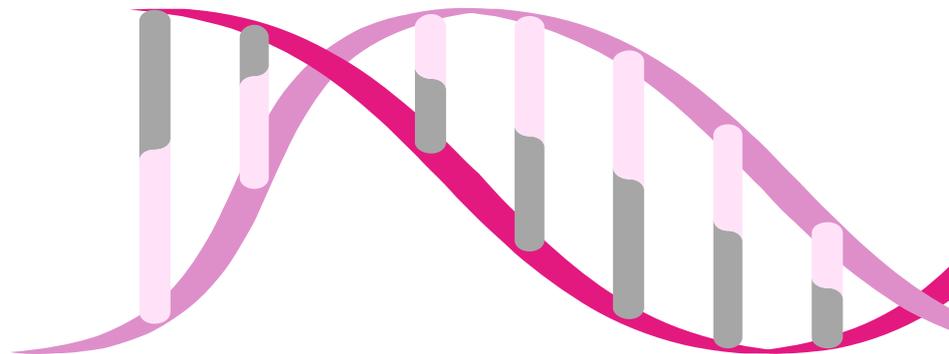


Solo per uso professionale



**ULISSE** €  
BioMed

*We build using DNA:  
the molecule of life*

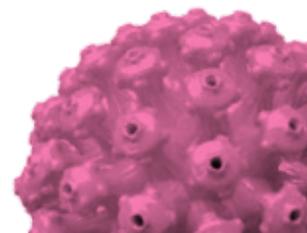
## Ulisse Faster DNA

### ISTRUZIONI PER L'USO

Reagente di pretrattamento per Direct  
PCR

CE IVD

REF UBM0014-050



Versione 5 | Agosto 2023

## NOTE LEGALI

Copyright © 2023 di Ulisse Biomed S.p.A.

Tutti i diritti riservati. Nessuna parte della presente pubblicazione può essere riprodotta o trasmessa in alcuna forma o mediante alcun mezzo, elettronico o meccanico, fra cui fotocopia, registrazione o qualsiasi sistema di conservazione o recupero delle informazioni, senza l'autorizzazione scritta di Ulisse Biomed S.p.A. Per richieste di autorizzazione scrivere a Ulisse Biomed S.p.A., all'indirizzo aziendale, all'attenzione del coordinatore delle autorizzazioni.

Ulisse Biomed S.p.A. si riserva il diritto di modificare i suoi prodotti e servizi in qualsiasi momento. Il presente manuale di istruzioni è soggetto a modifiche senza preavviso. Sebbene siano state redatte al fine di garantirne l'accuratezza, Ulisse Biomed S.p.A. non si assume alcuna responsabilità per errori o per qualsiasi danno derivante dall'applicazione o dall'uso delle presenti informazioni.

## MARCHI REGISTRATI

I marchi registrati utilizzati in questo documento, anche se non espliciti, non sono da considerarsi non tutelati dalla legge. Questo prodotto e il suo utilizzo sono coperti da brevetti di Ulisse Biomed S.p.A.

## INDEX

INDEX.....	3
1. Descrizione del prodotto .....	4
Destinazione d'uso .....	4
Panoramica dei principi e della procedura .....	4
Conservazione e manipolazione.....	4
Materiali forniti.....	5
Materiali richiesti ma non forniti .....	5
2. Avvertenze e precauzioni .....	6
Avvertenze e precauzioni generali .....	6
Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare .....	7
3. Protocollo .....	8
Raccolta, conservazione e trasporto del campione.....	8
Procedura.....	9
Controllo di qualità.....	11
4. Limiti.....	13
5. Spiegazione dei simboli .....	14
6. Contatti.....	15

## 1. Descrizione del prodotto

### Destinazione d'uso

“Ulisse Faster DNA” è un reagente di pretrattamento (denominato Buffer P) che consente il caricamento diretto di campioni di tampone vaginale e citologia cervicale a base liquida nella reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale dopo una breve fase di trattamento termico, senza la necessità di alcuna fase di purificazione del DNA. Il tampone è stato validato attraverso il trattamento di tamponi vaginali e campioni cervicali raccolti nei terreni ThinPrep® utilizzando uno spazzolino/spazzola endocervicale in combinazione con i prodotti UBM0002 e UBM0013; tuttavia, Ulisse Faster DNA può essere utilizzato in abbinamento a diversi kit di PCR in tempo reale, previa convalida dedicata. Ulisse Faster DNA è destinato all'uso da parte di personale di laboratorio clinico esperto nelle tecniche basate sul Real Time PCR e nelle procedure diagnostiche in vitro.

