

Istruzioni per l'uso

ExtraStar[®] Purification Kit 2.0

12/2022 IT

ExtraStar[®]

ExtraStar[®]

Purification Kit 2.0

Per uso con

KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)



5012045



384



12 2022



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

Indice

1.	Informazioni sulle istruzioni per l'uso.....	6
2.	Uso previsto	7
3.	Contenuto del kit.....	7
4.	Conservazione e manipolazione.....	8
4.1	Conservazione	8
4.2	Manipolazione	9
5.	Descrizione del prodotto.....	11
5.1	Principio del metodo.....	12
6.	Tipi di campioni.....	14
7.	Avvertenze, precauzioni e limitazioni.....	15
8.	Uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.....	19
8.1	Volume del campione.....	19
8.2	Materiale e dispositivi richiesti e non forniti.....	19
8.3	Materiale e dispositivi generici	20
9.	Purificazione con l'uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 in combinazione con KingFisher™ Flex.....	20
9.1	Terreno di trasporto (lavaggio tampone)	24
9.1.1	Stabilità dell'eluato	26
10.	Dati sulla prestazioni	27
11.	Smaltimento.....	27
12.	Controllo di qualità	28
13.	Guida alla soluzione dei problemi	28
14.	Assistenza tecnica	30

15.	Letteratura	30
16.	Marchi e brevetti.....	31
17.	Simboli	32
18.	Cronologia delle revisioni	34

1. Informazioni sulle istruzioni per l'uso

Le presenti istruzioni per l'uso offrono all'utente una guida all'uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 in combinazione con AltoStar® Internal Control 1.5 (controllo interno) sul KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific).

Le principali fasi operative del KingFisher™ Flex Purification System e di AltoStar® Internal Control 1.5 (controllo interno) durante la procedura di purificazione sono descritte per rendere comprensibile l'utilizzo dei prodotti.

Per informazioni più dettagliate sui prodotti, consultare le rispettive istruzioni per l'uso elencate di seguito:

- Manuale d'uso del KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)
- Istruzioni per l'uso AltoStar® Internal Control 1.5

All'interno del presente manuale d'uso i termini ATTENZIONE e NOTA hanno i seguenti significati:

ATTENZIONE



Indica istruzioni o procedure operative che, se non rispettate correttamente, possono causare lesioni personali o influire sulle prestazioni del prodotto. Per ricevere assistenza, contattare l'assistenza tecnica di Altona Diagnostics.

NOTA



Indica informazioni che sono utili per l'utente ma non essenziali per l'attività da svolgere.

Leggere attentamente le istruzioni per l'uso prima di utilizzare il prodotto.

2. Uso previsto

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 utilizza una tecnologia basata su particelle magnetiche ed è destinato all'uso per l'isolamento e la purificazione automatizzati di acidi nucleici da campioni di tamponi respiratori umani per fini di diagnostica *in vitro*.

Il prodotto è concepito per l'uso con il KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific) e con i kit e i reagenti Altona Diagnostics indicati per l'uso con il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 è destinato a essere utilizzato da personale qualificato nelle tecniche di biologia molecolare e nelle procedure di diagnostica *in vitro*.

3. Contenuto del kit

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 viene spedito in 2 scatole separate, la **Scatola 1** e la **Scatola 2** (vedere le tabelle 1 e 2).

Tab. 1: Componenti del kit **Scatola 1**

Componente	Numero di flaconi	Volume per flacone [ml]
Lysis Buffer	2	120
Wash Buffer 1	2	100
Wash Buffer 2	2	100
Wash Buffer 3	2	100

Tab. 2: Componenti del kit **Scatola 2**

Componente	Numero di flaconi	Volume per flacone [ml]
Magnetic Beads	2	5
Elution Buffer	2	22
Enhancer	2	4

ATTENZIONE



Prima del primo utilizzo controllare la completezza del prodotto e di tutti i suoi componenti rispetto a numero, tipo e riempimento. Non utilizzare un prodotto difettoso o incompleto, in quanto le sue prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 contiene reagenti sufficienti per 384 purificazione del campione.

