

TECHNISCHES HANDBUCH

Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Gebrauchsanweisung für das Produkt
AS1780

Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben. Folienversiegelungen können scharfkantig sein.



GEBRAUCHSANWEISUNG
FÜR DAS PRODUKT
AS1780




PROMEGA
2800 Woods Hollow Rd.
Madison, WI USA

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Deutschland



Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit

Die gesamte technische Literatur ist unter folgender Adresse erhältlich: www.promega.com/protocols/
Rufen Sie diese Website auf. Dort finden Sie die jeweils aktuelle Version dieses technischen Handbuchs.
Schreiben Sie eine E-Mail an Promega Technical Services, falls Sie Fragen zur Verwendung dieses Systems haben.
Die E-Mail-Adresse lautet: techserv@promega.com

1. Beschreibung.....	2
2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung	3
3. Verwendungszweck des Produkts	4
4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts	5
5. Probenvorbereitung	5
6. Bevor Sie beginnen.....	6
6.A. Vorbereitung der Lyse-Lösung	6
6.B. Probenvorbereitung für Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges	7
6.C. Vorbereitung der Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge	8
7. Einrichtung und Betrieb des Maxwell® Instrument	10
8. Lagerung eluierter Nukleinsäure	12
9. Evaluierung der analytischen Leistung	13
9.A. RNA-Menge, Qualität und Amplifizierbarkeit.....	13
9.B. DNA-Menge, -Qualität und -Amplifizierbarkeit	17
9.C. Reproduzierbarkeit	20
9.D. Interferierende Substanzen (Inhibition)	21
9.E. Kreuzkontamination	22
10. Evaluierung der klinischen Leistung	23
10.A. Extraktion von Virus-RNA aus UTM-Proben	23
10.B. Extraktion von Virus-RNA aus Speichelproben	24
10.C. Extraktion von Virus-RNA aus Plasmaproben.....	25
10.D. Extraktion von Virus-DNA aus Plasmaproben	26
10.E. Extraktion von Virus-RNA aus Serumproben.....	27
10.F. Reproduzierbarkeit.....	28
10.G. Kreuzkontamination	29
11. Fehlerbehebung	30
12. Literaturhinweise	32

13. Verwandte Produkte.....	32
14. Änderungsübersicht	32

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit ist nur in bestimmten Ländern erhältlich.

1. Beschreibung

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit^(a) bietet in Kombination mit den in Tabelle 1 angegebenen Maxwell® Instruments eine einfache Methode zur effizienten automatischen Probenvorbereitung und Aufreinigung viraler Gesamt-nukleinsäure. Die Maxwell® CSC Instruments wurden im Sinne maximaler Einfachheit und Zweckdienlichkeit für den Einsatz mit vorbereiteten Reagenzien-Kartuschen und vorprogrammierten Aufreinigungsverfahren entwickelt. Mit der Maxwell®-Methode für das CSC Viral Total Nucleic Acid Kit kann in ca. 30 Minuten eine oder mehrere Proben (bis zur maximalen Anzahl) auf dem Maxwell® Instrument verarbeitet werden. Das geringe Elutionsvolumen von 50 µl ergibt eine konzentrierte aufgereinigte Nukleinsäure für nachfolgende Anwendungen, wie z. B. die quantitative PCR (qPCR) oder quantitative RT-PCR (qRT-PCR). Nach einer kurzen vorhergehenden Lyse, wird die Probe in die Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge gegeben und die restliche Verarbeitung erfolgt vollautomatisch.

Tabelle 1. Unterstützte Instrumente

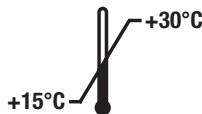
Instrument	Cat. #	Technisches Handbuch
Maxwell® CSC	AS6000	TM457
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623

Prinzip der Methode: Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit reinigt Proben mithilfe paramagnetischer Partikel, die für eine mobile feste Phase sorgen, mit der die Nukleinsäure optimal aus der Probe gewonnen, gewaschen und aufgereinigt wird. Die Maxwell® Instruments sind Geräte zur magnetischen Partikelhandhabung, welche die Nukleinsäure effizient an die paramagnetischen Partikel in der ersten Kammer einer vorgefüllten Kartusche binden. Die Proben werden einer Reihe von Waschungen unterzogen, bevor die Gesamt-nukleinsäure eluiert wird.

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung

PRODUKT	GRÖSSE	CAT. #
Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit	48 Präparationen	AS1780

Für den Einsatz in der In-vitro-Diagnostik. Verwendung nur durch Fachpersonal. Reicht für 48 Isolationen. Die Kartuschen sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.



Beinhaltet:

- 20 ml Lyse-Pufferlösung
- 2 x 1 ml Proteinase K-(PK-)Lösung
- 50 CSC/RSC-Stößel
- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCA)
- 50 Elutions-Gefäße (0,5 ml)
- 25 ml Nuclease-Free Water

Lagerbedingungen: Komponenten bei Raumtemperatur lagern (+15 °C bis +30 °C).



Sicherheitshinweise: Die Kartuschen enthalten Ethanol, Isopropanol und Guanidinhydrochlorid. Ethanol und Isopropanol gelten als leichtentzündlich, gesundheitsschädlich und reizend. Guanidinhydrochlorid gilt als giftig, gesundheitsschädlich und reizend. Ausführliche Sicherheitshinweise finden Sie im SDS.



Die Kartuschen sind zum Gebrauch mit potenziell infektiösen Substanzen bestimmt. Bei der Handhabung infektiöser Substanzen ist angemessene Schutzkleidung (z. B. Handschuhe, Schutzbrille) zu tragen. Beim Umgang mit allen infektiösen Substanzen in Verbindung mit diesem System und bei deren Entsorgung sind die Richtlinien Ihres Instituts zu befolgen.

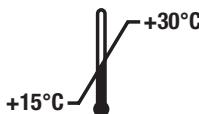


Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben; Kanten können scharf sein.

Weitere Informationen: Die Komponenten des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit sind für den gemeinsamen Gebrauch vorgesehen und haben eine Qualitätskontrollprüfung durchlaufen. Es wird nicht empfohlen, Kit-Komponenten verschiedener Chargen miteinander zu vermischen. Verwenden Sie nur die in dem Kit enthaltenen Komponenten. Kartuschen nicht verwenden, wenn die Kartuschenversiegelung bei Erhalt nicht intakt ist. Weitere Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt unter: www.promega.com

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung (Fortsetzung)

Erklärung der Symbole

Symbol	Erklärung	Symbol	Erklärung
	In-vitro-Diagnostikum		Nicht zur Wiederverwendung
	Bei +15 °C bis +30 °C lagern.		Hersteller
	Achtung		Leichtentzündlich
	Gesundheitsrisiko		Ausreichend für „n“ Tests
	Warnung. Quetschgefahr.		Warnung. Biogefahr.
	Chargennummer		Bestellnummer
	Europäische Konformität		Bevollmächtigter

3. Verwendungszweck des Produkts

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit ist zur Verwendung in Kombination mit den Maxwell® CSC Instruments und der Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification-Methode als medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik (IVD) zur Durchführung automatisierter Isolierungen von Gesamt-nukleinsäure aus humanem Plasma, Serum, Virustransportmedien oder stabilisierten Speichelproben bestimmt. Die aufgereinigte Nukleinsäure ist für den Einsatz bei auf Amplifikation basierenden In-vitro-Diagnostik-Assays geeignet.

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit ist für den Einsatz bei Temperaturen zwischen 15 °C und 30 °C bestimmt. Der Einsatz außerhalb dieses Temperaturbereichs kann zu suboptimalen Ergebnissen führen.

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit ist ausschließlich zur Verwendung durch Fachpersonal bestimmt. Diagnostische Ergebnisse, die aus Nukleinsäure gewonnen werden, die mit diesem Gerät aufgereinigt wurde, müssen in Verbindung mit anderen Klinik- oder Labordaten ausgewertet werden.

4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts

Das Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit wurde mit Serum, Plasma und nasopharyngealen Abstrichtupfern in einem Universellen Transportmedium (UTM) für Viren und stabilisiertem Speichel validiert. Seine Verwendung zur Extraktion viraler Nukleinsäure aus anderen Probentypen ist vom Benutzer in eigener Verantwortung zu validieren.

