

Instruções de utilização

ExtraStar[®] Purification Kit 2.0

12/2022 PT

ExtraStar[®]

Purification Kit 2.0

Para utilização com

KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)



5012045



384



12 2022



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

Índice

1.	Sobre estas instruções de utilização	6
2.	Utilização prevista	7
3.	Conteúdo do kit	7
4.	Armazenamento e manuseamento	8
4.1	Armazenamento	8
4.2	Manuseamento	9
5.	Descrição do produto	11
5.1	Princípio do método	12
6.	Tipos de amostras	14
7.	Advertências, precauções e limitações	15
8.	Utilização do ExtraStar® Purification Kit 2.0	19
8.1	Volume da amostra	19
8.2	Materiais e dispositivos necessários mas não fornecidos	19
8.3	Materiais e dispositivos gerais	20
9.	Purificação usando o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 em conjunto com o KingFisher™ Flex	20
9.1	Meio de transporte (lavagem de esfregão)	24
9.1.1	Estabilidade do eluato	26
10.	Dados de desempenho	27
11.	Eliminação	27
12.	Controlo de qualidade	28
13.	Guia de resolução de problemas	28
14.	Apoio técnico	30

15.	Bibliografia	30
16.	Marcas comerciais e isenções de responsabilidade.....	31
17.	Símbolos	32
18.	Histórico de revisões.....	34

1. Sobre estas instruções de utilização

Estas instruções de utilização orientam o utilizador na utilização do kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 em conjunto com o AltoStar® Internal Control 1.5 no KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific).

Os principais passos de funcionamento do KingFisher™ Flex Purification System e do AltoStar® Internal Control 1.5 durante o procedimento de purificação são descritos para se tornarem mais compreensíveis.

Para informações mais detalhadas sobre estes produtos, consulte as respetivas instruções de utilização listadas abaixo:

- Manual do KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)
- Instruções de utilização AltoStar® Internal Control 1.5

Ao longo deste manual, os termos ATENÇÃO e NOTA têm os seguintes significados:

ATENÇÃO



Destaca os procedimentos ou as instruções de funcionamento que, se não forem seguidos corretamente, podem resultar em lesões pessoais ou afetar o desempenho do produto. Contacte o apoio técnico da Altona Diagnostics para obter assistência.

NOTA



Consiste em informações úteis para o utilizador mas que não são essenciais para a tarefa em questão.

Leia as instruções de utilização cuidadosamente antes de utilizar o produto.

2. Utilização prevista

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 utiliza tecnologia de partículas magnéticas e destina-se a ser utilizado para o isolamento e a purificação automatizados de ácidos nucleicos de amostras de esfregaços respiratórios humanos para efeitos de diagnóstico *in vitro*.

O produto destina-se a ser usado com o KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific) e os reagentes e altona Diagnostics kits para utilização com o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 destina-se a ser utilizado por profissionais com formação em técnicas de biologia molecular e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

3. Conteúdo do kit

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 é fornecido em 2 caixas separadas, **Caixa 1** e **Caixa 2** (consulte as tabelas 1 e 2).

Tabela 1: Componentes do kit da **Caixa 1**

Componente	Número de frascos	Volume por frasco [ml]
Lysis Buffer	2	120
Wash Buffer 1	2	100
Wash Buffer 2	2	100
Wash Buffer 3	2	100

Tabela 2: Componentes do kit da **Caixa 2**

Componente	Número de frascos	Volume por frasco [ml]
Magnetic Beads	2	5
Elution Buffer	2	22
Enhancer	2	4

ATENÇÃO



Antes da primeira utilização, verifique o produto e os seus componentes relativamente a integralidade quanto ao número, tipo e conteúdos. Não utilize um produto defeituoso ou incompleto, pois pode comprometer o desempenho do produto.

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 contém reagentes suficientes para 384 purificações de amostras.