Al momento della consegna, controllare il prodotto e i suoi componenti per:

- Integrità
- Completezza in termini di numero, tipo e riempimento
- Etichettatura corretta
- Data di scadenza
- Limpidità e assenza di particolato

Se uno dei componenti del kit non è presente o è stato danneggiato durante il trasporto, contattare l'assistenza tecnica di Altona Diagnostics (vedere il capitolo 14. Assistenza tecnica) per assistenza.

4. Conservazione e manipolazione

Tutti i reagenti inclusi nel kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 sono soluzioni pronte all'uso.

4.1 Conservazione

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 viene fornito a temperatura ambiente. Al ricevimento, la **Scatola 1** deve essere conservata a +15°C a +30°C e la **Scatola 2** a +2°C e +8°C (vedere la tabella 3). I flaconi devono essere conservati in posizione verticale.

Tab. 3: Condizioni di conservazione per la **Scatola 1** e la **Scatola 2**

Condizioni di conservazione	
Scatola 1	Scatola 2
+15°C a +30°C	+2°C a +8°C

ATTENZIONE

Condizioni di conservazione errate possono compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE

Non usare i prodotti oltre la data di scadenza. L'uso di prodotti scaduti potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

4.2 Manipolazione

Dopo l'apertura iniziale, i reagenti per il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 sono stabili per 14 giorni, purché vengano richiusi dopo ogni utilizzo e conservati alle seguenti condizioni: Magnetic Beads (microsfere magnetiche), Enhancer (intensificatori) e Elution Buffer (tampone di eluizione) devono essere richiusi con il tappo originale dopo utilizzo e conservati a +2°C a +8°C. Lysis Buffer (tampone di lisi) e Wash Buffer 1, 2 e 3 (soluzione di lavaggio 1, 2 e 3) devono essere richiusi con il tappo originale dopo l'uso e conservati a +15°C a +30°C.

ATTENZIONE

Non lasciare i reagenti aperti tra un utilizzo e l'altro, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE

La manipolazione errata dei componenti del prodotto e dei campioni può causare contaminazione e potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto:



- Non scambiare i tappi dei flaconi.
- Conservare il materiale positivo e/o potenzialmente positivo separatamente dai componenti del kit.
- Utilizzare aree di lavoro separate per preparazione del campione, impostazione della reazione e attività di amplificazione/rilevazione.
- Smaltire sempre i guanti dopo la manipolazione di materiale positivo e/o potenzialmente positivo.
- Non aprire le piastre di PCR e/o le provette dopo l'amplificazione.

ATTENZIONE



Non superare le durate delle manipolazioni specificate in queste istruzioni per l'uso in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

ATTENZIONE



Non mescolare componenti di lotti di kit diversi, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

NOTA



Il Lysis Buffer (tampone di lisi) può cristallizzare a bassa temperatura. In caso di comparsa di cristalli, riscaldare il flacone di Lysis Buffer (tampone di lisi) con un lieve movimento oscillante ($\leq +50^{\circ}\text{C}$, per es. in un bagno d'acqua) fino al completo scioglimento dei cristalli (fino a 30 minuti).

NOTA



Le Magnetic Beads (microsfere magnetiche) devono essere agitate accuratamente prima dell'uso (per es. su vortex per 60 secondi).

NOTA



Possono verificarsi lievi alterazioni nella colorazione del Lysis Buffer (tampone di lisi). Queste lievi alterazioni della colorazione non indicano una modifica della qualità del tampone.

5. Descrizione del prodotto

Tab. 4: Componenti del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0

Componente del kit	Descrizione
Lysis Buffer	Il Lysis Buffer (tampone di lisi) contiene sali caotropici e tensioattivi (guanidina tiocianato, octossinolo) per la lisi chimica di cellule o virioni. Stabilizza gli acidi nucleici e li protegge dalle nucleasi in soluzione.
Wash Buffer 1	Il Wash Buffer 1 (soluzione di lavaggio 1) contiene diversi sali e solventi organici (guanidina tiocianato ed etanolo) per la rimozione delle proteine e di altre impurità.
Wash Buffer 2	Il Wash Buffer 2 (soluzione di lavaggio 2) contiene solventi organici (etanolo) per la rimozione delle proteine e di altre impurità.
Wash Buffer 3	Il Wash Buffer 3 (soluzione di lavaggio 3) contiene diversi sali per la purificazione degli acidi nucleici.
Enhancer	Gli Enhancer (intensificatori) stabilizzano e proteggono gli acidi nucleici dalle nucleasi in soluzione.
Magnetic Beads	Le Magnetic Beads (microsfere magnetiche) sono rivestite da un sottile strato di silicio per legare gli acidi nucleici liberi in soluzione. La proprietà magnetica consente la separazione delle microsfere dai liquidi all'interno di un campo magnetico.
Elution Buffer	L' Elution Buffer (tampone di eluizione) è un tampone a basso contenuto di sali che consente il rilascio degli acidi nucleici dalle Magnetic Beads (microsfere magnetiche) per l'analisi successiva.