Jede nachfolgende Diagnoseanwendung, bei der mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification System aufgereinigte Nukleinsäuren verwendet werden, muss geeignete Kontrollen beinhalten. Für die Validierung von Leistungsmerkmalen, die für nachfolgende Diagnostikanwendungen benötigt werden, ist der Benutzer verantwortlich.

Benutzer können wahlweise exogene interne Kontrollen (IC) zur Probe oder zum Lysat hinzufügen. Bestimmte interne Nukleinsäure-Kontrollen, die kleiner als 100 bp sind, werden mit diesem System möglicherweise unzureichend aufgereinigt.

5. Probenvorbereitung

Vom Benutzer bereitzustellende Materialien

- Röhrchen für Plasma, Serum, UTM- oder stabilisierte Salivaproben

 Für den Umgang mit humanen Proben werden Vorsichtsmaßnahmen gegen durch Blut übertragbare Krankheitserreger empfohlen.

Bei Plasmaproben ist das Blut in Vacutainer®-Röhrchen mit EDTA- oder ACD-Antikoagulanz abzunehmen. Vermeiden Sie Heparin, da es nachfolgende Amplifikationen verhindern kann.

Die folgenden allgemeinen Empfehlungen gelten für die Vorbereitung und Lagerung von Proben (1,2):

1. Trennen Sie das Plasma innerhalb von 1 Stunde nach der Blutabnahme von den Zellen, indem Sie es 20 Minuten lang bei 25 °C mit $1.500 \times g$ zentrifugieren und übertragen Sie den Plasmaüberstand anschließend in ein sauberes Röhrchen.
2. Trennen Sie das Serum von geronnenem Blut, indem Sie es 10 Minuten lang bei 25 °C mit $1.000 \times g$ zentrifugieren und dekantieren Sie es anschließend in ein sauberes Röhrchen.
3. Bei Abstrichtupfern in einem UTM sind ausschließlich Tupfer aus Synthetikfaser mit Kunststoffstab zu verwenden. Verwenden Sie keine Calciummalginat-Tupfer oder Tupfer mit Holzstab, da diese Substanzen enthalten können, die manche Viren inaktivieren und somit PCR-Tests hemmen können. Geben Sie die Tupfer sofort in sterile Röhrchen mit 2–3 ml viralem Transportmedium.

5. Probenvorbereitung (Fortsetzung)

Lagern Sie Plasma- und Serumproben maximal 24 Stunden bei 2–8 °C, oder frieren Sie nicht verwendete Proben innerhalb von 24 Stunden maximal 5 Tage bei –20 °C ein. Lagern Sie UTM- und stabilisierte Salivaproben maximal 72 Stunden bei 2–8 °C, oder frieren Sie die Proben bei –70 °C ein. Vermeiden Sie wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen und lagern Sie die Proben nicht in einem Gefrierschrank mit automatischer Abtaufunktion. Je nach isoliertem Virus können die spezifischen Entnahme- und Lagerbedingungen unterschiedlich sein.

6. Bevor Sie beginnen

Vom Benutzer bereitzustellende Materialien

- 1,5–2,0-ml-Röhrchen für die Inkubation der Proben (z. B. ClickFit Microtube, 1,5 ml [Cat. # V4741]; empfohlen, um ein Öffnen der Kappe beim Erwärmen zu verhindern)
- Konisches 15-ml- oder 50-ml-Röhrchen zur Vorbereitung der Lyse-Lösung
- Tisch-Vortexmischer
- Pipettierer und Pipettenspitzen für die Übertragung der Proben in die vorgefüllten Reagenzien-Kartuschen
- Heizblock oder Wasserbad, auf 56 °C eingestellt

6.A. Vorbereitung der Lyse-Lösung

Wenn der Lysepuffer getrübt ist oder Ausfällungen enthält, erwärmen Sie ihn bei 37–56 °C, bis der Lysepuffer wieder klar ist.

Hinweis: Bereiten Sie für jede Probencharge eine frische Lyse-Lösung vor, wie in Tabelle 2 beschrieben. Drehen Sie das Röhrchen um, um den Inhalt zu vermischen.

Tabelle 2. Vorbereitung der Lyse Lösung.

Für Plasma- oder Serumproben von 100 µl und 200 µl-, oder UTM- oder stabilisierte Salivaproben von 200 µl:

Reagenz	Volumen/Reaktionen	Reaktionen (Laufanzahl + 2)	Insgesamt
Lyse-Pufferlösung ¹	200 µl	n + 2	200 µl × (n + 2)
Proteinase-K-Lösung	20 µl	n + 2	20 µl × (n + 2)

Für Plasma- und Serumproben von 300 µl:

Reagenz	Volumen/Reaktionen	Reaktionen (Laufanzahl + 2)	Insgesamt
Lyse-Pufferlösung ¹	300 µl	n + 2	300 µl × (n + 2)
Proteinase-K-Lösung	30 µl	n + 2	30 µl × (n + 2)

¹Wenn eine interne Kontrolle verwendet wird, kann diese zur Lyse-Lösung hinzugefügt werden. Interne Kontrollen sind nicht im Lieferumfang dieses Kits enthalten.

Hinweis: Bei einigen Probentypen mit Atemwegsviren, wie nasopharyngealen Abstrichtupfern, ist die Verwendung von Proteinase K ggf. nicht erforderlich.

6.B. Probenvorbereitung für Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridges

Es können frische oder eingefrorene Proben verwendet werden. Tauen Sie die gefrorenen Spezimen bei Raumtemperatur oder auf Eis auf, und mischen Sie sie vor der Verwendung 10 Sekunden lang mit dem Vortexmixer.

1. Pipettieren Sie alle Plasma- oder Serumproben oder 200 µl des UTM oder der stabilisierten Saliva in ein 1,5-ml- oder 2-ml-Mikrozentrifugenröhrlchen mit einer Kappe.
2. Fügen Sie die unter Abschnitt 6.A vorbereitete Lyse-Lösung hinzu.
 - a. Bei Probenvolumen von 100 µl oder 200 µl fügen Sie 220 µl der Lyse-Lösung hinzu.
 - b. Bei Probenvolumen von 300 µl fügen Sie 330 µl der Lyse-Lösung hinzu.
3. Verschließen Sie die Röhrchen und vortexen Sie sie 10 Sekunden lang.
4. Bei Serumproben, inkubieren Sie diese 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (15–30 °C) und fahren dann mit Schritt 5 fort.
5. Inkubieren Sie die Proben 10 Minuten lang bei 56 °C in einem Heizblock oder Wasserbad. Während dieser Inkubation fahren Sie mit Abschnitt 6.C fort, um die Kartuschen vorzubereiten.

Hinweis: Bei einigen Viren, wie z. B. dem Hepatitis B-Virus, kann aufgrund der sekundären Struktur des viralen Genoms für eine optimale Nukleinsäure-Gewinnung eine Inkubation bei 80 °C erforderlich sein.

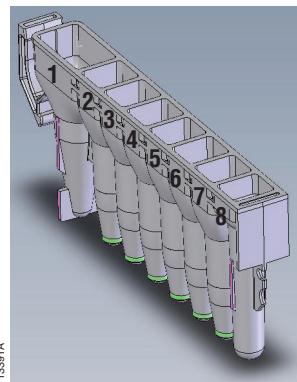
6.C. Vorbereitung der Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge

1. Wechseln Sie die Handschuhe, bevor Sie Kartuschen, Stößel und Elutions-Gefäße (0,5 ml) handhaben. Platzieren Sie alle zu verwendenden Kartuschen in der Kartuschenhalterung(en), wobei sich Kammer 1 (die größte Kammer in der Kartusche) auf der gegenüberliegenden Seite zu den Elutions-Gefäßen befindet. Drücken Sie die Kartusche nach unten, bis sie an Ort und Stelle einrastet. Ziehen Sie die Folienversiegelung vorsichtig ab, sodass die gesamte Kunststofffolie von der Oberseite der Kartusche entfernt wird. Vergewissern Sie sich, dass sämtliche Dichtklebestreifen und etwaige Kleberückstände entfernt sind, bevor Sie die Kartuschen in der Kartuschenhalterung einsetzen.
2. Platzieren Sie einen Stößel in Kammer 8 jeder Kartusche.
3. Platzieren Sie in allen Kartuschen ein leeres Elutions-Gefäß an die hierfür vorgesehene Position in der oder den Kartuschenhalterung(en).
4. Fügen Sie auf den Boden jedes Elutions-Gefäßes 50 µl Nuclease-Free Water hinzu.
5. Pulsieren Sie die Proben in einer Mikrozentrifuge, damit sich die Flüssigkeit am Boden des Röhrchens sammelt. Übertragen Sie das Probenlysat in Kammer 1 (die größte Kammer) der Kartusche.