No momento da receção, verifique o produto e os respetivos componentes quanto a:

- Integridade
- Integralidade quanto ao número, tipo e conteúdos
- Etiquetagem correta
- Data de validade
- Clareza e ausência de partículas

Se algum componente do kit tiver ficado comprometido durante o envio ou estiver em falta, contacte o apoio técnico da Altona Diagnostics para obter assistência (consulte o capítulo 14. Apoio técnico).

4. Armazenamento e manuseamento

Todos os reagentes incluídos no kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 são soluções prontas a usar.

4.1 Armazenamento

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 é enviado à temperatura ambiente. A **Caixa 1** tem de ser armazenada entre +15 °C e +30 °C, e a **Caixa 2** tem de ser armazenada entre +2 °C e +8 °C no momento da receção (consulte a tabela 3). Os frascos devem ser armazenados na posição vertical.

Tabela 3: Condições de armazenamento das **Caixa 1** e **Caixa 2**

Condições de conservação	
Caixa 1	Caixa 2
+15 °C a +30 °C	+2 °C a +8 °C

ATENÇÃO

Condições de armazenamento incorretas podem comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO

Não utilize produtos para além da data de validade. A utilização de produtos expirados pode comprometer o desempenho do produto.

4.2 Manuseamento

Os reagentes do kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 mantêm-se estáveis durante 14 dias após a abertura inicial, se forem fechados após cada utilização e armazenados da seguinte forma: As Magnetic Beads (esferas magnéticas), o Enhancer (amplificador) e o Elution Buffer (tampão de eluição) devem ser fechados com a tampa original após a utilização e armazenados entre +2 °C e +8 °C. O Lysis Buffer (tampão de lise) e o Wash Buffer 1, 2 e 3 (tampão de lavagem 1, 2 e 3) devem ser fechados com a tampa original após a utilização e armazenados entre +15 °C e +30 °C.

ATENÇÃO

Não deixe os reagentes abertos entre utilizações, pois pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO

O manuseamento incorreto de componentes e amostras do produto poderá causar contaminação e pode comprometer o desempenho do produto:



- Não troque tampas de frascos.
- Armazene o material positivo e/ou potencialmente positivo separado dos componentes do kit.
- Utilize áreas de trabalho separadas para a preparação da amostra/preparação da reação e as atividades de amplificação/deteção.
- Elimine sempre as luvas após manusear material positivo e/ou potencialmente positivo.
- Não abra as placas PCR e/ou tubos após a amplificação.

ATENÇÃO



Não exceda a duração de manuseamento, conforme especificada nestas instruções de utilização, pois pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Não misture componentes de lotes de kits diferentes, pois pode comprometer o desempenho do produto.

NOTA



O Lysis Buffer (tampão de lise) pode cristalizar a baixa temperatura. Se ocorrer cristalização, o frasco de Lysis Buffer (tampão de lise) deve ser aquecido com rotação cuidadosa ($\leq +50$ °C, ex., em banho-maria) até os cristais estarem completamente dissolvidos (máximo de 30 minutos).

NOTA



As Magnetic Beads (esferas magnéticas) devem ser bem agitadas antes de usar (ex., vortex durante 60 segundos).

NOTA



Podem ocorrer ligeiras mudanças de cor no Lysis Buffer (tampão de lise). Estas ligeiras mudanças de cor não indicam uma alteração na qualidade do tampão.

5. Descrição do produto

Tabela 4: Componentes do kit ExtraStar® Purification Kit 2.0

Componente do kit	Descrição
Lysis Buffer	O Lysis Buffer (tampão de lise) contém sais caotrópicos e surfactantes (tiocianato de guanidina, octoxinol) para desintegrar células ou viriões quimicamente. Estabiliza os ácidos nucleicos e protege-os contra as nucleases na solução.
Wash Buffer 1	O Wash Buffer 1 (tampão de lavagem 1) contém diferentes sais e solventes orgânicos (tiocianato de guanidina e etanol) para remover proteínas e outras impurezas.
Wash Buffer 2	O Wash Buffer 2 (tampão de lavagem 2) contém solventes orgânicos (etanol) para remover proteínas e outras impurezas.
Wash Buffer 3	O Wash Buffer 3 (tampão de lavagem 3) contém diferentes sais para purificar os ácidos nucleicos.
Enhancer	O Enhancer (amplificador) estabiliza e protege os ácidos nucleicos contra as nucleases na solução.
Magnetic Beads	As Magnetic Beads (esferas magnéticas) são revestidas com uma camada fina de sílica para ligar os ácidos nucleicos livres na solução. As características magnéticas permitem separar as esferas dos líquidos num campo magnético.
Elution Buffer	O Elution Buffer (tampão de eluição) é um tampão com baixo teor de sal que tem como função libertar os ácidos nucleicos das Magnetic Beads (esferas magnéticas) para análise subsequente.