5.1 Principio del metodo

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 è destinato all'isolamento e alla purificazione automatizzati di acidi nucleici dai campioni umani specificati (vedere il capitolo 6. Tipi di campioni) per scopi di diagnostica *in vitro* in combinazione con il KingFisher™ Flex Purification System, AltoStar® Internal Control 1.5 (controllo interno) e i kit e reagenti Altona Diagnostics indicati per l'uso con il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 si basa su una tecnologia con microsfere magnetiche, che utilizza particelle magnetiche con un rivestimento di silicio in grado di legarsi e rilasciare gli acidi nucleici in condizioni specifiche [1,2,3].

La procedura di purificazione è composta da 3 fasi automatizzate sul KingFisher™ Flex Purification System (vedere la figura 1).

1. Nella prima fase gli acidi nucleici vengono rilasciati mediante lisi chimica e meccanica in condizioni di elevata contenuto di sali caotropici. Le condizioni stabilizzano gli acidi nucleici in soluzioni e consentono il legame con le microsfere magnetiche rivestite di silicio.
2. Nelle fasi di lavaggio che seguono vengono impiegate diverse soluzioni di lavaggio per l'eliminazione di proteine e altre impurità.
3. Infine, gli acidi nucleici vengono rilasciati dalle microsfere magnetiche con l'aggiunta di un tampone di eluizione e trasferite alla piastra degli eluati.

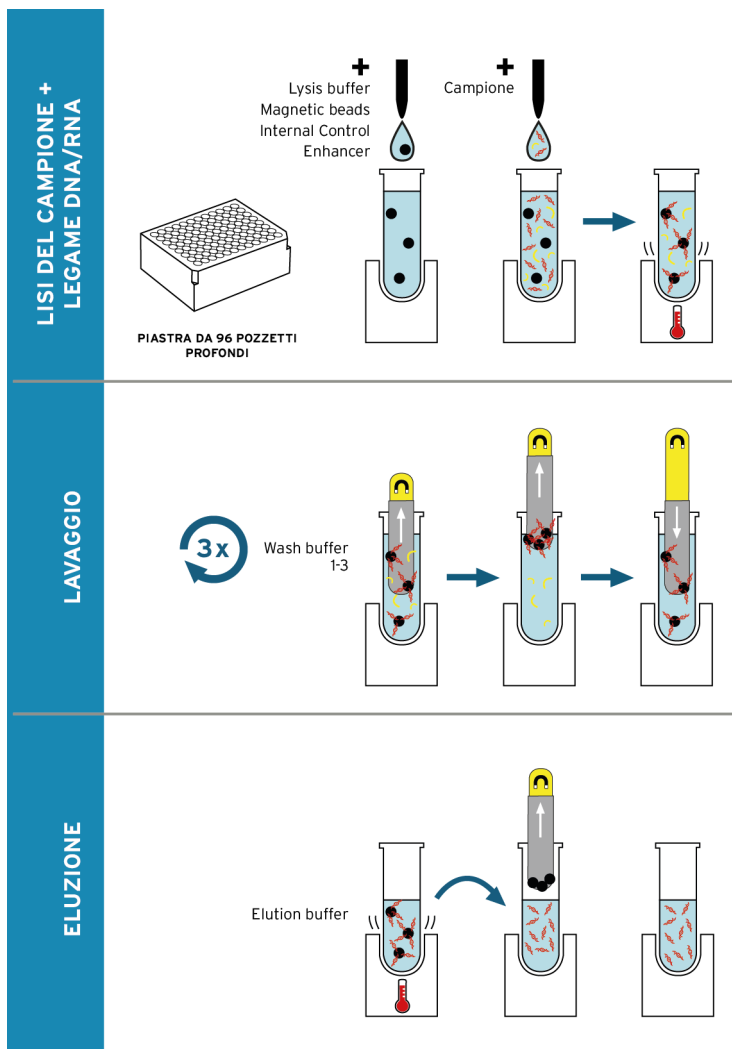


Figura 1: Illustrazione della procedura di purificazione con l'uso del KingFisher™ Flex Purification System

