



MANUAL TÉCNICO

Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Instrucciones de uso del producto
AS1780

Precaución: Manipule los cartuchos con cuidado, los bordes del sistema de sellado podrían estar afilados.



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Alemania



INSTRUCCIONES DE USO
DEL PRODUCTO
AS1780



Revisión 10/22
TM624

Maxwell[®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Toda la documentación técnica está disponible en: www.promega.com/protocols/
 Visite el sitio web para verificar que está utilizando la versión más actualizada de este manual técnico.
 Si tiene alguna pregunta sobre el uso de este sistema, póngase en contacto con Promega Technical Services: techserv@promega.com

1. Descripción	2
2. Componentes del producto, condiciones de almacenamiento y leyenda de símbolos.....	3
3. Finalidad del producto/uso previsto	4
4. Limitaciones de uso del producto	5
5. Preparación de la muestra	5
6. Antes de empezar	6
6.A. Preparación de la solución lítica	6
6.B. Preparación de la muestra para los Maxwell [®] Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges.....	7
6.C. Preparación del Maxwell [®] CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge.....	7
7. Configuración y ejecución del Maxwell [®] Instrument.....	9
8. Almacenamiento de ácido nucleico eluido	11
9. Evaluación del rendimiento analítico	11
9.A. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ARN.....	12
9.B. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ADN.....	16
9.C. Reproducibilidad.....	19
9.D. Sustancias interferentes (inhibición).....	20
9.E. Contaminación cruzada.....	21
10. Evaluación del rendimiento clínico	22
10.A. Extracción del ARN viral de las muestras de UTM.....	22
10.B. Extracción del ARN viral de las muestras de saliva	23
10.C. Extracción del ARN viral de las muestras de plasma	24
10.D. Extracción del ADN viral de las muestras de plasma.....	25
10.E. Extracción del ARN viral de las muestras de suero	26
10.F. Reproducibilidad.....	27
10.G. Contaminación cruzada	28
11. Solución de problemas	29

12. Bibliografía	31
13. Productos relacionados	31
14. Resumen de las modificaciones	31

El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit solo está disponible en algunos países.

1. Descripción

El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit^(a) se utiliza con los Maxwell® Instruments especificados en la tabla 1 para proporcionar un método fácil para la preparación eficiente y automatizada de muestras y la purificación de ácido nucleico total viral. Los Maxwell® CSC Instruments se han diseñado para usarse con cartuchos de reactivos predispensados y procedimientos de purificación preprogramados, para una máxima sencillez y comodidad. El método Maxwell® para el CSC Viral Total Nucleic Acid Kit puede procesar desde una hasta el máximo número de muestras del Maxwell® Instrument en aproximadamente 30 minutos. El bajo volumen de elución de 50 µl da como resultado un ácido nucleico purificado concentrado para aplicaciones posteriores como la PCR cuantitativa (qPCR) o la RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR). Tras una breve lisis inicial, la muestra se añade al Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge. Además, el resto del proceso está totalmente automatizado.

Tabla 1. Instrumentos compatibles

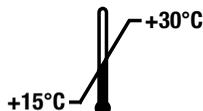
Instrumento	Cat.#	Manual técnico
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Principio del método: El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit purifica las muestras mediante partículas paramagnéticas, que proporcionan una fase sólida móvil para optimizar la recogida de muestras, el lavado y la purificación del ácido nucleico. Los Maxwell® Instruments son instrumentos de manipulación de partículas magnéticas que unen eficazmente los ácidos nucleicos a la partícula paramagnética en el primer pocillo de un cartucho precargado. Las muestras se procesan a través de una serie de lavados antes de que se eluya el ácido nucleico total.

2. Componentes del producto, condiciones de almacenamiento y leyenda de símbolos

PRODUCTO	TAMAÑO	CAT.#
Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	48 preps	AS1780

Para uso en diagnóstico in vitro. Solo para uso profesional. Suficiente para 48 aislamientos. Los cartuchos son de un solo uso.



Incluye:

- 20 ml Lysis Buffer
- 2 × 1 ml Proteinase K (PK) Solution
- 50 CSC/RSC Plungers
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCA)
- 50 Elution Tubes (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Condiciones de almacenamiento: Almacene los componentes a temperatura ambiente (de +15 °C a +30 °C).



Información de seguridad: Los cartuchos contienen etanol, isopropanol y clorhidrato de guanidina.

El etanol y el isopropanol deben considerarse inflamables, dañinos e irritantes. El clorhidrato de guanidina debe considerarse tóxico, dañino e irritante. Consulte la SDS para ver la información de seguridad detallada.



Los cartuchos están diseñados para su uso con sustancias potencialmente infecciosas. Debe llevar la protección adecuada (por ejemplo, guantes y gafas de seguridad) al manipular sustancias infecciosas. Siga las directrices institucionales de manipulación y eliminación de todas las sustancias infecciosas utilizadas en el sistema.

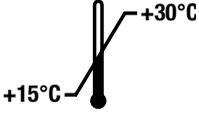


Precaución: Maneje los cartuchos con cuidado, los bordes podrían estar afilados.

Información adicional: Los componentes del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit son aptos para el uso conjunto y se han sometido a las pruebas de control de calidad pertinentes. No se recomienda mezclar componentes de kits distintos. Utilice únicamente los componentes proporcionados en el kit. No utilice los cartuchos si el sellado no está intacto al recibirlo. Para obtener información de seguridad adicional, consulte la ficha técnica de seguridad disponible en: www.promega.com

2. Componentes del producto, condiciones de almacenamiento y leyenda de símbolos (continuación)

Leyenda de símbolos

Símbolo	Explicación	Símbolo	Explicación
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		No reutilizar
	Se debe almacenar entre +15 °C y +30 °C.		Fabricante
	Precaución		Inflamable
	Riesgo para la salud		Válido para “n” pruebas
	Advertencia. Peligro de aprisionamiento.		Advertencia. Riesgos biológicos.
	Código de lote		Número de catálogo
	Conformidad europea		Representante autorizado

3. Finalidad del producto/uso previsto

El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit está diseñado para usarse, junto con los Maxwell® CSC Instruments y el método de purificación Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid, como producto sanitario de diagnóstico in vitro (IVD) para realizar el aislamiento automatizado del ácido nucleico viral total a partir de muestras de plasma humano, suero, medio de transporte viral o saliva estabilizada. El ácido nucleico purificado es adecuado para el uso en análisis de diagnóstico in vitro basados en amplificación.

El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit está diseñado para emplearse a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C. El uso fuera de este rango de temperatura puede provocar resultados no óptimos.

El Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit solo está diseñado para uso profesional. Los resultados diagnósticos obtenidos mediante la purificación de ácido nucleico con este sistema deberán interpretarse junto con otros datos clínicos o de laboratorio.

4. Limitaciones de uso del producto

El rendimiento del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit se ha evaluado con suero, plasma, hisopos nasofaríngeos en un medio de transporte universal (UTM) para virus y saliva estabilizada. El usuario es responsable de validar su uso para extraer ácido nucleico viral de otros tipos de muestras.