### Panoramica dei principi e della procedura

Ulisse Faster DNA è composto da un reagente di pretrattamento, che deve essere aggiunto 1:5 ai campioni biologici. Il campione premiscelato con il tampone viene incubato a due diverse temperature utilizzando un termomixer. Durante questo processo, il DNA dell'acido nucleico viene solubilizzato. Dopo il pretrattamento il campione è pronto per essere caricato in reazioni PCR compatibili. Per una buona prestazione, il campione deve essere raccolto e conservato seguendo rigorosamente le istruzioni per l'uso del produttore.

Altri strumenti Real Time PCR e test IVD potrebbero essere compatibili; tuttavia, prima dell'uso sarà richiesta la convalida dell'utente finale.

Tutti gli strumenti utilizzati devono essere installati, calibrati, controllati e mantenuti secondo le istruzioni del produttore per ottenere risultati ottimali.

### Conservazione e manipolazione

Ulisse Faster DNA deve essere conservato a una temperatura compresa tra -25 °C e -15 °C, in posizione verticale e al riparo dalla luce. Ulisse Faster DNA è stabile nelle condizioni di conservazione consigliate fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta. Evitare scongelamenti e congelamenti ripetuti poiché ciò potrebbe ridurre la sensibilità. Ulisse Faster DNA può essere congelato e scongelato per non più di 6 volte; ulteriori cicli di congelamento/scongelamento potrebbero causare una perdita di prestazioni del prodotto. Se i reagenti devono essere utilizzati solo in modo intermittente, devono essere congelati in aliquote in provette prive di RNasi/DNasi.

## Materiali forniti

Il materiale contenuto in un kit di Ulisse Faster DNA (Ulisse Biomed, S.p.A.; codice #UBM0014-050) è sufficiente per il pretrattamento di 50 campioni.

Ulisse Faster DNA ( <b>REF</b> UBM0014-050)			
Contenuto	Volume	Descrizione	Colore
Buffer P	1 X 1.20 mL	Reagente di pretrattamento	Blu

## Materiali richiesti ma non forniti

### A. Materiali necessari per ogni sistema compatibile:

Per utilizzare Ulisse Faster DNA su ogni sistema compatibile sono necessari i seguenti materiali:

- Acqua di grado biologico molecolare, priva di RNasi e DNasi.
- 1x soluzione salina tamponata con fosfato (PBS).
- Pipette calibrate di precisione in grado di dispensare 2-20 µl (incremento di 0,1-0,2 µl), 20-200 µl (incremento di 0,1-0,2 µl) e 100-1.000 µl (incremento di 1-2 µl).
- Puntali con filtro sterili anti-aerosol, monouso, a bassa ritenzione per pipette di precisione da 2-20 µl, 20-200 µl e 100-1.250 µl, esenti da nucleasi.
- Centrifuga da tavolo.
- Miscelatore vortice.
- Cappa biologica a flusso d'aria laminare di classe II.
- Ghiaccio.
- Guanti monouso in nitrile senza polvere, o materiale simile, e adeguati dispositivi di protezione individuale.
- Detergente disinfettante per superfici.

### B. Materiali necessari per il pretrattamento eseguito in un termomixer

Per il pretrattamento in un termomixer sono necessari i seguenti materiali:

- termomixer.
- Provette da 1,5 mL con tappo in polipropilene, sterili, prive di RNasi e DNasi.

### C. Materiali necessari per il pretrattamento eseguito in un termociclatore PCR

Per il pretrattamento in un termociclatore per PCR sono necessari i seguenti materiali:

- 96 piastre PCR multipozzetto (volume dei pozzetti non inferiore a 0,2 ml) o strip di provette da 8 provette o provette PCR.
- Sigillo adesivo o tappi strip da 8 provette compatibili con la piastra/provette PCR.
- Adesivo "sealer" per piastra PCR o tappi.
- Termociclatore PCR.

## 2. Avvertenze e precauzioni

Questo prodotto è stato progettato esclusivamente per l'uso *in vitro*.