6. Tipi di campioni

Il tipo di campione che segue è validato per l'uso con il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0:

- Tamponi respiratori umani in terreno di trasporto

ATTENZIONE



Non utilizzare altri tipi di campione! L'uso di altri tipi di campione potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

NOTA






La conservazione dei campioni in congelatore non compromette le prestazioni del kit. Quando si lavora con campioni congelati, verificare sempre che i campioni siano completamente scongelati e correttamente miscelati prima dell'uso.



NOTA






Per informazioni sulla raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni fare riferimento alle istruzioni per l'uso dei kit e dei reagenti Altona Diagnostics specificati per l'uso con il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

7. Avvertenze, precauzioni e limitazioni

Lysis Buffer		
 GHS05	H302+H312+H332	Nocivo per contatto con la pelle o se inalato o se ingerito.
	H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
	H411	Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
 GHS07	EUH032	A contatto con acidi libera gas molto tossici.
	EUH071	Corrosivo per le vie respiratorie.
	P260	Non respirare la nebbia, i vapori, gli aerosol.
	P264	Lavare accuratamente le mani dopo l'uso.
 GHS09 Pericolo!	P273	Non disperdere nell'ambiente.
	P280	Indossare indumenti protettivi, proteggere gli occhi, proteggere il viso, guanti protettivi.
	P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia.
	P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI, un medico.
	Contiene:	Guanidina tiocianato (CAS 593-84-0) 50–70%. Alchilfenolo etossilato (CAS 9036-19-5) 10–20%.

Wash Buffer 1		
 GHS02	H226	Liquido e vapori infiammabili.
	H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
	H412	Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
 GHS05 Pericolo!	EUH032	A contatto con acidi libera gas molto tossici.
	EUH071	Corrosivo per le vie respiratorie.
	P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme libere e altre fonti di innesco. Non fumare.
	P260	Non respirare la nebbia, i vapori, gli aerosol.
	P273	Non disperdere nell'ambiente.
	P280	Indossare indumenti protettivi, proteggere gli occhi, proteggere il viso, guanti protettivi.
	P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia.
	P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI, un medico.
Contiene:	Guanidina tiocianato (CAS 593-84-0) 25–50%. Etanolo (CAS 64-17-5) 25–50%.	

Wash Buffer 2		
 GHS02	H226	Liquido e vapori infiammabili.
	H319	Provoca grave irritazione oculare.
	P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici riscaldate, scintille, fiamme libere e altre fonti di innesco. Non fumare.
	P233	Tenere il recipiente ben chiuso.
 GHS07	P280	Indossare indumenti protettivi, proteggere gli occhi, proteggere il viso, guanti protettivi.
	P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
Pericolo!	P337+P313	Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
	Contiene:	Etanolo (CAS 64-17-5) 50–70 %.

Enhancer		
 GHS05	H314	Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
	P260	Non respirare la nebbia, i vapori, gli aerosol.
Pericolo!	P280	Indossare indumenti protettivi, proteggere gli occhi, proteggere il viso, guanti protettivi.
	P303+P361+P353	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle o fare una doccia.
	P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
	P310	Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico.
	Contiene:	Tris(2-carbossietil)fosfina (CAS 51805-45-9) 10–20%.

NOTA

Per ulteriori informazioni consultare le schede dati di sicurezza (SDS).