6. Fahren Sie fort mit Abschnitt 7, Einrichtung und Betrieb des Maxwell® Instrument.

Hinweise:

1. Proben- oder Reagenzien spritzer auf der gesamten Kartuschenhalterung sind mit einer Lösung aus Wasser und Reinigungsmittel zu reinigen und anschließend mit einem antibakteriellen Spray einzusprühen oder abzuwischen und dann mit Wasser abzuwaschen. Verwenden Sie kein Bleichmittel auf den Instrumententeilen.
2. Verwenden Sie nur die mitgelieferten 0,5-ml-Elutions-Gefäße aus dem Kit; andere Gefäße sind möglicherweise nicht mit dem Maxwell® Instrument kompatibel.



I3397A

Vom Benutzer hinzuzugeben

1. Probenlysat
8. CSC/RSC-Stößel

Abbildung 1. Maxwell® Viral Total Nucleic Acid Purification Cartridge. In Kammer 1 wird eine vorverarbeitete Probe gegeben und zu Kammer 8 wird ein Stößel hinzugefügt.



Abbildung 2. Anordnung und Konfiguration der Kartuschenhalterung(en). In die Elutions-Gefäße wird, wie in der Abbildung zu sehen, Nuclease-Free Water gegeben. Die Stößel befinden sich in Kammer 8 der Kartusche.

7. Einrichtung und Betrieb des Maxwell® Instrument

Ausführliche Informationen hierzu finden Sie im entsprechenden technischen Handbuch zu Ihrem Maxwell® Instrument (siehe Tabelle 1).

1. Schalten Sie das Maxwell® Instrument und den Tablet-PC ein. Melden Sie sich bei Ihrem Tablet-PC an und starten Sie die Maxwell® Software im IVD-Modus durch zweimaliges Antippen des Symbols auf dem Desktop. Das Instrument fährt hoch, führt einen Selbsttest durch und setzt alle beweglichen Teile in ihre Ausgangsstellung zurück.
2. Tippen Sie auf **Start**, um mit der Ausführung einer Methode zu beginnen.
3. Scannen Sie den Methoden-Barcode oben rechts auf dem Etikett des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit oder geben Sie ihn ein, um die auszuführende Methode automatisch auszuwählen (Abbildung 3).

Hinweis: Der Barcode des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit ist für die Aufreinigung mit Maxwell® CSC Instruments erforderlich. Das Etikett des Kits enthält zwei Barcodes. Der Verfahrens-Barcode ist weiter unten in Abbildung 3 zu sehen. Wenn der Barcode nicht gescannt werden kann, wenden Sie sich bitte an Promega Technical Services.

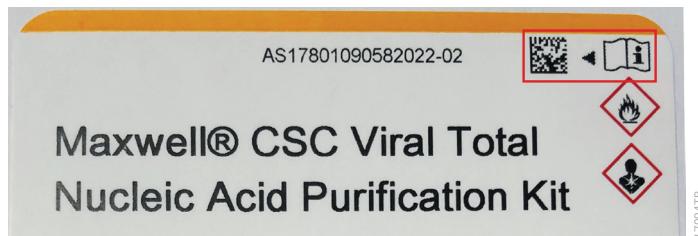


Abbildung 3. Kit-Etikett mit zu scannendem Methoden-Barcode. Um einen Aufreinigungslauf zu starten, scannen Sie den Barcode, der durch die rote Umrandung, oben rechts auf dem Kit-Etikett, gekennzeichnet ist.

4. Tippen Sie auf dem Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ auf die Kartuschenpositionen, um für diesen Extraktionslauf Positionen auszuwählen oder die Auswahl aufzuheben. Geben Sie ggf. erforderliche Probenverfolgungsinformationen ein und tippen Sie auf die Schaltfläche **Fortsetzen**, um fortzufahren.

Hinweis: Bei Verwendung von Maxwell® Instruments mit 48 Positionen müssen Sie die Schaltflächen **Vorderseite** und **Rückseite** drücken, um die Kartuschenpositionen an jeder Kartuschenhalterung festzulegen/aufzuheben.

5. Überprüfen Sie nach dem Öffnen der Tür, ob alle Elemente der Checkliste Extraktion ausgeführt wurden. Überprüfen Sie, ob die Proben zu Kammer 1 der Kartuschen hinzugegeben wurden, ob die Kartuschen in das Gerät geladen wurden, ob offene Elutions-Gefäße mit Nuclease-Free Water und die Stößel in Kammer 8 vorhanden sind. Setzen Sie die Kartuschenhalterung(en) mit den vorbereiteten Kartuschen in die Maxwell® Instrument-Plattform ein.

Einsetzen der Maxwell® Deck Tray: Halten Sie die Kartuschenhalterung an den Seiten fest, damit keine Kartuschen herausfallen. Vergewissern Sie sich, dass die Kartuschenhalterung so in das Maxwell® Instrument eingesetzt wurde, dass sich die Elutions-Gefäße in nächster Nähe zur Tür befinden. Winkeln Sie die Rückseite der Kartuschenhalterung nach unten ab und setzen Sie sie so in das Gerät, dass die Rückseite der Kartuschenhalterung an der Rückseite der Geräteplattform anliegt. Drücken Sie auf die Vorderseite der Kartuschenhalterung, um sie fest in die Geräteplattform einzusetzen. Falls Sie Schwierigkeiten haben, die Kartuschenhalterung in die Plattform zu setzen, überprüfen Sie, ob sie richtig ausgerichtet ist. Stellen Sie sicher, dass sich die Kartuschenhalterung auf der Geräteplattform befindet und vollständig eingesetzt ist.

Hinweis: Sie müssen die Kennung an den Maxwell® Deck Trays mit 24 Positionen überprüfen, um festzustellen, ob diese an der Vorder- oder Rückseite des Geräts platziert werden müssen.

6. Überprüfen Sie, ob alle angegebenen Vorverarbeitungsschritte ausgeführt wurden, und tippen Sie auf **Start**, um die Gerätetür zu schließen und die Verarbeitung zu starten.

Hinweis: Bei Verwendung eines Maxwell® Instrument mit 48 Positionen wird die Kartuschenhalterung(en) gescannt, sobald die Tür sich schließt, sofern das Vision System aktiviert wurde. Jegliche Fehler beim Einrichten der Kartuschenhalterung (z. B. Stößel nicht in Kammer 8, Elutions-Gefäße nicht vorhanden und offen) führen dazu, dass die Software zum Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ zurückkehrt und die problematischen Positionen mit einem Ausrufezeichen in einem roten Kreis gekennzeichnet werden. Sie können durch Berühren des Ausrufezeichens eine Beschreibung des Fehlers aufrufen und alle Fehlerzustände später beheben. Berühren Sie erneut die Schaltfläche **Start**, um den Scan der Kartuschenhalterung zu wiederholen und mit dem Extraktionslauf zu beginnen.



Warnung: Quetschgefahr.

Das Maxwell® Instrument beginnt sofort mit dem Aufreinigungslauf. Der Bildschirm zeigt u. a. folgende Informationen an: den Benutzer, der den Durchlauf gestartet hat, den aktuell laufenden Methodenschritt und die geschätzte verbleibende Laufzeit.