Deben incluirse los controles apropiados en cualquier aplicación diagnóstica posterior que utilice los ácidos nucleicos purificados mediante el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification System. El usuario es responsable de validar las características de rendimiento necesarias para las aplicaciones diagnósticas posteriores.

Los usuarios pueden elegir si desean añadir controles internos (IC) exógenos a la muestra o lisado. Es posible que el sistema no purifique de forma eficiente algunos controles internos de ácido nucleico con tamaño inferior a 100 bp.

5. Preparación de la muestra

Materiales que ha de aportar el usuario

- Tubos para muestras de plasma, suero, UTM o saliva estabilizada



Se recomienda tomar precauciones frente a los patógenos de transmisión hemática cuando se manipulen muestras humanas.

Para las muestras de plasma, recoja la sangre en tubos Vacutainer® anticoagulantes de EDTA o ACD. Evite la heparina ya que puede inhibir amplificaciones posteriores.

Las recomendaciones generales proporcionadas a continuación se refieren a la preparación y el almacenamiento de muestras (1,2):

1. Separe el plasma de las células en la hora posterior a la extracción de sangre mediante un centrifugado a $1500 \times g$ durante 20 minutos a 25 °C. A continuación, transfiera la capa de plasma a un tubo limpio.
2. Separe el suero de la sangre coagulada mediante un centrifugado a $1000 \times g$ durante 10 minutos a 25 °C. A continuación, decante en un tubo limpio.
3. Para los hisopos en UTM, utilice únicamente hisopos de fibra sintética con vástagos de plástico. No utilice hisopos de alginato de calcio ni hisopos con ejes de madera, ya que pueden contener sustancias que inactivan algunos virus e inhiben la prueba de PCR. Coloque los hisopos inmediatamente en tubos estériles que contengan 2–3 ml de medio de transporte viral.

Almacene las muestras de plasma y suero a 2–8 °C durante un máximo de 24 horas o congele las muestras no procesadas en las 24 horas posteriores a –20 °C durante un máximo de 5 días. Almacene las muestras de UTM y de saliva estabilizada a 2–8 °C durante un máximo de 72 horas o congele las muestras a –70 °C. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación, y no almacene las muestras en un congelador sin hielo. Las condiciones específicas de recogida y almacenamiento pueden variar en función de los virus aislados.

6. Antes de empezar

Materiales que ha de aportar el usuario

- Tubos de 1,5–2,0 ml para la incubación de muestras (por ejemplo, ClickFit Microtube, 1,5 ml [Cat.# V4741]; se recomienda para evitar que la tapa se abra durante el calentamiento)
- Tubo cónico de 15 ml o 50 ml para la preparación de la solución lítica
- Vórtex de mesa
- Pipeteadores y puntas de pipeta para transferir muestras a cartuchos de reactivos prerrellenados
- Bloque calefactado o baño de agua a 56 °C

6.A. Preparación de la solución lítica

Si el tampón lítico está turbio o contiene precipitado, caliéntelo a 37–56 °C hasta que se aclare.

Nota: Prepare una nueva solución lítica para cada lote de muestras como se describe en la tabla 2. Invierta el tubo para mezclar.

Tabla 2. Preparación de la solución lítica.

Para 100 µl y 200 µl de muestras de plasma o suero o 200 µl de muestras de UTM o saliva estabilizada:

Reactivo	Cantidad/reacciones	Reacciones (número de ejecuciones + 2)	Total
Tampón lítico ¹	200 µl	n + 2	200 µl × (n + 2)
Solución de proteinasa K	20 µl	n + 2	20 µl × (n + 2)

Para 300 µl de muestras de plasma o suero:

Reactivo	Cantidad/reacciones	Reacciones (número de ejecuciones + 2)	Total
Tampón lítico ¹	300 µl	n + 2	300 µl × (n + 2)
Solución de proteinasa K	30 µl	n + 2	30 µl × (n + 2)

¹ Si se utiliza un control interno, puede añadirse a la solución lítica. Este kit no incluye controles internos.

Nota: Algunos virus respiratorios procedentes de tipos de muestras como los hisopos nasofaríngeos pueden no requerir el uso de proteinasa K.

6.B. Preparación de la muestra para los Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges

Las muestras pueden ser frescas o congeladas. Descongele las muestras congeladas a temperatura ambiente o en hielo y mezcle mediante un vórtex durante 10 segundos antes de su uso.

1. Pipetee cada muestra de plasma o de suero o 200 µl de UTM o saliva estabilizada en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml o 2 ml con tapa.
2. Añada la solución lítica preparada en la sección 6.A.
 - a. Para volúmenes de muestra de 100 µl o 200 µl, añadir 220 µl de solución lítica.
 - b. Para volúmenes de muestra de 300 µl, añadir 330 µl de solución lítica.
3. Cierre los tubos y mezcle mediante el vórtex durante 10 segundos.
4. Para las muestras de suero, incube a temperatura ambiente (15–30 °C) durante 10 minutos, y luego continúe al paso 5.
5. Incube a 56 °C en un bloque calefactado o un baño de agua durante 10 minutos. Durante esta incubación, continúe en la sección 6.C para preparar los cartuchos.

Nota: Algunos virus, como el de la hepatitis B, deben incubarse a 80 °C, debido a la estructura secundaria del genoma viral, para conseguir la recuperación de ácido nucleico.

6.C. Preparación del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge

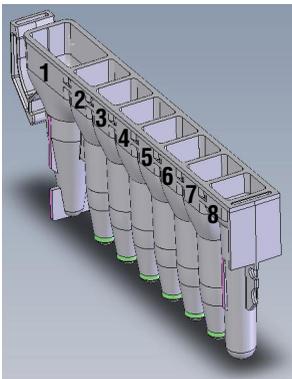
1. Cambie de guantes antes de manipular los cartuchos, los émbolos y los tubos de elución (0,5 ml). Coloque los cartuchos que se van a utilizar en las bandejas de plataforma con el pocillo n.º 1 (el de mayor tamaño del cartucho) en dirección contraria a los tubos de elución. Presione hacia abajo el cartucho para encajarlo en su sitio. Tire cuidadosamente del sistema de sellado para retirar por completo el plástico de la parte superior del cartucho. Asegúrese de haber eliminado toda la cinta de sellado y el adhesivo residual antes de colocar los cartuchos en el instrumento.
2. Coloque un émbolo en el pocillo n.º 8 de cada cartucho.
3. Coloque un tubo de elución vacío en la posición de tubo de elución de cada cartucho en las bandejas de plataforma.

6.C. Preparación del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge (continuación)

4. Añada 50 µl de Nuclease-Free Water en el fondo de cada tubo de elución.
5. Pulse las muestras en una microcentrífuga para recoger el líquido en el fondo del tubo. Transfiera el lisado de la muestra al pocillo n.º 1 (el más grande) del cartucho.
6. Continúe en la sección 7, Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument.

