

Gebrauchsanweisung

ExtraStar[®] Purification Kit 2.0

12/2022 DE

ExtraStar[®]

Purification Kit 2.0

Zur Verwendung mit

KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)



5012045



384



12 2022



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

Inhaltsverzeichnis

1.	Über diese Gebrauchsanweisung	6
2.	Zweckbestimmung	7
3.	Inhalt des Kits.....	7
4.	Lagerung und Handhabung	8
4.1	Lagerung	8
4.2	Handhabung.....	9
5.	Produktbeschreibung	11
5.1	Zugrundeliegendes Prinzip	12
6.	Probenarten	14
7.	Warnungen, Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen	15
8.	Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0	19
8.1	Probenvolumen	19
8.2	Benötigtes, nicht mitgeliefertes Zubehör.....	19
8.3	Allgemeine Materialien und Geräte.....	20
9.	Aufreinigung unter Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0 in Kombination mit dem KingFisher™ Flex.....	20
9.1	Transportmedium (Tupferspül-Lösung).....	24
9.1.1	Eluatstabilität.....	27
10.	Leistungsdaten.....	27
11.	Entsorgung	28
12.	Qualitätskontrolle.....	28
13.	Anleitung zur Fehlersuche und Problembehandlung.....	29
14.	Technischer Support	30

15.	Literatur.....	31
16.	Handelsmarken und Haftungsausschlüsse.....	31
17.	Symbole	32
18.	Änderungshistorie	34

1. Über diese Gebrauchsanweisung

Diese Gebrauchsanweisung dient zur Anleitung des Benutzers bei der Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0 in Kombination mit der AltoStar® Internal Control 1.5 auf dem KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific).

Die wichtigsten Schritte zur Bedienung des KingFisher™ Flex Purification System sowie zur Verwendung der AltoStar® Internal Control 1.5 im Zuge des Aufreinigungsverfahrens sind zum Verständnis beschrieben.

Genauere Informationen zu diesen Produkten finden Sie in den jeweiligen, nachfolgend aufgeführten Gebrauchsanweisungen:

- Handbuch für das KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)
- Gebrauchsanweisung AltoStar® Internal Control 1.5

In diesem Handbuch ist den Begriffen VORSICHT und HINWEIS durchgängig folgende Bedeutung zugeordnet:

VORSICHT



Hebt Anweisungen und Verfahren hervor, deren Nichtbefolgung oder fehlerhafte Umsetzung zu Verletzungen führen und/oder die Funktion des Produkts beeinträchtigen kann. Wenden Sie sich an den technischen Support von altona Diagnostics, falls Sie Hilfe benötigen.

HINWEIS



Dieses Symbol steht neben Informationen, die für den Benutzer nützlich, für die Ausübung der Funktion jedoch nicht essenziell sind.

Lesen Sie die Gebrauchsanweisung vor Verwendung des Produkts sorgfältig durch.

2. Zweckbestimmung

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 basiert auf Magnetpartikel-Technologie und ist für die automatisierte Isolierung und Aufreinigung von Nukleinsäuren aus menschlichen Atemwegsabstrich-Proben zu in-vitro-diagnostischen Zwecken vorgesehen.

Das Produkt ist zur Verwendung mit dem KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific) sowie mit den Altona Diagnostics Kits und Reagenzien vorgesehen, die für die Verwendung mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0 spezifiziert sind.

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 ist für die Verwendung durch professionelle Nutzer bestimmt, die in molekularbiologischen Techniken und in-vitro-diagnostischen Verfahren geschult sind.

3. Inhalt des Kits

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 wird in 2 separaten Boxen, **Box 1** und **Box 2**, geliefert (siehe Tabellen 1 und 2).

Tabelle 1: Kitkomponenten **Box 1**

Komponente	Anzahl der Flaschen	Volumen je Flasche [ml]
Lysis Buffer	2	120
Wash Buffer 1	2	100
Wash Buffer 2	2	100
Wash Buffer 3	2	100

Tabelle 2: Kitkomponenten **Box 2**

Komponente	Anzahl der Flaschen	Volumen je Flasche [ml]
Magnetic Beads	2	5
Elution Buffer	2	22
Enhancer	2	4

VORSICHT



Überprüfen Sie das Produkt und seine Komponenten vor der ersten Verwendung auf Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Typ und Abfüllvolumina. Benutzen Sie kein beschädigtes oder unvollständiges Produkt, da dies die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 enthält ausreichende Mengen an Reagenzien für die Aufreinigung von 384 Proben.

Überprüfen Sie das Produkt und seine Komponenten sofort nach Erhalt auf folgende Punkte:

- Intaktheit
- Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Typ und Abfüllvolumina
- Korrekte Kennzeichnung
- Verfallsdatum
- Klarheit und Abwesenheit von Partikeln

Sollten Kitkomponenten während des Transports beschädigt worden sein oder fehlen, kontaktieren Sie den technischen Support von altona Diagnostics (siehe Kapitel 14. Technischer Support).

4. Lagerung und Handhabung

Alle im ExtraStar® Purification Kit 2.0 enthaltenen Reagenzien liegen als gebrauchsfertige Lösungen vor.