Hinweise:

1. Wenn Sie die Schaltfläche **Abbruch** berühren, wird der aktuelle Lauf abgebrochen. Alle Proben aus einem abgebrochenen Lauf gehen verloren.
2. Wird der Lauf vor Beendigung abgebrochen, kann die Aufforderung angezeigt werden, zu prüfen, ob noch Stößel auf der Stößelhalterung geladen sind. Wenn Stößel auf der Stößelhalterung vorhanden sind, müssen Sie auf Anforderung den Schritt **Reinigung** durchführen. Wenn sich keine Stößel auf der Stößelhalterung befinden, können Sie den Schritt **Reinigung** wahlweise überspringen. Die Proben sind dann nicht mehr zu verwenden. Versuchen Sie nicht, Proben erneut aufzurüsten, wenn ein Gerätelauf abgebrochen wurde.

7. Einrichtung und Betrieb des Maxwell® Instrument (Fortsetzung)

7. Befolgen Sie am Ende des Verfahrens die Anweisungen auf dem Bildschirm, um die Tür zu öffnen. Vergewissern Sie sich, dass sich die Stößel am Ende des Laufs in Kammer 8 der Kartusche befinden. Sind noch Stößel an der Stößelhalterung geladen, befolgen Sie die Anweisungen im technischen Handbuch zu Ihrem Maxwell® Instrument (Tabelle 1) und führen Sie das Verfahren **Reinigung** durch, um die Stößel zu entladen, sofern möglich.
8. Nehmen Sie die Kartuschenhalterung(en) aus dem Gerät. Entnehmen Sie die Elutions-Gefäße mit der viralen Gesamtnukleinsäure und verschließen Sie sie mit einer Kappe. Falls die Elutions-Gefäße paramagnetische Partikel enthalten, zentrifugieren Sie sie 30 Sekunden bis 1 Minute lang bei $10.000\text{--}20.000 \times g$. Nachdem der Lauf abgeschlossen ist, wird der Extraktionslaufbericht angezeigt. Diesen Bericht können Sie über den Bildschirm „Berichtsansicht“ ausdrucken oder exportieren oder beides.
9. Nehmen Sie die Kartuschen und Stößel aus der oder den Kartuschenhalterung(en) und entsorgen Sie sie entsprechend den Richtlinien Ihres Instituts für gefährliche Abfälle. Die Kartuschen, Stößel und Elutions-Gefäße dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Hinweis:** Stellen Sie sicher, dass alle Proben vor dem Schließen der Tür und dem Beginn der UV-Bestrahlung entfernt wurden, um eine Degradierung der Nukleinsäure zu vermeiden.



8. Lagerung eluierter Nukleinsäure

Wenn die Proben nicht unmittelbar verarbeitet werden, lagern Sie die eluierte virale DNA für maximal 24 Stunden auf Eis oder bei 4°C . Falls eine längere Lagerung erforderlich ist, frieren Sie die Proben bei -20°C oder -70°C ein. Virale RNA ist weniger stabil und sollte bevorzugt sofort nach der Isolierung in nachfolgenden Assays getestet werden. Alternativ kann die eluierte virale RNA bei -70°C gelagert werden. Spezifische Empfehlungen für die Lagerung und Handhabung von Proben finden Sie in der Anleitung für nachfolgende Anwendungen.

9. Evaluierung der analytischen Leistung

Die Evaluierung der analytischen Leistung des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit wurde in den Maxwell® CSC und Maxwell® CSC 48 Instruments mithilfe eines universellen Transportmediums (UTM) für Viren, Speichel und Plasmaproben durchgeführt.

9.A. RNA-Menge, Qualität und Amplifizierbarkeit

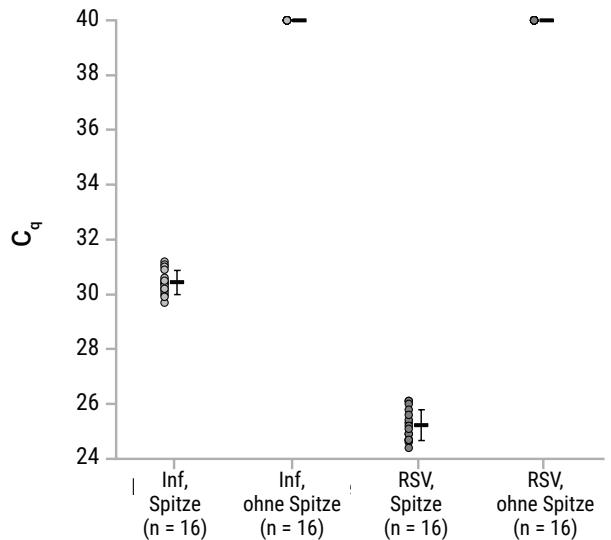


Abbildung 4. RT-qPCR C_q -Werte für Eluate, die mithilfe eines Universellen Transportmediums (UTM) hergestellt wurden. „Spatzen“-Proben wurden mit inaktiven Influenza-Virus (Inf) oder Respiratorischem Synzytial-Virus (RSV) versetzt. Bei Proben ohne Spatzen handelte es sich um UTM-Kontrollen ohne hinzugefügtes inaktiviertes Virus. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q -Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Proben ohne C_q wurden für Mittelungszwecke ein C_q von 40 zugeordnet. Die mit dem Influenza-Virus versetzte Probe hatte einen durchschnittlichen C_q von 30,4 und die mit dem RSV versetzte Probe hatte einen durchschnittlichen C_q von 25,2. Kontrollen ohne Spatze hatten einen C_q von 40.

9.A. RNA-Menge, Qualität und Amplifizierbarkeit (Fortsetzung)

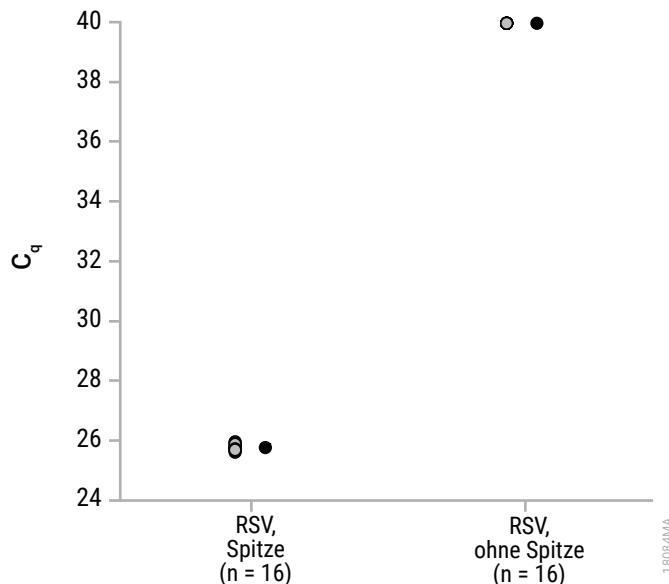


Abbildung 5. RT-qPCR C_q-Werte für Eluate, die aus Speichel hergestellt wurden. „Spitzen“-Proben wurden mithilfe von Speichel mit Respiratorischem Synzytial-Virus (RSV) versetzt. Bei Proben ohne Spitzen handelte es sich um Speichel ohne hinzugefügtes inaktiviertes Virus. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q-Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Proben ohne C_q wurden für Mittlungszwecke ein C_q von 40 zugeordnet. Die mit dem RSV versetzte Probe hatte einen durchschnittlichen C_q von 25,8 und Kontrollen ohne Spitze einen C_q von 40.

