30,4 e os eluatos da amostra com adulteração de RSV tinham uma média de C_q de 25,2. Os controles sem nenhuma de adulteração tinham um C_q de 40.

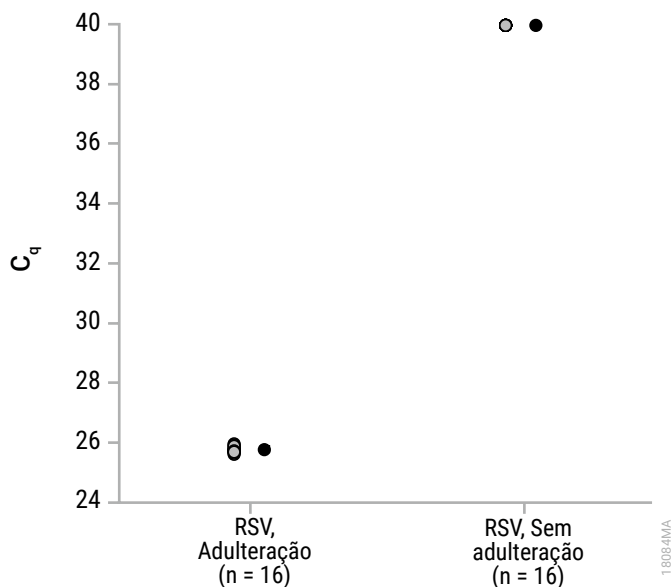


Figura 5. Os valores de RT-qPCR C_q de eluatos preparados a partir de saliva. As amostras com "adulteração" foram adulteradas com saliva com vírus sincicial respiratório (RSV). Nenhuma amostra com "adulteração" foram saliva sem nenhum vírus inativo adicionado. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_q da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. Às amostras sem C_q foi atribuído um C_q de 40 para fins de cálculo da média. Os eluatos da amostra com adulteração de RSV tinham uma média de C_q de 25,8 e os controlos sem adulteração tinham um C_q de 40.

9.A. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de RNA (continuação)

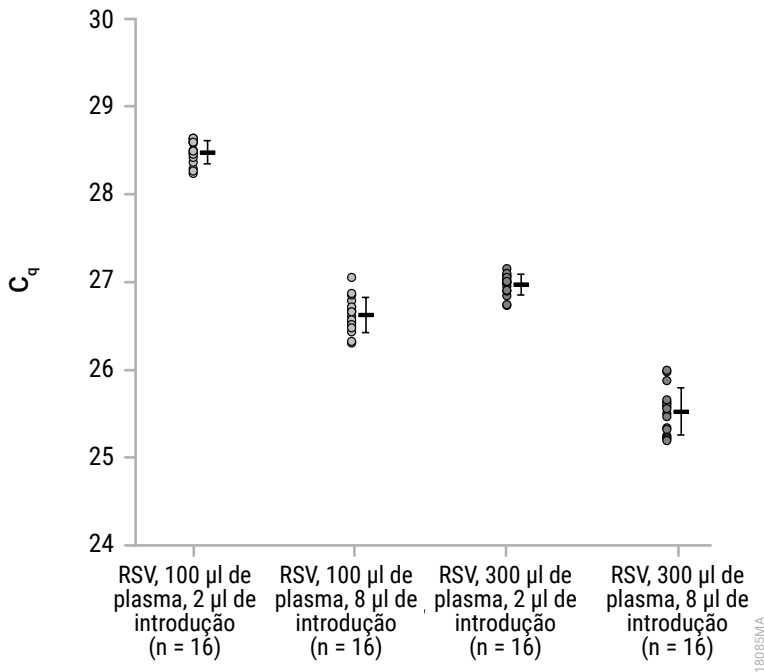


Figura 6. Os valores de RT-qPCR C_q de eluatos preparados a partir de plasma. As amostras de plasma (100 µl ou 300 µl) foram adulteradas com vírus sincicial respiratório (RSV) e utilizadas depois para purificação. A inibição foi avaliada utilizando 2 µl e 8 µl como uma diferença de introdução quádrupla que deve resultar numa diferença de C_q de cerca de 2 ciclos. Os eluatos (introdução de 2 µl ou 8 µl) de cada purificação de plasma foram amplificados por RT-qPCR. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_q da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. A amostra de plasma de 100 µl com introdução de 2 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 28,5 e introdução de 8 µl em RT-qPCR tinha uma média de 26,6. A amostra de plasma de 300 µl com introdução de 2 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 27,0 e introdução de 8 µl em RT-qPCR tinha uma média de 25,5.