Notas:

1. Los derramamientos de muestras o reactivos en cualquier parte de la bandeja de plataforma deberán limpiarse con una solución de agua y detergente y, posteriormente, con un spray o paño bactericida seguidos por agua. No utilice lejía en las piezas del instrumento.
2. Utilice únicamente los tubos de elución de 0,5 ml proporcionados en el kit. Es posible que otros tipos de tubos sean incompatibles con el Maxwell® Instrument.



Adiciones del usuario a los pocillos

1. Muestras de lisados
8. Émbolo CSC/RSC

Figura 1. Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge. Se añade la muestra preprocesada al pocillo n.º 1 y un émbolo al pocillo n.º 8.



Figura 2. Preparación y configuración de las bandejas de plataforma. Se añade Nuclease-Free Water a los tubos de elución de la manera indicada. Los émbolos se encuentran en el pocillo n.º 8 del cartucho.

7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument

Para obtener información detallada, consulte el manual técnico específico de su Maxwell® Instrument (consulte la tabla 1).

1. Encienda el Maxwell® Instrument y el Tablet PC. Regístrese en el Tablet PC e inicie el software de Maxwell® en modo IVD tocando dos veces el icono del escritorio. El instrumento se encenderá, realizará las autocomprobaciones y colocará todas las piezas en la posición de inicio.
2. Toque **Iniciar** para comenzar el proceso de ejecución de un método.
3. Escanee o introduzca el código de barras del método que figura en la esquina superior derecha de la etiqueta del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit para seleccionar automáticamente el método que desea ejecutar (figura 3).

Nota: El código de barras del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit es obligatorio para la purificación en los Maxwell® CSC Instruments. La etiqueta del kit contiene dos códigos de barras. El código de barras del método se indica a continuación, en la figura 3. Si no puede escanearse el código de barras, póngase en contacto con Promega Technical Services.

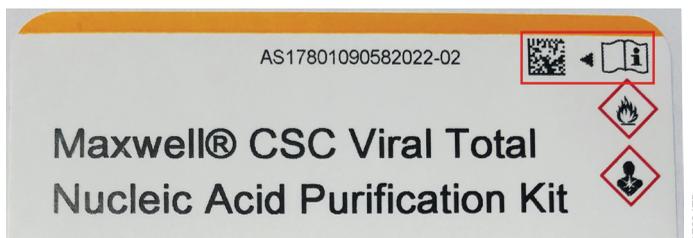


Figura 3. Etiqueta del kit que indica el código de barras del método que debe escanearse. Escanee el código de barras mostrado en el recuadro rojo de la parte superior derecha de la etiqueta del kit para ejecutar una purificación.

4. En la pantalla “Configuración de cartucho”, toque las posiciones de cartuchos para seleccionar cualquier posición que se utilizará para esta extracción o para anular su selección. Introduzca cualquier información de seguimiento de muestras necesaria y pulse el botón **Continuar** para seguir.

Nota: Al usar los Maxwell® Instruments de 48 posiciones, toque los botones **Parte frontal** o **Parte trasera** para seleccionar las posiciones del cartucho en cada bandeja de plataforma o anular su selección.

7. Configuración y ejecución del Maxwell® Instrument (continuación)

- Una vez abierta la puerta, confirme que se hayan realizado todos los elementos de la lista de comprobación de extracción. Verifique que las muestras se hayan añadido al pocillo n.º 1 de los cartuchos, que los cartuchos estén cargados en el instrumento, que los tubos de elución sin tapar estén presentes con Nuclease-Free Water y que los émbolos estén en el pocillo n.º 8. Transfiera las bandejas de plataforma que contengan los cartuchos preparados a la plataforma del Maxwell® Instrument.

Introducción de la bandeja de plataforma Maxwell®: Sostenga la bandeja de plataforma por los laterales para evitar que los cartuchos se salgan de esta. Asegúrese de que la bandeja de plataforma se coloque en Maxwell® Instrument con los tubos de elución próximos a la puerta. Dirija la parte posterior de la bandeja de plataforma hacia abajo y colóquela en el instrumento de modo que esta toque la parte posterior de la plataforma del instrumento. Presione hacia abajo en la parte delantera de la bandeja de plataforma para asentar firmemente la bandeja de plataforma en la plataforma del instrumento. Si tiene dificultades para encajar la bandeja en la plataforma, compruebe que esta se encuentre en la orientación correcta. Asegúrese de que la bandeja de plataforma esté nivelada en la plataforma del instrumento y completamente asentada.

Nota: Compruebe el identificador de las bandejas de plataforma Maxwell® de 24 posiciones para determinar si deben colocarse en la parte frontal o trasera del instrumento.

- Confirme que se ha realizado todo el preprocesamiento indicado y pulse **Iniciar** para cerrar la puerta del instrumento e iniciar el procesamiento.

Nota: Al usar un Maxwell® Instrument de 48 posiciones, si se ha activado el sistema de visión, las bandejas de plataforma se escanearán mientras se retrae la puerta. Cualquier error en la configuración de las bandejas de plataforma (por ejemplo, los émbolos no están en el pocillo n.º 8 o los tubos de elución no están presentes y abiertos) provocará que el software vuelva a la pantalla “Configuración de cartucho” y las posiciones con problemas se marcarán con un signo de exclamación en un círculo rojo. Toque el signo de exclamación para ver una descripción del error y resolver todos los estados de error. Vuelva a tocar el botón **Iniciar** para repetir el escaneo de las bandejas de plataforma y comenzar la ejecución de extracción.



Advertencia: Peligro de aprisionamiento.

El Maxwell® Instrument iniciará de forma inmediata la purificación. La pantalla mostrará información que incluye el usuario que inició la ejecución, el paso actual del método que se está realizando y el tiempo aproximado que queda en la ejecución.

Notas:

- Al tocar el botón **Cancelar**, se abandonará la ejecución. Se perderán todas las muestras de una ejecución cancelada.
- Si se cancela la ejecución antes de que finalice, puede que se le pida que compruebe si sigue habiendo émbolos cargados en la barra de émbolo. Si hay émbolos presentes en la barra de émbolo, debe ejecutar **Limpiar** cuando se le pida. Si no hay émbolos presentes en la barra de émbolo, puede elegir **Omitir limpieza**. Se perderán las muestras. No intente volver a purificar las muestras si se ha cancelado la ejecución de un instrumento.

7. Para abrir la puerta, siga las instrucciones en pantalla que aparecen al final del método. Verifique que los émbolos se encuentren en el pocillo n.º 8 del cartucho al final de la ejecución. Si no se han retirado los émbolos de la barra de émbolo, siga las instrucciones del manual técnico apropiado de su Maxwell® Instrument (tabla 1) para ejecutar el proceso **Limpiar** para intentar descargar los émbolos.
 8. Retire las bandejas de plataforma del instrumento. Retire los tubos de elución que contengan ácido nucleico total viral y tape los tubos. Si hay partículas paramagnéticas en los tubos de elución, centrifugue a 10 000–20 000 × *g* de 30 segundos a 1 minuto. Una vez finalizada la ejecución, se mostrará el informe de la ejecución de extracción. En la pantalla “Vista de informe”, puede imprimir o exportar este informe o ambos.
 9. Retire los cartuchos y los émbolos de las bandejas de plataforma y deséchelos como residuos peligrosos siguiendo los procedimientos institucionales recomendados. No reutilice los cartuchos de reactivos, los émbolos ni los tubos de elución.
- Nota:** Asegúrese de que las muestras se retiran antes de realizar cualquier tratamiento con luz ultravioleta (UV) necesario para evitar que se dañe el ácido nucleico.