4.1 Lagerung

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 wird bei Raumtemperatur versandt. Sofort ab Erhalt muss **Box 1** bei +15 °C bis +30 °C und **Box 2** bei +2 °C bis +8 °C aufbewahrt werden (siehe Tabelle 3). Die Flaschen sind aufrecht stehend aufzubewahren.

Tabelle 3: Lagerbedingungen für **Box 1** und **Box 2**

Lagerbedingungen	
Box 1	Box 2
+15 °C bis +30 °C	+2 °C bis +8 °C

VORSICHT



Unsachgemäße Lagerung kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Verwenden Sie keine Produkte über ihr Verfallsdatum hinaus. Bei Verwendung abgelaufener Produkte kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigt sein.

4.2 Handhabung

Die Reagenzien des ExtraStar® Purification Kit 2.0 sind nach dem ersten Öffnen 14 Tage lang stabil, wenn sie nach jeder Verwendung wie folgt wieder verschlossen und aufbewahrt werden: Magnetic Beads, Enhancer und Elution Buffer (Elutionspuffer) sind nach Verwendung mit dem Originaldeckel zu verschließen und bei +2 °C bis +8 °C aufzubewahren. Der Lysis Buffer (Lysepuffer) sowie die Wash Buffer (Waschpuffer) 1, 2 und 3 sind nach Verwendung mit dem Originaldeckel wieder zu verschließen und bei +15 °C bis +30 °C aufzubewahren.

VORSICHT



Lassen Sie die Reagenzien nicht geöffnet, wenn sie nicht verwendet werden. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT

Die unsachgemäße Handhabung von Produktkomponenten und Proben kann zu Kontaminationen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen:



- Vertauschen Sie nicht die Verschlüsse von Flaschen.
- Lagern Sie positives und/oder potentiell positives Material getrennt von den Kitkomponenten.
- Nutzen Sie getrennte Arbeitsbereiche zur Probenvorbereitung, für den Reaktionsansatz und zur Amplifikation/Detektion.
- Entsorgen Sie nach der Handhabung von positivem und/oder potentiell positivem Material grundsätzlich Ihre Handschuhe.
- Öffnen Sie nach Abschluss der Amplifikation grundsätzlich keine PCR-Platten und/oder -Röhrchen.

VORSICHT



Überschreiten Sie nicht die in dieser Gebrauchsanweisung angegebene Handhabungsdauer. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Vermischen Sie keine Komponenten aus verschiedenen Kit-Lots. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

HINWEIS



Bei niedrigen Temperaturen kann der Lysis Buffer (Lysepuffer) kristallisieren. Sollten sich Kristalle bilden, sollte die Flasche mit dem Lysis Buffer (Lysepuffer) unter vorsichtigem Schwenken erhitzt werden ($\leq +50$ °C, z. B. im Wasserbad) bis die Kristalle vollständig aufgelöst sind (bis zu 30 Minuten).

HINWEIS



Die Magnetic Beads sind vor Verwendung gut zu schütteln (z. B. 60 Sekunden lang vortexen).

HINWEIS

Es kann zu leichten farblichen Veränderungen des Lysis Buffer (Lysepuffer) kommen. Diese leichten farblichen Veränderungen bedeuten keine Veränderung der Qualität des Puffers.

5. Produktbeschreibung

Tabelle 4: Komponenten des ExtraStar® Purification Kit 2.0

Kitkomponente	Beschreibung
Lysis Buffer	Der Lysis Buffer (Lysepuffer) enthält chaotrope Salze und oberflächenaktive Substanzen (Guanidinthiocyanat, Octoxynol) für den chemischen Aufschluss von Zellen und Virionen. Er stabilisiert Nukleinsäuren und schützt sie gegen in der Lösung enthaltene Nukleasen.
Wash Buffer 1	Der Wash Buffer 1 (Waschpuffer 1) enthält verschiedene Salze und organische Lösungsmittel (Guanidinthiocyanat und Ethanol), mit denen Proteine und andere Verunreinigungen entfernt werden.
Wash Buffer 2	Der Wash Buffer 2 (Waschpuffer 2) enthält organische Lösungsmittel (Ethanol) zur Entfernung von Proteinen und anderen Verunreinigungen.
Wash Buffer 3	Der Wash Buffer 3 (Waschpuffer 3) enthält unterschiedliche Salze zur Aufreinigung der Nukleinsäuren.
Enhancer	Der Enhancer stabilisiert und schützt Nukleinsäuren gegen Nukleasen in der Lösung.
Magnetic Beads	Die Magnetic Beads sind mit einer dünnen Silika-Schicht überzogen, die freie Nukleinsäuren in der Lösung bindet. Dank ihrer magnetischen Eigenschaften können die Beads in einem magnetischen Feld aus Flüssigkeiten abgetrennt werden.
Elution Buffer	Der Elution Buffer (Elutionspuffer) ist ein Puffer mit geringem Salzgehalt, mit dem die Nukleinsäuren für eine nachfolgende Analyse von den Magnetic Beads freigesetzt werden können.