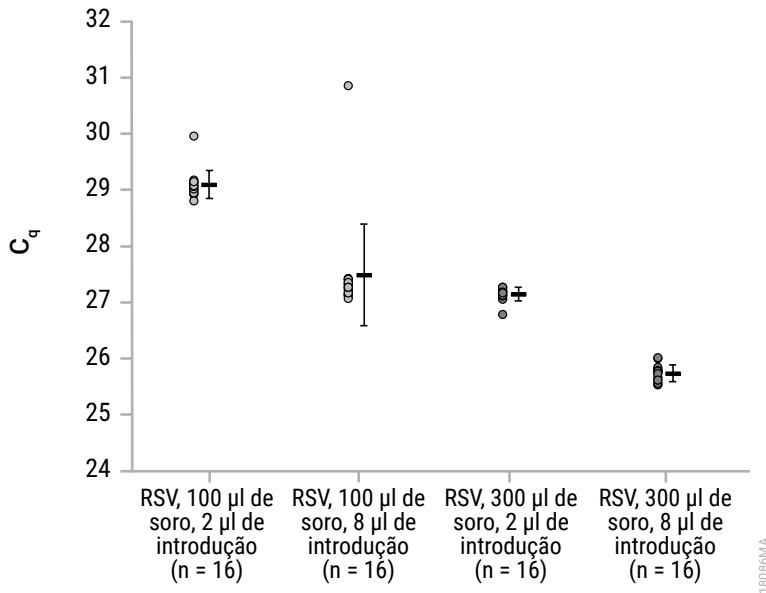


Figura 7. Os valores de RT-qPCR C_q de eluatos preparados a partir de soro. As amostras de soro (100 µl ou 300 µl) foram adulteradas com vírus sincicial respiratório (RSV) e utilizadas depois para purificação. A inibição foi avaliada utilizando 2 µl e 8 µl como uma diferença de introdução quádrupla que deve resultar numa diferença de C_q de cerca de 2 ciclos. Os eluatos (introdução de 2 µl ou 8 µl) de cada purificação de soro foram amplificados por RT-qPCR. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_q da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. A amostra de soro de 100 µl com introdução de 2 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 29,1 e introdução de 8 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 27,5. A amostra de soro de 300 µl com introdução de 2 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 27,1 e introdução de 8 µl em RT-qPCR tinha uma média de C_q de 25,7.