8. Almacenamiento de ácido nucleico eluido

Si las muestras no se procesan de forma inmediata, almacene el ADN viral eluido en hielo o a 4 °C durante un máximo de 24 horas. Para un almacenamiento más prolongado, congélelo a –20 °C o –70 °C. El ARN viral es menos estable y es preferible que se pruebe en análisis posteriores inmediatamente después del aislamiento. Del mismo modo, puede almacenar el ARN viral eluido a –70 °C. Para conocer las recomendaciones específicas de manipulación y de almacenamiento de muestras, consulte las instrucciones de las aplicaciones posteriores.

9. Evaluación del rendimiento analítico

La evaluación del rendimiento analítico del Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit se ha realizado en los instrumentos Maxwell® CSC y Maxwell® CSC 48 utilizando un medio de transporte universal (UTM), muestras de saliva y plasma.

9.A. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ARN

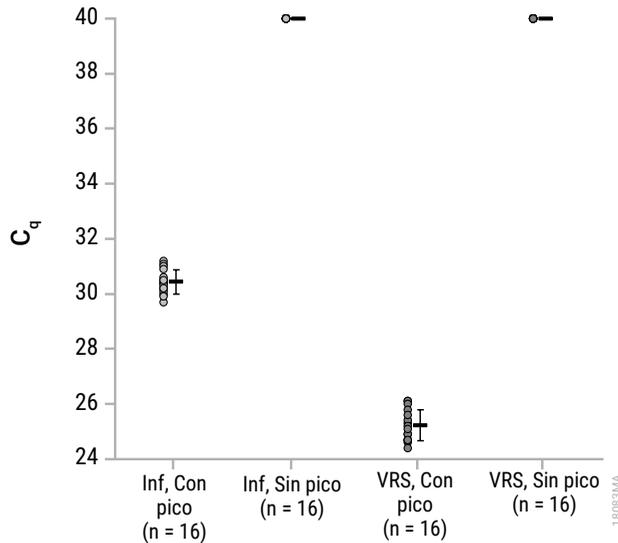


Figura 4. Valores C_q de RT-qPCR para eluidos preparados a partir de un medio de transporte universal (UTM). Las muestras “Con pico” se enriquecieron de UTM con virus inactivados de la gripe (Inf) o virus respiratorio sincitial (VRS). Las muestras “Sin pico” eran controles de UTM sin la adición de virus inactivado. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. A las muestras sin C_q se les asignó un C_q de 40 para el cálculo del promedio. Los eluidos de las muestras enriquecidas con gripe tuvieron un C_q medio de 30,4 y los eluidos de las muestras enriquecidas con VRS tuvieron un C_q promedio de 25,2. Los controles sin pico tuvieron un C_q de 40.

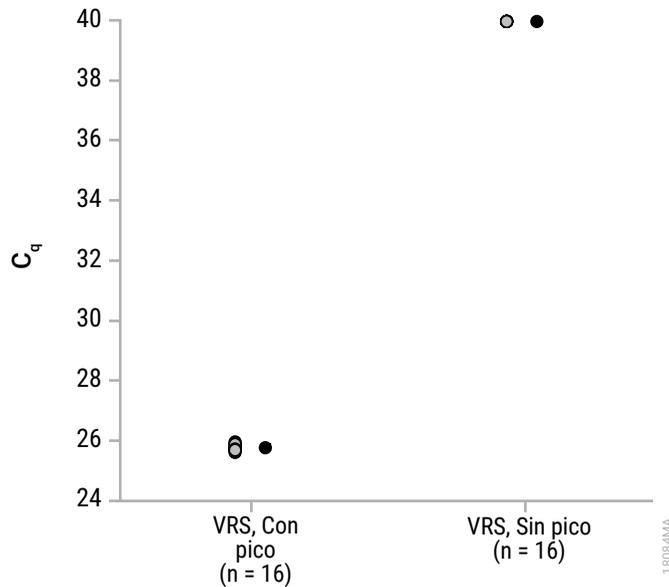


Figura 5. Valores C_q de RT-qPCR para eluidos preparados a partir de saliva. Las muestras “Con pico” se enriquecieron de saliva con virus respiratorio sincitial (VRS). Las muestras “Sin pico” eran saliva sin la adición de virus inactivado. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. A las muestras sin C_q se les asignó un C_q de 40 para el cálculo del promedio. Los eluidos de las muestras enriquecidas con VRS tuvieron un C_q promedio de 25,8 y los controles sin picos tuvieron un C_q promedio de 40.

9.A. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ARN (continuación)

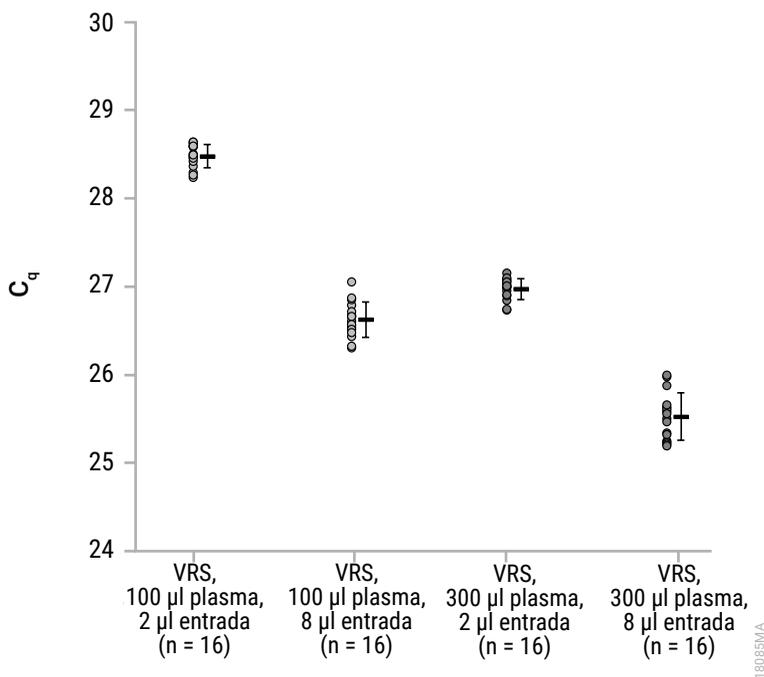


Figura 6. Valores C_q de RT-qPCR para eluidos preparados a partir de plasma. Las muestras de plasma (100 µl o 300 µl) se enriquecieron con el virus respiratorio sincitial (VRS) y se utilizaron para la purificación. La inhibición se evaluó utilizando 2 µl y 8 µl como una diferencia de entrada de cuatro veces que debería dar como resultado una diferencia de C_q de aproximadamente 2 ciclos. Los eluidos (2 µl u 8 µl de entrada) de cada purificación de plasma se amplificaron mediante RT-qPCR. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. La muestra de plasma de 100 µl con 2 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_q promedio de 28,5 y con 8 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un promedio de 26,6. La muestra de plasma de 300 µl con 2 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_q promedio de 27,0 y con 8 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un promedio de 25,5.

