

MANUALE TECNICO

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Istruzioni per l'uso del prodotto
AS1820

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

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

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

1. Descrizione	2
2. Componenti del prodotto, condizioni di conservazione e legenda dei simboli	3
3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto.....	5
4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto	5
5. Prima di iniziare	6
5.A. Preparazione dei campioni di sangue intero.....	6
5.B. Preparazione della Maxwell [®] CSC Whole Blood DNA Cartridge	6
6. Esecuzione del Maxwell [®] Instrument.....	8
7. Valutazione delle prestazioni analitiche	10
7.A. Resa del DNA	10
7.B. Qualità del DNA	11
7.C. Riproducibilità.....	12
7.D. Amplificabilità.....	13
7.E. Inibizione (sostanze interferenti).....	14
7.F. Contaminazione crociata.....	14
8. Valutazione delle prestazioni cliniche	15
9. Risoluzione dei problemi	16
10. Bibliografia.....	16
11. Prodotti correlati	17
12. Riepilogo delle modifiche.....	17

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è disponibile solo in alcuni Paesi.

1. Descrizione

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit^(a) viene usato in combinazione con i Maxwell® Instrument specificati nella Tabella 1 per fornire un metodo semplice per la preparazione dei campioni e la purificazione efficienti e automatiche del DNA genomico (gDNA) da campioni di sangue umano intero. I Maxwell® CSC Instrument sono progettati per l'uso con cartucce di reagenti predefinite e procedure di purificazione preprogrammate, massimizzando la semplicità e la praticità. Il metodo Maxwell® per il CSC Whole Blood DNA Kit può elaborare da uno fino al numero massimo di campioni del Maxwell® CSC Instrument in meno di 1 ora. Il DNA purificato può essere utilizzato direttamente in svariate applicazioni downstream, ad esempio la PCR.

Tabella 1. Strumenti supportati.

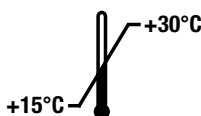
Strumento	Cat.#	Manuale tecnico	Numero massimo di campioni
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

Principio del metodo: il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit purifica il gDNA dei campioni utilizzando particelle paramagnetiche, che forniscono una fase solida mobile per ottimizzare la cattura dei campioni, il lavaggio e la purificazione del gDNA. I Maxwell® Instrument sono strumenti per la gestione di particelle magnetiche che legano efficacemente gli acidi nucleici alla particella paramagnetica nel primo pozzetto di una cartuccia preriempita. I campioni vengono processati attraverso una serie di lavaggi prima che il gDNA venga eluito.

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

PRODOTTO	QUANTITÀ	CAT.#
Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit	48 prep	AS1820

Per uso diagnostico in vitro. Esclusivamente ad uso professionale. Contiene reagenti sufficienti per 48 isolamenti automatici di campioni di sangue intero fino a 500 µl. Le cartucce sono esclusivamente mono-uso.



Include:

- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCH)
- 50 Stantuffi CSC/RSC
- 50 Provette di eluizione (0,5 ml)
- 20 ml Tampone di eluizione

Condizioni di conservazione: conservare il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit a una temperatura da +15°C a +30°C.



Informazioni sulla sicurezza: le Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) contengono etanolo, isopropanolo, cloridrato di guanidina e tiocianato di guanidina. L'etanolo e l'isopropanolo devono essere considerati infiammabili, dannosi e irritanti. Il tiocianato di guanidina e il cloridrato di guanidina devono essere considerati tossici, dannosi e irritanti. Per informazioni dettagliate sulla sicurezza, consultare la scheda dati di sicurezza (SDS).



Le Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) sono progettate per essere utilizzate con sostanze potenzialmente infettive. Indossare idonee protezioni (p. es., guanti e occhiali di sicurezza) nel maneggiare le sostanze infettive. La candeggina reagisce con il tiocianato di guanidina, che è usato nelle Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) e non deve essere aggiunta agli scarti dei campioni di tali cartucce. Attenersi alle linee guida della propria struttura per la gestione e lo smaltimento di tutte le sostanze infettive utilizzate con questo sistema.



