

## **Mode d'emploi**

# **ExtraStar<sup>®</sup> Purification Kit 2.0**

12/2022 FR



# ExtraStar<sup>®</sup>

## Purification Kit 2.0

Pour utilisation avec

KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)



5012045



384



12 2022



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

## Table des matières

<b>1.</b>	<b>À propos du présent mode d'emploi.....</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Usage prévu.....</b>	<b>7</b>
<b>3.</b>	<b>Contenu du kit.....</b>	<b>7</b>
<b>4.</b>	<b>Stockage et manipulation.....</b>	<b>8</b>
4.1	Stockage.....	9
4.2	Manipulation.....	9
<b>5.</b>	<b>Description du produit.....</b>	<b>11</b>
5.1	Principe de la méthode.....	12
<b>6.</b>	<b>Types d'échantillon.....</b>	<b>14</b>
<b>7.</b>	<b>Mises en garde, précautions et limites.....</b>	<b>15</b>
<b>8.</b>	<b>Utilisation du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.....</b>	<b>19</b>
8.1	Volume d'échantillon.....	19
8.2	Matériel et dispositifs nécessaires mais non fournis.....	19
8.3	Matériel et dispositifs généraux.....	20
<b>9.</b>	<b>Purification à l'aide du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 en combinaison avec le système KingFisher™ Flex.....</b>	<b>20</b>
9.1	Milieu de transport (rinçage de l'écouvillon).....	24
9.1.1	Stabilité de l'éluat.....	27
<b>10.</b>	<b>Données de performance.....</b>	<b>27</b>
<b>11.</b>	<b>Élimination.....</b>	<b>28</b>
<b>12.</b>	<b>Contrôle qualité.....</b>	<b>28</b>
<b>13.</b>	<b>Guide de dépannage.....</b>	<b>29</b>
<b>14.</b>	<b>Assistance technique.....</b>	<b>30</b>

<b>15.</b>	<b>Bibliographie .....</b>	<b>31</b>
<b>16.</b>	<b>Marques de commerce et clauses de non-responsabilité .....</b>	<b>31</b>
<b>17.</b>	<b>Symboles .....</b>	<b>32</b>
<b>18.</b>	<b>Historique de révision .....</b>	<b>34</b>

## 1. À propos du présent mode d'emploi

Ce mode d'emploi guide l'utilisateur dans l'opérateur du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 en combinaison avec l'AltoStar® Internal Control 1.5 sur le KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific).

Les principales étapes de fonctionnement du KingFisher™ Flex Purification System et de l'AltoStar® Internal Control 1.5 pendant la procédure de purification sont décrites de la façon la plus compréhensible possible.

Pour obtenir des informations plus détaillées sur ces produits, consultez leur mode d'emploi respectif :

- Manuel d'utilisation du KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific)
- Mode d'emploi AltoStar® Internal Control 1.5

Tout au long de ce mode d'emploi, les termes ATTENTION et REMARQUE ont les significations suivantes :

### ATTENTION



Attire l'attention sur des instructions de fonctionnement ou procédures qui, si elles ne sont pas correctement respectées, peuvent engendrer des blessures corporelles ou nuire au bon fonctionnement du produit. Contactez l'assistance technique d'Altona Diagnostics pour obtenir de l'aide.

### REMARQUE



Les informations fournies à l'utilisateur sont utiles, mais non essentielles à la tâche à accomplir.

Lisez attentivement le mode d'emploi avant d'utiliser le produit.

## 2. Usage prévu

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 utilise la technologie des particules magnétiques et est prévu pour être utilisé pour l'isolement et la purification automatisés d'acides nucléiques à partir d'échantillons d'écouvillons respiratoires humains aux fins de diagnostic *in vitro*.

Ce produit est conçu pour être utilisé avec le KingFisher™ Flex Purification System (Thermo Fisher Scientific) et les kits et réactifs Altona Diagnostics spécifiés pour être utilisés avec le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est destiné à être utilisé par des opérateurs professionnels formés aux techniques propres à la biologie moléculaire et aux procédures de diagnostic *in vitro*.

## 3. Contenu du kit

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est livré dans 2 cartons distincts : **Carton 1** et **Carton 2** (voir les tableaux 1 et 2).