5.1 Princípio do método

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 destina-se a isolamento e purificação automatizados de ácidos nucleicos de amostras humanas especificadas (consulte o capítulo 6. Tipos de amostras) para efeitos de diagnóstico *in vitro*, em conjunto com o KingFisher™ Flex Purification System, o AltoStar® Internal Control 1.5 e os reagentes e altona Diagnostics kits especificados para utilização com o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 baseia-se na tecnologia de esferas magnéticas, utilizando partículas magnéticas revestidas com sílica, que conseguem ligar e libertar ácidos nucleicos sob condições específicas [1,2,3].

O procedimento de purificação é constituído por 3 passos automatizados no KingFisher™ Flex Purification System (consulte a figura 1).

1. No primeiro passo, os ácidos nucleicos são libertados por lise química e mecânica sob condições de alta concentração de sais caotrópicos. As condições estabilizam os ácidos nucleicos na solução e permitem a sua ligação às esferas magnéticas revestidas com sílica.
2. Nos passos de lavagem seguintes são utilizados diferentes tampões de lavagem para remover proteínas e outras impurezas.
3. Por último, os ácidos nucleicos são libertados das esferas magnéticas com um tampão de eluição e transferidos para a placa de eluato.

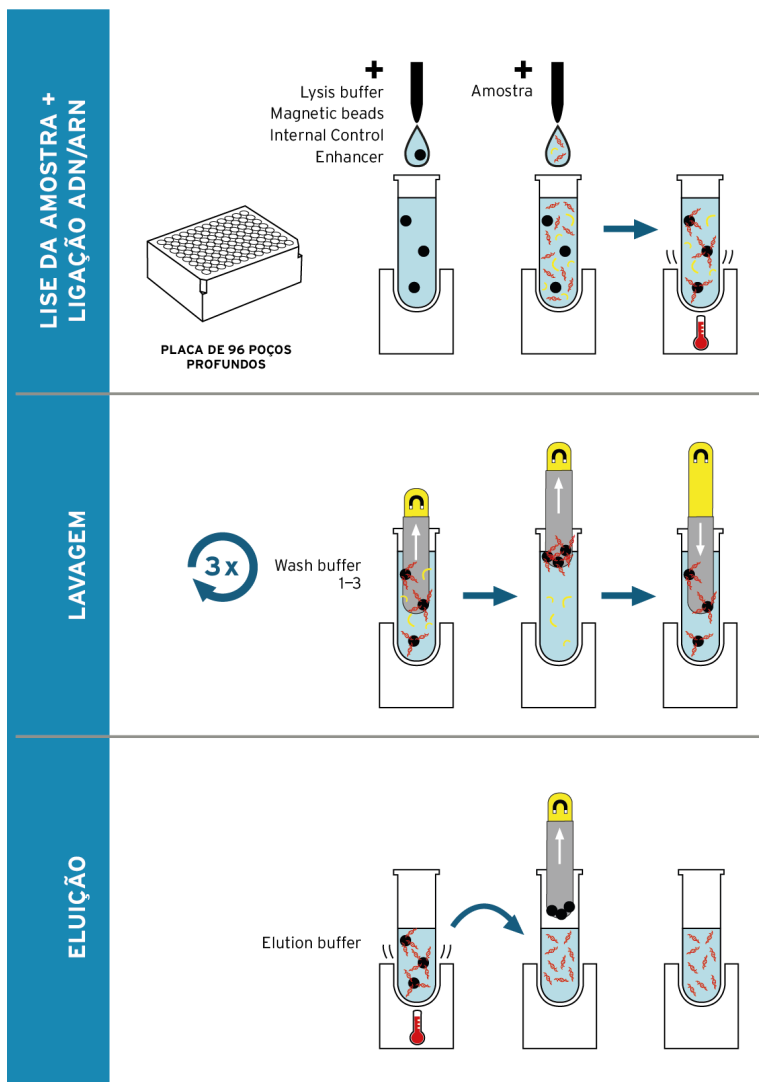


Figura 1: Ilustração do procedimento de purificação usando o KingFisher™ Flex Purification System

6. Tipos de amostras

O seguinte tipo de amostra está validado para utilização com o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0:

- Esfregaços respiratórios humanos em meio de transporte

ATENÇÃO



Não utilize outros tipos de amostras! A utilização de outros tipos de amostras pode comprometer o desempenho do produto.

NOTA






O armazenamento congelado de amostras não compromete o desempenho do kit. Ao trabalhar com amostras congeladas, certifique-se de que as amostras estão totalmente descongeladas e devidamente misturadas antes da utilização.



NOTA






Para informações respeitantes à recolha, manuseamento e armazenamento de amostras, consulte as instruções de utilização dos altona Diagnostics kits e reagentes especificados para utilização com o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

7. Advertências, precauções e limitações

Lysis Buffer		
 GHS05	H302+H312+H332	Nocivo em contacto com a pele ou por inalação ou ingestão.
	H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
	H411	Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
 GHS07	EUH032	Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.