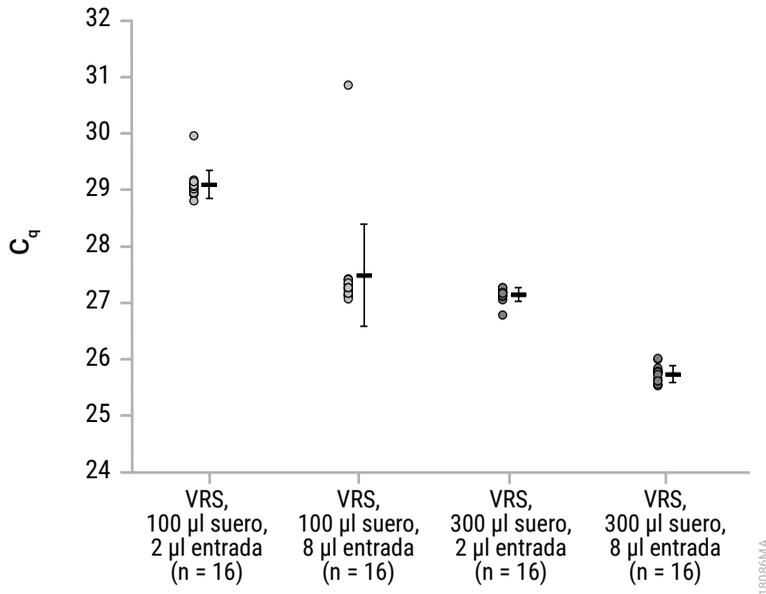


Figura 7. Valores C_t de RT-qPCR para eluidos preparados a partir de suero. Las muestras de suero (100 µl o 300 µl) se enriquecieron con el virus respiratorio sincitial (VRS) y se utilizaron para la purificación. La inhibición se evaluó utilizando 2 µl y 8 µl como una diferencia de entrada de cuatro veces que debería dar como resultado una diferencia de C_t de aproximadamente 2 ciclos. Los eluidos (2 µl u 8 µl de entrada) de cada purificación de suero se amplificaron mediante RT-qPCR. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_t de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. La muestra de suero de 100 µl con 2 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_t promedio de 29,1 y con 8 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_t promedio de 27,5. La muestra de suero de 300 µl con 2 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_t promedio de 27,1 y con 8 µl de entrada en la RT-qPCR tuvo un C_t promedio de 25,7.

9.B. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ADN

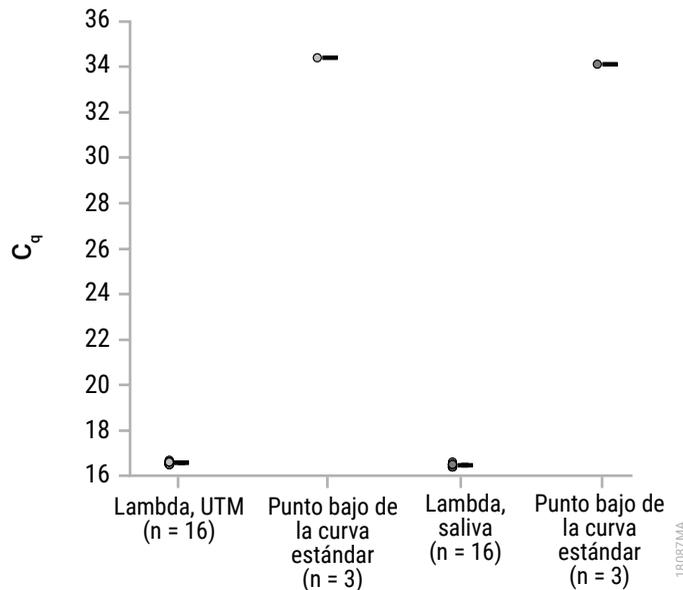


Figura 8. Valores C_q de qPCR para eluidos preparados a partir de UTM o saliva. Las muestras de UTM o de saliva se enriquecieron con fago lambda para las muestras “lambda”. El punto bajo de la curva estándar (“Std.”) se muestra como control de cuantificación relativa. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. Los eluidos de las muestras de UTM enriquecidas con lambda tuvieron un C_q promedio de 16,6 y los eluidos de las muestras de saliva enriquecidas con lambda tuvieron un C_q promedio de 16,5. El punto más bajo de la curva estándar lambda en el experimento del UTM tuvo un C_q de 34,4 y en el experimento de la saliva el C_q del punto más bajo fue de 34,1.

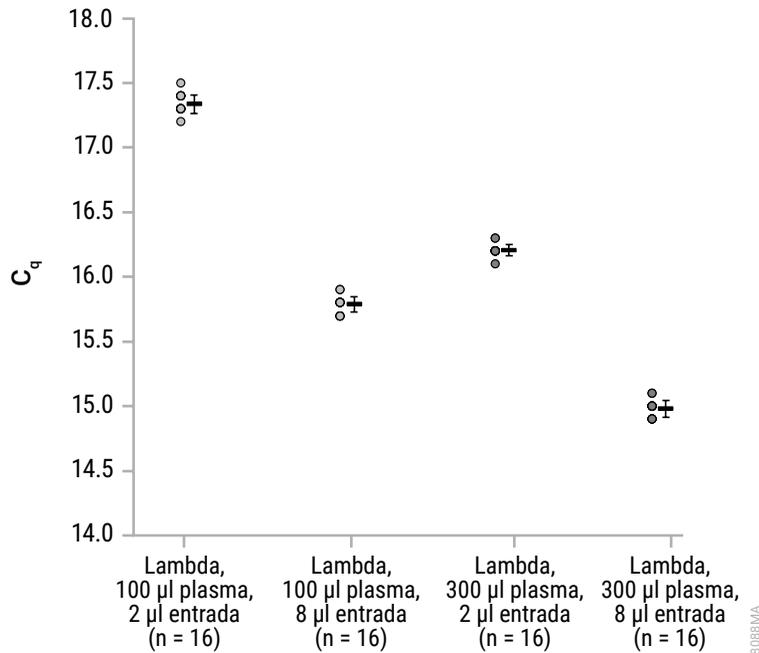


Figura 9. Valores C_q de qPCR para eluidos preparados a partir de plasma. Las muestras de plasma (100 µl o 300 µl) se enriquecieron con fago lambda y se utilizaron para la purificación. La inhibición se evaluó utilizando 2 µl y 8 µl como una diferencia de entrada de cuatro veces que debería dar como resultado una diferencia de C_q de aproximadamente 2 ciclos. Los eluidos (2 µl u 8 µl de entrada) de cada purificación de plasma se amplificaron mediante qPCR. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. La muestra de plasma de 100 µl con 2 µl de entrada en la qPCR tuvo un C_q promedio de 17,3 y con 8 µl de entrada en la qPCR tuvo un promedio de 15,8. La muestra de plasma de 300 µl con 2 µl de entrada en la qPCR tuvo un C_q promedio de 16,2 y con 8 µl de entrada en la qPCR tuvo un promedio de 15,0.