**Tableau 1:** Composants du kit - **Carton 1**

Composant	Nombre de flacons	Volume par flacon [ml]
Lysis Buffer	2	120
Wash Buffer 1	2	100
Wash Buffer 2	2	100
Wash Buffer 3	2	100

**Tableau 2:** Composants du kit - **Carton 2**

Composant	Nombre de flacons	Volume par flacon [ml]
Magnetic Beads	2	5
Elution Buffer	2	22
Enhancer	2	4

**ATTENTION**

Avant la première utilisation, vérifiez que le produit et ses composants sont complets quant au nombre, au type et au remplissage. N'utilisez pas un produit défectueux ou incomplet, car ses performances pourraient être compromises.

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 contient des réactifs en quantité suffisante pour 384 purifications d'échantillon.

Lors de la réception, inspectez le produit et ses composants afin de vérifier :

- Intégrité
- Complétude (nombre, type et remplissage)
- Étiquetage correct
- Date d'expiration
- Clarté et absence de particules

Si un composant du kit quel qu'il soit a été endommagé lors de son transport ou s'il est absent, contactez l'assistance technique d'Altona Diagnostics pour obtenir de l'aide (voir le chapitre 14. Assistance technique).

## 4. Stockage et manipulation

Tous les réactifs inclus dans le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 sont des solutions prêtes à l'emploi.



## 4.1 Stockage

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est livré à température ambiante. Le **Carton 1** doit être stocké entre +15 °C et +30 °C et le **Carton 2** doit être stocké entre +2 °C et +8 °C après la réception (voir le tableau 3). Les flacons doivent être stockés en position verticale.

**Tableau 3:** Conditions de stockage du **Carton 1** et du **Carton 2**

Conditions de stockage	
Carton 1	Carton 2
+15 °C à +30 °C	<b>+2 °C à +8 °C</b>

### ATTENTION



De mauvaises conditions de stockage pourraient compromettre les performances du produit.

### ATTENTION



N'utilisez pas de produits dont la date d'expiration est dépassée. L'utilisation de produits périmés pourrait compromettre leurs performances.

## 4.2 Manipulation

Les réactifs du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 sont stables pendant 14 jours après leur première ouverture, à condition d'être refermés après chaque utilisation et stockés comme suit : Les Magnetic Beads (billes magnétiques), l'Enhancer (amplificateur) et l'Elution Buffer (tampon d'élution) doivent être refermés avec leur bouchon d'origine et stockés entre +2 °C et +8 °C. Le Lysis Buffer (tampon de lyse) et les Wash Buffers (tampon de lavage) 1, 2 et 3 doivent être refermés avec leur bouchon d'origine après utilisation et stockés entre +15 °C et +30 °C.

### ATTENTION



Ne laissez pas les réactifs ouverts entre deux utilisations, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

### ATTENTION

Une manipulation incorrecte des composants du produit et des échantillons peut entraîner une contamination et compromettre les performances du produit :



- N'intervertissez pas les bouchons des flacons.
- Stockez le matériel positif et/ou potentiellement positif à l'écart des composants du kit.
- Utilisez des zones de travail distinctes pour les activités de préparation de l'échantillon/de configuration des réactions et d'amplification/de détection.
- Jetez toujours vos gants après avoir manipulé du matériel positif et/ou potentiellement positif.
- N'ouvrez pas les tubes et/ou plaques PCR après amplification.

### ATTENTION



Ne dépassez pas les manipulations indiquées dans le présent mode d'emploi, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

### ATTENTION



Ne mélangez pas les composants provenant de différents lots de kits, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

### REMARQUE



Le Lysis Buffer (tampon de lyse) peut cristalliser à basse température. Si des cristaux se forment, réchauffer le flacon de Lysis Buffer (tampon de lyse) en le tournant avec précaution ( $\leq +50$  °C, p. ex. au bain-marie) jusqu'à dissolution complète des cristaux (30 min maximum).

### REMARQUE



Agitez soigneusement les Magnetic Beads (billes magnétiques) avant utilisation (par ex., en les passant au vortex pendant 60 secondes).

## REMARQUE



Le Lysis Buffer (tampon de lyse) peut subir de légers changements de couleur. Ces faibles variations de couleur n'indiquent pas un changement de qualité du tampon.