	EUH071	Corrosivo para as vias respiratórias.
	P260	Não respirar névoas, vapores, aerossóis.
 GHS09 Perigo!	P264	Lavar cuidadosamente as mãos após manuseamento.
	P273	Evitar a libertação para o ambiente.
	P280	Usar vestuário de proteção, proteção ocular, proteção facial, luvas de proteção.
	P303+P361+P353	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água ou tomar um duche.
	P310	Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS, um médico.
	Contém:	Tiocianato de guanidina (CAS 593- 84-0) 50–70 %.
		Etoxilato de alquifenol (CAS 9036-19-5) 10–20 %.

Wash Buffer 1		
 GHS02	H226	Líquido e vapor inflamáveis.
	H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
	H412	Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
 GHS05 Perigo!	EUH032	Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.
	EUH071	Corrosivo para as vias respiratórias.
	P210	Manter afastado do calor, superfícies quentes, fâsca, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
	P260	Não respirar névoas, vapores, aerossóis.
	P273	Evitar a libertação para o ambiente.
	P280	Usar vestuário de proteção, proteção ocular, proteção facial, luvas de proteção.
	P303+P361+P353	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água ou tomar um duche.
	P310	Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS, um médico.
	Contém:	Tiocianato de guanidina (CAS 593- 84-0) 25–50 %.
		Etanol (CAS 64-17-5) 25–50 %.

Wash Buffer 2		
 GHS02	H226	Líquido e vapor inflamáveis.
	H319	Provoca irritação ocular grave.
	P210	Manter afastado do calor, superfícies quentes, fiação, chama aberta e outras fontes de ignição. Não fumar.
 GHS07	P233	Manter o recipiente bem fechado.
	P280	Usar vestuário de proteção, proteção ocular, proteção facial, luvas de proteção.
	P305+P351+P338	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes, de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
Perigo!	P337+P313	Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
	Contém:	Etanol (CAS 64-17-5) 50–70 %.

Enhancer		
 GHS05	H314	Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
	P260	Não respirar névoas, vapores, aerossóis.
Perigo!	P280	Usar vestuário de proteção, proteção ocular, proteção facial, luvas de proteção.
	P303+P361+P353	SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água ou tomar um duche.
	P305+P351+P338	SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes, de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
	P310	Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS, um médico.
	Contém:	Tris(2-carboxietil)fosfina (CAS 51805-45-9) 10–20 %.