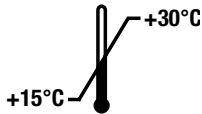














Attenzione: maneggiare le cartucce con attenzione; i bordi del sigillo possono essere taglienti.

Informazioni aggiuntive: i componenti del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit sono qualificati e testati mediante controllo qualità e risultati idonei per l'uso combinato. Non è consigliato il mescolamento dei componenti di un kit tra lotti di kit differenti. Usare solo i componenti forniti nel kit. Non utilizzare la cartuccia se il sigillo non è integro al momento della ricezione. Per ulteriori informazioni sulla sicurezza, vedere la scheda di sicurezza (Safety Data Sheet) disponibile all'indirizzo: **www.promega.com**.

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

Legenda dei simboli

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

3. Finalità prevista/uso previsto del prodotto

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è previsto per l'uso in combinazione con i Maxwell® CSC Instrument e il metodo Maxwell® CSC per la purificazione del DNA di sangue intero come dispositivo medico diagnostico in vitro (IVD) per eseguire l'isolamento automatico di DNA genomico da campioni di sangue umano intero. Il DNA purificato è adatto per l'impiego in analisi diagnostiche in vitro basate sull'amplificazione.

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è previsto per un impiego a temperature comprese tra 15°C e 30°C. L'impiego al di fuori di questi valori può comportare risultati non ottimali.

Con il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit si possono utilizzare campioni di sangue intero conservati in provette contenenti EDTA, citrato di sodio o eparina come anticoagulanti. La tabella di seguito mostra i tempi ammessi per la conservazione in diverse condizioni dei campioni prima dell'utilizzo nel Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit.

Temperatura di conservazione del campione	Tempo di conservazione prima della purificazione
da 15°C a 30°C	fino a 72 ore
da 2°C a 10°C	fino a 7 giorni
-65°C o inferiore	illimitato

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit non deve essere utilizzato con campioni prelevati con altri tipi di provette da prelievo ematico o conservati in condizioni diverse da quelle elencate.

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è esclusivamente ad uso professionale. I risultati diagnostici ottenuti utilizzando il DNA genomico purificato grazie a questo sistema devono essere interpretati congiuntamente ad altri esami clinici o di laboratorio.

4. Limitazioni all'utilizzo del prodotto

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit non deve essere utilizzato con: campioni di tessuto; campioni di fluidi corporei diversi dal sangue umano intero.

Il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit non deve essere utilizzato con campioni non umani, inclusi campioni di origine batterica e virale, o per la purificazione di RNA.

Le prestazioni del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit sono state valutate isolando il DNA da campioni di sangue intero di 500 µl con conta leucocitaria (WBC) compresa tra 4×10^6 e $1,1 \times 10^7$ cellule/ml di sangue intero ed eluizione del DNA in 60 µl.

L'utente è responsabile della definizione delle caratteristiche delle prestazioni necessarie per le applicazioni diagnostiche a valle. Qualsiasi applicazione diagnostica a valle che utilizzi DNA genomico purificato con il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit deve includere idonei controlli.

5. Prima di iniziare

Fornitura materiali a cura dell'utente

- miscelatore di provette rotante per campioni ematici liquidi
- pipette e puntali per il trasferimento del campione nelle cartucce preriempite di reagente

5.A. Preparazione dei campioni di sangue intero

La resa totale del DNA genomico proveniente da campioni di sangue intero dipende dalla conta leucocitaria del sangue intero del campione. Ogni cartuccia a corredo del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è progettata per la purificazione di DNA genomico da 500 µl di sangue intero con conta leucocitaria compresa tra 4×10^6 e $1,1 \times 10^7$ cellule/ml di sangue intero (valori per un soggetto adulto in normali condizioni di salute; 1). Si raccomanda di eseguire una conta leucocitaria su ciascun campione prima della purificazione del DNA, per verificare che il campione rientri in tale intervallo. Campioni al di fuori di questi valori possono fornire risultati non ottimali.