### Avvertenze e precauzioni generali

- Maneggiare e smaltire tutti i campioni biologici come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.
- Evitare il contatto diretto con i campioni biologici. Evitare schizzi o spruzzi. I materiali che entrano in contatto con i campioni biologici devono essere trattati per almeno 30 minuti con ipoclorito di sodio al 3% o autoclavati per un'ora a 121°C prima dello smaltimento.
- Maneggiare e smaltire tutti i reagenti e tutti i materiali utilizzati per effettuare il test come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi. Evitare il contatto diretto con i reagenti. Evitare schizzi o spruzzi. I rifiuti devono essere gestiti e smaltiti nel rispetto di adeguati standard di sicurezza.
- Indossare indumenti e guanti protettivi idonei; proteggere gli occhi e il viso.
- Non pipettare mai le soluzioni con la bocca.
- Non mangiare, bere, fumare o applicare prodotti cosmetici nelle aree di lavoro.
- Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti.
- Smaltire i reagenti rimanenti e i rifiuti in conformità con le normative vigenti.
- Leggere attentamente tutte le istruzioni fornite con il prodotto prima di eseguire il test.
- Durante l'esecuzione del test, seguire le istruzioni fornite con il prodotto.
- Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare il prodotto se, al momento della ricezione, la confezione risulta danneggiata o il sigillo è rotto.
- Utilizzare solo i reagenti forniti con il prodotto e quelli consigliati dal produttore.
- Non raggruppare reagenti provenienti da lotti diversi o da provette diverse dello stesso lotto.
- Non utilizzare reagenti di altri produttori.
- Tenere presente che potrebbe essere richiesto di segnalare incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo al produttore e all'autorità di regolamentazione in cui risiede l'utente e/o il paziente.
- Se viene versato il liquido contenente il Buffer P, pulire con un detergente da laboratorio idoneo e acqua. Se il liquido versato contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire prima l'area interessata con detergente da laboratorio e acqua, quindi con ipoclorito di sodio all'1% (v/v). Se i tubi del tampone sono danneggiati o perdono, indossare guanti e occhiali protettivi quando si smaltiscono i flaconi per evitare lesioni personali o lesioni ad altri.
- Ulisse Biomed non ha testato i rifiuti liquidi generati dalle procedure Ulisse Faster DNA per materiali infettivi residui. La contaminazione dei rifiuti liquidi con materiali infettivi residui è improbabile, ma non può essere esclusa completamente. Pertanto, i rifiuti liquidi devono essere considerati infettivi e devono essere gestiti e smaltiti secondo le normative di sicurezza locali.
- Per maggiori informazioni consultare le apposite schede di sicurezza (SDS). Questi sono disponibili online in formato PDF comodo e compatto all'indirizzo [www.ulissebiomed.com/docs](http://www.ulissebiomed.com/docs), dove è possibile trovare, visualizzare e stampare la SDS per ciascun kit Ulisse Biomed.

## Avvertenze e precauzioni per la biologia molecolare

- Le procedure di biologia molecolare richiedono personale qualificato e formato per evitare il rischio di risultati errati, soprattutto a causa della degradazione degli acidi nucleici contenuti nei campioni o della contaminazione dei campioni.
- Sono necessari camici, guanti e strumenti dedicati all'impostazione della sessione di lavoro.
- I campioni devono essere idonei e, se possibile, dedicati a questo tipo di analisi. I campioni devono essere manipolati sotto una cappa a flusso d'aria laminare. Le pipette utilizzate per la manipolazione dei campioni devono essere utilizzate esclusivamente per questo scopo specifico.
- I campioni di DNA e RNA sono suscettibili alla degradazione da parte rispettivamente di DNAsi e RNAsi. Assicurarsi che tutti i campioni vengano manipolati con adeguate procedure di laboratorio per la manipolazione del DNA/RNA, compreso l'uso di provette e puntali privi di DNAsi e RNAsi.
- Minimizzare la possibilità di contaminazione incrociata tra i campioni stessi. Tutte le fasi di dispensazione devono essere eseguite utilizzando pipette con puntali con filtro anti-aerosol monouso, da sostituire ad ogni trasferimento di liquido.
- La sigillatura delle piastre deve seguire le indicazioni del produttore al fine di evitare la contaminazione da pozzetto a pozzetto.

