IVD

MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit

Versione 05

Versione del contenuto: Giugno 2020

Reagenti preconfezionati da usare con il MagNA Pure 24 Instrument (n. cat. 07 290 519 001) per estrarre il DNA genomico e gli acidi nucleici virali da un massimo di 1.000 µl di sangue intero, plasma o siero, oppure da un massimo di 5 mg di tessuto fresco congelato, da un massimo di 6 mm^3 di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina oppure da un massimo di 1×10^6 cellule in coltura, oltre che per estrarre gli acidi nucleici batterici, fungini e virali da un massimo di 1.000 µl di materiale campione umano, oppure gli acidi nucleici liberi circolanti da un massimo di 4.000 µl di plasma.

REF 07 658 036 001 Kit per massimo 96 estrazioni (200 µl)

Conservare a una temperatura compresa tra +15 e +25°C

⚠ Conservare il kit lontano dalla luce.

⚠ Conservare il kit lontano dai magneti.

www.diagnostics.roche.com

Indice generale

1. USO PREVISTO 3
2. RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL KIT 3
3. PRINCIPIO DELLA PROCEDURA 3
4. REAGENTI 4
4.1 Numero di estrazioni 4
4.2 Materiali forniti 4
5. PRECAUZIONI E REQUISITI PER L'USO 6
5.1 Avvertimenti e precauzioni 6
5.2 Manipolazione dei reagenti 6
5.3 Buone pratiche di laboratorio 7
5.4 Manipolazione dei rifiuti 7
6. CONSERVAZIONE E STABILITÀ 8
6.1 Kit e reagenti 8
6.2 Raccolta dei campioni e conservazione del materiale campione 9
6.3 Conservazione di acidi nucleici purificati ed eluati 9
7. MATERIALI 10
7.1 Materiali e dispositivi necessari ma non forniti 10
7.2 Materiali opzionali 11
8. PROCEDURE 12
8.1 Protocolli di purificazione 12
8.2 Materiale campione e procedure di pretrattamento 16
8.3 Procedura di estrazione 25
8.4 Fine di una seduta 26
8.5 Controllo di qualità 27
9. LIMITAZIONI E INTERFERENZE 28
10. INFORMAZIONI SUPPLEMENTARI 29
10.1 Simboli 29
10.2 Modifiche rispetto alla versione precedente 29
11. MARCHI 30
12. LIMITAZIONE NORMATIVA 30
13. BIBLIOGRAFIA 30

1. USO PREVISTO

Il MagNA Pure 24 System è un sistema per la purificazione automatizzata degli acidi nucleici costituito da MagNA Pure 24 Instrument e dal relativo software, consumabili e reagenti. Il MagNA Pure 24 System è destinato all'uso da parte di utenti professionisti, per la purificazione degli acidi nucleici da campioni biologici per attività di diagnostica *in vitro*.

Il MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit deve essere utilizzato con il MagNA Pure 24 System.

2. RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL KIT

Il MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit consente di estrarre gli acidi nucleici (NA) da tipi di campioni diversi e con volumi di pipettamento diversi, come illustrato nella tabella seguente.

Materiale target	Materiale campione
DNA genomico	▪ 200, 500, o 1.000 µl di sangue intero ▪ max 1×10^6 cellule in coltura ▪ max 5 mg di tessuto congelato fresco ▪ max 6 mm^3 di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPET)
NA batterico, fungino o virale	200, 500, o 1.000 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine.
NA di cellule libere umane	2.000 o 4.000 µl di plasma

Gli acidi nucleici isolati e purificati sono conformi agli standard di qualità richiesti per le analisi PCR/RT-PCR quantitative ad elevata sensibilità e per il sequenziamento NGS.

3. PRINCIPIO DELLA PROCEDURA

La procedura di estrazione degli acidi nucleici si basa sulla tecnologia a biglie di vetro magnetiche MagNA Pure.

I passaggi principali della procedura di estrazione sono:

1. Il materiale campione viene sottoposto a lisi, gli acidi nucleici vengono rilasciati e le nucleasi vengono denaturate.
2. L'azione del sale caotropico e l'elevata forza ionica del tampone di lisi e/o di legame consente agli acidi nucleici di legarsi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte.
3. Le biglie di vetro magnetiche legate con gli acidi nucleici vengono separate magneticamente dal campione lisato residuo.
4. Le sostanze non legate, come le proteine, i detriti cellulari e gli inibitori della PCR, vengono rimosse con cicli di lavaggio ripetuti.
5. Gli acidi nucleici purificati vengono eluiti dalle biglie di vetro magnetiche.

4. REAGENTI

Il kit consente di eseguire fino a 96 estrazioni, a seconda del volume di pipettamento.

4.1 Numero di estrazioni

Numero di estrazioni	Materiale campione
3 × 32 estrazioni	**Volume piccolo:** massimo 200 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine, massimo 5 × 10^5 di cellule in coltura e massimo 5 mg di tessuto congelato fresco.
3 × 24 estrazioni	**Volume grande:** 500 µl o 1.000 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine e massimo 1 × 10^6 di cellule in coltura. Fino a un massimo di 6 mm^3 di tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina, corrispondente a 6 sezioni FFPET di 4 o 5 µm.
3 × 24 estrazioni	**Volume molto grande:** 2.000 o 4.000 µl di plasma. Per il trattamento di volumi molto grandi sono necessari dei reagenti aggiuntivi.

4.2 Materiali forniti

Il kit è costituito da 3 cassette dei reagenti, ognuna con 6 contenitori, e 12 provette MGP. Tutti i componenti del kit sono pronti per l'uso.

3 cassette dei reagenti	Contenuto/funzione	Composizione
Contenitore di reagente 1	▪ Wash Buffer I ▪ Rimozione delle impurità	70 ml Cloruro di guanidina, etanolo, Tris-HCl
Contenitore di reagente 2	▪ Proteinase K ▪ Digestione delle proteine.	12 ml Proteinasi K, glicerolo

Contenitore di reagente 3	▪ Lysis Buffer ▪ Lisi di cellule/patogeni e legame degli acidi nucleici.	30 ml Guanidina tiocianato, polidocanolo, Tris-HCl
Contenitore di reagente 4	▪ Wash Buffer II ▪ Rimozione delle impurità	34 ml Etanolo, acetato di sodio
Contenitore di reagente 5	▪ Elution Buffer ▪ Eluizione degli acidi nucleici.	15 ml Tris-HCl
Contenitore di reagente 6	▪ Wash Buffer III ▪ Rimozione delle impurità	60 ml Acetato di sodio
12 provette MGP	▪ Biglie di vetro magnetiche ▪ Legame degli acidi nucleici	1,8 ml Biglie di vetro magnetiche, isopropanolo

⚠ Non rimuovere i singoli contenitori dalle cassette dei reagenti. Per conoscere il significato dei simboli di sicurezza e avvertimento, consultare le schede di sicurezza (SDS) corrispondenti.