9.B. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de DNA

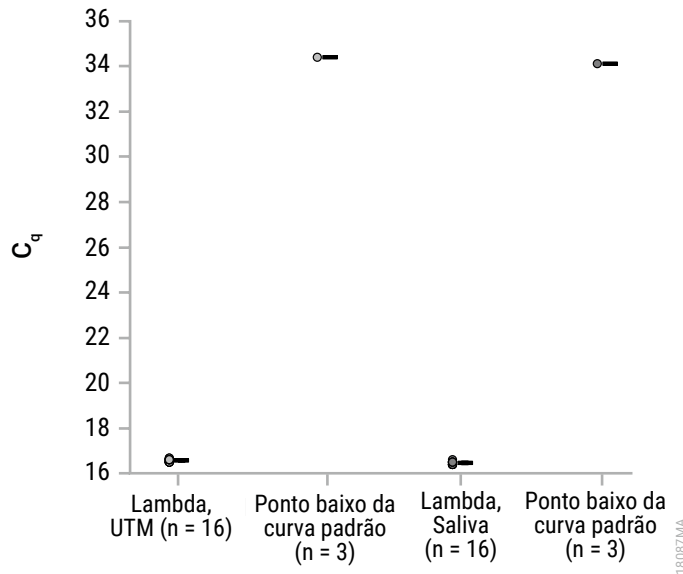


Figura 8. Os valores de qPCR C_q de eluatos preparados a partir de UTM ou saliva. As amostras de UTM ou saliva foram adulteradas com um fago lambda para amostras de "lambda". O ponto baixo da curva padrão ("Std.") é apresentado como um controle de quantificação relativa. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_q da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. Os eluatos da amostra de UTM com adulteração de lambda tinham uma média de C_q de 16,6 e os eluatos da amostra de saliva com adulteração de lambda tinham uma média de C_q de 16,5. O ponto mais baixo na curva padrão de lambda na experiência de UTM tinha um C_q de 34,4, e na experiência de saliva, o C_q do ponto mais baixo era de 34,1.

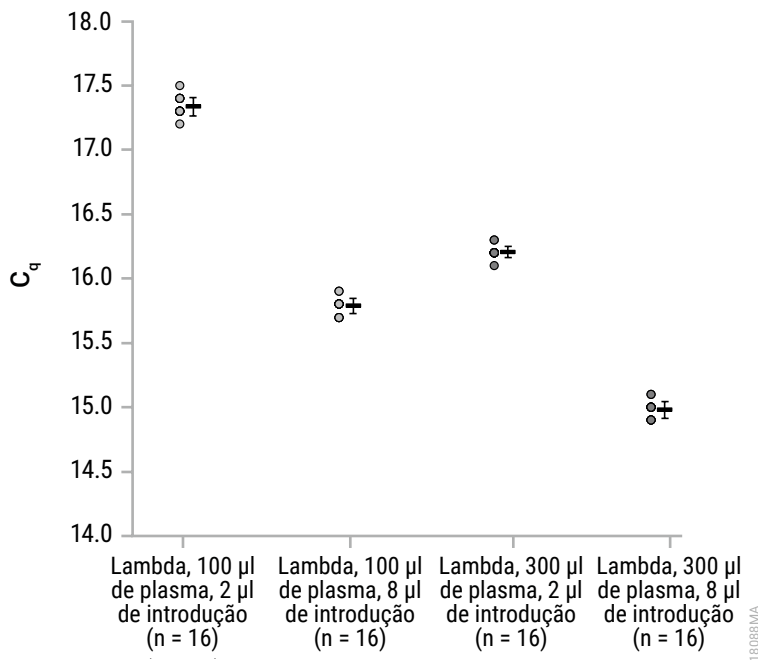


Figura 9. Os valores de qPCR C_t de eluatos preparados a partir de plasma. As amostras de plasma (100 µl ou 300 µl) foram adulteradas com fago lambda e utilizadas depois para purificação. A inibição foi avaliada utilizando 2 µl e 8 µl como uma diferença de introdução quádrupla que deve resultar numa diferença de C_t de cerca de 2 ciclos. Os eluatos (introdução de 2 µl ou 8 µl) de cada purificação de plasma foram amplificados por qPCR. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_t da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. A amostra de plasma de 100 µl com introdução de 2 µl em qPCR tinha uma média de C_t de 17,3 e introdução de 8 µl em qPCR tinha uma média de 15,8. A amostra de plasma de 300 µl com introdução de 2 µl em qPCR tinha uma média de C_t de 16,2 e introdução de 8 µl em qPCR tinha uma média de 15,0.