## 3. Protocollo

### Raccolta, conservazione e trasporto del campione

#### A. Raccolta del campione

##### Campione citologico cervicale in fase liquida

Il campione cervicale raccolto in terreno ThinPrep® utilizzando una spazzola/spatola endocervicale è stato convalidato per l'uso con Ulisse Faster DNA. Seguire le istruzioni del produttore per la raccolta del campione cervicale.

##### Tampone vaginale

Per l'auto-raccolta del campione vaginale, si prega di utilizzare i seguenti materiali secondo le istruzioni del produttore:

- FLOQSwab® regular plus, rounded tip, peelable barcode, no breaking point (Copan Italia, S.p.A.; code #5E046S) per l'auto-prelievo di campioni vaginali.

#### B. Conservazione del campione

La sensibilità di analisi può diminuire se il campione viene ripetutamente congelato e scongelato o conservato per un lungo periodo di tempo. Gli acidi nucleici devono essere estratti dal campione il prima possibile dal momento della raccolta.

##### Campione citologico cervicale in fase liquida

Il campione di cellule cervicali raccolto nel terreno ThinPrep® può essere conservato a 2 ~ 8 °C per un massimo di 6 settimane.

##### Tampone vaginale

Se i campioni di tampone vaginale non vengono processati subito dopo la loro ricezione in laboratorio, devono essere conservati a -15° ~ -25 °C e devono essere processati entro un mese.

#### C. Trasporto del campione

Per garantire un'elevata qualità del campione, quest'ultimo deve essere trasportato il prima possibile alla temperatura indicata.

##### Campione citologico cervicale in fase liquida

Il campione di cellule cervicali raccolto in terreno ThinPrep® può essere trasportati a 2 ~ 25 °C.

##### Tamponi vaginali

I campioni di tampone vaginale dovrebbero essere preferibilmente trasportati refrigerati ma possono essere anche trasportati a temperatura ambiente (~ + 25 °C) per un periodo non superiore a 7 giorni. I campioni di tampone vaginale devono essere spediti a un laboratorio il prima possibile dopo la raccolta, seguendo le istruzioni del laboratorio per il trasporto. I campioni devono essere trasportati seguendo anche le istruzioni locali e nazionali per il trasporto di materiale patogeno.

## Procedura

La procedura per utilizzare Ulisse Faster DNA si compone di due passaggi:

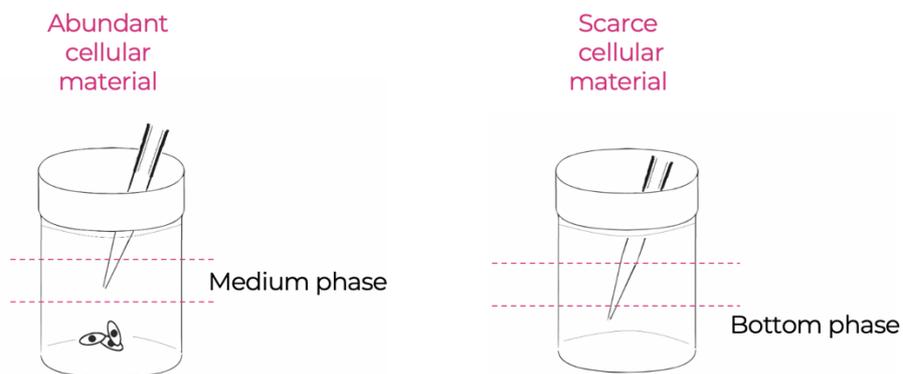
- A. preparazione del campione.
- B. Pretrattamento.

### A. Preparazione del campione

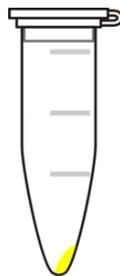
#### a. Preparazione di campioni citologici cervicali a base liquida

Prima del pretrattamento con Ulisse Faster DNA, i campioni citologici cervicali in fase liquida conservati in Thin Prep® devono essere preparati come indicato di seguito:

- agitare nel vortex la fiala Thin Prep® per almeno 30 secondi per omogeneizzare il campione.
- Trasferire 1,5 ml di campione citologico cervicale a base liquida dalla fiala originale Thin Prep® in una provetta da 1,5 ml. In caso di campione ricco di materiale cellulare, prelevare l'aliquota dalla fase intermedia evitando l'aspirazione di grumi cellulari. In caso di campione povero di materiale cellulare, prelevare invece l'aliquota dalla fase inferiore.