9.B. Cantidad, calidad y amplificabilidad del ADN (continuación)

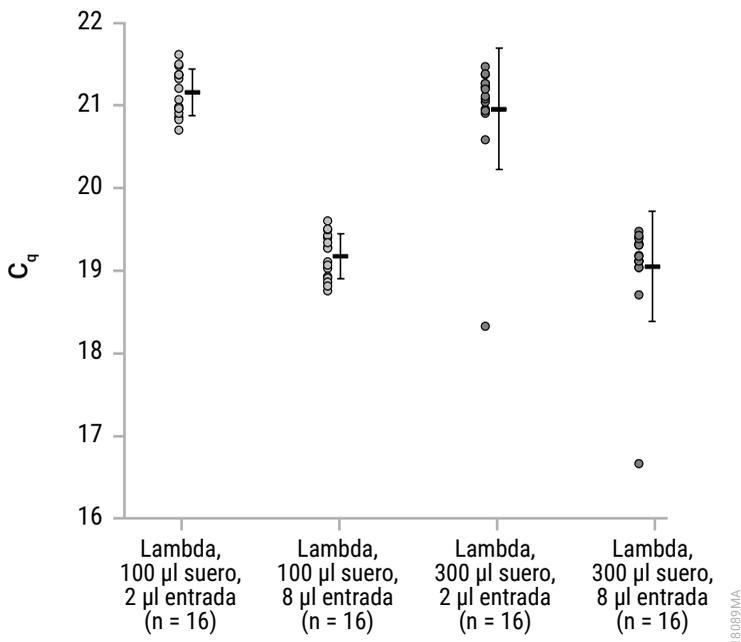


Figura 10. Valores C_q de qPCR para eluidos preparados a partir de suero. Las muestras de suero (100 µl o 300 µl) se enriquecieron con fago lambda y se utilizaron para la purificación. La inhibición se evaluó utilizando 2 µl y 8 µl como una diferencia de entrada de cuatro veces que debería dar como resultado una diferencia de C_q de aproximadamente 2 ciclos. Los eluidos (2 µl u 8 µl de entrada) de cada purificación de suero se amplificaron mediante qPCR. Para cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan los valores C_q de las muestras individuales, mientras que la media con la desviación estándar se muestra a la derecha. La muestra de suero de 100 µl con 2 µl de entrada en la qPCR tuvo un C_q promedio de 21,2 y con 8 µl de entrada en la qPCR tuvo un promedio de 19,2. La muestra de suero de 300 µl con 2 µl de entrada en la qPCR tuvo un C_q promedio de 21,0 y con 8 µl de entrada en la qPCR tuvo un promedio de 19,1.

9.C. Reproducibilidad

Tabla 3. Valores de C_q de RT-qPCR. Los eluidos se prepararon extrayendo el ácido nucleico total del virus a partir de muestras de PBS con un transcrito in vitro. Se probaron tres lotes de kits, tres usuarios y tres ejecución del instrumento para examinar la reproducibilidad durante la ejecución y entre cada ejecución. Cada conjunto de muestras contenía 8 réplicas. Los resultados se muestran en la tabla.

Variable		C_q promedio (ciclos) n = 8	Desviación estándar relativa (ciclos)
Variabilidad entre lotes	Lote A	30,9	0,4
	Lote B	30,9	0,2
	Lote C	31,1	0,5
Promedio de tres lotes diferentes		31,0	0,4
Variabilidad entre usuarios	Usuario A	32,4	0,1
	Usuario B	31,7	0,3
	Usuario C	31,7	0,5
Promedio de tres usuarios diferentes		31,9	0,4
Variabilidad entre series (1 usuario, 3 ejecuciones del instrumento)	Ejecución 1	30,9	0,4
	Ejecución 2	31,7	0,3
	Ejecución 3	31,0	0,5
Promedio de tres ejecuciones de extracción diferentes		31,2	0,5

9.D. Sustancias interferentes (inhibición)

Tabla 4. Valores de C_q de RT-qPCR para ARN viral. El efecto de las sustancias interferentes se comprobó buscando la inhibición de la amplificación al comparar el C_q obtenido de un aumento de cuatro veces del ácido nucleico de entrada con el C_q de la entrada original. El ARN viral se purificó a partir de UTM con virus respiratorio sincitial inactivado y se procesó sin calentamiento ni tratamiento con proteinasa K. Se muestran los resultados de la RT-qPCR con 2 μ l u 8 μ l de ARN viral. La inhibición se evaluó utilizando 2 μ l y 8 μ l como una diferencia de entrada de cuatro veces que debería dar como resultado una diferencia de C_q de aproximadamente 2 ciclos. El ΔC_q entre las entradas de 2 μ l y 8 μ l tuvo un promedio de 1,2 en el Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000) y un promedio de 1,5 en el Maxwell® CSC 48 Instrument (Cat.# AS8000).

Instrumento	ID muestra	C_q de 2 μ l (ciclos)	C_q de 8 μ l (ciclos)	ΔC_q para 2 μ l y 8 μ l (ciclos)	C_q * NTC (ciclos)	ΔC_q para 2 μ l y 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
	Promedio	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
	Promedio	28,1	26,6	1,4	40	11,9

* Todos los controles sin cadena molde (NTC) no tenían valor C_q y se les asignó un valor C_q de 40 ciclos.

9.E. Contaminación cruzada

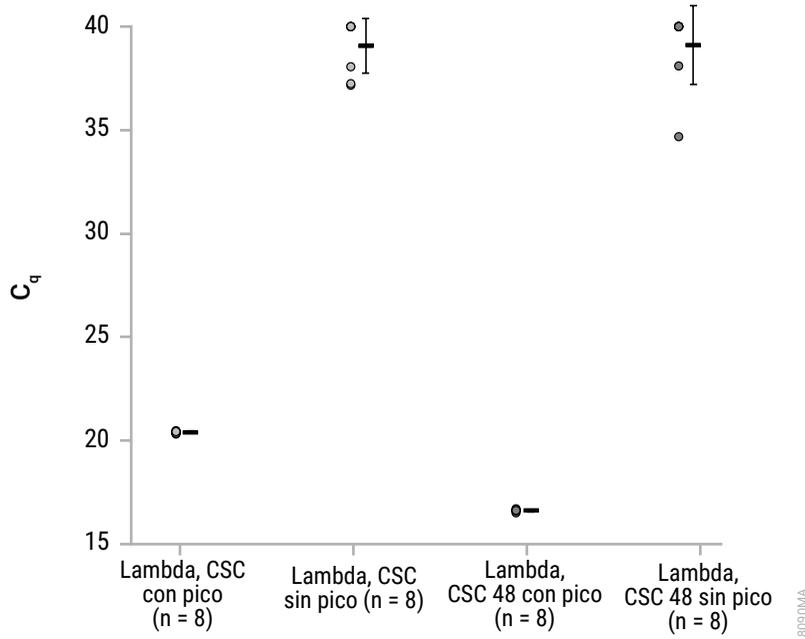


Figura 11. Valores C_q para ADN purificado a partir de un medio de transporte universal (UTM).