NOTA

Para mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (SDS).

- Antes da primeira utilização, verifique o produto e os seus componentes relativamente a integridade quanto ao número, tipo e conteúdos. Não utilize um produto defeituoso ou incompleto, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- Condições de armazenamento incorretas podem comprometer o desempenho do produto.
- Não utilize produtos para além da data de validade. A utilização de produtos expirados pode comprometer o desempenho do produto.

- Não deixe os reagentes abertos entre utilizações, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- O manuseamento incorreto de componentes e amostras do produto poderá causar contaminação e comprometer o desempenho do produto:
 - Não troque tampas de frascos.
 - Armazene o material positivo e/ou potencialmente positivo separado dos componentes do kit.
 - Utilize áreas de trabalho separadas para a preparação da amostra/preparação da reação e as atividades de amplificação/deteção.
 - Elimine sempre as luvas após manusear material positivo e/ou potencialmente positivo.
 - Não abra as placas PCR e/ou tubos após a amplificação.
- Não exceda a duração de manuseamento, conforme especificada nestas instruções de utilização, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- Não misture componentes de lotes de kits diferentes, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- Não utilize outros tipos de amostras! A utilização de outros tipos de amostras pode comprometer o desempenho do produto.
- Não encha os poços das placas com um volume superior ao especificado, pois pode levar a contaminação cruzada, e comprometer o desempenho do produto.
- Use sempre o volume de amostra correto quando preparar a placa de amostra de lise, caso contrário pode comprometer o desempenho do produto.
- Encha sempre o tampão correto na placa de tampão correspondente. A mistura de tampões pode comprometer o desempenho do produto.
- Verifique sempre a existência de tampões suficientes para cada amostra antes de iniciar a experiência. A utilização de um volume de tampão inferior ao especificado pode comprometer o desempenho do produto.
- Use sempre a programação KingFisher™ correta para o processo de extração, pois outras definições poderiam levar a contaminação cruzada e poderiam comprometer o desempenho do produto.
- Encha as posições de poços correspondentes em cada placa. Não misture as posições de amostras e tampões nos poços da placa, pois pode comprometer o desempenho do produto.

- Não misture placas de poços nem a orientação de placas ao carregar o KingFisher™. O carregamento incorreto de placas pode comprometer o desempenho do produto.
- Esfregaços de alginato de cálcio, esfregaços com hastes de madeira e/ou pontas de algodão, bem como esfregaços contendo gelatina de ágar, podem reduzir o desempenho de extração.
- A preparação incorreta dos reagentes [ex. Lysis Buffer (tampão de lise) e Magnetic Beads (esferas magnéticas)] pode causar resultados inválidos ou falsos negativos.
- Não troque tampas de frascos quando fechar os componentes do produto após utilização, para evitar a contaminação dos reagentes, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- Não utilize amostras que contenham sólidos e componentes de alta viscosidade, pois pode comprometer o desempenho do produto.
- O armazenamento de eluatos nas condições erradas pode provocar a perda de volume de eluato e/ou degradação da sequência-alvo específica do agente patogénico, e pode comprometer o desempenho do produto.
- As amostras devem ser sempre tratadas como sendo infecciosas e com risco (biológico), em conformidade com os procedimentos laboratoriais e de segurança. No caso de derrames de material da amostra, utilize imediatamente um desinfetante apropriado. Manuseie os materiais contaminados como se se tratassem de materiais com risco biológico.
- A eliminação de resíduos perigosos e biológicos deve cumprir os regulamentos nacionais e locais para evitar a contaminação ambiental.

8. Utilização do ExtraStar® Purification Kit 2.0

Os capítulos seguintes descrevem a utilização do kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

8.1 Volume da amostra

O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 permite a purificação de amostras de 300 µl.

ATENÇÃO



Não encha os poços das placas com um volume superior ao especificado, pois pode levar a contaminação cruzada, e comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Use sempre o volume de amostra correto quando preparar a placa de amostra de lise, caso contrário pode comprometer o desempenho do produto.