Figura 1. Esempio di immagine del prodotto – Cassetta dei reagenti con i contenitori 1–6.

5. PRECAUZIONI E REQUISITI PER L'USO

5.1 Avvertimenti e precauzioni

- Tutti i materiali di origine umana e i rifiuti da essi prodotti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, rispettando le buone pratiche di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).[1)2)]
- Le procedure descritte in queste istruzioni per l'uso devono essere eseguite esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del MagNA Pure 24 System.
- Poiché la sensibilità e il titolo dei potenziali patogeni nel materiale campione sono variabili, l'operatore deve ottimizzare l'inattivazione dei patogeni e adottare misure opportune in conformità con le normative di sicurezza vigenti a livello locale.
- Per eseguire correttamente l'estrazione e la purificazione degli acidi nucleici, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida fornite. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere la riuscita della purificazione.
- Usare soltanto i reagenti contenuti nel kit e i tamponi consigliati nelle istruzioni per l'uso. Eventuali sostituzioni potrebbero introdurre delle RNasi.
- Per garantire risultati ottimali con il processo di estrazione e purificazione degli acidi nucleici, usare soltanto i consumabili forniti o consigliati.

5.2 Manipolazione dei reagenti

- Molti tamponi contenuti nel MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit contengono componenti pericolosi o nocivi. Evitare il contatto tra i reagenti e la pelle, gli occhi o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente e accuratamente la parte interessata con acqua. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido fuoriuscito con acqua prima di pulire.
- Evitare che i reagenti contenenti guanidina tiocianato (Lysis Buffer) entrino in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina) o con acidi. Queste miscele possono produrre un gas altamente tossico. È particolarmente importante rispettare questa precauzione durante la pulizia dell'adattatore per la stazione di processamento, l'inserto per rifiuti liquidi, il contenitore per puntali usati e il supporto per puntali reagenti. Per maggiori informazioni sulla pulizia e sulla manutenzione, consultare l'Assistenza Utente del MagNA Pure 24 Instrument.
- Prima dell'uso, ispezionare le cassette dei reagenti per escludere eventuali perdite. Se si osservano delle perdite, non usare il materiale per l'estrazione e la purificazione degli acidi nucleici.
- Evitare la contaminazione dei reagenti con microbi e nucleasi dopo l'apertura.
- Subito dopo l'uso, chiudere tutti i flaconi dei reagenti con gli appositi tappi per poterli riutilizzare sullo stesso strumento, quindi conservarli come indicato nelle rispettive Istruzioni per l'uso.

5.3 Buone pratiche di laboratorio

- Indossare guanti e camici da laboratorio e occhiali protettivi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti. Per prevenire la contaminazione, sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- Evitare di consumare cibo e bevande o di fumare nelle aree di lavoro del laboratorio.
- Non pipettare con la bocca.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i campioni e i reagenti e dopo aver rimosso i guanti.

La contaminazione dei reagenti e dei contenitori delle reazioni con RNasi causa la degradazione dell'RNA templato. Attenersi alle seguenti indicazioni per limitare il rischio di contaminazione:

- Evitare di toccare le superfici o i materiali che potrebbero causare il carryover delle RNasi.
- Smaltire i puntali di pipettamento in contenitori sigillati al fine di prevenire contaminazioni per via aerea.
- Pulire, disinfettare e decontaminare le aree di lavoro e gli strumenti, incluse le pipette, con reagenti idonei disponibili in commercio.
- Usare un'area di lavoro progettata specificamente per la manipolazione dell'RNA. Se possibile, usare contenitori delle reazioni e pipettatori dedicati esclusivamente alla manipolazione dell'RNA templato.
- In caso di fuoriuscite sullo strumento, attenersi alle istruzioni per la pulizia contenute nell'Assistenza Utente MagNA Pure 24.

5.4 Manipolazione dei rifiuti

- Le schede di sicurezza (SDS) sono disponibili online all'indirizzo www.dialog.roche.com o, su richiesta, presso l'ufficio Roche locale.
- Smaltire tutti i materiali che sono entrati in contatto con i campioni e i reagenti in conformità ai regolamenti locali, regionali e nazionali.
- Indossare guanti e camici da laboratorio e occhiali protettivi durante lo smaltimento dei campioni e dei reagenti del kit.
- Per smaltire i reagenti presenti nei contenitori, attenersi alla seguente procedura:
  1. Perforare un angolo del foglio sigillante di un contenitore nella cassetta dei reagenti usando un consumabile in plastica rigida (ad esempio una pipetta sierologica).
  2. Rimuovere il foglio sigillante tirandolo indietro e svuotare il liquido in un contenitore idoneo.
  3. Ripetere i passaggi 1 e 2 finché tutti i contenitori saranno stati svuotati.

6. CONSERVAZIONE E STABILITÀ

6.1 Kit e reagenti

- Il kit viene spedito e consegnato a temperatura ambiente.
- Conservare il kit al riparo dalla luce e lontano dai magneti.

Cassette dei reagenti

- Se conservata tra +15 e +25°C, la cassetta dei reagenti chiusa è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.
- Stabilità a bordo: le cassette dei reagenti possono essere conservate per un massimo di 12 ore tra +15 e +25°C sul piano di lavoro dello strumento dopo la prima perforazione.
- Una cassetta dei reagenti può essere utilizzata per massimo 6 sedute singole sullo stesso strumento entro un periodo di 28 giorni. Per conservare le cassette dei reagenti, sigillarle con MagNA Pure Sealing Foil. Le cassette dei reagenti richiuse devono essere conservate in posizione verticale tra +2 e +8°C. Prima di riutilizzare le cassette dei reagenti, equilibrarle tra +15 e +25°C per 60 minuti.

⚠ Le cassette dei reagenti parzialmente usate possono essere riutilizzate soltanto sullo stesso strumento. Per tenere traccia dell'inventario su ogni strumento, il software usa i barcode e riconosce le cassette dei reagenti parzialmente usate, assicurandone una gestione adeguata per la seduta successiva.