Nota: questo kit è stato testato con campioni di sangue umano intero prelevati con provette con EDTA, sodio citrato ed eparina. Il buon funzionamento del kit non può essere garantito con altri tipi di provette da prelievo ematico. I campioni di sangue possono essere freschi (conservati tra 15°C e 30°C fino a 72 ore), refrigerati (conservati da 2°C a 10°C fino a 7 giorni) o congelati (conservati a -65°C o inferiore) prima della purificazione del DNA. I campioni congelati devono essere scongelati prima di essere processati. Tutti i campioni ematici dovranno essere accuratamente mescolati prima dell'uso.

5.B. Preparazione della Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge

1. Cambiare i guanti prima di maneggiare cartucce, stantuffi CSC/RSC e provette di eluizione (0,5 ml). Le cartucce vengono preparate negli appositi vassoi esternamente allo strumento prima che i vassoi con le cartucce e i campioni vengano trasferiti allo strumento per la purificazione. Posizionare ciascuna cartuccia nel vassoio con la camera n.1 (la più grande della cartuccia) alla distanza massima dalle provette di eluizione (Figura 2). Premere sulla cartuccia fino a quando non scatta in posizione. Assicurarsi che ambedue le estremità della cartuccia siano completamente inserite nel vassoio. Staccare delicatamente il sigillo in modo che venga completamente rimosso dalla parte superiore della cartuccia. Assicurarsi che siano stati rimossi dalla cartuccia il nastro sigillante e qualunque residuo di adesivo.
2. Trasferire 500 µl di campione ematico nella camera n.1 di ogni cartuccia (la camera n.1 è quella più grande).
3. Mescolare il campione ematico nella camera n.1 pipettando 5–10 volte, per garantire il completo trasferimento del sangue. Mescolare il campione mediante pipettaggio può migliorare la resa chimica. Cambiare i puntali tra un campione e l'altro.
4. Posizionare uno stantuffo nella camera n.8 di ciascuna cartuccia.

5. Porre nell'apposita posizione una provetta di eluizione vuota per ciascuna cartuccia del vassoio. Aggiungere 60 µl di tampone di eluizione sul fondo di ciascuna provetta di eluizione.

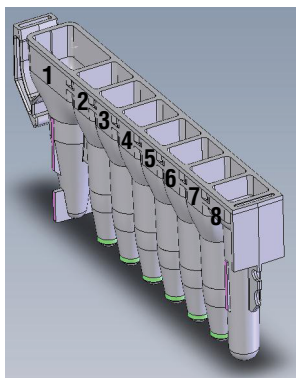
Note

- a. Usare esclusivamente le provette di eluizione a corredo del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit. Altre provette di eluizione potrebbero non essere compatibili con i Maxwell® CSC Instrument.
 - b. Usare esclusivamente il tampone di eluizione a corredo del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit. Altri tamponi di eluizione potrebbero interferire con la resa della purificazione del DNA.
6. Procedere alla Sezione 6, Esecuzione del Maxwell® Instrument.

Preparazione della Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge Note:



Eventuali fuoriuscite di campione o reagente su qualunque parte del vassoio devono essere pulite con una soluzione a base d'acqua e detergente e applicando successivamente uno spray battericida, oppure strofinando e lavando nuovamente con acqua. Non usare candeggina su nessuna parte dello strumento.



Componenti aggiunti dall'utente alle camere

1. Campione di sangue intero (500 µl)
8. Stantuffo CSC/RSC

Figura 1. Maxwell® CSC Cartridge. Il campione di sangue intero viene aggiunto alla camera n.1 mentre alla camera n.8 viene aggiunto uno stantuffo.



Figura 2. Preparazione e allestimento dei vassoi. Il tampone di eluizione viene aggiunto alle provette di eluizione come indicato. Il vassoio illustrato è quello del Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000).