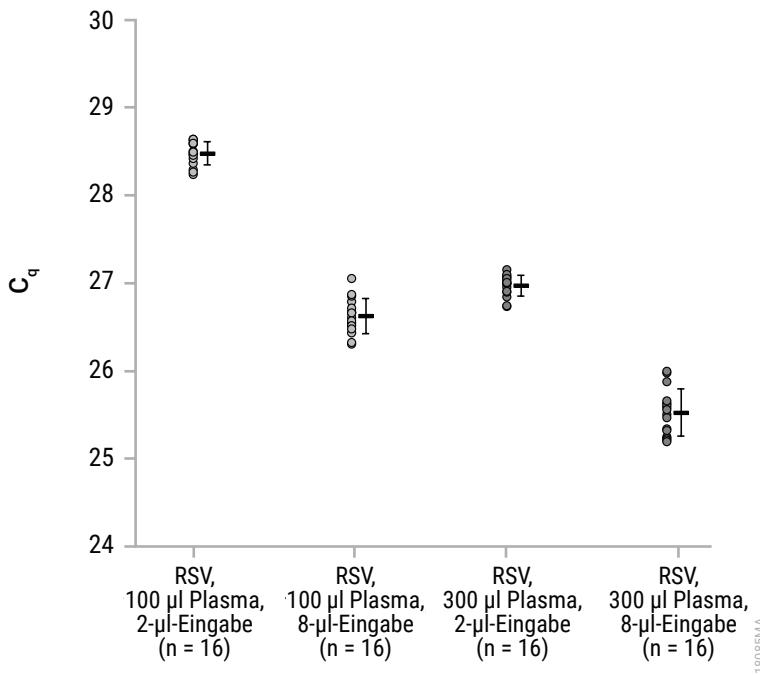


Abbildung 6. RT-qPCR C_q -Werte für aus Plasma hergestellte Eluate. Plasmaproben (100 μ l oder 300 μ l) wurden mit dem Respiratorischen Synzytial-Virus versetzt (RSV) und dann für die Aufreinigung verwendet. Die Inhibition wurde mithilfe von 2 μ l und 8 μ l als vierfacher Eingabeunterschied bewertet, was zu einem C_q -Unterschied von ca. 2 Zyklen führen sollte. Eluate (2- μ l- oder 8- μ l-Eingabe) von jeder Plasma-Aufreinigung wurden mit RT-qPCR amplifiziert. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q -Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Die 100- μ l-Plasmaprobe mit 2- μ l-Eingabe in RT-qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 28,5 und die 8- μ l-Eingabe in die RT-qPCR einen Durchschnitt von 26,6. Die 300- μ l-Plasmaprobe mit 2- μ l-Eingabe in RT-qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 27,0 und die 8- μ l-Eingabe in die RT-qPCR einen Durchschnitt von 25,5.

9.A. RNA-Menge, Qualität und Amplifizierbarkeit (Fortsetzung)

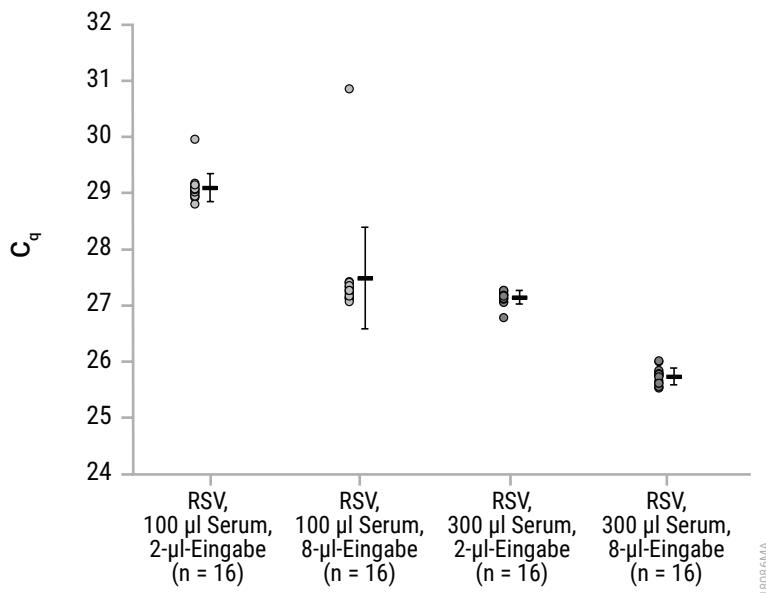


Abbildung 7. RT-qPCR C_q-Werte für aus Serum hergestellte Eluate. Serumproben (100 μ l oder 300 μ l) wurden mit dem Respiratorischen Synzytial-Virus (RSV) versetzt und dann für die Aufreinigung verwendet. Die Inhibition wurde mithilfe von 2 μ l und 8 μ l als vierfacher Eingabeunterschied bewertet, was zu einem C_q-Unterschied von ca. 2 Zyklen führen sollte. Eluate (2- μ l- oder 8- μ l-Eingabe) von jeder Serumreinigung wurden mit RT-qPCR amplifiziert. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q-Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Die 100- μ l-Serumprobe mit 2- μ l-Eingabe in RT-qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 29,1 und die 8- μ l-Eingabe in die RT-qPCR einen durchschnittlichen C_q von 27,5. Die 300- μ l-Serumprobe mit 2- μ l-Eingabe in RT-qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 27,1 und die 8- μ l-Eingabe in die RT-qPCR einen durchschnittlichen C_q von 25,7.

9.B. DNA-Menge, -Qualität und -Amplifizierbarkeit

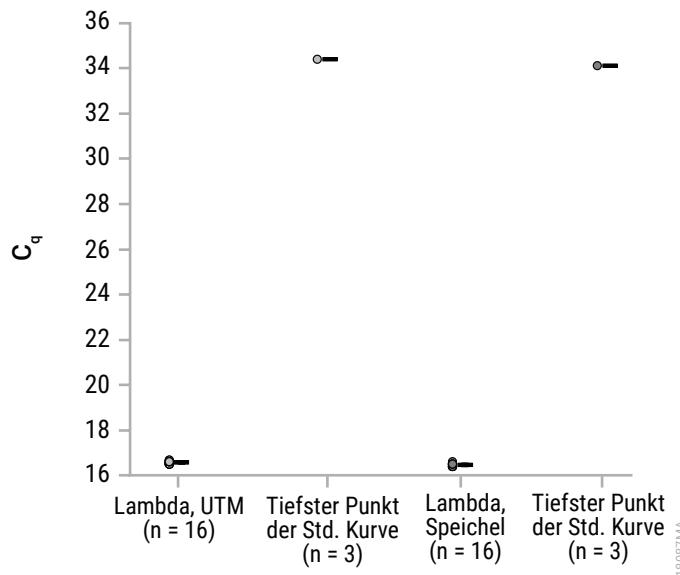


Abbildung 8. qPCR C_q -Werte für aus UTM oder Speichel hergestellte Eluate. UTM oder Speichelproben wurden für Lambda-Proben mit Lambda-Phagen versetzt. Der tiefste Punkt der Standardkurve („Std.“) wird als relative Quantifizierungskontrolle angezeigt. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q -Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Die mit dem Lambda-Virus versetzte UTM-Probe hatte einen durchschnittlichen C_q von 16,6 und die mit dem Lambda-Virus versetzte Speichelprobe einen durchschnittlichen C_q von 16,5. Der tiefste Punkt auf der Lambda-Standardkurve im UTM-Experiment hatte einen C_q von 34,4, und im Speichelexperiment betrug der C_q des tiefsten Punkts 34,1.

9.B. DNA-Menge, -Qualität und -Amplifizierbarkeit (Fortsetzung)

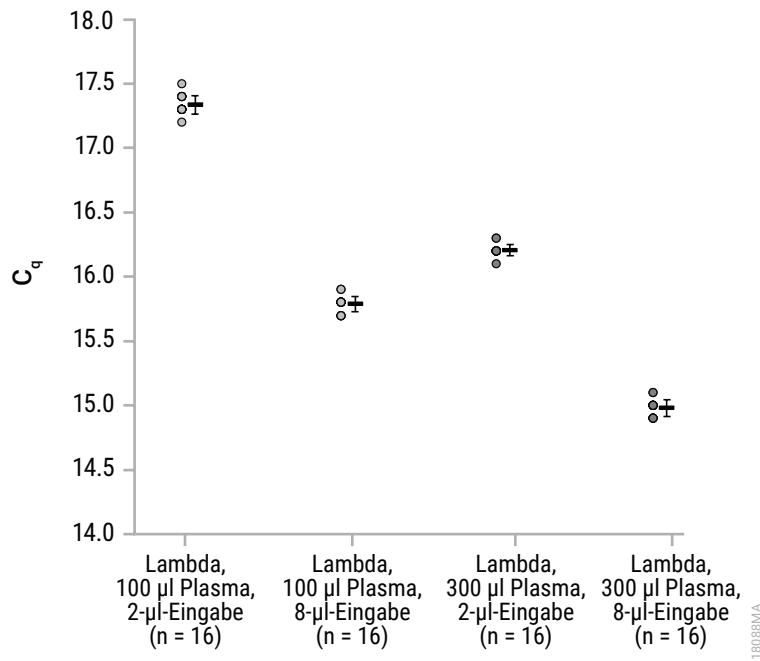


Abbildung 9. qPCR C_q -Werte für aus Plasma hergestellte Eluate. Plasmaproben (100 μ l oder 300 μ l) wurden mit dem Lambda-Phagen versetzt (RSV) und dann für die Aufreinigung verwendet. Die Inhibition wurde mithilfe von 2 μ l und 8 μ l als vierfacher Eingabeunterschied bewertet, was zu einem C_q -Unterschied von ca. 2 Zyklen führen sollte. Eluate (2- μ l- oder 8- μ l-Eingabe) von jeder Plasma-Aufreinigung wurden durch qPCR amplifiziert. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q -Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Die 100- μ l-Plasmaprobe mit 2- μ l-Eingabe in die qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 17,3 und die 8- μ l-Eingabe in die qPCR einen Durchschnitt von 15,8. Die 300- μ l-Plasmaprobe mit 2- μ l-Eingabe in qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 16,2 und die 8- μ l-Eingabe in die qPCR einen Durchschnitt von 15,0.