- Prima del primo utilizzo controllare la completezza del prodotto e di tutti i suoi componenti rispetto a numero, tipo e riempimento. Non utilizzare un prodotto difettoso o incompleto, in quanto le sue prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Condizioni di conservazione errate possono compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non usare i prodotti oltre la data di scadenza. L'uso di prodotti scaduti potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non lasciare i reagenti aperti tra un utilizzo e l'altro, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

- La manipolazione errata dei componenti del prodotto e dei campioni può causare contaminazione e potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto:
 - Non scambiare i tappi dei flaconi.
 - Conservare il materiale positivo e/o potenzialmente positivo separatamente dai componenti del kit.
 - Utilizzare aree di lavoro separate per preparazione del campione, impostazione della reazione e attività di amplificazione/rilevazione.
 - Smaltire sempre i guanti dopo la manipolazione di materiale positivo e/o potenzialmente positivo.
 - Non aprire le piastre di PCR e/o le provette dopo l'amplificazione.
- Non superare le durate delle manipolazioni specificate in queste istruzioni per l'uso in quanto le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Non mescolare componenti di lotti di kit diversi, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non utilizzare altri tipi di campione! L'uso di altri tipi di campione potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non inserire un volume maggiore nei pozzetti delle piastre, altrimenti si potrebbe verificare una contaminazione crociata e le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Utilizzare sempre il volume del campione corretto durante la preparazione della piastra del campione per la lisi, altrimenti le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.
- Versare sempre il tampone corretto nella piastra per il tampone corrispondente. Il mescolamento dei tamponi può compromettere le prestazioni del prodotto.
- Accertarsi sempre che i tamponi siano sufficienti per ogni campione prima di iniziare l'analisi. L'uso di un volume di tampone minore di quello specificato può compromettere le prestazioni del prodotto.
- Utilizzare sempre la programmazione KingFisher™ corretta per il processo di estrazione, in quanto impostazioni diverse potrebbero causare contaminazione crociata e compromettere le prestazioni del prodotto.
- Assicurarsi di riempire le posizioni dei pozzetti corrispondenti su ogni piastra. Non mescolare le posizioni dei campioni e dei tamponi nei pozzetti delle piastre, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

- Non mescolare le piastre dei pozzetti e l'orientamento delle piastre durante il caricamento dello strumento KingFisher™. Il caricamento errato delle piastre può compromettere le prestazioni del prodotto.
- I tamponi con alginato di calcio, i tamponi con asta di legno e/o puntale di cotone, come pure i tamponi contenenti gelatina agar possono ridurre le prestazioni dell'estrazione.
- Una preparazione errata dei reagenti [per es. Lysis Buffer (tampone di lisi) e Magnetic Beads (microsfere magnetiche)] può produrre risultati invalidi o falsi negativi.
- Non scambiare i tappi dei flaconi quando si richiudono i componenti del prodotto dopo l'uso, onde evitare la contaminazione dei reagenti che potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Non utilizzare campioni contenenti solidi e componenti ad alta viscosità, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.
- Errate condizioni di conservazione degli eluati possono causare la perdita di volume degli eluati e/o la degradazione della sequenza target specifica del patogeno, compromettendo potenzialmente le prestazioni del prodotto.
- Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fosse con rischio biologico.
- Lo smaltimento dei rifiuti pericolosi e biologici deve essere conforme alle normative locali e nazionali in modo da evitare la contaminazione ambientale.

8. Uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0

I capitoli che seguono descrivono l'uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

8.1 Volume del campione

Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 consente di eseguire la purificazione di un campione di 300 µl.

ATTENZIONE



Non inserire un volume maggiore nei pozzetti delle piastre, altrimenti si potrebbe verificare una contaminazione crociata e le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

ATTENZIONE



Utilizzare sempre il volume del campione corretto durante la preparazione della piastra del campione per la lisi, altrimenti le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

8.2 Materiale e dispositivi richiesti e non forniti

- AltoStar® Internal Control 1.5 (controllo interno) per l'estrazione degli acidi nucleici e l'amplificazione tramite PCR (numero d'ordine Altona Diagnostics IC15-46)
- Thermo Fisher Scientific KingFisher™ 96 Flex con magnete a 96 pozzetti profondi e blocco riscaldante con software Thermo Fisher Scientific BindIt™ 4.0 o superiore (numero d'ordine Thermo Fisher Scientific 5400630)
- 4x piastra KingFisher™ a 96 pozzetti profondi (numero d'ordine Thermo Fisher Scientific 95040450)
- 1x pettine per puntali KingFisher™ 96 per magneti a pozzetti profondi (numero d'ordine Thermo Fisher Scientific 97002534)
- 2x piastra KingFisher™ 96 da 200 µl (numero d'ordine Thermo Fisher Scientific 97002540)

NOTA



Assicurarsi che tutti gli strumenti siano stati installati, calibrati, controllati e sottoposti a manutenzione secondo le istruzioni e le raccomandazioni del fabbricante.