⚠ Quando le cassette dei reagenti non sono perfettamente sigillate o vengono conservate per più di 28 giorni, l'evaporazione potrebbe compromettere la qualità del processo di estrazione e purificazione.

⚠ Durante la conservazione o il trasporto delle cassette dei reagenti, non inclinarle per evitare fuoriuscite.

Provette MGP

- Se conservate tra +15 e +25°C, le provette MGP sono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Le provette MGP sono **monouso**.
- Dopo un'accurata miscelazione, le provette MGP possono essere conservate sul piano di lavoro per massimo 1 ora prima di avviare la seduta.

6.2 Raccolta dei campioni e conservazione del materiale campione

Data la sensibilità della rilevazione degli acidi nucleici, è importante che i campioni siano conservati nelle condizioni corrette. La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate. Scongelare i campioni congelati sottoponendoli ad una moderata agitazione, ad esempio usando un agitatore a rulli.

⚠ Validare le condizioni di conservazione (*cioè* temperatura, tempo) per un materiale campione specifico rispetto al singolo parametro IVD.

⚠ Non conservare il materiale campione nelle cartucce di processamento sigillate.

⚠ Non usare plasma o sangue contenenti eparina, perché questa sostanza influisce negativamente sulla fase successiva del flusso di lavoro.

6.3 Conservazione di acidi nucleici purificati ed eluati

Per ottenere risultati ottimali, passare immediatamente alla fase successiva del flusso di lavoro.

⚠ Non conservare gli eluati sul piano di lavoro.

⚠ Validare le condizioni di conservazione (*cioè* temperatura, tempo) per gli eluati rispetto al singolo parametro IVD.

⚠ Se gli eluati sono conservati nelle strisce a 8 tubi, durante la rimozione delle strisce a 8 tappi fare attenzione ad evitare la contaminazione crociata. Per la stessa ragione, se le strisce a 8 tubi devono essere risigillate, usare una nuova striscia a 8 tappi.

Se gli eluati sono stati congelati, scongelarli e quindi miscelarli con cura pipettando su e giù per dieci volte prima di passare alle fasi successive del flusso di lavoro, ad esempio l'analisi PCR/RT-PCR o le misurazioni della densità ottica. Il volume di miscelazione dovrebbe essere almeno la metà del volume dell'eluato. Quando gli acidi nucleici non vengono premiscelati e distribuiti uniformemente nella soluzione, i risultati potrebbero non essere riproducibili nelle fasi successive del flusso di lavoro.

7. MATERIALI

7.1 Materiali e dispositivi necessari ma non forniti

Materiale	Descrizione	Numero di catalogo
MagNA Pure 24 Instrument	strumento	07 290 519 001
MagNA Pure 24 Processing Cartridge	cartuccia di processamento	07 345 577 001
MagNA Pure 24 Processing Tip Park / Piercing Tool	supporto per puntali di processamento / utensile di perforazione	07 345 585 001
MagNA Pure 24 Piercing Tool	utensile di perforazione	07 534 205 001
MagNA Pure Tip 1.000 µl	puntale di pipettamento da 1.000 µl	06 241 620 001
MagNA Pure Tip Waste Tray	vassoio per puntali usati	08 185 492 001
MagNA Pure Tube 2.0 mL	provetta da 2,0 ml	07 857 551 001
MagNA Pure Sealing Foil	foglio sigillante	06 241 638 001
FrameStrip® with flat caps-Low Profile	striscia a 8 tubi (bassa) striscia a 8 tappi	07 345 593 001
FrameStrip® with flat caps-High Profile	striscia a 8 tubi (alta) striscia a 8 tappi	07 652 275 001

- Attrezzature standard di laboratorio: pipette e puntali di pipettamento privi di nucleasi con barriera antiaerosol.

7.2 Materiali opzionali

Materiale	Funzione	Numero di catalogo
MagNA Pure 24 MGP Set	Per ulteriori estrazioni degli acidi nucleici da volumi di pipettamento piccoli, grandi e molto grandi.	07 806 361 001
MagNA Pure cfNA Buffer Set	Per l'estrazione degli acidi nucleici da campioni di plasma.	07 794 398 001
MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit - Lysis/Binding Buffer Refill	Per i protocolli di lisi esterna.	03 246 779 001
MagNA Pure Bacteria Lysis Buffer	Per l'estrazione degli acidi nucleici batterici, fungini e virali.	04 659 180 001
MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer	Per l'estrazione degli acidi nucleici da campioni congelati freschi.	04 805 160 001
MagNA Pure FFPET Buffer Set	Per la deparaffinazione e la lisi del tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina.	08 447 144 001
Proteinasi K, grado PCR Attività (+37°C) ≥ 0,6 U/µl	Per la degradazione delle proteine.	03 115 828 001 03 115 844 001
S.T.A.R. buffer (Stool Transport and Recovery Buffer)	Per la stabilizzazione, il trasporto e il recupero degli acidi nucleici nei campioni fecali.	03 335 208 001
MagNA Lyser Instrument	Per l'omogeneizzazione dei tessuti.	03 358 968 001 dal n° di serie 40467540 03 358 976 001 dal n° di serie 40405218
MagNA Lyser Green Beads	Per l'omogeneizzazione dei tessuti.	03 358 941 001

- Soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) per la diluizione del materiale campione e il pretrattamento dei campioni.

8. PROCEDURE

8.1 Protocolli di purificazione

È possibile estrarre gli acidi nucleici usando diversi protocolli che sono stati ottimizzati in base al materiale campione specifico.

Il protocollo prescelto deve essere usato esclusivamente con il materiale campione indicato. Se gli acidi nucleici vengono isolati da altri tipi di campioni, la qualità delle prestazioni potrebbe essere compromessa. Un uso improprio potrebbe provocare l'agglutinazione e la perdita delle biglie di vetro magnetiche, la contaminazione crociata dei campioni o persino danni allo strumento. Se espressamente specificato, è possibile combinare diversi tipi di materiali dei campioni nella stessa seduta. Attenersi sempre alle procedure consigliate per il pretrattamento.