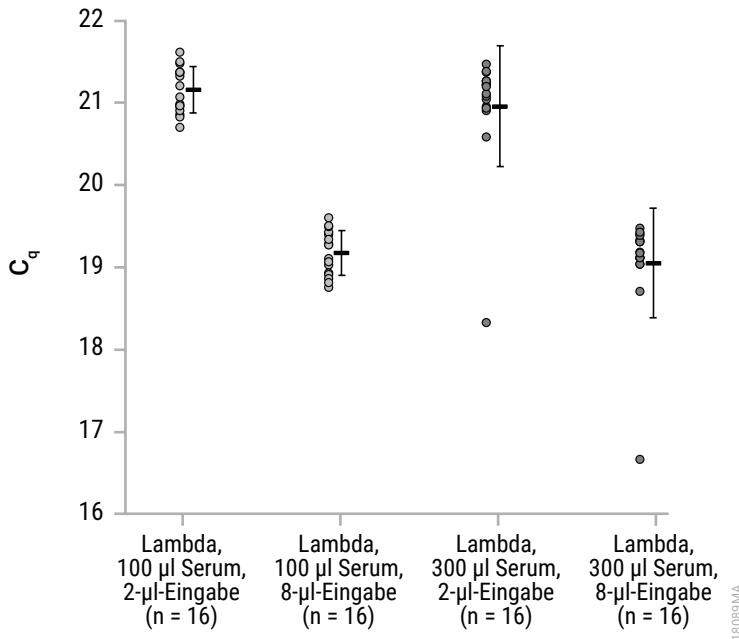


Abbildung 10. qPCR C_q-Werte für aus Plasma hergestellten Eluate. Serumproben (100 μ l oder 300 μ l) wurden mit Lambda-Phagen versetzt (RSV) und dann für die Aufreinigung verwendet. Die Inhibition wurde mithilfe von 2 μ l und 8 μ l als vierfacher Eingabeunterschied bewertet, was zu einem C_q-Unterschied von ca. 2 Zyklen führen sollte. Eluate (2- μ l- oder 8- μ l-Eingabe) von jeder Serumreinigung wurden durch qPCR amplifiziert. Bei jedem Datensatz stellen Punkte auf der linken Seite individuelle C_q-Werte der Probe dar, während der Mittelwert mit der Standardabweichung rechts angezeigt wird. Die 100- μ l-Serumprobe mit 2- μ l-Eingabe in die qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 21,2 und die 8- μ l-Eingabe in die qPCR einen Durchschnitt von 19,2. Die 300- μ l-Serumprobe mit 2- μ l-Eingabe in qPCR hatte einen durchschnittlichen C_q von 21,0 und mit 8- μ l-Eingabe in die qPCR einen Durchschnitt von 19,1.

9.C. Reproduzierbarkeit

Tabelle 3. RT-qPCR C_q-Werte. Eluate wurden durch Extraktion der gesamten Virus-Nukleinsäure aus PBS-Proben hergestellt, die mit einem In-vitro-Transkript versetzt waren. Drei Kitchargen, drei Benutzer und drei Instrumentenläufe wurden getestet, um die Reproduzierbarkeit innerhalb von Läufen und zwischen Läufen zu untersuchen. Jedes Probenset enthielt 8 Replikate. Ergebnisse werden in der Tabelle angezeigt.

Variable	Durchschnitt		Relative Standardabweichung (Zyklen)
	C _q (Zyklen) n = 8		
Interchargen-Variabilität	Charge A	30,9	0,4
	Charge B	30,9	0,2
	Charge C	31,1	0,5
Durchschnitt aus drei verschiedenen Chargen		31,0	0,4
Variabilität zwischen Benutzern	Benutzer A	32,4	0,1
	Benutzer B	31,7	0,3
	Benutzer C	31,7	0,5
Durchschnitt aus drei verschiedenen Benutzern		31,9	0,4
Variabilität zwischen Läufen (1 Benutzer, 3 Instrumentenläufe)	Lauf 1	30,9	0,4
	Lauf 2	31,7	0,3
	Lauf 3	31,0	0,5
Durchschnitt aus drei verschiedenen Extraktionsläufen		31,2	0,5

9.D. Interferierende Substanzen (Inhibition)

Tabelle 4. RT-qPCR C_q-Werte für Virus-RNA. Die Wirkung interferierender Substanzen wurde getestet, indem beim Vergleich des C_q, der bei einer vierfachen Zunahme der eingegebenen Nukleinsäure ermittelt wurde, mit dem C_q der ursprünglichen Eingabe nach einer Amplifikationsinhibition gesucht wurde. Die Virus-RNA wurde aus UTM aufgereinigt, das mit inaktiviertem Respiratorischen Synzytial-Virus versetzt war, und ohne Erwärmung oder Proteinase K-Behandlung vorab verarbeitet. Die Ergebnisse sind für RT-qPCR mit 2 oder 8 µl Virus-RNA gezeigt. Die Inhibition wurde mithilfe von 2 µl und 8 µl als vierfacher Eingabeunterschied bewertet, was zu einem C_q-Unterschied von ca. 2 Zyklen führen sollte. Der ΔC_q zwischen 2-µl- und 8-µl-Eingaben betrug im Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000) im Mittel 1,2 und im Maxwell® CSC 48 Instrument (Cat.# AS8000) im Mittel 1,5.

Instrument	Proben-ID	2 µl C _q (Zyklen)	8 µl C _q (Zyklen)	ΔC _q für 2 µl und 8 µl (Zyklen)	NTC C _q * (Zyklen)	ΔC _q für 2 µl und NTC (Zyklen)
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
Durchschnitt		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
Durchschnitt		28,1	26,6	1,4	40	11,9

*Alle Kontrollen ohne Template (NTC) hatten keinen C_q Wert und es wurde ihnen ein C_q Wert von 40 Zyklen zugeordnet.