8.2 Materiais e dispositivos necessários mas não fornecidos

- Extração de ácido nucleico e amplificação de PCR e controlo de deteção, AltoStar® Internal Control 1.5 (Altona Diagnostics Order No. IC15-46)
- Thermo Fisher Scientific KingFisher™ 96 Flex com bloco magnético e de aquecimento de 96 poços profundos com software Thermo Fisher Scientific BindIt™ 4.0 ou superior (Thermo Fisher Scientific Order No. 5400630)
- 4x placas deep-well de 96 poços KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific Order No. 95040450)
- 1x pente de 96 pontas KingFisher™ para ímanes de poço profundo (Thermo Fisher Scientific Order No. 97002534)
- 2x placas 96 KingFisher™ de 200 µl (Thermo Fisher Scientific Order No. 97002540)

NOTA



Certifique-se de que todos os instrumentos utilizados foram instalados, calibrados, verificados e mantidos de acordo com as instruções e recomendações do fabricante.

8.3 Materiais e dispositivos gerais

- Agitador vortex
- Luvas sem pó (descartáveis)
- Pipetas (ajustáveis, para preparação de reagentes e de amostras)
- Pontas de pipeta com filtros (descartáveis, para preparação de amostras)
- *Opcional:* pipeta stepper (ajustável, para preparação de reagentes) e pontas adequadas (descartáveis)

9. Purificação usando o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 em conjunto com o KingFisher™ Flex

Para a primeira utilização tem de ser criado um método especificado para o tipo de amostra, usando o software Thermo Scientific™ BindIt™ 4.0, ou posterior, para instrumentos KingFisher™. Este método pode ser usado no instrumento como uma unidade autónoma ou ligado a um PC. Para utilização e programação do software BindIt™, consulte o manual do utilizador relevante do dispositivo.

Tabela 5: KingFisher™ programa para extracção 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
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
-	-	-	-

ATENÇÃO

Encha sempre o tampão correto na placa de tampão correspondente. A mistura de tampões pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO

Verifique sempre a existência de tampões suficientes para cada amostra antes de iniciar a experiência. A utilização de um volume de tampão inferior ao especificado pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Não encha os poços das placas com um volume superior ao especificado, pois pode levar a contaminação cruzada, e comprometer o desempenho do produto.

Tabela 6: Protocolo

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	

ATENÇÃO

Use sempre a programação KingFisher™ correta para o processo de extração, pois outras definições poderiam levar a contaminação cruzada e poderiam comprometer o desempenho do produto.

9.1 Meio de transporte (lavagem de esfregaço)

1. Certifique-se de que o método (consulte a tabela 5) está programado e instalado no KingFisher™ Flex.
2. Prepare uma placa padrão vazia (placa 96 KingFisher™ de 200 µl) com pente de 96 pontas para poço profundo.
3. Prepare a placa de lavagem 1 (placa deep-well de 96 poços KingFisher™) adicionando 500 µl de Wash Buffer 1 (tampão de lavagem 1) a cada poço em utilização.
4. Prepare a placa de lavagem 2 (placa deep-well de 96 poços KingFisher™) adicionando 500 µl de Wash Buffer 2 (tampão de lavagem 2) a cada poço em utilização.
5. Prepare a placa de lavagem 3 (placa deep-well de 96 poços KingFisher™) adicionando 500 µl de Wash Buffer 3 (tampão de lavagem 3) a cada poço em utilização.
6. Prepare a placa de eluato (placa KingFisher™ de 200 µl) adicionando 100 µl de Elution Buffer (tampão de eluição) a cada poço em utilização.