## 5. Description du produit

Tableau 4: Composants du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0

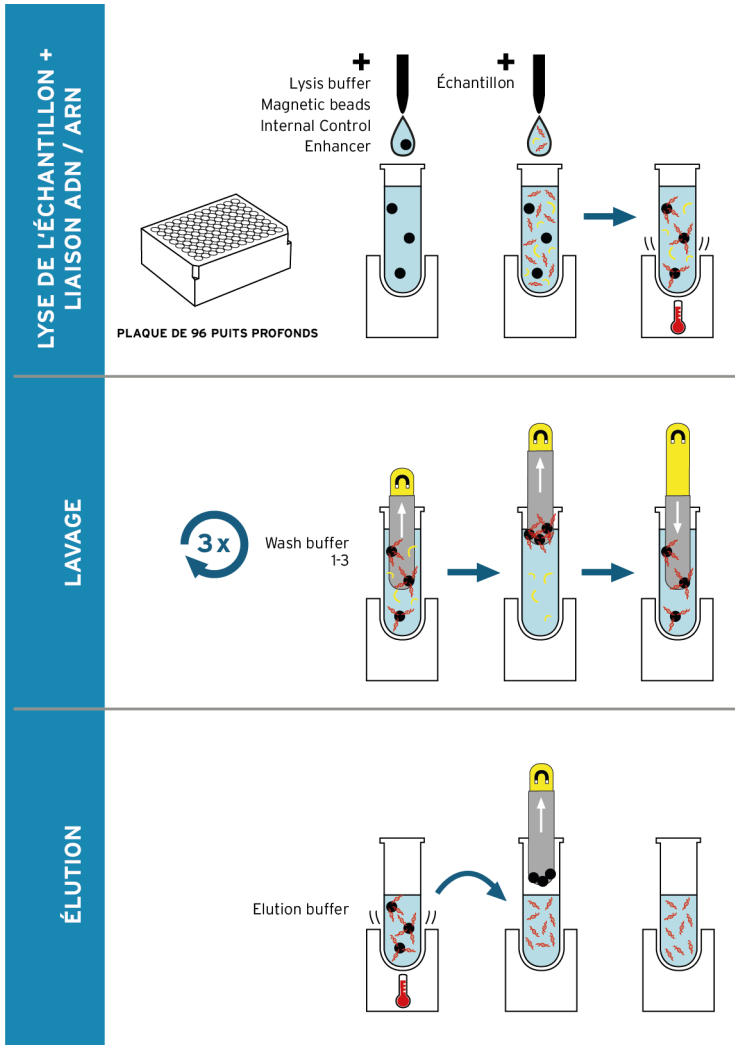
Composant du kit	Description
Lysis Buffer	Le <b>Lysis Buffer</b> (tampon de lyse) contient des sels chaotropiques et des tensioactifs (thiocyanate de guanidine, octoxynol) destinés à dégrader les cellules ou les virions de manière chimique. Il stabilise les acides nucléiques et les protège contre les nucléases en solution.
Wash Buffer 1	Le <b>Wash Buffer 1</b> (tampon de lavage 1) contient différents sels et solvants organiques (thiocyanate de guanidine et éthanol) destinés à faire disparaître les protéines et autres impuretés.
Wash Buffer 2	Le <b>Wash Buffer 2</b> (tampon de lavage 2) contient des solvants organiques (éthanol) destinés à faire disparaître les protéines et autres impuretés.
Wash Buffer 3	Le <b>Wash Buffer 3</b> (tampon de lavage 3) contient différents sels destinés à purifier les acides nucléiques.
Enhancer	L' <b>Enhancer</b> (amplificateur) stabilise et protège les acides nucléiques contre les nucléases en solution.
Magnetic Beads	Les <b>Magnetic Beads</b> (billes magnétiques) sont recouvertes d'une fine épaisseur de silice destinée à lier les acides nucléiques libres dans la solution. Leur caractéristique magnétique permet la séparation des billes et des liquides au moyen d'un champ magnétique.
Elution Buffer	L' <b>Elution Buffer</b> (tampon d'éluion) est un tampon à faible concentration en sels destiné à libérer les acides nucléiques liés aux Magnetic Beads (billes magnétiques) en vue de leur analyse.

## 5.1 Principe de la méthode

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est prévu pour l'isolement et la purification automatisés d'acides nucléiques à partir d'échantillons d'écouillons respiratoires humains (voir le chapitre 6. Types d'échantillons) à des fins de diagnostic *in vitro* en combinaison avec le KingFisher™ Flex Purification System, l'AltoStar® Internal Control 1.5 et les kits et réactifs altona Diagnostics spécifiés pour être utilisés avec le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 repose sur la technologie des billes magnétiques, qui utilise des particules magnétiques recouvertes de silice capables de se lier à des acides nucléiques et de les libérer dans certaines conditions [1,2,3].