9.E. Kreuzkontamination

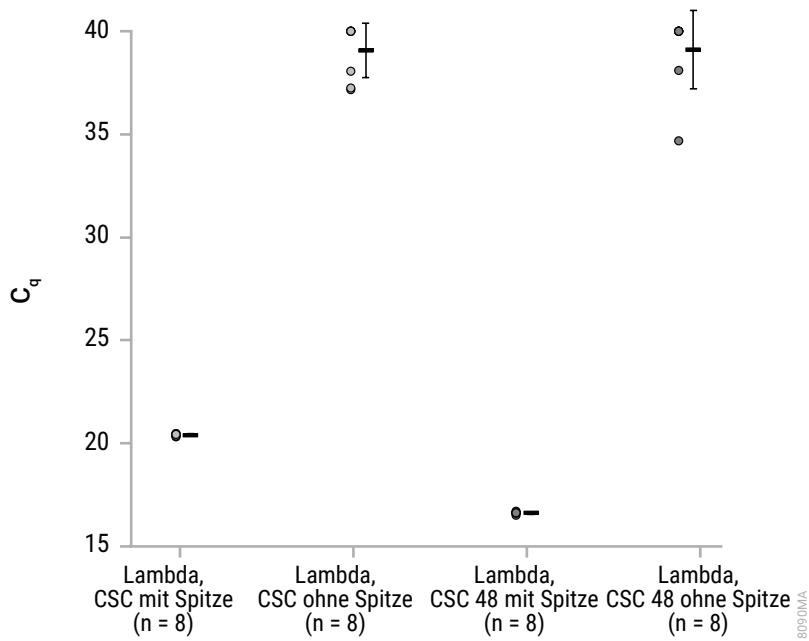


Abbildung 11. C_q -Werte für aus einem universellen Transportmedium aufgereinigter DNA. DNA wurde aus UTM-Proben mit und ohne Lambda-DNA mit dem Maxwell® CSC Total Viral Nucleic Acid Kit und den Maxwell® CSC und Maxwell® CSC 48 Instruments aufgereinigt. Die Proben mit oder ohne Lambda-DNA wurden abwechselnd in den Kartuschen der Instrumente positioniert. Ergebnisse sind für qPCRs mit 2 µl Lambda-DNA gezeigt. Bei jedem Datensatz stellen die Punkte auf der linken Seite individuelle Replikate dar, während die Standardabweichung rechts angezeigt wird. Der durchschnittliche C_q für die im Maxwell® CSC bzw. Maxwell® CSC 48 aufgereinigten gespikten Proben betrug 20,4 bzw. 16,6. Proben ohne C_q wurden für Mittelungszwecke ein C_q von 40 zugeordnet. Der durchschnittliche C_q für die negativen Proben betrug in jedem Experiment 39,1.

10. Evaluierung der klinischen Leistung

Die klinische Leistung wurde durch Extraktion von Virus-RNA oder -DNA aus der angegebenen klinischen Probe unter Verwendung des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit und des Maxwell® CSC 48 Instrument und durch Amplifikation der Nukleinsäure in einem klinisch relevanten Assay evaluiert.

10.A. Extraktion von Virus-RNA aus UTM-Proben

Tabelle 5. SARS-CoV-2-Virus-RNA in UTM-Proben. 10 positive und 10 negative SARS CoV-2 UTM-Proben wurden mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument aufgereinigt. Die RNA dieser Proben wurde mithilfe der Standardaufreinigungsmethode als Referenz ebenfalls aufgereinigt. Bei 9 von 10 positiven Proben und 10 von 10 negativen Proben stimmten die Ergebnisse zwischen dem Maxwell® System und der Labor-Referenzmethode überein. Alle Maxwell® Proben stimmten mit dem vermuteten Probenstatus überein, der auf dem SARS-CoV-2-Test basierte, der an der Probe durchgeführt wurde.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System	Labor-Referenzmethode	Referenzmethode überein	Maxwell® stimmt mit	Maxwell® stimmt mit vermutetem Status überein
21432233	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21880339	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21202162	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21213630	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21590664	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21315054	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21823123	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21180346	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21102471	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	Ja
21147196	Positiv	Positiv	Negativ	Nein	Ja	Ja
21182913	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21296504	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21189671	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21676213	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21396949	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21856471	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21152493	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21960831	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21618705	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja
21530939	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja	Ja

10.B. Extraktion von Virus-RNA aus Speichelproben

Tabelle 6. Aus SARS-CoV-2-Speichelproben aufgereinigte Virus-RNA. 10 positive und 10 negative SARS-CoV-2-Speichelproben wurden mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument aufgereinigt. Die RNA dieser Proben wurde mithilfe der Standardaufreinigungsmethode als Referenz ebenfalls aufgereinigt. Alle Maxwell® Proben stimmten mit den Ergebnissen des Maxwell® System und der Labor-Referenzmethode überein. Alle Proben des Maxwell® System zeigten den vermuteten Probenstatus, der auf einem früheren SARS-CoV-2-Testlauf der Probe basierte.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System	Labor-Referenzmethode	Maxwell® stimmt mit Referenzmethode überein	Maxwell® stimmt mit vermutetem Status überein
12204502	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12207992	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12200960	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12203868	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12206897	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12200453	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12208750	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12209126	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12201677	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
21744360	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
12204630	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12203230	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12202781	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12202953	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12204617	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12206702	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12209395	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12201994	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12205532	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
12206575	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja

10.C. Extraktion von Virus-RNA aus Plasmaproben

Tabelle 7. Denguefiebervirus-RNA in Plasmaproben. 10 positive und 10 negativen Denguefiebervirus-Plasmaproben wurden mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument aufgereinigt. Die RNA dieser Proben wurde mithilfe der Standardaufreinigungsmethode als Referenz ebenfalls aufgereinigt. Bei 10 von 10 positiven Proben und 8 von 10 negativen Proben stimmten die Ergebnisse zwischen dem Maxwell® System und der Labor-Referenzmethode überein. Alle Maxwell® Proben stimmten mit dem vermuteten Probenstatus überein, der auf einem vorherigen Denguefiebervirus-Test basierte, der an der Probe durchgeführt wurde.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System			Referenzmethode	Maxwell® stimmt mit Referenzmethode überein	Maxwell® stimmt mit vermutetem Status überein
		100-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe			
21364611	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21964895	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21836674	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21485868	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21949507	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21232505	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21092389	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21443444	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21839389	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21960608	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21017143	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21478268	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21598671	Negativ	NG*	Negativ	Positiv	Nein	Ja	
21363671	Negativ	NG*	Negativ	Positiv	Nein	Ja	
21323109	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21004789	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21893607	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21993638	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21121581	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21514345	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	

NG*: Nicht getestet.

10.D. Extraktion von Virus-DNA aus Plasmaproben

Tabelle 8. Cytomegalovirus-(CMV-)DNA in Plasmaproben. 10 positive und 10 negative CMV-Plasmaproben wurden mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument aufgereinigt. Die DNA dieser Proben wurde mithilfe der Standardaufreinigungsmethode als Referenz ebenfalls aufgereinigt. Alle Maxwell® Proben stimmten mit den Ergebnissen des Maxwell® System und der Labor-Referenzmethode überein. Alle Maxwell® Proben stimmten mit dem vermuteten Probenstatus überein, der auf dem CMV-Test basierte, der an der Probe durchgeführt wurde.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System			Labor-Referenzmethode	Maxwell® stimmt mit Referenzmethode überein	Maxwell® stimmt mit vermutetem Status überein
		100-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe			
38375075	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
38535155	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
37293873	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
37271420	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
38133737	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
38212566	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
38228092	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
37975220	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
37924077	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
38757118	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja
30615407	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
23916496	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
22380697	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
33545486	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
40639511	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
40346295	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
21423543	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
20341215	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
215139202	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja
40503484	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Negativ	Ja	Ja

NG*: Nicht getestet.

10.E. Extraktion von Virus-RNA aus Serumproben

Tabelle 9. Denguefiebervirus-RNA in Serumproben. 10 positive und 10 negative Denguefiebervirus-Serumproben wurden mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument aufgereinigt. Die RNA dieser Proben wurde mithilfe der Standardaufreinigungsmethode als Referenz ebenfalls aufgereinigt. Alle Proben stimmten mit den Ergebnissen des Maxwell® Systems und der Labor-Referenzmethode überein. Alle Proben des Maxwell® System stimmten mit dem vermuteten Probenstatus überein, der auf einem vorherigen Denguefiebervirus-Test basierte, der an der Probe durchgeführt wurde.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System			Labor-Referenzmethode	Maxwell® stimmt mit Referenzmethode überein	Maxwell® stimmt mit vermutetem Status überein
		100-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe	300-µl-Eingabe			
21837552	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21923921	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21489704	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21125739	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21095976	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21783122	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21936932	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21738559	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21176258	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21542794	Positiv	Positiv	Positiv	Positiv	Ja	Ja	
21441970	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21090946	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21247913	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21109632	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21792527	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21905523	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21165524	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21510977	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21826187	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	
21117238	Negativ	NG*	Negativ	Negativ	Ja	Ja	

NG*: Nicht getestet.