7. Preparação de amostras para meio de transporte (lavagem de esfregaço):

Prepare a placa de amostra de lise (placa deep-well de 96 poços KingFisher™) adicionando pela seguinte ordem a cada poço em utilização:

- 500 µl de Lysis Buffer (tampão de lise)
 - 25 µl Magnetic Beads (esferas magnéticas) bem misturadas (ex. 60 segundos de agitação ou vortex)
 - 20 µl de solução de Enhancer (amplificador)
 - 50 µl de AltoStar® Internal Control 1.5: adicione o IC diretamente ao líquido e evite gotejamento do lado do poço profundo.
 - **300 µl de amostra (ex. meio de transporte viral)**
8. Inicie o método de extração imediatamente e siga as instruções colocando as placas no instrumento.
9. Inicie o processo (demora cerca de 30 minutos).
10. Após terminar o processo use a eluate plate (placa de eluato) para o processo de PCR.

ATENÇÃO



Encha sempre o tampão correto na placa de tampão correspondente. A mistura de tampões pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Verifique sempre a existência de tampões suficientes para cada amostra antes de iniciar a experiência. A utilização de um volume de tampão inferior ao especificado pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Não encha os poços das placas com um volume superior ao especificado, pois pode levar a contaminação cruzada, e comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Encha as posições de poços correspondentes em cada placa. Não misture as posições de amostras e tampões nos poços da placa, pois pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Não misture placas de poços nem a orientação de placas ao carregar o KingFisher™. O carregamento incorreto de placas pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Esfregaços de alginato de cálcio, esfregaços com hastes de madeira e/ou pontas de algodão, bem como esfregaços contendo gelatina de ágar, podem reduzir o desempenho de extração.

ATENÇÃO



A preparação incorreta dos reagentes [ex. Lysis Buffer (tampão de lise) e Magnetic Beads (esferas magnéticas)] pode causar resultados inválidos ou falsos negativos.

ATENÇÃO



Não troque tampas de frascos quando fechar os componentes do produto após utilização, para evitar a contaminação dos reagentes, pois pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Não utilize amostras que contenham sólidos e componentes de alta viscosidade, pois pode comprometer o desempenho do produto.

ATENÇÃO



Use sempre o volume de amostra correto quando preparar a placa de amostra de lise, caso contrário pode comprometer o desempenho do produto.

9.1.1 Estabilidade do eluato

Após a conclusão do processamento de purificação, os eluatos na placa de eluato não selada mantêm-se estáveis à temperatura ambiente (max. +30 °C) durante 4 horas.

ATENÇÃO



O armazenamento de eluatos nas condições erradas pode provocar a perda de volume de eluato e/ou degradação da sequência-alvo específica do agente patogénico, e pode comprometer o desempenho do produto.

10. Dados de desempenho

O desempenho do kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 é verificado em conjunto com cada kit PCR em tempo real ou reagente da Altona Diagnostics especificado para utilização com o kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. Para informações sobre os dados de desempenho, consulte as instruções de utilização do respetivo kit PCR em tempo real ou reagente da Altona Diagnostics.

11. Eliminação

Elimine os resíduos perigosos e biológicos em conformidade com os regulamentos nacionais e locais. Os resíduos e os componentes excedentes não devem entrar em contacto com redes de esgoto, cursos de água ou solo.

ATENÇÃO



As amostras devem ser sempre tratadas como sendo infecciosas e com risco (biológico), em conformidade com os procedimentos laboratoriais e de segurança. No caso de derrames de material da amostra, utilize imediatamente um desinfetante apropriado. Manuseie os materiais contaminados como se se tratassem de materiais com risco biológico.

ATENÇÃO



A eliminação de resíduos perigosos e biológicos deve cumprir os regulamentos nacionais e locais para evitar a contaminação ambiental.

NOTA

Resíduos líquidos e quaisquer líquidos que contenham Lysis Buffer (tampão de lise) ou Wash Buffer 1 (tampão de lavagem 1) contêm tiocianato de guanidina, podendo formar compostos tóxicos, altamente reativos e voláteis quando combinados com lixívia ou ácidos fortes.

12. Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade da Altona Diagnostics GmbH com certificação EN ISO 13485, cada lote de kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 é testado face a especificações predeterminadas de modo a garantir uma qualidade consistente do produto.