9.B. Quantidade, qualidade e amplificabilidade de DNA (continuação)

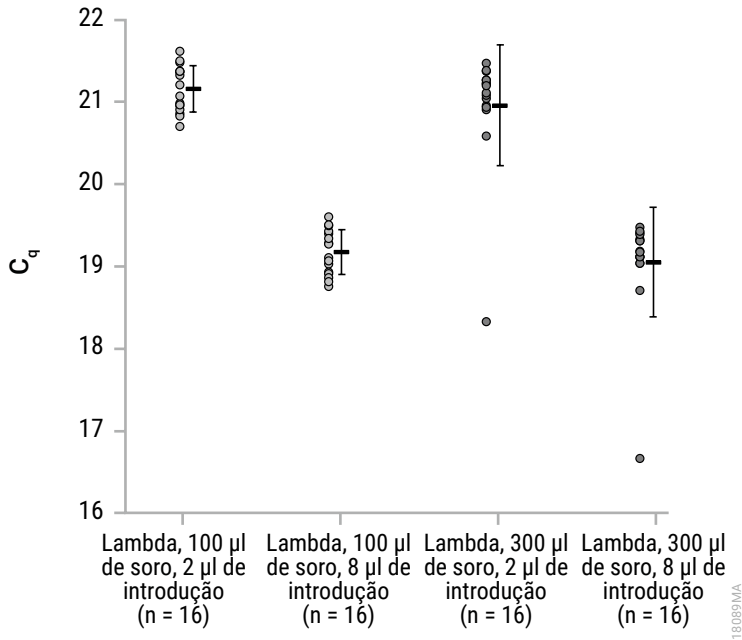


Figura 10. Os valores de qPCR C_t de eluatos preparados a partir de soro. As amostras de soro (100 µl ou 300 µl) foram adulteradas com fago lambda e utilizadas depois para purificação. A inibição foi avaliada utilizando 2 µl e 8 µl como uma diferença de introdução quádrupla que deve resultar numa diferença de C_t de cerca de 2 ciclos. Os eluatos (introdução de 2 µl ou 8 µl) de cada purificação de soro foram amplificados por qPCR. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os valores de C_t da amostra individual, ao passo que a média com o desvio padrão é apresentada à direita. A amostra de soro de 100 µl com introdução de 2 µl em qPCR tinha uma média de C_t de 21,2 e introdução de 8 µl em qPCR tinha uma média de 19,2. A amostra de soro de 300 µl com introdução de 2 µl em qPCR tinha uma média de C_t de 21,0 e introdução de 8 µl em qPCR tinha uma média de 19,1.

9.C. Reprodutibilidade

Tabela 3. Valores de C_q em RT-qPCR. Os eluatos foram preparados extraindo o ácido nucleico viral total de amostras PBS adulteradas com uma transcrição invitro. Três lotes de kit, três utilizadores e três execuções de instrumento foram testados para examinar a reprodutibilidade inter e intra execução. Cada conjunto de amostras continha 8 replicados. Os resultados são apresentados na tabela.

Variável		C_q médio (Ciclos) n = 8	Desvio padrão relativo (Ciclos)
Variabilidade entre lotes	Lote A	30,9	0,4
	Lote B	30,9	0,2
	Lote C	31,1	0,5
Média de três lotes diferentes		31,0	0,4
Variabilidade entre utilizadores	Utilizador A	32,4	0,1
	Utilizador B	31,7	0,3
	Utilizador C	31,7	0,5
Média de três utilizadores diferentes		31,9	0,4
Variabilidade intra execução (1 utilizador, 3 execuções do instrumento)	Execução 1	30,9	0,4
	Execução 2	31,7	0,3
	Execução 3	31,0	0,5
Média de três execuções de extração diferentes		31,2	0,5

9.D. Substâncias interferentes (Inibição)

Tabela 4. Valores de C_q em RT-qPCR para RNA viral. O efeito de substâncias interferentes foi testado procurando a inibição da amplificação ao comparar o C_q obtido através de um aumento quádruplo do ácido nucleico introduzido no C_q da introdução original. O RNA viral foi purificado através de UTM adulterado com vírus respiratório (RSV) inativo e pré-processado sem aquecimento ou tratamento com proteinase K (PK). Os resultados são apresentados para RT-qPCR contendo 2 μ l ou 8 μ l de RNA viral. A inibição foi avaliada utilizando 2 μ l e 8 μ l como uma diferença de introdução quádrupla que deve resultar numa diferença de C_q de cerca de 2 ciclos. O ΔC_q entre as introduções de 2 μ l e 8 μ l atingiram uma média de 1,2 no Maxwell[®] CSC Instrument (Cat.# AS6000) e atingiram uma média de 1,5 no Maxwell[®] CSC 48 Instrument (Cat.# AS8000).