Nome del protocollo	Target	Materiale campione[1)]	Volume di eluizione [µl][2)]
Protocolli per volumi di pipettamento piccoli			
Pathogen 200[3)]	Acidi nucleici batterici, fungini e virali	200 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100
Fast Pathogen 200[3), 5)]	Acidi nucleici batterici, fungini e virali	200 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100
External Lysis Pathogen 200	Acidi nucleici batterici, fungini e virali	450 µl di lisato da 200 µl di plasma, siero, sangue intero. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100

Nome del protocollo	Target	Materiale campione[1)]	Volume di eluizione [µl][2)]
hgDNA 200	DNA genomico	200 µl di sangue intero (2×10^6 globuli bianchi), max 5×10^5 cellule in coltura, massimo 5 mg di tessuto congelato fresco. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100
hgDNA ds 200	DNA genomico	200 µl di sangue intero (2×10^6 globuli bianchi), massimo 5×10^5 cellule in coltura. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100 Consigliato quando è richiesto DNA a doppio filamento.
Fast hgDNA 200[5)]	DNA genomico	200 µl di sangue intero (2×10^6 globuli bianchi), massimo 5×10^5 cellule in coltura. Se il volume di pipettamento è inferiore a 200 µl, diluire con PBS.	50, 100
Protocollo con campioni FFPET			
DNA FFPET 1000	DNA genomico	Max 6 sezioni (ognuna di 4 o 5 µm) di campioni FFPET	50, 100
Protocolli per volumi di pipettamento grandi			
Pathogen 1000[3)]	Acidi nucleici batterici, fungini e virali	500 µl o 1.000 µl di plasma, siero, sangue intero, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi nasofaringei/nasali, feci e urine.	50, 100
External Lysis Pathogen 500	Acidi nucleici batterici, fungini e virali	1.450 µl di lisato da 500 µl di plasma, siero, sangue intero. Se il volume di pipettamento è inferiore a 500 µl, diluire con PBS.	50, 100

Nome del protocollo	Target	Materiale campione[1)]	Volume di eluizione [µl][2)]
hgDNA 1000	DNA genomico	500 µl di sangue intero (5×10^6 globuli bianchi) o 1.000 µl di sangue intero (1×10^7 globuli bianchi), massimo 1×10^6 cellule in coltura.	100, 200 Per ottenere prestazioni elevate o quando si utilizzano cellule in coltura con un alto contenuto di DNA, eluirle in 200 µl.
Protocolli per volumi di pipettamento molto grandi			
cfNA ss 2000	Acido nucleico libero, DNA prevalentemente a singolo filamento.	2.000 µl di plasma[4)]	50, 100
cfNA ss 4000	Acido nucleico libero, DNA prevalentemente a singolo filamento.	4.000 µl di plasma[4)]	50, 100
cfNA ds 2000	Acido nucleico libero, DNA prevalentemente a doppio filamento.	2.000 µl di plasma[4)]	100, 150, 200 Per l'eluizione di DNA prevalentemente a doppio filamento.
cfNA ds 4000	Acido nucleico libero, DNA prevalentemente a doppio filamento.	4.000 µl di plasma[4)]	100, 150, 200 Prevalentemente per l'eluizione di DNA a doppio filamento.

Nome del protocollo	Target	Materiale campione[1)]	Volume di eluizione [µl][2)]
cfNA ds 4000 hp	Acido nucleico libero, DNA prevalentemente a doppio filamento.	4.000 µl di plasma[4)]	60, 150 Prevalentemente per l'eluizione di DNA a doppio filamento. Consigliato quando sono richieste prestazioni elevate, ad esempio sul fronte della resa e/o della purezza.

[1)] Il volume del campione/lisato pipettato manualmente nelle cartucce di processamento deve coincidere con il volume di pipettamento indicato nelle impostazioni globali della seduta.

[2)] Scegliendo un volume di eluizione basso, è possibile aumentare la concentrazione degli acidi nucleici nell'eluato e, di conseguenza, la sensibilità delle fasi successive del flusso di lavoro. Tuttavia l'efficienza dell'eluizione e la resa complessiva degli acidi nucleici potrebbero essere inferiori rispetto a quelle garantite da un volume di eluizione più alto.

[3)] I protocolli Pathogen sono concepiti per l'estrazione di acidi nucleici di batteri, funghi e virus da diversi tipi di campioni di origine umana. Questi protocolli possono essere usati direttamente per i volumi di pipettamento indicati, oppure i volumi indicati potrebbero comprendere il lisato.

[4)] Plasma proveniente da provette di raccolta del sangue Roche Cell-free DNA, K2-EDTA o Streck Cell Free DNA BCT. Il pretrattamento con MagNA Pure cfNA Buffer Set è obbligatorio.

[5)] Il protocollo Fast è concepito per l'estrazione degli acidi nucleici da 8 campioni soltanto.

Per la risoluzione dei problemi è disponibile un protocollo Instrument Check. Per ulteriori informazioni, contattare il rappresentante dell'assistenza tecnica Roche.

8.2 Materiale campione e procedure di pretrattamento

Per ottenere risultati ottimali nelle fasi successive del flusso di lavoro, specialmente con i test RT-PCR real-time che vengono eseguiti, ad esempio, sugli strumenti LightCycler®, non trattare i campioni con un volume più alto di quello indicato dal protocollo di purificazione selezionato. Le prestazioni del processo di estrazione e purificazione potrebbero infatti risentirne, con l'agglutinazione e la perdita delle biglie di vetro magnetiche, la contaminazione crociata dei campioni o persino danni allo strumento.

I. Sangue intero

Usare sangue intero fresco o congelato senza alcun pretrattamento. Assicurarsi che il materiale campione sia completamente omogeneizzato.

⚠ Se la conta dei globuli bianchi supera 1×10^7 globuli/ml, prima dell'uso diluire il sangue intero con PBS per evitare l'agglutinazione delle biglie di vetro magnetiche.

⚠ Verificare che non vi siano coaguli nei campioni di sangue intero anticoagulato.

II. Plasma/siero

Usare plasma o siero fresco o congelato senza alcun pretrattamento, tranne che per i protocolli cfNA.

⚠ Se si sono formati dei precipitati, eseguire una breve fase di centrifugazione di 5-10 minuti a $1.900 \times g$ (passaggio consigliato per i protocolli cfNA). Usare solo il sopranatante come campione.

III. Lisati per i protocolli di lisi esterna

Sangue intero, plasma o siero miscelati con MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit - Lysis/Binding Buffer Refill.

Assicurarsi che il tampone di lisi/legame sia equilibrato tra +15 e +25°C prima dell'uso.

Aggiungere 200 µl o 500 µl di sangue intero, plasma o siero al kit di estrazione (MagNA Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit da 250 µl o da 950 µl - Lysis/Binding Buffer Refill) e miscelare pipettando.