La procédure de purification comprend 3 étapes automatisées sur le KingFisher™ Flex Purification System (voir la figure 1).

1. Au cours de la première étape, les acides nucléiques sont libérés par une lyse chimique et mécanique dans des conditions caractérisées par des concentrations élevées en sels chaotropiques. Les conditions stabilisent les acides nucléiques en solution et permettent leur liaison aux billes magnétiques recouvertes de silice.
2. Dans les étapes de lavage qui suivent, différents tampons de lavage sont utilisés pour faire disparaître les protéines et autres impuretés.
3. Enfin, les acides nucléiques sont libérés des billes magnétiques à l'aide d'un tampon d'élution et transférés sur la plaque d'éluat.



**Figure 1:** Illustration de la procédure de purification avec le KingFisher™ Flex Purification System

## 6. Types d'échantillon

L'utilisation du type d'échantillon suivant a été validée pour le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 :

- Écouillons respiratoires humains dans un milieu de transport

### ATTENTION



N'utilisez pas d'autres types d'échantillons ! L'utilisation d'autres types d'échantillons pourrait compromettre les performances du produit.

### REMARQUE






Le stockage des échantillons par congélation n'altère pas les performances du kit. Si vous travaillez avec des échantillons congelés, assurez-vous que les échantillons sont complètement décongelés et correctement mélangés avant d'être utilisés.



### REMARQUE






Pour obtenir des informations concernant le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, consultez le mode d'emploi des kits et réactifs Altona Diagnostics spécifiés pour une utilisation avec le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

## 7. Mises en garde, précautions et limites

Lysis Buffer		
 GHS05	H302+H312+H332	Nocif en cas de contact cutané, d'inhalation ou d'ingestion.
	H314	Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
	H411	Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
 GHS07	EUH032	Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
	EUH071	Corrosif pour les voies respiratoires.
	P260	Ne pas respirer brouillards, vapeurs, aérosols.
 GHS09 <b>Danger !</b>	P264	Se laver les mains soigneusement après manipulation.
	P273	Éviter le rejet dans l'environnement.
	P280	Porter des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux, du visage, des gants de protection.
	P303+P361+P353	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher.
	P310	Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON, un médecin.
<b>Contient :</b>		Thiocyanate de guanidine (CAS 593-84-0) 50 à 70 %.
		Alkylphénol éthoxylé (CAS 9036-19-5) 10 à 20 %.

Wash Buffer 1		
 GHS02	H226	Liquide et vapeurs inflammables.
	H314	Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
	H412	Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.
 GHS05 <b>Danger !</b>	EUH032	Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
	EUH071	Corrosif pour les voies respiratoires.
	P210	Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
	P260	Ne pas respirer les brouillards, vapeurs, aérosols.
	P273	Éviter le rejet dans l'environnement.
	P280	Porter des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux, du visage, des gants de protection.
	P303+P361+P353	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : Enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher.
	P310	Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON, un médecin.
<b>Contient :</b>		Thiocyanate de guanidine (CAS 593-84-0) 25 à 50 %.
		Éthanol (CAS 64-17-5) 25 à 50 %.

Wash Buffer 2		
 GHS02	H226	Liquide et vapeurs inflammables.
	H319	Provoque une sévère irritation des yeux.
	P210	Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.
 GHS07  <b>Danger !</b>	P233	Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
	P280	Porter des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux, du visage, des gants de protection.
	P305+P351+P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
	P337+P313	Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.
<b>Contient :</b>		Éthanol (CAS 64-17-5) 50 à 70 %.

Enhancer		
 GHS05  <b>Danger !</b>	H314	Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves.
	P260	Ne pas respirer les brouillards, vapeurs, aérosols.
	P280	Porter des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux, du visage, des gants de protection.
	P303+P361+P353	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau ou se doucher.
	P305+P351+P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
	P310	Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON, un médecin.
<b>Contient :</b>		Tris(2-carboxyéthyl)phosphine (CAS 51805-45-9) 10 à 20 %.

## REMARQUE



Pour plus d'informations, consultez les fiches de données de sécurité (SDS).

- Avant la première utilisation, vérifiez que le produit et ses composants sont complets quant au nombre, au type et au remplissage. N'utilisez pas un produit défectueux ou incomplet, car ses performances pourraient être compromises.
- De mauvaises conditions de stockage pourraient compromettre les performances du produit.
- N'utilisez pas de produits dont la date d'expiration est dépassée. L'utilisation de produits périmés pourrait compromettre leurs performances.