5.1 Zugrundeliegendes Prinzip

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 ist vorgesehen für die automatisierte Isolierung und Aufreinigung von Nukleinsäuren aus spezifischen menschlichen Proben (siehe Kapitel 6 Probenarten) für in-vitro-diagnostische Zwecke in Verbindung mit dem KingFisher™ Flex Purification System, der AltoStar® Internal Control 1.5 und altona Diagnostics Kits sowie Reagenzien, die für die Verwendung mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0 spezifiziert sind. Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 basiert auf der Magnetic Bead-Technologie, bei der mit Silika beschichtete Magnetpartikel verwendet werden, die unter spezifischen Bedingungen Nukleinsäuren binden und wieder freisetzen können [1,2,3].

Das Reinigungsverfahren umfasst 3 automatisierte Schritte auf dem KingFisher™ Flex Purification System (siehe Abbildung 1).

1. Im ersten Schritt werden Nukleinsäuren durch chemische und mechanische Lyse unter chaotropen Hochsalzbedingungen freigesetzt. Unter diesen Bedingungen werden die Nukleinsäuren in Lösung stabilisiert und ihre Bindung an die Silika-Magnetic Beads wird ermöglicht.
2. In den nachfolgenden Waschschrinen werden verschiedene Waschpuffer verwendet, um Proteine und andere Verunreinigungen zu entfernen.
3. Schließlich werden die Nukleinsäuren mit einem Elutionspuffer von den Magnetic Beads abgelöst und auf die Eluatplatte übertragen.

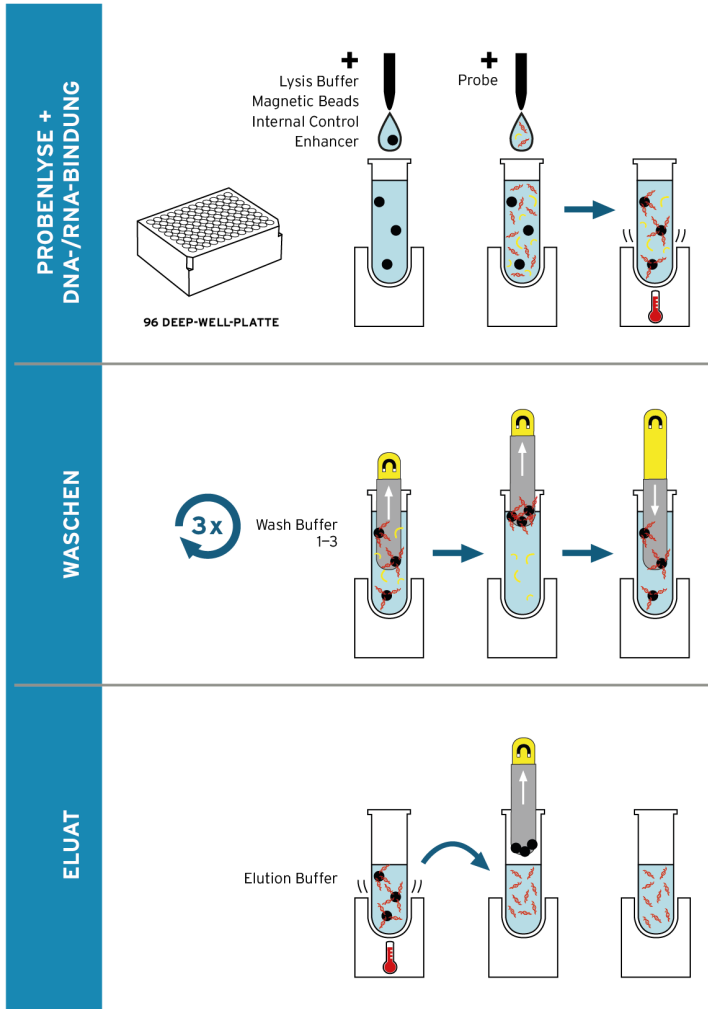


Abb. 1: Abbildung des Aufreinigungsverfahrens mit dem KingFisher™ Flex Purification System

6. Probenarten

Die folgende Probenart ist für die Verwendung in Verbindung mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0 validiert:

- Proben aus menschlichen Atemwegsabstrichen im Transportmedium

VORSICHT



Verwenden Sie keine anderen Probenarten! Die Verwendung anderer Probenarten kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

HINWEIS






Die gefrorene Lagerung der Proben beeinträchtigt nicht die Produktleistung. Vergewissern Sie sich bei Verwendung von gefrorenen Proben als Ausgangsmaterial, dass diese vor Gebrauch vollständig aufgetaut und ausreichend durchmischt sind.



HINWEIS






Informationen über die Probennahme sowie über die Handhabung und Lagerung der Proben finden Sie in den Gebrauchsanweisungen für Altona Diagnostics Kits und Reagenzien, die für den Gebrauch mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0 spezifiziert sind.

7. Warnungen, Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen

Lysis Buffer		
 GHS05	H302+H312+H332	Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt, Einatmen oder Verschlucken.
	H314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
	H411	Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
 GHS07	EUH032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
	EUH071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
	P260	Nebel, Dampf, Aerosol nicht einatmen.
 GHS09 Gefahr!	P264	Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
	P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
	P280	Schutzkleidung, Augenschutz, Gesichtsschutz, Schutzhandschuhe tragen.
	P303+P361+P353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen oder duschen.
	P310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
	Enthält:	Guanidinthiocyanat (CAS 593-84-0) 50–70 %. Alkylphenoethoxylat (CAS 9036-19-5) 10–20 %.