Protocollo	External Lysis Pathogen 200	External Lysis Pathogen 500
Campione [µl]	200	500
Tampone di lisi/legame [µl]	250	950
Volume totale di lisato [µl]	450	1.450

Trasferire il volume totale di lisato nella cartuccia di processamento.

IV. Materiali dei campioni e lisati da usare con i protocolli Pathogen

È possibile eseguire la lisi dei patogeni in vari tipi di campioni di origine umana.

Il materiale campione descritto di seguito potrebbe essere idoneo per i protocolli Pathogen 200, Fast Pathogen 200 e Pathogen 1000:

Urina, lavaggio broncoalveolare (BAL), tamponi, feci, sangue intero, plasma, siero e colture batteriche.

⚠ A causa della grande varietà di campioni, non è possibile indicare un'unica procedura universalmente valida. Il tipo di pretrattamento richiesto per estrarre gli acidi nucleici da un campione semiliquido (BAL, espettorato, feci e così via) dipende dal tipo di materiale, dalla viscosità del campione e dal tipo e dal contenuto di particelle.

⚠ Qualsiasi tipo di materiale che venga sottoposto a questa procedura di preparazione del campione e, in una fase successiva del flusso di lavoro, a un test degli acidi nucleici IVD, dovrà essere validato rispetto ai singoli parametri IVD.

⚠ Non utilizzare un volume iniziale di 1.000 µl per i campioni molto viscosi e ricchi di cellule, come le feci.

A seconda della viscosità del campione, oltre che del tipo e contenuto delle particelle, i campioni potrebbero non richiedere alcun pretrattamento.

Protocollo di lisi con MagNA Pure Bacterial Lysis Buffer (BLB)

① **Liquefazione (opzionale)**

Per il materiale campione molto viscoso è consigliata la liquefazione, che è un passaggio obbligatorio per l'estrazione degli acidi nucleici dai campioni BAL.

- Preparare una soluzione stock fresca di ditiotreitolo (DTT) (*ad es.* 5× conc. = 0,75%).
- Correggere la concentrazione finale del DTT nel campione fino allo 0,15%, aggiungendo la soluzione stock di DTT.
- Incubare il campione agitandolo a 850 rpm per 30 minuti a +37°C, finché non diventa facilmente pipettabile.

② **Aggiunta del reagente di lisi batterica (BLB)**

Trasferire il volume appropriato di campione in una nuova provetta da 1,5 ml.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000	
Volume campione [µl]	100	250	500

③ Premiscelare i volumi appropriati di BLB e di Proteinase K:

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000	
BLB [µl]	100	250	500
Proteinase K [µl]	20	50	100
Miscela BLB/PK [µl]	**120**	**300**	**600**

- Aggiungere questa miscela alla provetta da 1,5 ml contenente il campione, quindi miscelare accuratamente utilizzando un miscelatore vortex.
- Incubare agitando a 450 rpm per 10 minuti a +65°C.

④ **Incubazione a +95°C (per campioni difficili da trattare)**
Per inattivare gli organismi patogeni e potenziare la lisi cellulare per alcune specie batteriche in campioni difficili da trattare, come le feci, incubare il campione a +95°C. Per evitare perdite, utilizzare provette con tappo a vite.

- Incubare i campioni a +95°C per 10 minuti.

Per estrarre l'RNA, omettere la fase di incubazione a +95°C perché potrebbe compromettere l'integrità dell'RNA.

- Raffreddare i campioni in ghiaccio. Centrifugare brevemente per raccogliere tutto il volume di pipettamento sul fondo della provetta.

⑤ Trasferire il volume appropriato di lisato nella cartuccia di processamento.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000	
Lisato pipettato nella cartuccia di processamento [µl]	200	500	1.000

Pretrattamento dei campioni fecali

① Utilizzare una piccola quantità di campione fecale e sospenderlo in 550 µl di PBS.

Per evitare che le particelle solide ostruiscano i puntali di pipettamento, centrifugare per 5 secondi a 500 × *g*.

In alternativa, per estrarre l'RNA virale usare una miscela PBS/tampone STAR (miscela 1:1) per sospendere i campioni fecali. Questo passaggio potrebbe ridurre l'inibizione nelle fasi successive del flusso di lavoro.

② Trasferire il volume appropriato di sopranatante in una nuova provetta da 1,5 ml.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000
Sopranatante [µl]	100	250

③ Premiscelare i volumi appropriati di BLB e di Proteinase K:

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [µl]	100	250
Proteinase K [µl]	20	50
Miscela BLB/PK [µl]	**120**	300

- Aggiungere questa miscela alla provetta da 1,5 ml contenente il campione, quindi miscelare accuratamente utilizzando un miscelatore vortex.

④ Incubare per 10 minuti a +65°C agitando a 850 rpm, quindi incubare per 10 minuti a +95°C.

⚠ Per estrarre l'RNA, omettere la fase di incubazione a +95°C perché potrebbe compromettere l'integrità dell'RNA.

⑤ Trasferire il volume appropriato di lisato nella cartuccia di processamento.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lisato pipettato nella cartuccia di processamento [µl]	200	500

Pretrattamento dei campioni su tampone

① Sospendere un tampone secco in un volume appropriato di tampone BLB premiscelato con Proteinase K.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000	
BLB [µl]	200*	500*	1.000*
Proteinase K [µl]	20	50	100
Miscela BLB/PK [µl]	**220**	**550**	**1.100**

* Per i tamponi in liquido di trasporto, usare metà volume del tampone BLB e metà campione in liquido di trasporto; il volume finale dovrebbe corrispondere al volume indicato nella tabella. Premiscelare il tampone BLB soltanto con il volume totale di Proteinase K, quindi aggiungere la miscela al campione nel liquido di trasporto.

② Spremere e rimuovere il tampone.

③ Miscelare con cura in vortex. Incubare il campione liquido per 10 minuti a +65°C agitando a 450 rpm, quindi incubare per 10 minuti a +95°C.

⚠ Per estrarre l'RNA, omettere la fase di incubazione a +95°C perché potrebbe compromettere l'integrità dell'RNA.

④ Raffreddare i campioni in ghiaccio. Centrifugare brevemente per raccogliere tutto il volume di pipettamento sul fondo della provetta.

⑤ Trasferire il volume appropriato di lisato nella cartuccia di processamento.