- Ne laissez pas les réactifs ouverts entre deux utilisations, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- Une manipulation incorrecte des composants du produit et des échantillons peut entraîner une contamination et compromettre les performances du produit :
  - N'intervertissez pas les bouchons des flacons.
  - Stockez le matériel positif et/ou potentiellement positif à l'écart des composants du kit.
  - Utilisez des zones de travail distinctes pour les activités de préparation de l'échantillon/de configuration des réactions et d'amplification/de détection.
  - Jetez toujours vos gants après avoir manipulé du matériel positif et/ou potentiellement positif.
  - N'ouvrez pas les tubes et/ou plaques PCR après amplification.
- Ne dépassez pas les manipulations indiquées dans le présent mode d'emploi, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- Ne mélangez pas les composants provenant de différents lots de kits, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- N'utilisez pas d'autres types d'échantillons ! L'utilisation d'autres types d'échantillons pourrait compromettre les performances du produit.
- Ne remplissez pas les puits de la plaque au-delà du volume spécifié, car cela pourrait entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.
- Utilisez toujours le volume d'échantillon correct lors de la préparation de la plaque d'échantillon de lyse, sans quoi les performances du produit pourraient être compromises.
- Introduisez toujours le tampon correct dans la plaque correspondante. Un mélange des tampons pourrait compromettre les performances du produit.
- Avant de commencer l'expérience, vérifiez toujours que la quantité de tampon est suffisante pour chaque échantillon. L'utilisation d'un volume de tampon inférieur à celui spécifié pourrait compromettre les performances du produit.
- Utilisez toujours la programmation correcte du système KingFisher™ pour le processus d'extraction, car d'autres paramètres pourraient entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.

- Assurez-vous de remplir les positions de puits correspondantes sur chaque plaque. Ne mélangez pas les positions des échantillons et des tampons sur la plaque de puits, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- Ne mélangez pas les plaques de puits et leur orientation pendant le chargement du système KingFisher™. Un chargement incorrect des plaques pourrait compromettre les performances du produit.
- Les écouvillons en alginate de calcium, les écouvillons présentant des tiges en bois et/ou des embouts en coton, ainsi que les écouvillons contenant du gel d'agar peuvent réduire les performances d'extraction.
- Une préparation incorrecte des réactifs [par ex. Lysis Buffer (tampon de lyse) et Magnetic Beads (billes magnétiques)] peut donner des résultats faussement négatifs ou non valides.
- Afin d'éviter toute contamination des réactifs, n'intervertissez pas les bouchons des flacons lorsque vous refermez les composants du produit après utilisation, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- N'utilisez pas d'échantillons contenant des solides et des constituants à haute viscosité, car cela pourrait compromettre les performances du produit.
- Un stockage inapproprié des éluats peut entraîner une perte de volume d'éluat et/ou une dégradation de la séquence cible spécifique au pathogène et pourrait compromettre les performances du produit.
- Considérez systématiquement les échantillons comme étant des matériaux infectieux et présentant un danger (biologique) conformément aux procédures de sécurité de votre laboratoire. En cas de déversements de matériaux échantillons, utilisez rapidement un désinfectant approprié. Manipulez les matériaux contaminés comme présentant un danger biologique.
- L'élimination des déchets dangereux et biologiques doit être conforme conformément aux réglementations locales et nationales afin d'éviter toute contamination de l'environnement.

## 8. Utilisation du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0

Les chapitres suivants décrivent l'utilisation du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0.

### 8.1 Volume d'échantillon

Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 permet d'effectuer la purification d'échantillons de 300 µl.

#### ATTENTION



Ne remplissez pas les puits de la plaque au-delà du volume spécifié, car cela pourrait entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.

#### ATTENTION



Utilisez toujours le volume d'échantillon correct lors de la préparation de la plaque d'échantillon de lyse, sans quoi les performances du produit pourraient être compromises.

### 8.2 Matériel et dispositifs nécessaires mais non fournis

- AltoStar® Internal Control 1.5 pour l'extraction d'acide nucléique, l'amplification par PCR et le contrôle de la détection (N° de commande Altona Diagnostics IC15-46)
- Thermo Fisher Scientific KingFisher™ 96 Flex avec tête magnétique à 96 puits profonds et bloc chauffant avec le logiciel Thermo Fisher Scientific BindIt™ version 4.0 ou supérieure (N°. de commande Thermo Fisher Scientific 5400630)
- 4x plaque de 96 puits profonds KingFisher™ (N°de commande Thermo Fisher Scientific 95040450)
- 1x peigne à 96 cônes pour aimants de puits profonds KingFisher™ (N° de commande Thermo Fisher Scientific 97002534)
- 2x plaque de 96 puits de 200 µl KingFisher™ (N° de commande Thermo Fisher Scientific 97002540)

**REMARQUE**

Assurez-vous que tous les instruments que vous utilisez ont été installés, calibrés, vérifiés et entretenus conformément aux instructions et recommandations du fabricant.