Instrumento	ID da amostra	2 μ l C_q (Ciclos)	8 μ l C_q (Ciclos)	ΔC_q de 2 μ l e 8 μ l (Ciclos)	NTC C_q * (Ciclos)	ΔC_q de 2 μ l e NTC (Ciclos)
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
	Média	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
	Média	28,1	26,6	1,4	40	11,9

*Todos os controlos sem modelo (NTC) não tinham qualquer valor de C_q e foi-lhes atribuído um valor de C_q de 40 ciclos.

9.E. Contaminação cruzada

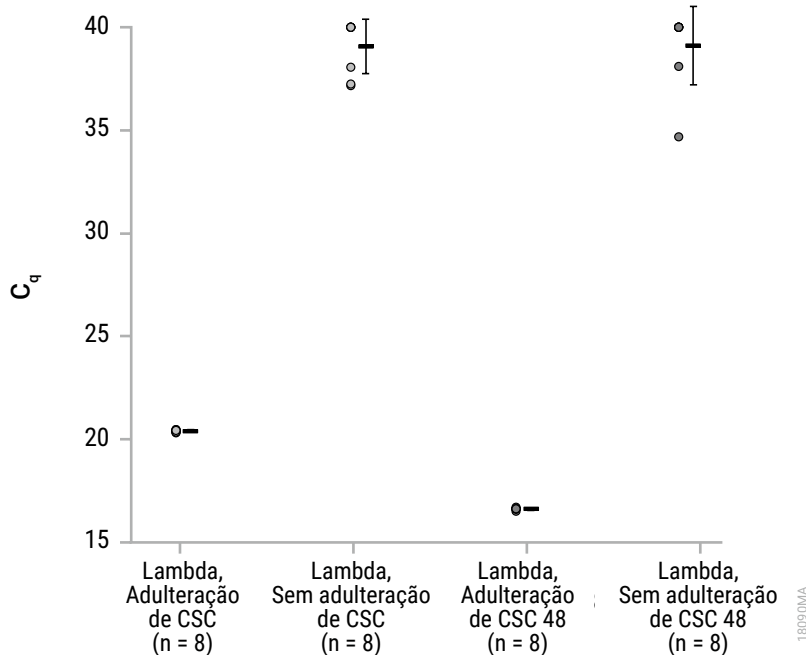


Figura 11. Os valores de C_q de DNA purificado a partir do meio de transporte universal (UTM). O DNA foi purificado através de amostras de UTM de DNA com e sem lambda adicionado utilizando o Maxwell® CSC Total Viral Nucleic Acid Kit e o Maxwell® CSC e o Maxwell® CSC 48 Instruments. As amostras de DNA com e sem lambda adicionado foram alternadas na plataforma dos instrumentos. Os resultados são apresentados para qPCRs contendo 2 µl de DNA com lambda. No caso de cada conjunto de dados, os pontos à esquerda representam os replicados individuais, ao passo que o desvio padrão é apresentado à direita. O C_q médio das amostras adulteradas purificadas no Maxwell® CSC e no Maxwell® CSC 48 instruments era de 20,4 e 16,6, respectivamente. Às amostras sem C_q foi atribuído um C_q de 40 para fins de cálculo da média. O C_q médio das amostras negativas era de 39,1 em cada uma das experiências.

10. Avaliação do desempenho clínico

O desempenho clínico foi avaliado extraindo RNA ou DNA viral dos tipos de amostras clínicas específicos utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e o Maxwell® CSC 48 Instrument, e amplificando o ácido nucleico num ensaio clinicamente relevante.