6. Esecuzione del Maxwell® Instrument

Per informazioni dettagliate, consultare il manuale tecnico specifico del Maxwell® CSC Instrument in uso. Vedere la Tabella 1.

1. Accendere il Maxwell® Instrument e il tablet PC. Accedere al tablet PC e avviare il software Maxwell® IVD mode toccando due volte l'icona sul desktop. Lo strumento procederà a un'auto-verifica e tutte le parti mobili verranno portate nella posizione base.
2. Selezionare **Avvia** nella schermata "Home".
3. Leggere o digitare il codice a barre nell'angolo in alto a destra dell'etichetta del Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e toccare **OK** per selezionare automaticamente il metodo da eseguire (Figura 3).

Nota: il codice a barre del metodo di Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit è necessario per la purificazione del DNA con i Maxwell® CSC Instrument. L'etichetta del kit contiene due codici a barre. Il codice a barre del metodo è indicato nella Figura 3. Se il codice a barre non è leggibile, contattare i Promega Technical Services.

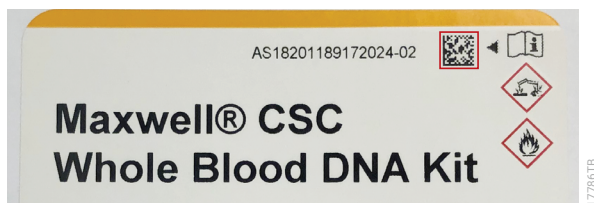


Figura 3. Etichetta del kit con l'indicazione del codice a barre da leggere. Leggere il codice a barre indicato nella casella rossa nell'angolo in alto a destra dell'etichetta del kit per avviare un ciclo di purificazione.

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

Nota: quando si usa il Maxwell® CSC 48 Instrument, toccare il pulsante **Anteriore** o **Posteriore** per selezionare o deselezionare le posizioni delle cartucce per il vassoio prescelto.

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

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

Nota: controllare l'identificativo sui vassoi Maxwell® a 24 posizioni per stabilire se devono essere posizionati nella parte anteriore o posteriore dello strumento.

6. Toccare il pulsante **Avvia** per iniziare il ciclo di estrazione. La piattaforma rientra e lo sportello si chiude.



Avvertenza: pericolo di schiacciamento.

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

7. Maxwell® Instrument inizierà immediatamente il ciclo di purificazione. La schermata visualizzerà i passaggi man mano che vengono eseguiti e una stima del tempo rimanente per la fine del ciclo.

Note

1. Toccando il pulsante **Interrompi** il ciclo sarà abbandonato. Tutti i campioni di un ciclo interrotto andranno persi.
 2. Se il ciclo viene annullato prima che sia completato, potrebbe essere richiesto di controllare se gli stantuffi sono ancora caricati nell'apposita barra. Se nella barra sono presenti degli stantuffi, è necessario eseguire la **Rimozione Stantuffi** quando richiesto. Se non ci sono stantuffi nell'apposita barra, si può scegliere di saltare la **Rimozione Stantuffi** quando richiesto. I campioni andranno persi.
8. Una volta completato il ciclo, l'interfaccia utente visualizzerà un messaggio indicante che il metodo è stato completato.

Fine del ciclo

9. Seguire le istruzioni a schermo al termine del metodo per aprire lo sportello. Verificare che gli stantuffi si trovino nella camera n.8 della cartuccia al termine del ciclo. Se gli stantuffi non sono stati rimossi dalla barra, seguire le istruzioni del manuale tecnico del Maxwell® Instrument in uso (vedere la Tabella 1) per eseguire un processo di **Rimozione Stantuffi** e cercare di scaricare gli stantuffi.
10. Rimuovere il vassoio dallo strumento subito dopo il ciclo per evitare l'evaporazione degli eluiti. Rimuovere le provette di eluizione contenenti il DNA e tapparle.