**8.3 Matériel et dispositifs généraux**

- Agitateur vortex
- Gants non poudrés (jetables)
- Pipettes (réglables, pour la préparation du réactif et de l'échantillon)
- Cônes de pipettes avec filtres (jetables, pour la préparation de l'échantillon)
- *Facultatif* : pipette stepper (réglable, pour la préparation du réactif) et cônes adaptés (jetables)

## 9. Purification à l'aide du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 en combinaison avec le système KingFisher™ Flex

Pour la première utilisation, il convient de créer une méthode spécifiée pour le type d'échantillon à l'aide du logiciel Thermo Scientific™ BindIt™ version 4.0 ou supérieure pour les instruments KingFisher™. Cette méthode peut être utilisée sur l'instrument en tant qu'unité indépendante ou avec un ordinateur connecté. Pour l'utilisation du logiciel BindIt™ et la programmation, reportez-vous au manuel d'utilisation du dispositif correspondant.

**Tableau 5:** Programme KingFisher™ pour extraction avec le 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

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

**ATTENTION**



Introduisez toujours le tampon correct dans la plaque correspondante. Un mélange des tampons pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Avant de commencer l'expérience, vérifiez toujours que la quantité de tampon est suffisante pour chaque échantillon. L'utilisation d'un volume de tampon inférieur à celui spécifié pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Ne remplissez pas les puits de la plaque au-delà du volume spécifié, car cela pourrait entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.

**Tableau 6:** Protocole

<b>KingFisher™ protocol for ExtraStar® Purification Kit 2.0 extraction</b>		
<b>Tip 1</b>	<b>96 deep-well tip comb</b>	
<b>Pick-up</b>	<b>Comb plate</b>	
<b>Lysis</b>	<b>Lysis sample plate</b>	
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
<b>Wash 1</b>	<b>Wash 1 plate</b>	
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
<b>Wash 2</b>	<b>Wash 2 plate</b>	
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
<b>Wash 3</b>	<b>Wash 3 plate</b>	
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	

**ATTENTION**

Utilisez toujours la programmation correcte du système KingFisher™ pour le processus d'extraction, car d'autres paramètres pourraient entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.

## 9.1 Milieu de transport (rinçage de l'écouvillon)

1. Assurez-vous que la méthode (voir le tableau 5) est programmée et installée sur le système KingFisher™ Flex.
2. Préparez une plaque standard vide (plaque KingFisher™ de 96 puits de 200 µl) avec un peigne à 96 pointes pour puits profonds.
3. Préparez la plaque de lavage 1 (plaque KingFisher™ de 96 puits profonds) en ajoutant 500 µl de Wash Buffer 1 (tampon de lavage 1) dans chaque puits utilisé.
4. Préparez la plaque de lavage 2 (plaque KingFisher™ de 96 puits profonds) en ajoutant 500 µl de Wash Buffer 2 (tampon de lavage 2) dans chaque puits utilisé.
5. Préparez la plaque de lavage 3 (plaque KingFisher™ de 96 puits profonds) en ajoutant 500 µl de Wash Buffer 3 (tampon de lavage 3) dans chaque puits utilisé.



6. Préparez la plaque d'éluat (plaque KingFisher™ de 200 µl) en ajoutant 100 µl d'Elution Buffer (tampon d'éluat) dans chaque puits utilisé.
7. Préparation de l'échantillon pour le milieu de transport (rinçage de l'écouvillon) :  
Préparez la plaque d'échantillon de lyse (plaque KingFisher™ de 96 puits profonds) en ajoutant dans l'ordre suivant dans chaque puits utilisé :
  - 500 µl de Lysis Buffer (tampon de lyse)
  - 25 µl de Magnetics Beads (billes magnétiques) bien mélangées (p. ex., en les agitant ou en les passant au vortex pendant 60 secondes)
  - 20 µl de solution d'Enhancer (amplificateur)
  - 50 µl d'AltoStar® Internal Control 1.5 : ajoutez l'IC directement dans le liquide et évitez de faire tomber des gouttes côté puits profond.
  - **300 µl d'échantillon (p. ex., milieu de transport viral)**
8. Démarrez immédiatement la méthode d'extraction et suivez les instructions en plaçant les plaques dans l'instrument.
9. Démarrez le run (celui-ci dure environ 30 min).
10. Une fois le run terminé, utilisez la plaque d'éluat pour le procédé PCR.