10.F. Reproduzierbarkeit

Tabelle 10. Reproduzierbarkeit der RNA-Aufreinigung. 10 positive und 10 negative Denguefebervirus-Plasmaproben wurden von zwei Testern unter Verwendung des Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit in einem Maxwell® CSC 48 Instrument. Alle Probenergebnisse von Tester A und Tester B stimmten überein.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System		Ergebnis Tester A stimmt mit Ergebnis Tester B überein
		Tester A	Tester B	
21364611	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21964895	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21836674	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21485868	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21949507	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21232505	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21092389	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21443444	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21839389	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21960608	Positiv	Positiv	Positiv	Ja
21017143	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21478268	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21598671	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21363671	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21323109	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21004789	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21893607	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21993638	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21121581	Negativ	Negativ	Negativ	Ja
21514345	Negativ	Negativ	Negativ	Ja

10.G. Kreuzkontamination

Tabelle 11. Virus-DNA aus CMV-Plasmaproben. 9 vermutlich negative CMV-Plasmaproben wurden abwechselnd mit 10 positiven CMV-Plasmaproben in der Kartusche des Maxwell® CSC 48 Instrument positioniert. 9 von 9 negativen Proben, die abwechselnd mit positiven Proben positioniert wurden, erwiesen sich als negativ, was zeigt, dass es keine nachweisbare Kreuzkontamination gab.

Spezimen-ID	Vermuteter Status	Maxwell® System	
		C _q 300-µl-Eingabe	CMV-Ergebnis
30615407	Negativ	kein C _q	Negativ
23916496	Negativ	kein C _q	Negativ
22380697	Negativ	kein C _q	Negativ
33545486	Negativ	kein C _q	Negativ
40639511	Negativ	kein C _q	Negativ
40346295	Negativ	kein C _q	Negativ
21423543	Negativ	kein C _q	Negativ
20341215	Negativ	kein C _q	Negativ
40503484	Negativ	kein C _q	Negativ

11. Fehlerbehebung

Bei Fragen, die hier nicht angesprochen werden, wenden Sie sich bitte an Ihre Promega-Niederlassung oder Ihren Vertriebspartner vor Ort. Die Kontaktdaten finden Sie unter: www.promega.com.

E-Mail: techserv@promega.com

Symptome	Ursachen und Anmerkungen
Gewinn der viralen Nukleinsäure geringer als erwartet (z. B. bei internen Kontrollen, die vom Kunden selbst bereitgestellt werden)	<p>Die Ausgangsproben waren beeinträchtigt. Stellen Sie sicher, dass die Proben gemäß den empfohlenen Richtlinien entnommen, versandt und gelagert wurden.</p> <p>Stellen Sie bei Proben mit viraler RNA sicher, dass bei der Probenvorbereitung und Assay-Einrichtung RNase-freie Bedingungen gegeben sind, einschließlich RNase-freier Röhrchen und Pipettenspitzen.</p>
	<p>Verarbeitungsschritt war nicht optimal.</p> <ul style="list-style-type: none">• Bereiten Sie die Lyse-Puffer und Proteinase K unmittelbar vor der Verwendung vor, und entsorgen Sie nicht verwendete Lösungen gemäß den empfohlenen Richtlinien Ihres Instituts.• Verwenden Sie nur die in diesem Kit mitgelieferten Lyse-Puffer.• Ein unzureichendes Mischen kann die Lyse beeinträchtigen. Vortexen Sie die Probe mit der Lyselösung gemäß den Empfehlungen.• Die Protease-Behandlung zur Entfernung viralen Capside war nicht abgeschlossen. Prüfen Sie die Temperatur des Heizblocks oder Wasserbads und inkubieren Sie für die gesamte empfohlene Zeit.• Eine Inkubation für 10 Minuten bei Raumtemperatur vor der Inkubation bei 56 °C kann den Gewinn bei einigen Plasmaproben verbessern.• Einige Viren benötigen höhere Inkubations-temperaturen.• Das Hinzufügen von mehr Proben als empfohlen kann den Gewinn der Nukleinsäure beeinträchtigen.

Symptome

Gewinn der viralen Nukleinsäure geringer als erwartet (z. B. bei internen Kontrollen, die vom Kunden selbst bereitgestellt werden)

Ursachen und Anmerkungen

Überprüfen Sie, ob der Kartusche ein Stöbel hinzugefügt wurde.

Stellen Sie sicher, dass alle Kartuschen ordnungsgemäß in der Kartuschenhalterung eingerastet sind, bevor Sie mit der Verarbeitung beginnen.

Lagerungsprobleme nach der Aufreinigung.

- Entnehmen Sie die Eluate nach dem Durchlauf aus dem Maxwell® Instrument und lagern Sie sie bei der empfohlenen Temperatur.
- Setzen Sie Eluate vor nachfolgenden Assays keinen mehrfachen Gefrier-Auftau-Zyklen aus.

Interne Nukleinsäure-Kontrollen, die kleiner als 100 bp sind, werden mit dem System möglicherweise unzureichend aufgereinigt. Der Benutzer hat für eine zureichende Leistung interner Kontrollen zu sorgen.

Schlechte Amplifikation

Ein Übertrag paramagnetischer Partikel kann Interferenzen bei den Amplifikationsreaktionen verursachen. Entfernen Sie die Partikel im Elutions-Gefäß durch Zentrifugation.

Der falsche Elutions-Puffer wurde hinzugefügt.

Verwenden Sie ausschließlich das Nuclease-Free Water, das mit dem Maxwell® CSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit geliefert wurde.

Kreuzkontamination

Verwenden Sie bei jeder Probe frische Pipettenspitzen, um eine Kontamination von Probe zu Probe zu verhindern.

Vermeiden Sie Spritzer beim Hinzufügen von Lysat zu Kartuschen. Um eine Kontamination benachbarter Kartuschen zu verhindern, können die Kartuschen zur Hinzugabe von Proben aus der Kartuschenhalterung entfernt werden.

Das Gerät kann die Stöbel nicht aufnehmen

Stellen Sie sicher, dass Sie ein CSC-spezifisches Chemie-Kit verwenden; die Stöbel für die Maxwell® CSC Reagent Kits sind bei diesen Kits für die unterstützten Maxwell® Instruments spezifisch.

Jeder schwerwiegende Vorfall in Zusammenhang mit dem Produkt, der zum Tod oder zu schweren Verletzungen eines Benutzers oder Patienten geführt hat oder führen könnte, ist dem Hersteller unverzüglich zu melden. Benutzer mit Sitz in der Europäischen Union sollten alle schwerwiegenden Vorfälle zudem der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaat, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen ist, melden.

12. Literaturhinweise

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

13. Verwandte Produkte

Produkt	Größe	Cat.#
Maxwell® CSC Instrument	jeweils 1	AS6000
Maxwell® CSC 48 Instrument	jeweils 1	AS8000
Maxwell® RSC/CSC Plungers, 50er Packung	jeweils 1	AS1331
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	jeweils 1	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	jeweils 1	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	jeweils 1	AS8402
ClickFit Microtube, 1,5 ml	1.000/Packung	V4741

Maxwell® CSC Reagent Kits

Eine Liste der verfügbaren Maxwell® CSC Purification Kits finden Sie unter: www.promega.com

14. Änderungsübersicht

Folgende Änderungen wurden an der Version dieses Dokuments vom Oktober 2022 vorgenommen:

1. Abschnitt 3 umbenannt zu Verwendungszweck des Produkts.
2. Abschnitte 9 und 10 wurden hinzugefügt und nachfolgende Abschnitte neu nummeriert.
3. Dokument aktualisiert, um die Einhaltung der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika zu gewährleisten.

^(a)US-Pat. Nr. 7,329,488 und S. Korean Pat. Nr. 100483684.

© 2020–2022 Promega Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

Maxwell ist eine Marke der Promega Corporation.

Vacutainer ist eine eingetragene Marke von Becton, Dickinson and Company.

Die Produkte können angemeldeten oder erteilten Patenten oder bestimmten Einschränkungen unterliegen. Weitere Informationen finden Sie auf unserer Website.

Alle Preise und technischen Daten können ohne vorherige Ankündigung geändert werden.

Änderungen zu Produktansprüchen bleiben vorbehalten. Bitte wenden Sie sich an den Promega Technical Services oder rufen Sie den Online-Katalog von Promega auf, um die aktuellsten Informationen zu Promega-Produkten aufzurufen