Se purificó el ADN de las muestras de UTM con y sin adición de ADN lambda utilizando el Maxwell® CSC Total Viral Nucleic Acid Kit y los instrumentos Maxwell® CSC y Maxwell® CSC 48. Las muestras con y sin ADN lambda añadido se alternaron en la plataforma de los instrumentos. Se muestran los resultados para las qPCR que contienen 2 μ l de ADN lambda. En cada conjunto de datos, los puntos de la izquierda representan réplicas individuales, mientras que a la derecha se muestra la desviación estándar. El C_q promedio para las muestras enriquecidas purificadas en los instrumentos Maxwell® CSC y Maxwell® CSC 48 fue de 20,4 y 16,6, respectivamente. A las muestras sin C_q se les asignó un C_q de 40 para el cálculo del promedio. El C_q promedio para las muestras negativas fue de 39,1 en cada uno de los experimentos.

10. Evaluación del rendimiento clínico

El rendimiento clínico se evaluó extrayendo el ARN o el ADN viral de los tipos de muestras clínicas especificadas utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit y el Maxwell® CSC 48 Instrument, y amplificando el ácido nucleico en un ensayo clínicamente relevante.

10.A. Extracción del ARN viral de las muestras de UTM

Tabla 5. ARN viral del SARS-CoV-2 en muestras de UTM. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de UTM de SARS-CoV-2 utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument. También se purificó el ARN de estas muestras utilizando el método de purificación estándar del laboratorio como referencia. Nueve de 10 muestras positivas y 10 de 10 muestras negativas coincidieron con los resultados entre el Maxwell® System y el método de referencia del laboratorio. Todas las muestras del Maxwell® coincidieron con el presunto estado de la muestra, basado en una anterior ejecución de la prueba de SARS-CoV-2 en la muestra.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System	Método de referencia del laboratorio	Maxwell® coincide con el método de referencia	Maxwell® coincide con el presunto estado
21432233	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21880339	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21202162	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21213630	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21590664	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21315054	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21823123	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21180346	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21102471	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21147196	Positivas	Positivas	Negativas	No	Sí
21182913	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21296504	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21189671	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21676213	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21396949	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21856471	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21152493	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21960831	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21618705	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21530939	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí

10.B. Extracción del ARN viral de las muestras de saliva

Tabla 6. ARN viral purificado de muestras de saliva de SARS-CoV-2. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de saliva de SARS-CoV-2 utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument. También se purificó el ARN de estas muestras utilizando el método de purificación estándar del laboratorio como referencia. Todas las muestras del Maxwell® con los resultados entre el Maxwell® System y el método de referencia del laboratorio. Todas las muestras del Maxwell® System coincidieron con el presunto estado de la muestra, basado en una anterior ejecución de la prueba de SARS-CoV-2 en la muestra.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System	Método de referencia del laboratorio	Maxwell® coincide con el método de referencia	Maxwell® coincide con el presunto estado
12204502	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12207992	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12200960	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12203868	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12206897	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12200453	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12208750	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12209126	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12201677	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21744360	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
12204630	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12203230	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12202781	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12202953	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12204617	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12206702	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12209395	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12201994	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12205532	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí
12206575	Negativas	Negativas	Negativas	Sí	Sí

10.C. Extracción del ARN viral de las muestras de plasma

Tabla 7. ARN del virus del dengue en muestras de plasma. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de plasma del virus del dengue utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument. También se purificó el ARN de estas muestras utilizando el método de purificación estándar del laboratorio como referencia. Diez de 10 muestras positivas y 8 de 10 muestras negativas coincidieron con los resultados entre el Maxwell® System y el método de referencia del laboratorio. Todas las muestras del Maxwell® coincidieron con el presunto estado de la muestra, basado en una anterior ejecución de la prueba de virus del dengue en la muestra.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System		Método de referencia del laboratorio	Maxwell® coincide con el método de referencia	Maxwell® coincide con el presunto estado
		100 µl de entrada	300 µl de entrada	300 µl de entrada		
21364611	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21964895	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21836674	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21485868	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21949507	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21232505	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21092389	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21443444	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21839389	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21960608	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21017143	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21478268	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21598671	Negativas	SE*	Negativas	Positivas	No	Sí
21363671	Negativas	SE*	Negativas	Positivas	No	Sí
21323109	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21004789	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21893607	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21993638	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21121581	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21514345	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí

* SE: sin evaluar.

10.D. Extracción del ADN viral de las muestras de plasma

Tabla 8. ADN de citomegalovirus (CMV) en muestras de plasma. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de plasma utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument. También se purificó el ADN de estas muestras utilizando el método de purificación estándar del laboratorio como referencia. Todas las muestras del Maxwell® con los resultados entre el Maxwell® System y el método de referencia del laboratorio. Todas las muestras del Maxwell® coincidieron con el presunto estado de la muestra, basado en una anterior ejecución de la prueba de CMV en la muestra.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System		Método de referencia del laboratorio	Maxwell® coincide con el método de referencia	Maxwell® coincide con el presunto estado
		100 µl de entrada	300 µl de entrada	300 µl de entrada		
38375075	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
38535155	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
37293873	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
37271420	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
38133737	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
38212566	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
38228092	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
37975220	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
37924077	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
38757118	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
30615407	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
23916496	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
22380697	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
33545486	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
40639511	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
40346295	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21423543	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
20341215	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
215139202	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
40503484	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí

* SE: sin evaluar.

10.E. Extracción del ARN viral de las muestras de suero

Tabla 9. ARN del virus del dengue en muestras de suero. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de suero del virus del dengue utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument. También se purificó el ARN de estas muestras utilizando el método de purificación estándar del laboratorio como referencia. Todas las muestras coincidieron con los resultados entre el Maxwell® System y el método de referencia del laboratorio. Todas las muestras del Maxwell® System coincidieron con el presunto estado de la muestra, basado en una anterior ejecución de la prueba de virus del dengue en la muestra.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System		Método de referencia del laboratorio	Maxwell® coincide con el método de referencia	Maxwell® coincide con el presunto estado
		100 µl de entrada	300 µl de entrada	300 µl de entrada		
21837552	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21923921	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21489704	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21125739	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21095976	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21783122	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21936932	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21738559	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21176258	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21542794	Positivas	Positivas	Positivas	Positivas	Sí	Sí
21441970	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21090946	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21247913	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21109632	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21792527	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21905523	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21165524	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21510977	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21826187	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí
21117238	Negativas	SE*	Negativas	Negativas	Sí	Sí

* SE: sin evaluar.