Nota: dopo la procedura di purificazione automatica, il vassoio sarà caldo. Per rimuovere il vassoio dalla piattaforma dello strumento, tenerlo ai lati.

Assicurarsi che i campioni vengano rimossi dallo strumento prima di eseguire un protocollo di igienizzazione UV per evitare di danneggiare l'acido nucleico.



11. Rimuovere le cartucce e gli stantuffi dai vassoi Maxwell®. Smaltire come rifiuto pericoloso secondo le procedure della propria struttura. Non riutilizzare Maxwell® CSC Cartridges, stantuffi CSC/RSC o provette di eluizione.

7. Valutazione delle prestazioni analitiche

Le prestazioni analitiche sono state valutate utilizzando campioni di sangue umano intero con il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e il Maxwell® CSC e i Maxwell® CSC 48 Instrument.

7.A. Resa del DNA

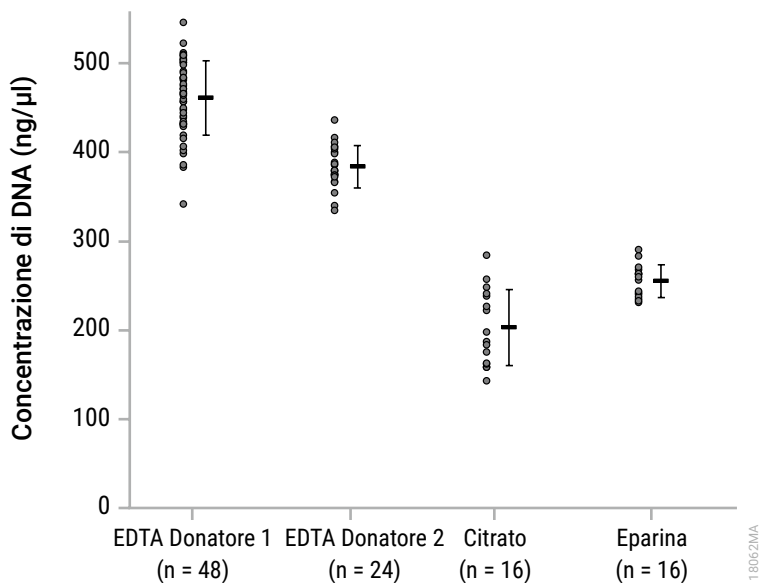


Figura 4. Concentrazione di DNA misurata tramite assorbanza (A_{260}). I replicati di DNA sono stati estratti da 500 μ l di sangue intero raccolto nelle provette con anticoagulanti elencate. Per ciascun set di dati, i puntini sulla sinistra rappresentano le singole misurazioni, mentre la concentrazione di DNA media di tutti i replicati con la deviazione standard si trova sulla destra. L'intervallo delle concentrazioni medie di DNA è stato di 203,0–461,0 ng/ μ l.