Wash Buffer 1		
 GHS02	H226	Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
	H314	Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
	H412	Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
 GHS05 Gefahr!	EUH032	Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
	EUH071	Wirkt ätzend auf die Atemwege.
	P210	Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offener Flamme und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.
	P260	Nebel, Dampf, Aerosol nicht einatmen.
	P273	Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
	P280	Schutzkleidung, Augenschutz, Gesichtsschutz, Schutzhandschuhe tragen.
	P303+P361+P353	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen oder duschen.
P310	Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.	
	Enthält:	Guanidinthiocyanat (CAS 593-84-0) 25–50 %. Ethanol (CAS 64-17-5) 25–50 %.

Wash Buffer 2	
 GHS02	H226 Flüssigkeit und Dampf entzündbar.
	H319 Verursacht schwere Augenreizung.
	P210 Von Hitze, heißen Oberflächen, Funken, offener Flamme und anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.
 GHS07	P233 Behälter dicht verschlossen halten.
	P280 Schutzkleidung, Augenschutz, Gesichtsschutz, Schutzhandschuhe tragen.
Gefahr!	P305+P351+P338 BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
	P337+P313 Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
Enthält: Ethanol (CAS 64-17-5) 50–70 %.	

Enhancer	
 GHS05	H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.
	P260 Nebel, Dampf, Aerosol nicht einatmen.
Gefahr!	P280 Schutzkleidung, Augenschutz, Gesichtsschutz, Schutzhandschuhe tragen.
	P303+P361+P353 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen oder duschen.
	P305+P351+P338 BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
	P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
Enthält: Tris(2-carboxyethyl)phosphin Hydrochlorid (CAS 51805-45-9) 10–20 %.	

HINWEIS



Weiterführende Informationen finden Sie in den Sicherheitsdatenblättern (SDS).

- Überprüfen Sie das Produkt und seine Komponenten vor der ersten Verwendung auf Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Typ und Abfüllvolumina. Benutzen Sie kein beschädigtes oder unvollständiges Produkt, da dies die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.
- Unsachgemäße Lagerung kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Verwenden Sie keine Produkte über ihr Verfallsdatum hinaus. Bei Verwendung abgelaufener Produkte kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigt sein.

- Lassen Sie die Reagenzien nicht geöffnet, wenn sie nicht verwendet werden. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Die unsachgemäße Handhabung von Produktkomponenten und Proben kann zu Kontaminationen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen:
 - Vertauschen Sie nicht die Verschlüsse von Flaschen.
 - Lagern Sie positives und/oder potentiell positives Material getrennt von den Kitkomponenten.
 - Nutzen Sie getrennte Arbeitsbereiche zur Probenvorbereitung, für den Reaktionsansatz und zur Amplifikation/Detektion.
 - Entsorgen Sie nach der Handhabung von positivem und/oder potentiell positivem Material grundsätzlich Ihre Handschuhe.
 - Öffnen Sie nach Abschluss der Amplifikation grundsätzlich keine PCR-Platten und/oder -Röhrchen.
- Überschreiten Sie nicht die in dieser Gebrauchsanweisung angegebene Handhabungsdauer. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Vermischen Sie keine Komponenten aus verschiedenen Kit-Lots. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Verwenden Sie keine anderen Probenarten! Die Verwendung anderer Probenarten kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Füllen Sie nicht mehr Volumen als angegeben in die Wells der Platte, da dies zu Kreuzreaktionen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.
- Verwenden Sie beim Vorbereiten der Lyse-Probenplatte immer das richtige Probenvolumen. Anderenfalls kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigt werden.
- Füllen Sie stets den dafür vorgesehenen Puffer in die entsprechende Pufferplatte. Eine Verwechslung der Puffer kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Vergewissern Sie sich vor jeder Durchführung eines Experiments, dass für jede Probe eine ausreichende Menge von Puffern vorhanden ist. Die Verwendung einer geringeren Menge Puffervolumen als angegeben kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

- Verwenden Sie immer die richtige KingFisher™ Programmierung für Extraktionsprozesse, da andere Einstellungen zu einer Kreuzreaktion führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen können.
- Vergewissern Sie sich, die entsprechenden Wellpositionen auf jeder Platte zu befüllen. Verwechseln Sie nicht die Positionen der Proben und der Puffer in den Wells der Platte, da dies die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.
- Verwechseln Sie beim Beladen des KingFisher™ Geräts nicht die Well-Platten und die Ausrichtung der Platten. Die falsche Beladung mit den Platten kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Calciumalginat-Tupfer, Tupfer mit Holzstielen und/oder Baumwollspitzen sowie Tupfer, die Agar-Gel enthalten, können die Leistungsfähigkeit der Extraktion beeinträchtigen.
- Eine unsachgemäße Vorbereitung der Reagenzien [z. B. Lysis Buffer (Lysepuffer) und Magnetic Beads] kann zu ungültigen oder falschnegativen Ergebnissen führen.
- Vertauschen Sie beim Verschließen der Flaschen mit den Produktkomponenten nach Verwendung nicht die Verschlüsse. So vermeiden Sie Verunreinigungen der Reagenzien, die die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen können.
- Verwenden Sie keine Proben, die Feststoffe und/oder hochviskose Anteile enthalten. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.
- Die Lagerung der Eluate unter falschen Bedingungen kann zum Verlust an Eluatvolumen und/oder zum Abbau der erregerspezifischen Zielsequenz führen. Dies beeinträchtigt die Leistungsfähigkeit des Produkts.
- Behandeln Sie Proben immer als infektiöse und (bio-)gefährdende Materialien gemäß den entsprechenden Anforderungen an sicheres Arbeiten im Labor. Verschüttetes Probenmaterial sollte sofort mithilfe eines geeigneten Desinfektionsmittels beseitigt werden. Behandeln Sie kontaminiertes Material als biogefährdend.
- Die Entsorgung gefährlicher und biologischer Abfälle muss in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften erfolgen, um eine Kontamination der Umwelt zu vermeiden.

8. Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0

In den nachfolgenden Kapiteln ist die Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0 beschrieben.

8.1 Probenvolumen

Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 ermöglicht die Aufreinigung von 300 µl Probenmaterial.

VORSICHT



Füllen Sie nicht mehr Volumen als angegeben in die Wells der Platte, da dies zu Kreuzreaktionen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.

VORSICHT



Verwenden Sie beim Vorbereiten der Lyse-Probenplatte immer das richtige Probenvolumen. Anderenfalls kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigt werden.

8.2 Benötigtes, nicht mitgeliefertes Zubehör

- Kontrolle für die Extraktion, PCR-Amplifikation und Detektion von Nukleinsäuren AltoStar® Internal Control 1.5 (altona Diagnostics, BestellNr. IC15-46)
- Thermo Fisher Scientific KingFisher™ 96 Flex mit 96 Deep-Well-Magnet und Heizblock mit der Software Thermo Fisher Scientific BindIt™ 4.0 oder höher (Thermo Fisher Scientific, BestellNr. 5400630)
- 4x KingFisher™ 96 Deep-Well-Platte (Thermo Fisher Scientific, BestellNr. 95040450)
- 1x KingFisher™ 96 Spitzenkamm für Deep-Well-Magnete (Thermo Fisher Scientific, BestellNr. 97002534)
- 2x KingFisher™ 96 Platte 200 µl (Thermo Fisher Scientific, BestellNr. 97002540)

HINWEIS

Stellen Sie sicher, dass alle verwendeten Geräte entsprechend der Herstellervorschriften und -empfehlungen aufgebaut, kalibriert, geprüft und gewartet sind.

8.3 Allgemeine Materialien und Geräte

- Labormixer (Vortex)
- Puderfreie Einmalhandschuhe
- Pipetten (einstellbar, zur Reagenz- und Probenvorbereitung)
- Pipettenspitzen mit Filtern (Einwegspitzen, zur Probenvorbereitung)
- *Optional:* Stepper-Pipette (einstellbar, zur Reagenzvorbereitung) und geeignete Einwegspitzen

9. Aufreinigung unter Verwendung des ExtraStar® Purification Kit 2.0 in Kombination mit dem KingFisher™ Flex

Bei der Erstverwendung muss mithilfe der Software Thermo Scientific™ BindIt™ 4.0 oder höher für KingFisher™ Geräte die Aufreinigungsmethode für die jeweilige Probenart einmalig erstellt werden. Diese Aufreinigungsmethode kann ohne PC-Unterstützung (stand-alone) am KingFisher™ Gerät benutzt werden oder in Verbindung mit einem angeschlossenen PC als Steuereinheit. Hinweise zur Verwendung der BindIt™ Software und zum Programmieren finden Sie in der entsprechenden Gebrauchsanweisung des Gerätes.

Tabelle 5: KingFisher™ Programm für eine Extraktion mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0

KingFisher™ program for ExtraStar® Purification Kit 2.0 extraction			
Lysis sample plate		96 deep-well plate	
Name	Well volume [µl]	Total reagent volume [µl]	Type
Lysis Buffer	500	-	Reagent

KingFisher™ program for ExtraStar® Purification Kit 2.0 extraction			
Magnetic Beads	25	-	Reagent
Enhancer	20	-	Reagent
AltoStar® Internal Control 1.5	50	-	Reagent
Sample	300	-	Sample
Wash 1 plate		96 deep-well plate	
Name	Well volume [μl]	Total reagent volume [μl]	Type
Wash Buffer 1	500	-	Reagent
Wash 2 plate		96 deep-well plate	
Name	Well volume [μl]	Total reagent volume [μl]	Type
Wash Buffer 2	500	-	Reagent
Wash 3 plate		96 deep-well plate	
Name	Well volume [μl]	Total reagent volume [μl]	Type
Wash Buffer 3	500	-	Reagent
Eluate plate		96 standard plate	
Name	Well volume [μl]	Total reagent volume [μl]	Type
Elution Buffer	100	-	Reagent
Comb plate		96 standard plate	
Name	Well volume [μl]	Total reagent volume [μl]	Type
-	-	-	-

VORSICHT



Füllen Sie stets den dafür vorgesehenen Puffer in die entsprechende Pufferplatte. Eine Verwechslung der Puffer kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Vergewissern Sie sich vor jeder Durchführung eines Experiments, dass für jede Probe eine ausreichende Menge von Puffern vorhanden ist. Die Verwendung eines geringeren Puffervolumens als angegeben kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Füllen Sie nicht mehr Volumen als angegeben in die Wells der Platte, da dies zu Kreuzreaktionen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.