- Centrifugare la provetta a  $>9.000$  g per 9 minuti.
- Rimuovere manualmente il surnatante con la pipetta, facendo attenzione a non aspirare il pellet cellulare. Un residuo eccessivo di soluzione Thin Prep® potrebbe causare l'inibizione della successiva reazione PCR. La dimensione corretta del pellet da ottenere è illustrata nell'immagine seguente. In caso di pellet più piccolo o più grande fare riferimento al paragrafo "Risoluzione dei problemi".



- Aggiungere 1 ml di soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) 1x al precipitato cellulare e posizionare la provetta sul vortex per almeno 30 secondi.
- Centrifugare la provetta a  $>9.000$  g per 9 minuti.

- Rimuovere manualmente il surnatante con la pipetta, facendo attenzione a non aspirare il pellet cellulare.
- Risospendere in 80  $\mu$ L di acqua per biologia molecolare.

I campioni preparati possono ora essere pretrattati con Ulisse Faster DNA.

#### *b. Preparazione dei campioni di tampone vaginale*

Prima del pretrattamento con Ulisse Faster DNA, i campioni di tampone vaginale devono essere risospesi come indicato di seguito:

- utilizzare una pipetta con punta monouso per trasferire 2 mL di acqua di grado biologico molecolare nella provetta da 5 mL.
- Immergere il tampone nell'acqua con una serie di rapidi movimenti verticali; successivamente e senza immergersi, il tappo dovrà essere ruotato premendolo contro le pareti del tubo in modo da favorire la fuoriuscita di quanto più materiale possibile.
- Rendere omogenea la sospensione agitandola su vortex per 10-20 secondi in modo che non sia visibile alcun precipitato.
- I campioni preparati possono ora essere pretrattati con Ulisse Faster DNA.

#### *c. Strumenti compatibili*

Il termomixer deve poter raggiungere la temperatura di 56°C e >98°C agitando con una velocità >300 giri/min. Il termociclatore deve essere in grado di raggiungere la temperatura di 56°C e >98°C.

I seguenti strumenti sono stati validati per l'uso con Ulisse Faster DNA:

- Thermomixer® C (Eppendorf, AG; codice #5382)
- QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Inc.).

## B. Pretrattamento

### a. Pretrattamento con thermomixer

Scongelare i reagenti a temperatura ambiente (~ + 25 °C) per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi. Mantenere tutti i reagenti in ghiaccio durante la preparazione.

Preparare una provetta da 1,5 ml con tappo in polipropilene per ciascun campione da trattare e identificare la provetta con un pennarello indelebile.

Utilizzare una pipetta con punta anti-aerosol monouso per trasferire 80 µL dei campioni preparati nella provetta.

Utilizzare una pipetta con punta per aerosol monouso per trasferire 20 µL di Buffer P nella provetta in modo da avere un volume finale di 100 µL. I 100 µL risultanti devono essere miscelati brevemente al vortex, centrifugati e lasciati reagire su termomixer per 10 minuti a 56°C sotto agitazione a 400 giri al minuto e poi per 10 minuti a 98°C -100°C. Dopo aver raffreddato la provetta, centrifugarla a >9.000 g per 3 minuti e utilizzare il surnatante per caricare la Real Time PCR. I volumi residui di campioni biologici non trattati possono essere conservati tra -15°C e -25°C fino a 1 mese.

### b. Pretrattamento con un termociclatore PCR

Scongelare i reagenti a temperatura ambiente (~ + 25 °C) per 30 minuti. Mescolare delicatamente, centrifugare il contenuto per 5 secondi. Mantenere tutti i reagenti in ghiaccio durante la preparazione.

Utilizzare una pipetta con punta anti-aerosol monouso per trasferire 80 µL di ciascun campione preparato in un pozzetto della piastra PCR multipozzetto da 96 o in una striscia PCR da 8 provette o in una provetta PCR singola.

Utilizzare una pipetta con punta per aerosol monouso per trasferire 20 µL di Buffer P in ciascun pozzetto in modo da avere un volume finale di 100 µL.

Sigillare la piastra con pellicola adesiva o tappi per provette secondo le istruzioni per l'uso del produttore e caricare la piastra nello strumento PCR.