### ATTENTION



Introduisez toujours le tampon correct dans la plaque correspondante. Un mélange des tampons pourrait compromettre les performances du produit.

### ATTENTION



Avant de commencer l'expérience, vérifiez toujours que la quantité de tampon est suffisante pour chaque échantillon. L'utilisation d'un volume de tampon inférieur à celui spécifié pourrait compromettre les performances du produit.

### ATTENTION



Ne remplissez pas les puits de la plaque au-delà du volume spécifié, car cela pourrait entraîner une contamination croisée et compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Assurez-vous de remplir les positions de puits correspondantes sur chaque plaque. Ne mélangez pas les positions des échantillons et des tampons sur la plaque de puits, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Ne mélangez pas les plaques de puits et leur orientation pendant le chargement du système KingFisher™. Un chargement incorrect des plaques pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Les écouvillons en alginate de calcium, les écouvillons présentant des tiges en bois et/ou des embouts en coton, ainsi que les écouvillons contenant du gel d'agar peuvent réduire les performances d'extraction.

**ATTENTION**



Une préparation incorrecte des réactifs [par ex. Lysis Buffer (tampon de lyse) et Magnetic Beads (billes magnétiques)] peut donner des résultats faussement négatifs ou non valides.

**ATTENTION**



Afin d'éviter toute contamination des réactifs, n'intervertissez pas les bouchons des flacons lorsque vous refermez les composants du produit après utilisation, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



N'utilisez pas d'échantillons contenant des solides et des constituants à haute viscosité, car cela pourrait compromettre les performances du produit.

**ATTENTION**



Utilisez toujours le volume d'échantillon correct lors de la préparation de la plaque d'échantillon de lyse, sans quoi les performances du produit pourraient être compromises.

### 9.1.1 Stabilité de l'éluat

Après la fin du run de purification, les éluats présents dans la plaque d'éluat non scellée restent stables à température ambiante (max. +30 °C) pendant 4 heures.

#### ATTENTION



Un stockage inapproprié des éluats peut entraîner une perte de volume d'éluat et/ou une dégradation de la séquence cible spécifique au pathogène et pourrait compromettre les performances du produit.

## 10. Données de performance

Les performances du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 sont vérifiées conjointement avec chaque réactif ou kit de PCR en temps réel Altona Diagnostics spécifié pour une utilisation avec le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0. Pour obtenir des informations sur les données de performance, reportez-vous au mode d'emploi du réactif ou du kit de PCR en temps réel Altona Diagnostics correspondant.

## 11. Élimination

Éliminez les déchets dangereux et biologiques conformément aux réglementations locales et nationales. Les reliquats de composants du produit et les déchets ne doivent pas entrer en contact avec les eaux usées, les cours d'eau ou le sol.

### ATTENTION



Considérez systématiquement les échantillons comme étant des matériaux infectieux et présentant un danger (biologique) conformément aux procédures de sécurité de votre laboratoire. En cas de déversements de matériaux échantillons, utilisez rapidement un désinfectant approprié. Manipulez les matériaux contaminés comme présentant un danger biologique.

### ATTENTION



L'élimination des déchets dangereux et biologiques doit être conforme conformément aux réglementations locales et nationales afin d'éviter toute contamination de l'environnement.

### REMARQUE



Les déchets liquides et tout autre liquide contenant les composants Lysis Buffer (tampon de lyse) ou Wash Buffer 1 (tampon de lavage 1) contiennent du thiocyanate de guanidine, qui peut former des composés volatils toxiques et fortement réactifs lorsqu'ils sont combinés à de l'eau de Javel ou à des solutions fortement acides.