Tabelle 6: Protokoll

KingFisher™ protocol for ExtraStar® Purification Kit 2.0 extraction		
Tip 1	96 deep-well tip comb	
Pick-up	Comb plate	
Lysis	Lysis sample plate	
Beginning of step	Precollect	No
	Release time, speed	No
Mixing/heating	Shake 1 time, speed	00:00:30, slow
	Shake 2 time, speed	00:00:10, bottom mix
	Loop count	10
	Heating temperature [°C]	56
	Preheat	Yes
	Heating during mixing	Yes

End of step	Postmix	No
	Collect count	4
	Collect time [s]	1
Wash 1	Wash 1 plate	
Beginning of step	Precollect	No
	Release time, speed	00:00:10, slow
Mixing/heating	Shake 1 time, speed	00:00:30, slow
	Shake 2 time, speed	00:00:10, bottom mix
	Loop count	4
	Heating during mixing	No
End of step	Postmix	No
	Collect count [s]	3
	Collect time [s]	0
Wash 2	Wash 2 plate	
Beginning of step	Precollect	No
	Release time, speed	00:00:05, fast
Mixing/heating	Shake 1 time, speed	00:00:05, slow
	Shake 2 time, speed	00:00:30, bottom mix
	Loop count	3
	Heating during mixing	No
End of step	Postmix	No
	Collect count	3
	Aufnahme Zeit [s]	0
Wash 3	Wash 3 plate	
Beginning of step	Precollect	No
	Release time, speed	00:00:05, fast

Mixing/heating	Shake 1 time, speed	00:00:05, slow
	Shake 2 time, speed	00:00:30, bottom mix
	Loop count	2
	Heating during mixing	No
End of step	Postmix	No
	Collect count	3
	Collect time [s]	0
Elution	Elate plate	
Beginning of step	Precollect	No
	Release time, speed	00:00:10, medium
Mixing/heating	Mixing time, speed	00:10:00, slow
	Heating temperature [°C]	70
	Preheat	No
	Heating during mixing	Yes
End of step	Postmix	No
	Collect count	3
	Collect time [s]	0
Leave	Wash 2 plate	

VORSICHT

Verwenden Sie immer die richtige KingFisher™ Programmierung für Extraktionsprozesse, da andere Einstellungen zu einer Kreuzreaktion führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen können.

9.1 Transportmedium (Tupferspül-Lösung)

1. Vergewissern Sie sich, dass die Aufreinigungsmethode (siehe Tabelle 5) beim KingFisher™ Flex programmiert und installiert ist.
2. Bereiten Sie eine unbefüllte Standardplatte (KingFisher™ 96-Platte 200 µl) mit einem 96-Deep-Well Spitzenkamm vor.

3. Bereiten Sie die Wash-1-Platte (KingFisher™ 96 Deep-Well-Platte) durch Hinzufügen von 500 µl Wash Buffer 1 (Waschpuffer 1) in jedes verwendete Well vor.
4. Bereiten Sie die Wash-2-Platte (KingFisher™ 96 Deep-Well-Platte) durch Hinzufügen von 500 µl Wash Buffer 2 (Waschpuffer 2) in jedes verwendete Well vor.
5. Bereiten Sie die Wash-3-Platte (KingFisher™ 96 Deep-Well-Platte) durch Hinzufügen von 500 µl Wash Buffer 3 (Waschpuffer 3) in jedes verwendete Well vor.
6. Bereiten Sie die Eluatplatte (KingFisher™ Platte 200 µl) durch Hinzufügen von 100 µl Elution Buffer (Elutionspuffer) in jedes verwendete Well vor.
7. Probenvorbereitung für das Transportmedium (Tupferspül-Lösung):

Bereiten Sie die Lysis-Probenplatte (KingFisher™ 96 Deep-Well-Platte) durch Hinzufügen der Substanzen in nachstehender Reihenfolge in jedes verwendete Well vor:
 - 500 µl Lysis Buffer (Lysepuffer)
 - 25 µl gut gemischte Magnetic Beads (d. h. 60 Sekunden lang geschüttelt oder gevortext)
 - 20 µl Enhancer-Lösung
 - 50 µl AltoStar® Internal Control 1.5: Fügen Sie die IC direkt der Flüssigkeit hinzu und vermeiden Sie hängende Tropfen an der Deep-Well-Seite.
 - **300 µl der Probe (z. B. virales Transportmedium)**
8. Beginnen Sie unmittelbar mit dem Extraktionsverfahren und befolgen Sie die Anweisungen durch Einsetzen der Platten in das Gerät.
9. Starten Sie den Lauf (es dauert etwa 30 Minuten bis zum Ende).
10. Verwenden Sie nach dem Lauf die Eluatplatte für den PCR-Prozess.