Eseguire il seguente protocollo: 10 minuti a 56°C e poi per 10 minuti a 98°C -100°C. Dopo aver raffreddato la provetta, centrifugarla a >9.000 g per 3 minuti e utilizzare il surnatante per caricare la Real Time PCR.

I volumi residui di campioni biologici non trattati possono essere conservati tra -15°C e -25°C fino a 1 mese.

Rapporto Campione : Buffer P	
Componente	Volume
Campione	80.00 µL
Buffer P	20.00 µL
Volume totale	100.00 µL

## Controllo di qualità

In conformità con il sistema di gestione della qualità certificato ISO di Ulisse BioMed, ogni lotto di Ulisse Faster DNA viene testato rispetto a specifiche predeterminate per garantire una qualità costante del prodotto.

## Risoluzione dei problemi

Problema / Errore	Possibile causa	Possibile soluzione
Risultati non validi nell'applicazione PCR downstream	Errore di pipettaggio.	Fare molta attenzione nel pipettaggio dei reagent.
	Errore nell'assemblaggio del pretrattamento. - Pretrattamento inadeguato.	Verificare di aver eseguito correttamente le istruzioni descritte nel paragrafo "Procedura". Ripetere il pretrattamento.
	Conservazione inadeguata dei reagent.	Utilizzare una nuova aliquota di reagenti o un nuovo kit.
	Presenza di DNase.	Usare consumabili privi di DNase.
	Campione inadeguato.	Verificare la compatibilità e l'adeguatezza del campione.
	Campione in scarsa quantità.	In caso di campioni citologici a base liquida, sedimentare una quantità maggiore di campione.
	Eccessiva quantità di campione. - Presenza di inibitori della PCR.	Provare a diluire il campione pretrattato 1:5.
	Raccolta, conservazione e/o trasporto del campione inadeguati.	Ripetere il pretrattamento o la raccolta del campione.
	Contaminazione chimica.	Provare a diluire il campione pretrattato 1:5. Con campioni citologici a base liquida ripetere la preparazione raddoppiando la fase di lavaggio con PBS e avendo cura di rimuovere la maggior parte della soluzione.
Contaminazione nell'applicazione PCR a valle	Contaminazione locale	Pulire l'area di preparazione del campione. Assicurarsi che vengano utilizzati dispositivi di protezione individuale adeguati per ridurre il rischio di contaminazione.
	Contaminazione dei reagent.	Utilizzare una nuova aliquota di Buffer P.
	Errore di pipettaggio.	Cambiare sempre la punta tra un campione e l'altro. Fare attenzione quando si dispensano reagenti e campioni.
	Errore di impostazione del pretrattamento.	Verificare di aver eseguito correttamente le istruzioni descritte nel paragrafo "Procedura".
	Errore nella chiusura della piastra.	Fare attenzione quando si sigilla la piastra o la provetta e seguire le istruzioni del produttore.

## **4. Limiti**

Le prestazioni del sistema sono state stabilite utilizzando tamponi vaginali e campioni citologici a base liquida per l'isolamento del DNA genomico e virale.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualsiasi procedura utilizzata nel proprio laboratorio che non sia coperta dagli studi sulle prestazioni di Ulisse Biomed.

Per ridurre al minimo il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, dovrebbero essere utilizzati controlli adeguati per le applicazioni a valle.

Tutti i risultati diagnostici generati devono essere interpretati insieme ad altri risultati clinici o di laboratorio.

## 5. Spiegazione dei simboli

Legenda dei simboli utilizzati nel manuale e sulle etichette.

Symbol	Explanation
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice del lotto
	Numero di catalogo
	Utilizzare entro la data
	Limiti della temperatura
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Contenuto sufficiente per <n> prove
	Non utilizzare se l'imballaggio non è integro e consultare le istruzioni per l'uso

## 6. Contatti

Contatta il tuo rappresentante locale Ulisse Biomed per assistenza.



Ulisse Biomed S.p.A.  
Via Camillo Benso di Cavour 20  
33100 - Udine (UD)  
Italy

Assistenza clienti e supporto tecnico: [support@ulissebiomed.com](mailto:support@ulissebiomed.com)

Per maggiori informazioni di contatto visita [www.ulissebiomed.com](http://www.ulissebiomed.com)