## 12. Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité d'Altona Diagnostics GmbH certifié EN ISO 13485, chaque lot du kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est testé sur la base de spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

## 13. Guide de dépannage

### Problème : précipité dans un réactif

Cause possible	Suggestions
Stockage du Lysis Buffer (tampon de lyse) à basse température ou pendant une durée prolongée	Si le flacon de Lysis Buffer (tampon de lyse) est déjà ouvert, assurez-vous de le refermer avec le même capuchon. Chauffez le flacon de Lysis Buffer (tampon de lyse) ( $\leq 50$ °C, p. ex. au bain-marie) en le tournant régulièrement avec précaution jusqu'à dissolution complète des précipités.
Une évaporation excessive due à une mauvaise utilisation et/ou fermeture peut conduire à une augmentation de la concentration en sels dans les réactifs.	Jetez le réactif. Assurez-vous de toujours refermer les flacons de réactif immédiatement après utilisation.

### Problème : faible rendement ou pureté des acides nucléiques

Cause possible	Suggestions
Stockage des réactifs dans de mauvaises conditions	Jetez les réactifs. Assurez-vous de conserver les composants du produit dans les conditions de stockage définies (voir le chapitre 4. Stockage et manipulation).
Les réactifs n'ont pas été correctement refermés ou conservés entre deux utilisations	Jetez les réactifs. Assurez-vous de conserver les composants du produit dans les conditions de stockage définies (voir le chapitre 4. Stockage et manipulation). Assurez-vous de toujours refermer les flacons de réactif immédiatement après utilisation.
Mauvaise préparation des échantillons	Assurez-vous de préparer les échantillons conformément aux instructions du chapitre 9.1 Milieu de transport (rinçage de l'écouvillon).
Les échantillons congelés n'ont pas été correctement décongelés ou mélangés	Assurez-vous que les échantillons sont complètement décongelés et correctement mélangés avant utilisation.

Cause possible	Suggestions
Lyse de l'échantillon incomplète	Avant utilisation, vérifiez l'absence de précipités dans le Lysis Buffer (tampon de lyse). Si le flacon de Lysis Buffer (tampon de lyse) est déjà ouvert, assurez-vous de le refermer avec le capuchon correspondant et de chauffer le flacon ( $\leq +50$ °C, p. ex. au bain-marie) en le tournant régulièrement avec précaution jusqu'à dissolution complète des précipités.
Mélange des tampons lors du remplissage des plaques ou mélange des plaques de tampons lors du chargement du système KingFisher™	Assurez-vous de remplir les tampons corrects dans les plaques correspondantes et de charger les plaques conformément aux instructions de la méthode affichée sur le système KingFisher™.
Viscosité élevée de l'échantillon ou matières solides dans l'échantillon	Assurez-vous de préparer les échantillons conformément aux instructions du chapitre 9.1 Milieu de transport (rinçage de l'écouvillon).

## 14. Assistance technique

Pour bénéficier du service après-vente, contactez l'assistance technique d'Altona Diagnostics aux coordonnées suivantes :

**e-mail :** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**téléphone :** **+49-(0)40-5480676-0**

### REMARQUE



Tout incident grave survenu en rapport avec ce produit doit être signalé à Altona Diagnostics et aux autorités compétentes de votre pays.

## 15. Bibliographie

- [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. Marques de commerce et clauses de non-responsabilité

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

Les noms déposés, marques de commerce, etc. utilisés dans ce document, même s'ils ne sont pas expressément désignés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés juridiquement.














Le kit ExtraStar® Purification Kit 2.0 est un produit portant le marquage CE conformément au règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.

Produit non homologué auprès de Santé Canada et non autorisé ou approuvé par la FDA.





Produit disponible dans certains pays uniquement.

© 2023 altona Diagnostics GmbH ; tous droits réservés.

## 17. Symboles

Symbole	Explication
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Numéro d'article pour le commerce international
	Code du lot
	Contenu
	Numéro de catalogue
	Numéro
	Composant
	Consultez le mode d'emploi
	Contenu suffisant pour « n » tests/réactions (rxns)
	Limite de température
	Date de péremption
	Fabricant
	Attention



Symbole	Explication
 The symbol consists of the letters "MAT" in a bold, black, sans-serif font, enclosed within a thin black rectangular border.	Numéro de matériel
 The icon is a simple line drawing of an open book, showing two pages and a central spine.	Version
 The icon is a bold, black, lowercase letter "i" with a small dot above it, representing an information symbol.	Remarque
 The symbol consists of the letters "UFI" in a bold, black, sans-serif font, enclosed within a thin black rectangular border.	Identifiant unique de formulation

## 18. Historique de révision

**Tableau 7:** Historique de révision

Identifiant	Date de publication [mois/année]	Modifications
MAN-5012040- FR-S01	12/2022	Première publication



**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](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