Protocollo	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lisato pipettato nella cartuccia di processamento [µl]	200	500 o 1.000

V. Cellule in coltura

Per estrarre gli acidi nucleici con i protocolli hgDNA 200 e hgDNA 1000, usare cellule in coltura risospese in soluzione salina tamponata con fosfato (PBS).

① Per estrarre il DNA da cellule in coltura cresciute in sospensione, eseguire un leggero spin-down delle cellule in coltura per 5 minuti a 300 × *g*. Se necessario, lavare il pellet cellulare con PBS.

Il pellet cellulare può essere conservato tra -15 e -25°C per diverse settimane.

② Rimuovere il liquido di coltura (o PBS) e risospendere le cellule in tampone PBS freddo, pipettando o agitando la provetta finché il pellet cellulare non sarà nuovamente sospeso.

③ Trasferire il volume di sospensione appropriato nella cartuccia di processamento.

⚠ Per il protocollo hgDNA 200, non usare più di 5×10^5 cellule/200 µl. Per il protocollo hgDNA 1000, non usare più di 1×10^6 cellule. Qualsiasi deviazione potrebbe compromettere la qualità delle prestazioni.

VI. Tessuto congelato fresco

Per estrarre gli acidi nucleici con il protocollo hgDNA 200, usare non più di 5 mg di tessuto fresco omogeneizzato e congelato.

Omogeneizzazione del tessuto mediante digestione con Proteinase K	
①	Aggiungere massimo 5 mg di campione tissutale in una provetta da 1,5 ml.
②	Al campione di tessuto aggiungere 180 µl di MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer e 20 µl di proteinasi K.
③	Incubare a +55°C fino a completa dissoluzione del tessuto (in genere tra 3 ore a una notte intera). Questo metodo di omogeneizzazione assicura una buona resa e un'elevata integrità del DNA.
④	Trasferire il volume di lisato appropriato nella cartuccia di processamento.
⑤	Il lisato può essere conservato tra -80 e -20°C se non è richiesta la purificazione immediata.

Omogeneizzazione del tessuto con il MagNA Lyser Instrument	
①	Trasferire non più di 5 mg di campione tissutale in una provetta MagNA Lyser Green Beads.
②	Aggiungere 200 µl di MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer.
③	Omogeneizzare il tessuto sul MagNA Lyser Instrument per 30-40 secondi. Se l'omogeneizzazione non è completa, ripetere il passaggio. Per maggiori dettagli consultare il Manuale Operatore del MagNA Lyser Instrument. Questo metodo è rapido anche se, a causa della segmentazione meccanica, il DNA potrebbe risultare parzialmente frammentato.
④	Trasferire il volume di lisato appropriato nella cartuccia di processamento.

VII. Tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina

Utilizzare il MagNA Pure FFPET Buffer Set per purificare gli acidi nucleici da un massimo di 6 sezioni FFPET con spessore di 4 o 5 µm. Questo equivale a una quantità massima di tessuto pari a 6 mm^3.

⚠ Non utilizzare una quantità di campione FFPET maggiore di quella specificata, in caso contrario le prestazioni del processo di purificazione degli acidi nucleici potrebbero risentirne. La resa e la qualità degli acidi nucleici estratti sono fortemente correlate al tipo di tessuto, all'età del campione e al protocollo di fissazione seguito.

⚠ I flaconi di reagenti parzialmente usati nei flussi di lavori manuali non devono mai essere utilizzati nei flussi di lavoro automatizzati.

Preparazione di campioni e reagenti per il protocollo DNA FFPET 1000

① Per ogni estrazione, aggiungere massimo 6 sezioni FFPET di 4 o 5 µm (≤6 mm^3 di tessuto) sul fondo di una provetta da 2,0 ml.

⚠ Rimuovere la paraffina in eccesso dal blocco FFPET o dal vetrino FFPET prima di raccogliere le sezioni FFPET.

⚠ Per recuperare la massima quantità di acidi nucleici, i campioni FFPET devono essere il più possibile vicini al fondo della provetta da 2,0 ml prima della centrifugazione.

② Centrifugare la provetta da 2,0 ml a 5.000 × *g* per 30 secondi a una temperatura compresa tra +15 e +25°C, in modo che i campioni si raccolgano sul fondo delle provette.

③ Caricare le provette con i campioni centrifugati negli adattatori da 2,0 ml già inseriti sul rack per campioni.

⚠ Inserire gli adattatori per provette campione e le provette da 2,0 ml sul rack per campioni nel modo corretto.

Caricare il rack per campioni nello slot per rack per campioni dello strumento, quindi continuare a creare l'ordine.

④ Preparare il Deparaffinization Reagent:
Appena prima dell'uso, trasferire 25 ml del Deparaffinization Reagent fornito con il MagNA Pure FFPET Buffer Set in uno dei flaconi dei reagenti da 25 ml vuoti già provvisti di barcode.

⑤ Caricare le forniture necessarie sulle stazioni dello strumento evidenziate nel software.
Infine caricare il rack per reagenti con:

- Deparaffinization Reagent in un flacone di reagente da 25 ml
- Flacone/i di reagente Lysis Buffer
- Flacone/i di reagente Isopropanolo
- Provetta/e MGP agitata/e in vortex

⚠ Caricare solo flaconi dei reagenti e provette MGP senza il tappo.

⚠ Evitare di introdurre schiuma/bolle d'aria nei reagenti del set di tamponi FFPET. Se si formano delle bolle, è possibile eliminarle utilizzando un puntale di pipettamento.

⚠ È possibile riutilizzare solo i flaconi dei reagenti usati parzialmente nei flussi di lavoro automatizzati eseguiti sullo **stesso** strumento. Per tenere traccia dell'inventario su ogni strumento, il software si basa sul barcode e riconosce i flaconi dei reagenti usati parzialmente, assicurando una gestione adeguata per la seduta successiva. La stabilità a bordo è di 16 ore per tutti i flaconi dei reagenti, che restano stabili per 28 giorni dopo il primo uso.

Dopo la verifica della validità di tutte le forniture, è possibile avviare la seduta.

⑥ Al termine della seduta, scaricare lo strumento come descritto nell'Assistenza Utente. Subito dopo l'uso, chiudere tutti i flaconi dei reagenti con gli appositi tappi per poterli riutilizzare sullo stesso strumento, quindi conservarli come indicato nelle rispettive Istruzioni per l'uso.

⚠ Occasionalmente è possibile notare eluati semitrasparenti/colorati che possono essere utilizzati nelle fasi successive del flusso di lavoro.