8.3 Materiale e dispositivi generici

- Vortex mixer
- Guanti senza polvere (monouso)
- Pipette (regolabili, for la preparazione di reagenti e campioni)
- Puntali per pipetta con filtro (monouso, per la preparazione del campione)
- *Facoltativo*: pipetta a erogazione graduale (regolabile, per la preparazione dei reagenti) e puntali idonei (monouso)

9. Purificazione con l'uso del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 in combinazione con KingFisher™ Flex

Per il primo utilizzo è necessario creare un metodo specificato per il tipo di campione, tramite il software Thermo Scientific™ BindIt™ 4.0 o successivo per strumenti KingFisher™. Il metodo può essere utilizzato sullo strumento come unità indipendente o con un PC collegato. Per l'uso del software e della programmazione BindIt™, fare riferimento al manuale d'uso del dispositivo pertinente.

Tab. 5: Programma KingFisher™ per l'estrazione con il kit 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
Magnetic Beads	25	-	Reagent
Enhancer	20	-	Reagent
AltoStar® Internal Control 1.5	50	-	Reagent
Sample	300	-	Sample

KingFisher™ program for ExtraStar® Purification Kit 2.0 extraction			
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
Elate 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
-	-	-	-

ATTENZIONE



Versare sempre il tampone corretto nella piastra per il tampone corrispondente. Il mescolamento dei tamponi può compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Accertarsi sempre che i tamponi siano sufficienti per ogni campione prima di iniziare l'analisi. L'uso di un volume di tampone minore di quello specificato può compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Non inserire un volume maggiore nei pozzetti delle piastre, altrimenti si potrebbe verificare una contaminazione crociata e le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

Tab. 6: Protocollo

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
	Collect time [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	Eluate 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	

ATTENZIONE

Utilizzare sempre la programmazione KingFisher™ corretta per il processo di estrazione, in quanto impostazioni diverse potrebbero causare contaminazione crociata e compromettere le prestazioni del prodotto.

9.1 Terreno di trasporto (lavaggio tampone)

1. Assicurarsi che il metodo (vedere la tabella 5) sia programmato e installato sul sistema KingFisher™ Flex.
2. Preparare una piastra standard vuota (piastra KingFisher™ 96 da 200 µl) con un pettine per puntali a 96 pozzetti profondi.
3. Preparare la piastra di lavaggio 1 (piastra KingFisher™ a 96 pozzetti profondi) aggiungendo 500 µl di Wash Buffer 1 (soluzione di lavaggio 1) in ogni pozzetto in uso.
4. Preparare la piastra di lavaggio 2 (piastra KingFisher™ a 96 pozzetti profondi) aggiungendo 500 µl di Wash Buffer 2 (soluzione di lavaggio 2) in ogni pozzetto in uso.
5. Preparare la piastra di lavaggio 3 (piastra KingFisher™ a 96 pozzetti profondi) aggiungendo 500 µl di Wash Buffer 3 (soluzione di lavaggio 3) in ogni pozzetto in uso.
6. Preparare la eluate plate (piastra degli eluati) (piastra KingFisher™ da 200 µl) aggiungendo 100 µl di Elution Buffer (tampone di eluizione) in ogni pozzetto in uso.
7. Preparazione del campione per il terreno di trasporto (lavaggio tampone):

Preparare la piastra del campione di lisi (piastra KingFisher™ a 96 pozzetti profondi) aggiungendo in ogni pozzetto in uso, nell'ordine seguente:

- 500 µl di Lysis Buffer (tampone di lisi)
 - 25 µl di Magnetic Beads (microsfere magnetiche) ben miscelate (per es. agitate o vortexate per 60 secondi)
 - 20 µl di soluzione Enhancer (intensificatori)
 - 50 µl di AltoStar® Internal Control 1.5 (controllo interno): aggiungere l'IC direttamente al liquido ed evitare la sospensione di gocce sul lato dei pozzetti profondi.
 - **300 µl di campione (per es. terreno di trasporto virale)**
8. Avviare immediatamente il metodo di estrazione e seguire le istruzioni collocando le piastre nello strumento.
 9. Avviare il processo (per il completamento sono necessari circa 30 minuti).
 10. Al termine della procedura, utilizzare la piastra degli eluati per il processo PCR.