7.B. Qualità del DNA

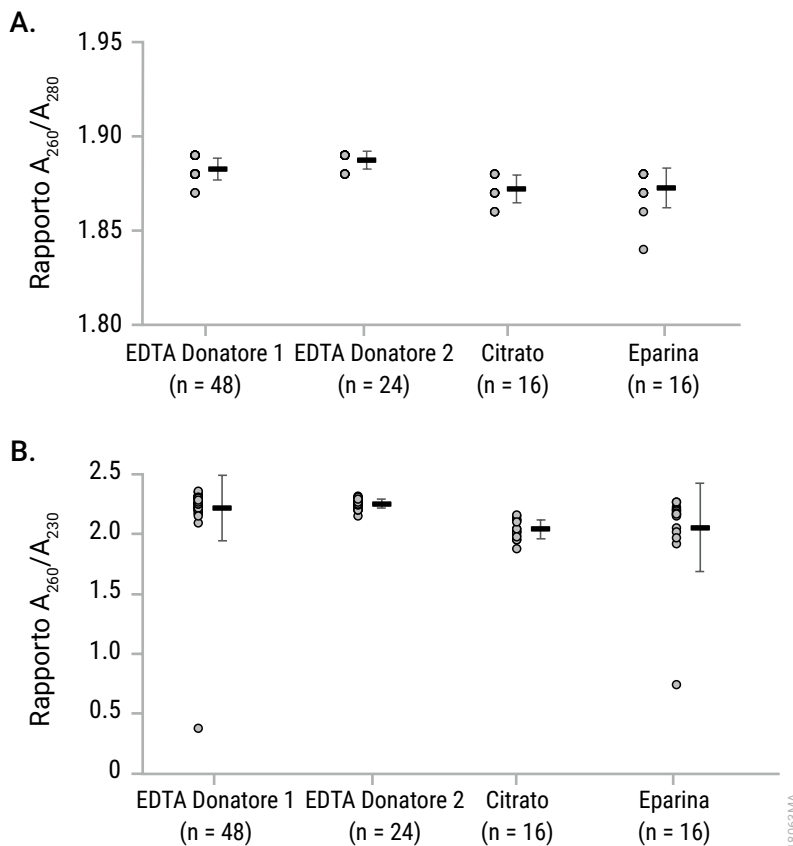


Figura 5. Rapporti di purezza A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230} . La qualità del DNA è stata determinata calcolando i rapporti di assorbanza per gli eluiti ottenuti da molteplici replicati da 500 μ l di campioni di sangue intero raccolti in provette contenenti EDTA, citrato o eparina come anticoagulanti. La figura mostra i rapporti A_{260}/A_{280} (**Riquadro A**) e A_{260}/A_{230} (**Riquadro B**). Per ciascun set di dati, i puntini sulla sinistra rappresentano le singole misurazioni, mentre il rapporto medio con la deviazione standard si trova sulla destra. L'intervallo dei rapporti A_{260}/A_{280} medi è stato di 1,87–1,89. L'intervallo dei rapporti A_{260}/A_{230} medi è stato di 2,04–2,25.

7.C. Riproducibilità

Tabella 2. Riproducibilità della resa del DNA. Il coefficiente di variazione percentuale (% CV) interserie per la resa del DNA purificato da 3 cicli di 8 replicati di sangue intero (500 µl ciascuno) con il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit eseguiti sugli strumenti Maxwell® n.1 e n.2. La resa del DNA media è stata valutata tramite spettroscopia di assorbanza.

Numero strumento (n = 24)	Resa media (µg)	Deviazione standard (µg)	% CV
1	17,8	1,9	10,7
2	16,7	1,4	8,5

Tabella 3. Il coefficiente di variazione percentuale all'interno del ciclo. La variabilità all'interno del ciclo è stata determinata per molteplici cicli di strumento a coprire ciascun tipo di provetta da prelievo ematico. Ogni ciclo ha riguardato 8 replicati da 500 µl di campioni di sangue intero. La resa media del DNA purificato da 8 replicati in ciascun ciclo valutata tramite spettroscopia di assorbanza, la deviazione standard e il coefficiente di variazione percentuale (% CV) sono indicati nella tabella di seguito. L'intervallo dei valori del CV percentuale è stato 2,7–11,6.

Numero ciclo (n = 8)	Tipo di provetta	Resa media (µg)	Deviazione standard (µg)	% CV
1	EDTA ¹	18,8	1,4	7,3
2	EDTA ¹	18,0	1,9	10,3
3	EDTA ¹	16,5	1,9	11,6
4	Eparina	10,1	0,3	2,7
5	EDTA ²	14,8	0,8	5,5
6	Citrato	9,3	0,9	9,4
7	EDTA ¹	17,0	1,5	9,0
8	EDTA ¹	17,3	1,2	7,2
9	EDTA ¹	15,9	1,2	7,7
10	EDTA ²	16,1	0,7	4,1
11	EDTA ²	14,9	0,6	4,3
12	Citrato	6,6	0,6	9,0
13	Eparina	9,2	0,5	5,4