⚠ In fase di smaltimento dei rifiuti, tenere presente che le provette campione da 2,0 ml contengono i reagenti del set di tamponi FFPET.

VIII. Plasma per acidi nucleici liberi circolanti

Per l'estrazione degli acidi nucleici liberi (cfNA), utilizzare il MagNA Pure cfNA Buffer Set.

Prima di purificare gli acidi nucleici liberi, centrifugare i campioni per 5-10 minuti a 1.000-1.900 × *g*. Evitare di trasferire anche solo parzialmente il pellet.

⚠ Evitare di introdurre schiuma/bolle d'aria durante tutte le fasi di pipettamento.

① Versare il volume appropriato di proteinasi K in una provetta campione nuova testata per questa applicazione (provetta Sarstedt 55.466 e provetta Sarstedt 55.495). Aggiungere il campione nella provetta contenente la proteinasi K, miscelare delicatamente e incubare a +37°C per 20 minuti.

Protocollo	**cfNA ss 2000 cfNA ds 2000**	**cfNA ss 4000 cfNA ds 4000**
Proteinase K [µl]	200	400
Volume campione [µl]	2.000	4.000

② A seconda del numero di campioni da trattare, preparare la miscela tampone cfNA sfusa: pipettare il tampone CELB (Cell-Free Nucleic Acid Enhancement Buffer) e aggiungere isopropanolo (IPA) usando un contenitore di dimensioni adeguate. Tappare e miscelare delicatamente capovolgendo. La soluzione è stabile per 2 ore al massimo.

Protocollo	**cfNA ss 2000 cfNA ds 2000**	**cfNA ss 4000 cfNA ds 4000**
CELB [µl]	1.750	3.500
IPA [µl]	300	600
Miscela tampone cfNA (CELB + IPA) [µl]	2.050	4.100

③ In ogni campione aggiungere la quantità appropriata di miscela tampone cfNA:
2.000 µl di miscela tampone cfNA per 2.000 µl di campione o 4.000 µl di miscela tampone cfNA per 4.000 µl di campione. Miscelare con cura dispensando e aspirando il liquido per 8 volte circa, in modo da ottenere una miscela omogenea.

⚠ Non conservare il lisato.

Se si formano delle bolle d'aria, è possibile rimuoverle aspirandole con un puntale di pipettamento posizionato accanto alla provetta appena sopra la superficie del liquido. In alternativa è possibile rimuovere le bolle d'aria tappando le provette e centrifugandole a 2.000 × *g* per 1 minuto.

④ Caricare le provette sul rack per campioni. Caricare il rack per campioni sullo strumento.

8.3 Procedura di estrazione

Il MagNA Pure 24 Instrument consente di trattare simultaneamente 24 campioni. Per una descrizione dettagliata dell'uso dello strumento, consultare l'Assistenza Utente del MagNA Pure 24 Instrument.

⚠ È responsabilità dell'utente validare le prestazioni del sistema per tutte le procedure eseguite in laboratorio.

⚠ Durante la miscelazione dei tubi primari contenenti i campioni, evitare di introdurre schiuma/bolle d'aria prima di caricare lo strumento. Per garantire un corretto rilevamento del livello dei liquidi, evitare che si formino gocce sulle pareti delle provette campione.

⚠ Assicurarsi che tutte le provette campione siano inserite correttamente nel rack per campioni.

⚠ Il materiale campione acquoso, come gli acidi nucleici sciolti in acqua o in liquidi privi di tampone biologico, potrebbe peggiorare la qualità della purificazione. Per il materiale campione acquoso, aggiungere 10 × PBS con una concentrazione finale di 1 × PBS.

⚠ Se le cassette dei reagenti sono state conservate a temperature inferiori a +15°C, è necessario equilibrarle tra +15 e +25°C per almeno un'ora prima dell'uso.

È possibile usare due cassette dei reagenti, appartenenti allo stesso lotto o a lotti diversi, nel corso di una seduta di purificazione.

⚠ Verificare che tutti i contenitori siano inseriti correttamente nella cassetta dei reagenti prima di caricarli sulla stazione di cassette dei reagenti.

⚠ Prima di posizionare le provette MGP sul piano di lavoro, miscelarle singolarmente in vortex per 60 secondi. Posizionare quindi delicatamente le provette MGP prive di tappo sul piano di lavoro, ma solo un attimo prima di avviare la seduta. In caso di fuoriuscite, sostituire le provette MGP.

⚠ Tutti gli elementi che vengono caricati sullo strumento (provette con i campioni, provette MGP, provette con i controlli interni, flaconi dei reagenti e consumabili di uscita) devono essere privi del tappo.

⚠ Per evitare la fuoriuscita dei reagenti, prestare attenzione durante il caricamento del rack per reagenti nello slot per rack per reagenti.

Per i flussi di lavoro FFPET: le piccole quantità di Deparaffinization Reagent trasferite nella provetta di processamento del campione non compromettono la qualità della purificazione. La presenza di un residuo del tampone di lisi non compromette i risultati.

8.4 Fine di una seduta

Al termine della seduta scaricare i consumabili di uscita che contengono gli eluati.

- Dopo la seduta, gli eluati non devono rimanere a bordo per più di 2 ore, altrimenti i risultati corrispondenti verranno contrassegnati da flag.
- Non appena lo sportello dello strumento si apre, il raffreddamento degli eluati si interrompe.
- La presenza di piccole quantità di biglie di vetro magnetiche nelle provette o nelle strisce di provette non influenzerà le analisi PCR e RT-PCR eseguite sugli strumenti LightCycler® o sui tradizionali termociclatori. Se si desidera rimuovere le biglie di vetro magnetiche, appoggiare le provette o le strisce di provette su una piastra magnetica prima di rimuovere l'eluato.

- Fare attenzione a non superare il limite di validità a bordo per la cassetta dei reagenti. Scaricare la cassetta dei reagenti con cautela per evitare fuoriuscite. Coprire la cassetta dei reagenti con un foglio sigillante. Per possibili usi futuri, conservare le cassette dei reagenti usate parzialmente tra +2 e +8°C in posizione verticale.
- Finire di scaricare lo strumento seguendo le istruzioni fornite.

⚠ Le provette MGP sono monouso e devono essere smaltite dopo ogni seduta, anche se usate solo parzialmente.