VORSICHT



Füllen Sie stets den dafür vorgesehenen Puffer in die entsprechende Pufferplatte. Eine Verwechslung der Puffer kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Vergewissern Sie sich vor jeder Durchführung eines Experiments, dass für jede Probe eine ausreichende Menge von Puffern vorhanden ist. Die Verwendung eines geringeren Puffervolumens als angegeben kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Füllen Sie nicht mehr Volumen als angegeben in die Wells der Platte, da dies zu Kreuzreaktionen führen und die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.

VORSICHT



Vergewissern Sie sich, die entsprechenden Wellpositionen auf jeder Platte zu befüllen. Verwechseln Sie nicht die Positionen der Proben und der Puffer in den Wells der Platte, da dies die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen kann.

VORSICHT



Verwechseln Sie beim Beladen des KingFisher™ Geräts nicht die Wellplatten und die Ausrichtung der Platten. Die falsche Beladung mit den Platten kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Calciumalginat-Tupfer, Tupfer mit Holzstielen und/oder Baumwollspitzen sowie Tupfer, die Agar-Gel enthalten, können die Leistungsfähigkeit der Extraktion beeinträchtigen.

VORSICHT



Eine unsachgemäße Vorbereitung der Reagenzien [z. B. Lysis Buffer (Lysepuffer) und Magnetic Beads] kann zu ungünstigen oder falschnegativen Ergebnissen führen.

VORSICHT



Vertauschen Sie beim Verschließen der Flaschen mit den Produktkomponenten nach Verwendung nicht die Verschlüsse. So vermeiden Sie Verunreinigungen der Reagenzien, die die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen können.

VORSICHT



Verwenden Sie keine Proben, die Feststoffe und/oder hochviskose Anteile enthalten. Dies kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigen.

VORSICHT



Verwenden Sie beim Vorbereiten der Lyse-Probenplatte immer das richtige Probenvolumen. Anderenfalls kann die Leistungsfähigkeit des Produkts beeinträchtigt werden.

9.1.1 Eluatstabilität

Die Eluate sind nach Beendigung des Aufreinigungslaufs in den unversiegelten Eluatplatten bei Raumtemperatur (maximal +30 °C) bis zu 4 Stunden lang stabil.

VORSICHT



Die Lagerung der Eluate unter falschen Bedingungen kann zum Verlust an Eluatvolumen und/oder zum Abbau der erregerspezifischen Zielsequenz führen. Dies beeinträchtigt die Leistungsfähigkeit des Produkts.

10. Leistungsdaten

Die Leistung des ExtraStar® Purification Kit 2.0 wird in Verbindung mit jedem altona Diagnostics Real-Time-PCR-Kit sowie Reagenz verifiziert, das für die Verwendung mit dem ExtraStar® Purification Kit 2.0 spezifiziert ist. Informationen zu den Leistungsdaten finden Sie in der Gebrauchsanweisung des entsprechenden altona Diagnostics Real-Time-PCR-Kit oder Reagenz.

11. Entsorgung

Entsorgen Sie gefährliche und biologische Abfälle in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften. Überschüssige Produktkomponenten und Abfälle dürfen nicht ins Abwasser, in Wasserläufe oder ins Erdreich gelangen.

VORSICHT



Behandeln Sie Proben immer als infektiöse und (bio-)gefährdende Materialien gemäß den entsprechenden Anforderungen an sicheres Arbeiten im Labor. Verschüttetes Probenmaterial sollte sofort mithilfe eines geeigneten Desinfektionsmittels beseitigt werden. Behandeln Sie kontaminiertes Material als biogefährdend.

VORSICHT



Die Entsorgung gefährlicher und biologischer Abfälle muss in Übereinstimmung mit den lokalen und nationalen Vorschriften erfolgen, um eine Kontamination der Umwelt zu vermeiden.

HINWEIS



Flüssigabfall und Flüssigkeiten, die Lysis Buffer (Lysepuffer) oder Wash Buffer 1 (Waschpuffer 1) enthalten, keine Bleiche oder sauren Lösungen hinzufügen. Diese Flüssigkeiten enthalten Guanidinthiocyanat, das in Kombination mit Bleiche oder starken Säuren giftige, hochreaktive und flüchtige Verbindungen bilden kann.

12. Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem nach EN ISO 13485 zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von Altona Diagnostic GmbH wird jedes Lot des ExtraStar® Purification Kit 2.0 auf eine Reihe festgelegter Spezifikationen hin getestet, um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten.

13. Anleitung zur Fehlersuche und Problembehandlung

Problem: Ausfällung in Reagenzien

Mögliche Ursache	Vorschläge
Lagerung des Lysepuffers bei geringerer Temperatur oder längere Lagerung	Wenn die Lysepufferflasche bereits geöffnet ist, achten Sie darauf, sie mit dem Originaldeckel zu verschließen. Erhitzen Sie die Lysepufferflasche ($\leq +50$ °C, z. B. in einem Wasserbad) unter wiederholtem vorsichtigem Schwenken, bis die Ausfällungen komplett aufgelöst sind.
Ein übermäßiges Verdunsten aufgrund unsachgemäßer Verwendung und/oder unsachgemäßem Verschließen kann zu einer erhöhten Salzkonzentration in den Reagenzien führen	Entsorgen Sie das Reagenz. Achten Sie darauf, die Flaschen mit den Reagenzien nach Gebrauch sofort zu verschließen.