ATTENZIONE



Versare sempre il tampone corretto nella piastra per il tampone corrispondente. Il mescolamento dei tamponi può compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Accertarsi sempre che i tamponi siano sufficienti per ogni campione prima di iniziare l'analisi. L'uso di un volume di tampone minore di quello specificato può compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Non inserire un volume maggiore nei pozzetti delle piastre, altrimenti si potrebbe verificare una contaminazione crociata e le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

ATTENZIONE



Assicurarsi di riempire le posizioni dei pozzetti corrispondenti su ogni piastra. Non mescolare le posizioni dei campioni e dei tamponi nei pozzetti delle piastre, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Non mescolare le piastre dei pozzetti e l'orientamento delle piastre durante il caricamento dello strumento KingFisher™. Il caricamento errato delle piastre può compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



I tamponi con alginato di calcio, i tamponi con asta di legno e/o puntale di cotone, come pure i tamponi contenenti gelatina agar possono ridurre le prestazioni dell'estrazione.

ATTENZIONE



Una preparazione errata dei reagenti [per es. Lysis Buffer (tampone di lisi) e Magnetic Beads (microsfere magnetiche)] può produrre risultati invalidi o falsi negativi.

ATTENZIONE



Non scambiare i tappi dei flaconi quando si richiudono i componenti del prodotto dopo l'uso, onde evitare la contaminazione dei reagenti che potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Non utilizzare campioni contenenti solidi e componenti ad alta viscosità, in quanto ciò potrebbe compromettere le prestazioni del prodotto.

ATTENZIONE



Utilizzare sempre il volume del campione corretto durante la preparazione della piastra del campione per la lisi, altrimenti le prestazioni del prodotto potrebbero risultare compromesse.

9.1.1 Stabilità dell'eluato

Dopo il completamento del processo di purificazione, gli eluati nella piastra degli eluati non sigillata sono stabili a temperatura ambiente (max. +30°C) per un totale di 4 ore.

ATTENZIONE



Errate condizioni di conservazione degli eluati possono causare la perdita di volume degli eluati e/o la degradazione della sequenza target specifica del patogeno, compromettendo potenzialmente le prestazioni del prodotto.

10. Dati sulla prestazioni

Le prestazioni del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 vengono verificate in combinazione con ciascun kit Altona Diagnostics real-time PCR kit o reagente indicato per l'uso con il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. Per informazioni relative ai dati sulle prestazioni consultare le istruzioni per l'uso del rispettivo kit Altona Diagnostics real-time PCR kit o reagente.

11. Smaltimento

Smaltire i rifiuti pericolosi e biologici conformemente alle normative locali e nazionali. I componenti residui e i rifiuti del prodotto non devono mai penetrare nella rete fognaria, nei corsi d'acqua o nel suolo.

ATTENZIONE



Trattare sempre i campioni come materiale infetto e ad elevato rischio (biologico) conformemente alle procedure di sicurezza e di laboratorio. Pulire immediatamente gli sversamenti di campioni utilizzando un disinfettante adatto. Manipolare i materiali contaminati come se fosse con rischio biologico.

ATTENZIONE



Lo smaltimento dei rifiuti pericolosi e biologici deve essere conforme alle normative locali e nazionali in modo da evitare la contaminazione ambientale.

NOTA**i**

I rifiuti liquidi e i liquidi contenenti Lysis Buffer (tampone di lisi) o Wash Buffer 1 (soluzione di lavaggio 1) contengono guanidina tiocianato, che può formare composti tossici, estremamente reattivi e volatili se combinata con candeggina o acidi forti.

12. Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione della qualità certificato EN ISO 13485 di alta Diagnostica GmbH, ogni lotto del kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 è testato in base a specifiche prestabilite per garantire una qualità costante del prodotto.

13. Guida alla soluzione dei problemi**Problema: precipitato nel reagente**

Possibile causa	Suggerimenti
Conservazione del Lysis Buffer (tampone di lisi) a bassa temperatura o per un periodo di tempo prolungato	Se il flacone del Lysis Buffer (tampone di lisi) è già stato aperto, assicurarsi di richiuderlo con lo stesso tappo. Riscaldare il flacone di Lysis Buffer (tampone di lisi) facendolo oscillare con cautela in modo intermittente ($\leq +50^{\circ}\text{C}$, per es. in un bagno d'acqua) fino al completo scioglimento del precipitato.
L'eccessiva evaporazione dovuta a utilizzo e/o chiusura errati può causare un aumento della concentrazione di sali nei reagenti	Smaltire il reagente. Assicurarsi di richiudere sempre i flaconi dei reagenti subito dopo l'uso.