- Smaltire i rifiuti solidi e liquidi in conformità ai regolamenti locali.
- Ispezionare con cura lo strumento per trovare eventuali perdite. In caso di fuoriuscite, attenersi alle istruzioni per la pulizia contenute nell'Assistenza Utente del MagNA Pure 24 Instrument.
- Pulire e decontaminare tutti gli accessori attenendosi alle istruzioni fornite nell'Assistenza Utente del MagNA Pure 24 Instrument.

⚠ Evitare che i reagenti contenenti guanidina tiocianato (Lysis Buffer) entrino in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina) o con acidi. Queste miscele possono produrre un gas altamente tossico. Per maggiori informazioni sulla pulizia e sulla manutenzione, consultare l'Assistenza Utente del MagNA Pure 24 Instrument.

8.5 Controllo di qualità

⚠ Usare sempre i controlli appropriati.

Per monitorare l'intero processo, dalla preparazione dei campioni all'analisi, eseguire i controlli seguenti:

- Controllo positivo con un materiale campione positivo per il target.
- Controllo negativo con un materiale campione negativo per il target.
- Controllo interno (IC) tramite l'aggiunta di una quantità definita di un template di controllo in tutti i campioni da purificare. Il controllo interno (IC) viene aggiunto prima della fase di purificazione, viene co-purificato e successivamente amplificato, ad esempio, con il target di interesse nella stessa reazione PCR. Per le metodiche che potrebbero produrre risultati falsi negativi, l'uso di un controllo interno appropriato è obbligatorio.

Controlli interni

Lo strumento può aggiungere automaticamente un controllo interno (IC) in ogni campione durante la seduta di purificazione. Il volume prefissato del controllo interno è pari a 20 µl per isolamento. È possibile caricare 2 IC diversi per seduta; ma soltanto 1 IC può essere aggiunto in ogni campione. Per usare questa funzione, selezionare il controllo interno nelle impostazioni globali della seduta. La quantità appropriata di IC viene calcolata dal software e viene visualizzata tra le impostazioni della seduta, nella schermata *Overview*. Aggiungere il volume di controllo interno indicato in una provetta da 2 ml dotata di barcode, quindi caricare tutte le provette nelle posizioni assegnate sul rack per reagenti.

Q A causa di limitazioni meccaniche, è richiesto un volume di controllo interno maggiore del volume che si otterrebbe moltiplicando semplicemente il numero dei campioni per 20 µl.

⚠ Per i protocolli cfNA (*cioè* 2.000 µl e 4.000 µl di campione iniziale), aggiungere manualmente il controllo interno nel lisato preparato. Notare che la funzione IC dello strumento è disponibile ma non è abilitata.

⚠ Per il protocollo FFPET, lo strumento non può aggiungere un controllo interno.

9. LIMITAZIONI E INTERFERENZE

1. Il MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit è stato validato per l'uso esclusivamente in associazione con il MagNA Pure 24 System.
2. L'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza con cui vengono eseguite le procedure di prelievo del campione, conservazione, trasporto e manipolazione.
3. Il MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit è stato validato per l'uso esclusivamente in associazione con il materiale campione specificato in queste istruzioni per l'uso. La purificazione degli acidi nucleici da altri tipi di campioni potrebbe compromettere la qualità delle prestazioni.
4. Usare i protocolli esclusivamente in associazione con i materiali dei campioni indicati. Qualsiasi deviazione potrebbe compromettere la qualità delle prestazioni.
5. L'uso di questo prodotto deve essere limitato al personale addestrato nelle procedure di estrazione degli acidi nucleici. Qualsiasi tipo di applicazione IVD che preveda questa procedura di preparazione del campione e, a seguire, un test degli acidi nucleici IVD, dovrà essere validata rispetto ai singoli parametri IVD.
6. Per ridurre al minimo il rischio di impatto negativo sui risultati, è necessario adottare controlli adeguati per le fasi successive del flusso di lavoro.
7. Le condizioni di conservazione (temperatura, tempo) per i campioni, i lisati, i pellet cellulari in coltura e gli eluati devono essere validate rispetto al singolo parametro IVD.
8. Spetta all'utente stabilire caratteristiche prestazionali adeguate, in particolare con riferimento alle fasi successive del flusso di lavoro. I risultati devono essere interpretati contestualmente a tutti i dati clinici rilevanti e ai riscontri di laboratorio. Poiché la concentrazione degli analiti può variare sensibilmente da un tipo di campione all'altro, si consiglia di definire le prestazioni di contaminazione crociata, ad esempio, con esperimenti "a scacchiera" (campione alto positivo accanto a campioni negativi) prima di passare ai test di routine.
9. A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, prima di passare da una tecnologia a un'altra si consiglia agli utenti di svolgere degli studi sulla correlazione in laboratorio, alla scopo di qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.
10. L'influenza delle sostanze interferenti è stata valutata con una serie crescente di concentrazioni delle sostanze prevalenti elencate di seguito: emoglobina umana, bilirubina e lipidi (valutati secondo il protocollo Pathogen 200).

10. INFORMAZIONI SUPPLEMENTARI

10.1 Simboli

Simboli usati in questa pubblicazione e su questo prodotto:

Simbolo	Descrizione
⚠	Nota importante
Ⓘ	Nota informativa
REF	Numero di catalogo
LOT	Codice del batch
𝒳	Limiti di temperatura (Conservare a)
Cont.	Quantità contenuta nella confezione
⌛	Utilizzare entro
D	Distribuito da
GTIN	Global Trade Item Number
🕮	Consultare le istruzioni per l'uso.
🏭	Fabbricante
CE	Il kit è conforme ai requisiti della Direttiva IVD 98/79/CE.
IVD	Per uso diagnostico *in vitro*.

10.2 Modifiche rispetto alla versione precedente

- Aggiornamento del volume delle provette MGP.
- Rimozione del protocollo Pathogen 200 hp.
- Aggiornamento delle provette campione testate per la procedura Plasma per acidi nucleici liberi circolanti.

11. MARCHI

MAGNA PURE, MAGNA LYSER e LIGHTCYCLER sono marchi di Roche.
Gli altri nomi di prodotti e marchi appartengono ai rispettivi proprietari.

12. LIMITAZIONE NORMATIVA

Per uso diagnostico *in vitro*.

13. BIBLIOGRAFIA

[1)] Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.

[2)] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

CE

Roche Diagnostics GmbH Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim, Germany, +49 621 7590
Manufactured in Germany

© 2020 Roche Diagnostics.

D Distributed in USA by Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany

0620.**08100179001**®