10.F. Reproducibilidad

Tabla 10. Reproducibilidad de la purificación del ARN. Se purificaron 10 muestras positivas y 10 negativas de plasma del virus del dengue utilizando el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit en un Maxwell® CSC 48 Instrument mediante dos probadores. Todas las muestras coincidieron con los resultados entre el probador A y el probador B.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System		El resultado del probador A coincide con el del probador B
		Probador A	Probador B	
21364611	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21964895	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21836674	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21485868	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21949507	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21232505	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21092389	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21443444	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21839389	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21960608	Positivas	Positivas	Positivas	Sí
21017143	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21478268	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21598671	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21363671	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21323109	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21004789	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21893607	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21993638	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21121581	Negativas	Negativas	Negativas	Sí
21514345	Negativas	Negativas	Negativas	Sí

10.G. Contaminación cruzada

Tabla 11. ADN viral de muestras de plasma de CMV. Nueve muestras de plasma de CMV presuntamente negativas se alternaron con 10 muestras de plasma de CMV positivas en la plataforma del Maxwell® CSC 48 Instrument. Nueve de las 9 muestras negativas alternadas con las positivas resultaron negativas, lo que demuestra que no hubo contaminación cruzada detectable.

ID de muestra	Presunto estado	Maxwell® System	
		C _q 300 µl de entrada	Resultado de CMV
30615407	Negativas	Sin C _q	Negativas
23916496	Negativas	Sin C _q	Negativas
22380697	Negativas	Sin C _q	Negativas
33545486	Negativas	Sin C _q	Negativas
40639511	Negativas	Sin C _q	Negativas
40346295	Negativas	Sin C _q	Negativas
21423543	Negativas	Sin C _q	Negativas
20341215	Negativas	Sin C _q	Negativas
40503484	Negativas	Sin C _q	Negativas

11. Solución de problemas

En caso de que tenga alguna duda que no resuelva esta sección, póngase en contacto con su distribuidor o sucursal local de Promega. Puede ver la información de contacto en: **www.promega.com**.

Correo electrónico: **techserv@promega.com**

Síntomas

Recuperación de ácido nucleico viral inferior a la esperada (por ejemplo, para los controles internos proporcionados por el cliente)

Causas y comentarios

La integridad de las muestras iniciales se vio comprometida. Asegúrese de que las muestras se recogieron, enviaron y almacenaron de acuerdo con los procedimientos recomendados.

Para las muestras de ARN viral, asegúrese de que se dan condiciones sin ARNasa para la preparación de la muestra y la configuración del análisis, incluidos tubos libres de ARNasa y puntas de pipeta.

El paso de procesamiento no fue óptimo.

- Prepare el tampón lítico y la proteinasa K inmediatamente antes de su uso y deseche las soluciones no utilizadas siguiendo los procedimientos institucionales recomendados.
- Utilice el tampón lítico proporcionado con este kit.
- Una mezcla incompleta puede reducir la lisis. Mezcle la muestra con la solución lítica mediante un vórtex, como se recomienda.
- Tratamiento incompleto de la proteasa para eliminar las cápsides virales. Comprobar la temperatura del bloque térmico o del baño de agua, e incubar durante todo el tiempo recomendado.
- La incubación durante 10 minutos a temperatura ambiente antes de la incubación a 56 °C puede mejorar la recuperación de algunas muestras de plasma.
- Es posible que algunos virus puedan necesitar temperaturas de incubación más elevadas.
- La adición de más muestra que la recomendada puede reducir la recuperación de ácido nucleico.

11. Solución de problemas (continuación)

Síntomas

Causas y comentarios

Recuperación de ácido nucleico viral inferior a la esperada (por ejemplo, para los controles internos proporcionados por el cliente)

Compruebe que se haya añadido un émbolo al cartucho.
Asegúrese de que todos los cartuchos estén encajados en la bandeja de plataforma de forma adecuada antes del procesamiento.

Problema de almacenamiento tras la purificación.

- Retire los eluidos y almacénelos a la temperatura recomendada inmediatamente después de la ejecución del Maxwell® Instrument.
- No someta los eluidos a ciclos repetitivos de congelación-descongelación antes de los análisis posteriores.

Es posible que el sistema no purifique de forma eficiente los controles internos de ácido nucleico con tamaño inferior a 100 bp. El usuario es responsable de establecer el rendimiento de cualquier control interno.

Amplificación pobre

El arrastre de partículas paramagnéticas puede provocar interferencias en las reacciones de amplificación. Elimine las partículas del tubo de elución mediante un centrifugado.

Se ha añadido un tampón de elución incorrecto. Utilice únicamente el Nuclease-Free Water que se proporciona con el Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit.

Contaminación cruzada

Utilice puntas de pipeta nuevas para cada muestra para evitar la contaminación entre muestras.

Evite provocar salpicaduras cuando añada los lisados a los cartuchos. Los cartuchos pueden retirarse de la gradilla para la adición de muestras con el fin de minimizar la contaminación de los cartuchos adyacentes.

El instrumento no puede recoger los émbolos

Asegúrese de que está utilizando un kit químico específico para CSC; los émbolos de los Maxwell® CSC Reagent Kits son específicos para los Maxwell® Instruments con este kit.

Se deberá comunicar de inmediato al fabricante todo suceso grave que se produjera en relación con el producto y que provocara (o pudiera provocar) la muerte o una lesión grave a un usuario o paciente. Los usuarios residentes en la Unión Europea también deberán notificar todo suceso grave a la autoridad competente del Estado miembro en el que resida el usuario y/o el paciente.

12. Bibliografía

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

13. Productos relacionados

Producto	Tamaño	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	1 unidad	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	1 unidad	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50 paquetes	1 unidad	AS1331
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 unidad	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 unidad	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 unidad	AS8402
ClickFit Microtube, 1,5 ml	1000/paquete	V4741

Maxwell® CSC Reagent Kits

Para obtener una lista de los kits de purificación de Maxwell® CSC disponibles, visite: **www.promega.com**

14. Resumen de las modificaciones

Se han realizado las siguientes modificaciones a la revisión 10/22 de este documento:

1. Se ha cambiado el nombre de la sección 3 a “Finalidad del producto/uso previsto”.
2. Se han añadido las secciones 9 y 10 y se han reenumerado las secciones posteriores.
3. Se ha actualizado el documento de conformidad con el Reglamento (UE) 2017/746 en productos sanitarios para diagnóstico in vitro.

^(a)Número de patente de EE. UU. 7 329 488 y número de patente de Corea del Sur 100483684.

© 2020–2022 Promega Corporation. Todos los derechos reservados.

Maxwell es una marca registrada de Promega Corporation.

Vacutainer es una marca registrada de Becton, Dickinson and Company.

Estos productos podrían estar protegidos mediante patentes emitidas o pendientes, o podrían tener algunas limitaciones. Para obtener más información, visite nuestro sitio web.

Todos los precios y especificaciones de este manual están sujetos a cambios sin previo aviso.

Las declaraciones sobre los productos están sujetas a cualquier cambio. Póngase en contacto con Promega Technical Services o acceda al catálogo en línea de Promega para obtener la información más actual sobre los productos Promega.