Problema: resa o purezza scarsa degli acidi nucleici

Possibile causa	Suggerimenti
Conservazione dei reagenti in condizioni errate	Smaltire i reagenti. Assicurarsi di conservare i componenti del prodotto nelle condizioni di conservazione indicate (vedere il capitolo 4. Conservazione e manipolazione).
I reagenti non sono stati chiusi e/o conservati correttamente tra un uso e l'altro	Smaltire i reagenti. Assicurarsi di conservare i componenti del prodotto nelle condizioni di conservazione indicate (vedere il capitolo 4. Conservazione e manipolazione). Assicurarsi di richiudere sempre i flaconi dei reagenti subito dopo l'uso.
Preparazione errata dei campioni	Assicurarsi di preparare i campioni secondo le istruzioni riportate al capitolo 9.1 Terreno di trasporto (lavaggio tampone).
I campioni congelati non sono stati scongelati o miscelati correttamente	Assicurarsi che i campioni siano completamente scongelati e correttamente miscelati prima dell'uso.
Lisi incompleta del campione	Prima dell'uso, controllare che il Lysis Buffer (tampone di lisi) non contenga precipitato. Se il flacone di Lysis Buffer (tampone di lisi) è già aperto, assicurarsi di richiudere il flacone con il tappo corrispondente e riscaldarlo ($\leq +50^{\circ}\text{C}$, per es. in un bagno d'acqua) facendolo oscillare con cautela in modo intermittente fino al completo scioglimento del precipitato.
Mescolamento di tamponi durante il riempimento delle piastre o mescolamento delle piastre del tampone durante il caricamento del sistema KingFisher™	Assicurarsi di aggiungere i tamponi corretti nelle piastre corrispondenti e caricare le piastre secondo le istruzioni del metodo visualizzate sul display del sistema KingFisher™.
Elevata viscosità del campione o presenza di solidi nel campione	Assicurarsi di preparare i campioni come descritto nel capitolo 9.1 Terreno di trasporto (lavaggio tampone).

14. Assistenza tecnica

Per l'assistenza ai clienti, contattare l'assistenza tecnica di Altona Diagnostics:

e-mail: support@altona-diagnostics.com

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

NOTA



In caso di incidenti gravi verificatisi in relazione al prodotto informare Altona Diagnostics e l'autorità nazionale competente.

15. Letteratura

- [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.* 2012 May 17; 116(19): 5661-5670.

16. Marchi e brevetti

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

Nomi registrati, marchi, ecc. utilizzati in questo documento, anche se non specificamente contrassegnati come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.














Il kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 è un prodotto a marchio CE secondo il Regolamento (UE) 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.





Prodotto non concesso in licenza con Health Canada e non approvato o autorizzato dalla FDA.

Non disponibile in tutti i paesi.

© 2023 altona Diagnostics GmbH; tutti i diritti riservati.

17. Simboli

Simbolo	Spiegazione
	Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>
	Global Trade Item Number
	Codice lotto
	Indice
	Numero di catalogo
	Numero
	Componente
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contiene sufficienti per "n" test / reazioni (rxns)
	Limite di temperatura
	Da usare entro
	Fabbricante
	Attenzione

Simbolo	Spiegazione
 The symbol consists of the letters "MAT" in a bold, black, sans-serif font, enclosed within a thin black rectangular border.	Numero materiale
 The icon is a simple line drawing of an open book, showing two pages and a central spine.	Versione
 The symbol is a bold, black, lowercase letter "i" with a small dot above it, representing an information or note icon.	Nota
 The symbol consists of the letters "UFI" in a bold, black, sans-serif font, enclosed within a thin black rectangular border.	Unique formula identifier

18. Cronologia delle revisioni

Tab. 7: Cronologia delle revisioni

Identificativo	Data di emissione [mese/anno]	Modifiche
MAN-5012040-IT-S01	12/2022	Prima edizione

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