10.A. Extração de RNA viral de amostras de UTM

Tabela 5. RNA viral de SARS-CoV-2 em amostras de UTM. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de UTM de SARS-CoV-2 foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument. O RNA também foi purificado a partir destas amostras utilizando o método de purificação padrão do laboratório para fins de referência. Nove em 10 amostras positivas e 10 em 10 amostras negativas apresentaram resultados correspondentes entre o Maxwell® System e o método de referência de laboratório. Todas as amostras Maxwell® apresentaram resultados correspondentes ao estados presumido das amostras, com base numa execução de teste SARS-CoV-2 anterior feita na amostra.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System	Método de referência de laboratório	Maxwell® correspondente ao método de referência	Maxwell® correspondente ao estado presumido
21432233	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21880339	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21202162	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21213630	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21590664	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21315054	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21823123	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21180346	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21102471	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21147196	Positivo	Positivo	Negativo	Não	Sim
21182913	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21296504	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21189671	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21676213	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21396949	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21856471	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21152493	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21960831	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21618705	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21530939	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim

10.B. Extração de RNA viral de amostras de saliva

Tabela 6. RNA viral purificado de amostras de saliva de SARS-CoV-2. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de saliva de SARS-CoV-2 foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument. O RNA também foi purificado a partir destas amostras utilizando o método de purificação padrão do laboratório para fins de referência. Os resultados de todas as amostras Maxwell® apresentaram correspondência entre o Maxwell® System e o método de referência de laboratório. Todas as amostras Maxwell® System apresentaram resultados correspondentes ao estados presumido das amostras, com base numa execução de teste SARS-CoV-2 anterior feita na amostra.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System	Método de referência de laboratório	Maxwell® correspondente ao método de referência	Maxwell® correspondente ao estado presumido
12204502	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12207992	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12200960	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12203868	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12206897	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12200453	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12208750	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12209126	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12201677	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21744360	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
12204630	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12203230	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12202781	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12202953	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12204617	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12206702	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12209395	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12201994	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12205532	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim
12206575	Negativo	Negativo	Negativo	Sim	Sim

10.C. Extração de RNA viral de amostras de plasma

Tabela 7. Purificação RNA do vírus da febre de dengue para amostras de plasma. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de plasma de vírus da febre de dengue foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument. O RNA também foi purificado a partir destas amostras utilizando o método de purificação padrão do laboratório para fins de referência. Dez em 10 amostras positivas e 8 em 10 amostras negativas apresentaram resultados correspondentes entre o Maxwell® System e o método de referência de laboratório. Todas as amostras Maxwell® apresentaram resultados correspondentes ao estado presumido das amostras, com base numa execução de teste de febre de dengue anterior feita na amostra.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System		Método de referência de laboratório	Maxwell® correspondente ao método de referência	Maxwell® correspondente ao estado presumido
		Introdução de 100 µl	Introdução de 300 µl	Introdução de 300 µl		
21364611	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21964895	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21836674	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21485868	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21949507	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21232505	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21092389	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21443444	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21839389	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21960608	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21017143	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21478268	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21598671	Negativo	NT*	Negativo	Positivo	Não	Sim
21363671	Negativo	NT*	Negativo	Positivo	Não	Sim
21323109	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21004789	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21893607	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21993638	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21121581	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21514345	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim

NT*: não testado.

10.D. Extração de DNA viral de amostras de plasma

Tabela 8. DNA de Citomegalovirus (CMV) em amostras de plasma. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de plasma de CMV foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument. O DNA também foi purificado a partir destas amostras utilizando o método de purificação padrão do laboratório para fins de referência. Os resultados de todas as amostras Maxwell® apresentaram correspondência entre o Maxwell® System e o método de referência de laboratório. Todas as amostras Maxwell® apresentaram resultados correspondentes aos estados presumidos das amostras, com base numa execução de teste CMV anterior feita na amostra.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System		Método de referência de laboratório	Maxwell® correspondente ao método de referência	Maxwell® correspondente ao estado presumido
		Introdução de 100 µl	Introdução de 300 µl	Introdução de 300 µl		
38375075	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
38535155	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
37293873	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
37271420	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
38133737	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
38212566	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
38228092	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
37975220	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
37924077	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
38757118	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
30615407	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
23916496	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
22380697	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
33545486	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
40639511	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
40346295	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21423543	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
20341215	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
215139202	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
40503484	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim

NT*: não testado.