13. Guia de resolução de problemas**Problema: precipitados no reagente**

Causa possível	Sugestões
Armazenamento do Lysis Buffer (tampão de lise) a baixa temperatura, ou armazenamento prolongado	Se o frasco do Lysis Buffer (tampão de lise) já estiver aberto, certifique-se de que volta a fechá-lo com a mesma tampa. Aqueça o frasco do Lysis Buffer (tampão de lise) ($a \leq +50 \text{ }^\circ\text{C}$, por ex., em banho-maria) com uma cuidadosa rotação intermitente até os precipitados ficarem completamente dissolvidos.
Evaporação excessiva devido à utilização e/ou fecho incorreto pode aumentar a concentração de sal nos reagentes	Elimine o reagente. Certifique-se de fechar sempre os frascos de reagente imediatamente após a utilização.

Problema: baixa produção ou pureza dos ácidos nucleicos

Causa possível	Sugestões
Armazenamento de reagentes sob condições erradas	Elimine os reagentes. Certifique-se de que armazena os componentes do produto sob condições de armazenamento definidas (consulte o capítulo 4. Armazenamento e manuseamento).
Os reagentes não estavam fechados e/ou não foram devidamente armazenados entre utilizações	Elimine os reagentes. Certifique-se de que armazena os componentes do produto sob condições de armazenamento definidas (consulte o capítulo 4. Armazenamento e manuseamento). Certifique-se de fechar sempre os frascos de reagente imediatamente após a utilização.
Preparação desadequada das amostras	Certifique-se de que prepara as amostras de acordo com as instruções no capítulo 9.1 Meio de transporte (lavagem de esfregaço).
As amostras congeladas não foram descongeladas ou misturadas corretamente	Certifique-se de que as amostras estão totalmente descongeladas e devidamente misturadas antes da utilização.
Lise incompleta da amostra	Antes da utilização, verifique se o Lysis Buffer (tampão de lise) não contém precipitados. Se o frasco do Lysis Buffer (tampão de lise) já estiver aberto, certifique-se de fechar o frasco com a tampa correspondente e aquecer o frasco ($\leq +50$ °C, ex., em banho-maria) com uma cuidadosa rotação intermitente até os precipitados ficarem completamente dissolvidos.
Mistura de tampões enquanto enche as placas, ou mistura de placas de tampões enquanto carrega o KingFisher™	Encha os tampões corretos nas placas correspondentes e carregue as placas de acordo com as instruções do método mostrado no ecrã do KingFisher™.
Viscosidade elevada da amostra ou sólidos na amostra	Certifique-se de que prepara as amostras de acordo com o capítulo 9.1 Meio de transporte (lavagem de esfregaço).

14. Apoio técnico

Para apoio ao cliente, contacte o apoio técnico da Altona Diagnostics:

e-mail: support@altona-diagnostics.com

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

NOTA



Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação a este produto deve ser comunicado à Altona Diagnostics e à autoridade competente do seu país.

15. Bibliografia

- [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. Marcas comerciais e isenções de responsabilidade

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

Os nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, mesmo onde não estão especificamente marcados como tal, não devem ser considerados como estando desprotegidos pela legislação.














O kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 é um produto com a marcação CE de acordo com o Regulamento (UE) 2017/746 relativo aos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro*.





Produto não licenciado junto da Health Canada e não autorizado ou aprovado pela FDA.

Não disponível em todos os países.

© 2023 altona Diagnostics GmbH; todos os direitos reservados.

17. Símbolos

Símbolo	Explicação
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de item de comércio internacional
	Código do lote
	Conteúdo
	Número de catálogo
	Número
	Componente
	Consulte as instruções de utilização
	Contém o suficiente para "n" testes/reações (rxns)
	Limite de temperatura
	Data de validade
	Fabricante
	Atenção

Símbolo	Explicação
	Número de material
	Versão
	Nota
	Identificador de fórmula único

18. Histórico de revisões

Tabela 7: Histórico de revisões

Identificador	Data de emissão [mês/ano]	Modificações
MAN-5012040-PT-S01	12/2022	Lançamento inicial

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