Problem: Geringe Ausbeute oder Reinheit der Nukleinsäuren

Mögliche Ursache	Vorschläge
Lagerung der Reagenzien unter falschen Bedingungen	Entsorgen Sie die Reagenzien. Achten Sie darauf, die Produktkomponenten unter definierten Lagerbedingungen aufzubewahren (siehe Kapitel 4 Lagerung und Handhabung).
Reagenzien waren bei Nichtgebrauch nicht verschlossen oder wurden unsachgemäß gelagert	Entsorgen Sie die Reagenzien. Achten Sie darauf, die Produktkomponenten unter definierten Lagerbedingungen aufzubewahren (siehe Kapitel 4 Lagerung und Handhabung). Stellen Sie sicher, die Flaschen mit den Reagenzien nach dem Gebrauch sofort zu verschließen.
Unsachgemäßer Umgang mit Proben	Achten Sie darauf, die Proben gemäß den Anweisungen in Kapitel 9.1 Transportmedium (Tupferspül-Lösung) vorzubereiten.
Gefrorene Proben wurden nicht ordnungsgemäß aufgetaut oder durchmischt	Vergewissern Sie sich, dass die Proben vor Gebrauch vollständig aufgetaut und ausreichend durchmischt sind.

Mögliche Ursache	Vorschläge
Unvollständige Lyse der Probe	Vergewissern Sie sich vor Gebrauch, dass der Lysepuffers keine Ausfällungen enthält. Wenn die Lysepufferflasche bereits geöffnet ist, achten Sie darauf, sie mit dem Originaldeckel zu verschließen und erhitzen Sie die Lysepufferflasche ($\leq +50$ °C, z. B. in einem Wasserbad) unter wiederholtem vorsichtigem Schwenken, bis die Ausfällungen komplett aufgelöst sind.
Vertauschen der Puffer beim Befüllen der Platten oder Verwechseln der Pufferplatten beim Beladen des KingFisher™	Vergewissern Sie sich, die richtigen Puffer in die entsprechenden Platten zu füllen und die Platten gemäß den Anweisungen für die Aufreinigungsmethode auf dem Display des KingFisher™ zu beladen.
Hohe Viskosität oder Feststoffe in der Probe	Achten Sie darauf, die Proben gemäß den Anweisungen in Kapitel 9.1 Transportmedium (Tupferspül-Lösung) vorzubereiten.

14. Technischer Support

Zur Inanspruchnahme von Kundenbetreuung kontaktieren Sie bitte den technischen Support von altona Diagnostics:

E-Mail: support@altona-diagnostics.com

Telefon: +49-(0)40-5480676-0

HINWEIS



Alle gravierenden Zwischenfälle im Zusammenhang mit dem Produkt müssen altona Diagnostics und den zuständigen Behörden Ihres Landes gemeldet werden.

15. Literatur

- [1] Mark A. Lever, Andrea Torti, Philip Eickenbusch, Alexander B. Michaud, Tina Šantl-Temkiv and Bo Barker Jørgensen: A modular method for the extraction of DNA and RNA, and the separation of DNA pools from diverse environmental sample types; *Front Microbiol.* 2015; 6: 476.
- [2] Sonja Berensmeier: Magnetic particles for the separation and purification of nucleic acids; *Appl Microbiol Biotechnol* 2006 73:495–504.
- [3] Peter E. Vandeventer, Jessica S. Lin, Theodore J. Zwang, Ali Nadim, Malkiat S. Johal and Angelika Niemz: Multiphasic DNA Adsorption to Silica Surfaces under Varying Buffer, pH, and Ionic Strength Conditions; *J Phys Chem B.*, 17. Mai 2012; 116(19): 5661–5670.

16. Handelsmarken und Haftungsausschlüsse

AltoStar®, ExtraStar®, RealStar® (altona Diagnostics GmbH); BindIt™, KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific).

Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, sind, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, nicht als gesetzlich ungeschützt anzusehen.














Das ExtraStar® Purification Kit 2.0 ist ein gemäß der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika CE-markiertes Produkt.





Das Produkt ist weder bei Health Canada noch bei der FDA registriert oder zugelassen.

Nicht in allen Ländern verfügbar.

© 2023 altona Diagnostics GmbH; alle Rechte vorbehalten.

17. Symbole

Symbol	Erklärung
	In-vitro-Diagnostikum
	Global Trade Item Number
	Chargennummer
	Inhalt
	Produktnummer
	Nummer
	Komponente
	Gebrauchsanweisung beachten
	Enthält ausreichend Reagenzien für „n“ Tests/Reaktionen (rxns)
	Lagertemperatur
	Verwendbar bis
	Hersteller
	Vorsicht

Symbol	Erklärung
	Materialnummer
	Version
	Hinweis
	Unique Formula Identifier

18. Änderungshistorie

Tabelle 7: Änderungshistorie

Kennung	Datum der Ausgabe [Monat/Jahr]	Änderungen
MAN-5012040-DE-S01	12/2022	Erste Veröffentlichung

always a drop ahead.

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