10.E. Extração de RNA viral de amostras de soro

Tabela 9. Purificação RNA do vírus da febre de dengue para amostras de soro. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de soro de vírus da febre de dengue foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument. O RNA também foi purificado a partir destas amostras utilizando o método de purificação padrão do laboratório para fins de referência. Os resultados de todas as amostras apresentaram correspondência entre o Maxwell® System e o método de referência de laboratório. Todas as amostras Maxwell® System apresentaram resultados correspondentes ao estado presumido das amostras, com base numa execução de teste de febre de dengue anterior feita na amostra.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System		Método de referência de laboratório	Maxwell® correspondente ao método de referência	Maxwell® correspondente ao estado presumido
		Introdução de 100 µl	Introdução de 300 µl	Introdução de 300 µl		
21837552	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21923921	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21489704	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21125739	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21095976	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21783122	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21936932	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21738559	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21176258	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21542794	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Sim	Sim
21441970	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21090946	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21247913	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21109632	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21792527	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21905523	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21165524	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21510977	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21826187	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim
21117238	Negativo	NT*	Negativo	Negativo	Sim	Sim

NT*: não testado.

10.F. Reprodutibilidade

Tabela 10. Reprodutibilidade da Purificação RNA. Dez amostras positivas e 10 amostras negativas de plasma de vírus da febre de dengue foram purificadas utilizando o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit e um Maxwell® CSC 48 Instrument por dois dispositivos de teste. Os resultados de todas as amostras apresentaram correspondência entre o Dispositivo de teste A e o Dispositivo de teste B.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System		Resultado do dispositivo de teste A corresponde ao resultado do dispositivo de teste B
		Dispositivo de teste A	Dispositivo de teste B	
21364611	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21964895	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21836674	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21485868	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21949507	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21232505	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21092389	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21443444	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21839389	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21960608	Positivo	Positivo	Positivo	Sim
21017143	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21478268	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21598671	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21363671	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21323109	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21004789	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21893607	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21993638	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21121581	Negativo	Negativo	Negativo	Sim
21514345	Negativo	Negativo	Negativo	Sim

10.G. Contaminação cruzada

Tabela 11. DNA viral de amostras de plasma de CMV. Nove amostras de plasma de CMV presumidas negativas foram alternadas com 10 amostras de plasma de CMV positivas na plataforma do Maxwell® CSC 48 instrument. Verificou-se que nove em 9 amostras negativas alternadas com amostras positivas eram negativas, apresentando que não havia qualquer contaminação cruzada detetável.

ID da amostra	Estado presumido	Maxwell® System	
		Introdução de C _q de 300 µl	Resultado de CMV
30615407	Negativo	Sem C _q	Negativo
23916496	Negativo	Sem C _q	Negativo
22380697	Negativo	Sem C _q	Negativo
33545486	Negativo	Sem C _q	Negativo
40639511	Negativo	Sem C _q	Negativo
40346295	Negativo	Sem C _q	Negativo
21423543	Negativo	Sem C _q	Negativo
20341215	Negativo	Sem C _q	Negativo
40503484	Negativo	Sem C _q	Negativo

11. 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

Menor recuperação de ácido nucleico viral que o esperado (por exemplo, para controlos internos fornecidos pelo cliente)

Causas e observações

As amostras iniciais foram comprometidas. Certifique-se de que as amostras foram recolhidas, enviadas e armazenadas de acordo com as diretrizes recomendadas.