¹Donatore 1

²Donatore 2

7.D. Amplificabilità

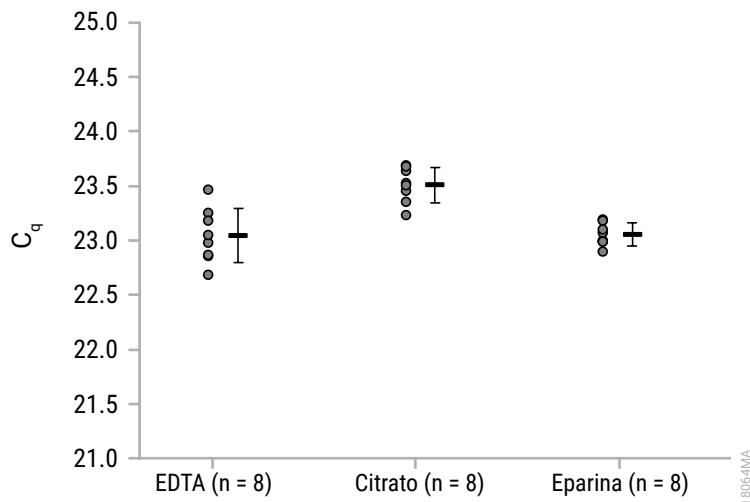


Figura 6. Amplificazione qPCR. Gli eluiti sono stati analizzati mediante qPCR dopo diluizione a una concentrazione all'interno della curva qPCR standard. Gli eluiti con EDTA sono stati diluiti 1 a 50, mentre gli eluiti con citrato ed eparina sono stati diluiti 1 a 20. L'intervallo dei valori C_q autosomici di questi campioni è stato di 22,69–23,69 cicli, e i valori sono risultati inferiori al valore C_q medio per il DNA 0,0032 ng/μl standard (35,12 cicli).

7.E. Inibizione (sostanze interferenti)

Tabella 4. Gli eluiti di DNA sono stati analizzati mediante qPCR per identificare la potenziale inibizione da sostanze interferenti. Gli eluiti di DNA sono stati diluiti a due concentrazioni all'interno della curva qPCR standard che rappresentano una differenza di otto volte nella concentrazione del DNA e analizzati mediante qPCR per determinare la differenza nei valori C_q (ΔC_q) ottenuta tra le due diluizioni. Il valore ΔC_q risultante atteso sulla base di questo fattore di diluizione è di 3 ± 1 cicli. I campioni eluiti hanno generato un ΔC_q di 2,5–3,3 cicli, indicando che non vi è alcuna inibizione dell'amplificazione del DNA rilevabile.

Numero di campioni	C_q iniziale	C_q della diluizione 1 a 8	ΔC_q
1	23,3	26,1	2,8
2	23,1	26,0	2,9
3	22,9	25,6	2,7
4	23,5	26,1	2,5
5	23,6	26,5	3,0
6	23,2	26,4	3,2
7	23,1	26,1	3,0
8	23,1	26,2	3,1
9	23,3	26,0	2,8
10	22,9	25,8	2,9
11	22,7	25,5	2,8
12	23,0	25,9	2,9
13	23,5	26,3	2,8
14	23,1	26,0	3,0
15	22,9	26,0	3,1
16	23,2	26,5	3,3

7.F. Contaminazione crociata

I campioni di sangue intero maschile e femminile, 500 μ l ciascuno, sono stati elaborati in posizioni dei vassoi alternate sul Maxwell[®] CSC Instrument in modalità IVD. Gli eluiti risultanti sono stati analizzati utilizzando la qPCR di un target di DNA del cromosoma Y per rilevare qualsiasi contaminazione crociata del DNA maschile nei campioni femminili. Non è stata rilevata alcuna contaminazione crociata. Gli eluiti dei campioni maschili sono stati diluiti 1 a 50 e hanno dato valori C_q compresi tra 22,69–23,55. I campioni di DNA femminile non avevano valori di C_q rilevabili per il target di DNA del cromosoma Y.