Para amostras de RNA viral, certifique-se de que são utilizadas condições isentas de RNase na preparação das amostras e na configuração do ensaio, incluindo tubos e pontas de pipeta isentas de RNase.

O passo de processamento foi inferior a óptimo.

- Prepare tampão de lise e proteinase K imediatamente antes de usar e deite fora as soluções não usadas cumprindo as diretrizes recomendadas da sua instituição.
- Utilize apenas o tampão de lise fornecido com o kit.
- A mistura incompleta pode reduzir a lise. Misture por rotação a amostra com a solução de lise, conforme recomendado.
- Realize um tratamento de protease incompleto para remover cápsides virais. Verifique a temperatura da placa térmica ou banho de água e incube durante o tempo recomendado.
- A incubação durante 10 minutos à temperatura ambiente antes da incubação a 56 °C pode melhorar a recuperação de algumas amostras de plasma.
- Alguns vírus podem requerer temperaturas de incubação superiores.
- A adição de uma quantidade de amostra superior ao recomendado pode reduzir a recuperação do ácido nucleico.

Menor recuperação de ácido nucleico viral que o esperado (por exemplo, para controlos internos fornecidos pelo cliente)

Verifique se foi adicionado um êmbolo ao cartucho.

Certifique-se de que todos os cartuchos estão correctamente encaixados no tabuleiro da plataforma, antes de processar.

Problemas relacionados com armazenamento pós-purificação.

- Retire os eluatos e guarde à temperatura recomendada imediatamente após a execução do Maxwell® Instrument.
- Não sujeite os eluatos a múltiplos ciclos de congelação-descongelação antes de ensaios a jusante.

Os controlos de ácido nucleico inferiores a 100 bp poderão não ser purificados de forma eficaz utilizando o sistema. O utilizador é responsável por estabelecer o desempenho de qualquer controlo interno.

11. Resolução de Problemas (continuação)

Sintomas	Causas e observações
Fraca amplificação	<p>O transporte de partículas paramagnéticas pode causar interferência nas reações de amplificação. Retire as partículas do tubo de eluição por centrifugação.</p> <p>Foi adicionado o tampão de eluição incorrecto. Utilize apenas a Nuclease-Free Water fornecida com o Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit.</p>
Contaminação cruzada	<p>Utilize pontas de pipeta novas para cada amostra para evitar contaminação entre as amostras.</p> <p>Evite salpicar quando adicionar lisatos aos cartuchos. Os cartuchos podem ser removidos do tabuleiro da plataforma para adição das amostras, de forma a minimizar a contaminação dos cartuchos adjacentes.</p>
O instrumento não consegue agarrar os êmbolos	<p>Certifique-se de que está a utilizar um kit de química específico para CSC; os êmbolos para os Kits de Reagentes Maxwell® CSC são específicos para os Maxwell® Instruments suportados para este kit.</p>

Qualquer incidente grave que ocorra relacionado com o dispositivo que conduza, ou possa conduzir, a morte ou ferimentos graves de um utilizador ou paciente deverá ser comunicado imediatamente ao fabricante. Os utilizadores que se encontrem na União Europeia também deverão reportar incidentes graves à Autoridade Competente no país onde o utilizador e/ou o paciente se encontrem.

12. Bibliografia

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

13. Produtos Relacionados

Produto	Tamanho	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	1 de cada	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	1 de cada	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50 pk	1 de cada	AS1331
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
ClickFit Microtube, 1,5 ml	1000/pacote	V4741

Maxwell® CSC Reagent Kits

Para obter uma lista dos Kits de Purificação Maxwell® CSC disponíveis, visite: www.promega.com

14. 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 9 e 10 adicionadas e secções subsequentes renumeradas.
3. Documento atualizado em conformidade com a Regulamentação (UE) 2017/746 sobre dispositivos médicos para diagnóstico in vitro.

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

© 2020–2022 Promega Corporation. Todos os direitos reservados.

Maxwell é uma marca comercial registada da Promega Corporation.

Vacutainer é uma marca comercial registada da Becton, Dickinson and Company.

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.