8. Valutazione delle prestazioni cliniche

Le prestazioni cliniche sono state valutate utilizzando campioni di sangue umano intero con il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e il Maxwell® CSC 48 Instrument.

Tabella 5. Test HLA-B27 con sangue umano intero. È stato eseguito un test HLA-B27 da un laboratorio esterno utilizzando il DNA estratto da sangue umano intero da 12 campioni presunti positivi e 12 campioni presunti negativi. L'estrazione del DNA è stata eseguita da due tester utilizzando il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit e il metodo standard di estrazione del DNA del laboratorio (metodo di riferimento del laboratorio). Gli eluiti di DNA ottenuti utilizzando il Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit sono stati diluiti da 1 a 5 e inseriti in un'analisi della qPCR con gli eluiti di DNA dal metodo di estrazione di riferimento del laboratorio. I 24 campioni hanno mostrato concordanza tra i due tester del sistema Maxwell® CSC e il metodo di riferimento del laboratorio.

Campioni di pazienti unici e presunto stato HLA-B27	Sistema di purificazione Maxwell® CSC		Metodo di riferimento del laboratorio
	Tester A	Tester B	
12 positivi	12 positivi	12 positivi	12 positivi
12 negativi	12 negativi	12 negativi	12 negativi

9. Risoluzione dei problemi

Per domande non specificamente trattate nel presente manuale, rivolgersi alla filiale o al distributore Promega locale. Le informazioni relative ai contatti sono disponibili all'indirizzo: **www.promega.com**.

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

Problema	Cause e commenti
Concentrazione inferiore alle attese	<p>Sangue sottoposto a più cicli di congelamento-scongelo può avere DNA degradato. Usare campioni prelevati e conservati secondo quanto elencato nella Sezione 3.</p> <p>Il campione di sangue intero aveva una bassa conta leucocitaria. La concentrazione del DNA genomico dei campioni di sangue dipende dal numero di leucociti presenti nel campione.</p> <p>Il campione di sangue intero non è stato mescolato prima dell'estrazione. Assicurarsi di mescolare i campioni di sangue intero prima del ciclo di estrazione affinché i leucociti siano in sospensione.</p>
Purezza inferiore alle attese	<p>Il sangue è stato conservato scongelato per un periodo prolungato o è stato sottoposto a più cicli di congelamento-sbrinamento. Usare campioni prelevati e conservati secondo quanto elencato nella Sezione 3.</p> <p>Il sangue non è stato mescolato nel contenuto della camera n.1 una volta aggiunto alla cartuccia. Mescolare il campione ematico nella camera n.1 pipettando 5–10 volte.</p>
Carryover della resina	<p>Il carryover della resina è normale e non influisce sulla resa downstream. Se necessario, utilizzare un magnete di eluizione ([Cat.# AS4017, Cat.# AS4018 o entrambi]) per trasferire l'eluato in una nuova provetta. Vedere la Sezione 11, Prodotti correlati.</p>

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

10. Bibliografia

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

11. Prodotti correlati

Strumento e accessori

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

*Per uso diagnostico in vitro. Questo prodotto è disponibile solo in alcuni Paesi.

Kit di reagenti Maxwell® CSC

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

12. Riepilogo delle modifiche

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

1. La Sezione 3 è stata rinominata in Finalità prevista/uso previsto del prodotto.
2. Sono state aggiunte le Sezioni 7 e 8 e rinumerate le sezioni seguenti.
3. Documento aggiornato in conformità al Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medici diagnostici in vitro.
4. Aggiunta limitazione di responsabilità.



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

© 2021–2022 Promega Corporation. Tutti i diritti riservati.

Maxwell è un marchio registrato di Promega Corporation.

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

Specifiche e prezzi sono soggetti a modifica senza preavviso.

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