

# PROTOCOLLO D'UTILIZZO



## **SALA OPERATORIA**

### **A) APERTURA PACKAGING**

Al momento dell'espianto (tessuti e/o biomateriali) aprire il dispositivo MicroDTTect® in sala operatoria il dispositivo si presenta in doppia busta (Figura 1), appoggiando la busta in posizione verticale su un piano e afferrare i lembi della stessa con entrambe le mani. Tirare contemporaneamente i lembi nella direzione mostrata dalle frecce (Figura 2) fino ad aprire la busta di carta polietilene per la metà della lunghezza complessiva. In seguito a tale apertura un operatore sterile provvederà ad aprire la busta PEHDS (Figura 3) e prelevare il contenuto (Figura 4).



Figura 1



Figura 2



Figura 3



Figura 4

### **B) APERTURA DELLA MINIGRIP**

Per aprire la minigrip è necessario afferrare i lembi con entrambe le mani ed eseguire un movimento longitudinale uguale e contrario rispetto all'asse di chiusura della minigrip (Figura 5).

Se si esegue il movimento errato come indicato (Figura 6) la minigrip oltre a non aprirsi potrebbe lacerarsi.

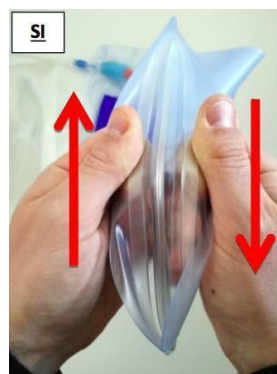


Figura 5

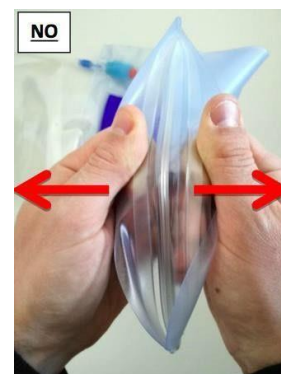


Figura 6

### **C) INSERIMENTO DEI CAMPIONI ESPIANTATI**

Al momento dell'espianto (tessuti e/o biomateriali) aprire sterilmente il dispositivo MicroDTTect® sul campo operatorio tramite minigrip e inserire al suo interno (Figura 7) tutti i campioni che devono essere analizzati. Il protocollo prevede la possibilità di eseguire sia l'analisi di un singolo campione espantato, di tessuto o biomateriale, sia l'analisi di un pooling di biomateriali e/o tessuti, inserendo tutto quello che viene espantato all'interno di un unico dispositivo in più tempi.

**ATTENZIONE:** E' importante utilizzare strumenti chirurgici puliti per prelevare l'espuntato/i e cambiare i guanti ogni volta che si procede all'inserimento dei campioni all'interno del MicroDTTect®, ciò per evitare cross contamination e sporcare la superficie esterna del dispositivo.

Se il/i campioni da analizzare toccano accidentalmente altre superfici, prima dell'inserimento nel MicroDTTect®, non possono essere utilizzati per le successive indagini di microbiologia.

#### D) CHIUSURA DEL DISPOSITIVO

Far fuoriuscire l'aria dalla sacca e chiudere il dispositivo in maniera ermetica tramite la minigrip (a) e in seguito tramite la clamp per la seconda chiusura di sicurezza (b) (Figura 8).



Figura 7: Inserimento dei campioni espuntati all'interno del dispositivo microDTTect

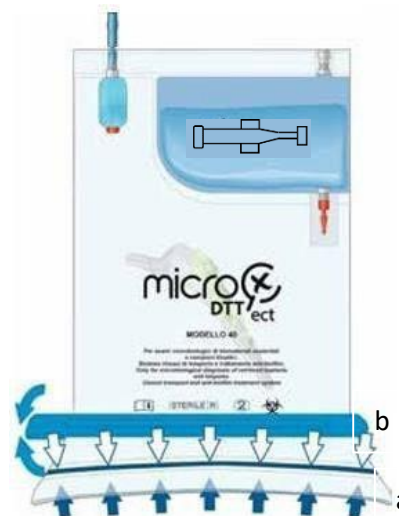


Figura 8: Chiusura del dispositivo

#### E) CONSEGNA DEL MATERIALE ESPIANTATO AL LABORATORIO

Al termine della raccolta del/i campioni all'interno del MicroDTTect® inviare al laboratorio di microbiologia per le specifiche indagini di laboratorio.

## **LABORATORIO**

### **F) APERTURA DELLA TASCA PORTA OGGETTI**

Per attivare l'apertura facilitata della tasca porta oggetti è necessario iniziare a tirare il PVC dalla punta in alto del sigillo a rombo (nel punto indicato dalla freccia rossa) nella direzione della freccia blu (Figura 9)



Figura 9



Figura 10

### **G) PREPARAZIONE SOLUZIONE DTT E APERTURA VALVOLA ROSSA**

Preparare la soluzione di DTT nella camera di contenimento, rompendo la strip/fialetta contenente la polvere, premere e rilasciare la stessa fino alla completa dissoluzione.

Successivamente aprire la valvola frangibile rossa in connessione tra le due camere e far fuoriuscire tutta la soluzione di DTT (ditiotreitolo) premendo sulla camera di contenimento della soluzione (Figura 10).

#### **NOTA:**

Se la processazione dei campioni viene effettuata in giornata: preparare la soluzione di DTT ed aprire immediatamente in laboratorio la valvola frangibile rossa per bagnare i campioni espuntati.

Se la processazione dei campioni viene effettuata il giorno successivo o entro le 48h dall'espianto: preparare la soluzione di DTT ed aprire in laboratorio la valvola frangibile rossa e conservare il device in posizione orizzontale in frigo a 4°C. Al momento della processazione, lasciare il device qualche minuto a temperatura ambiente e continuare l'analisi.

Se la processazione dei campioni viene effettuata in tempi superiori alle 48h ed entro le 72h: conservare il dispositivo in posizione orizzontale in freezer a -20°C senza aprire la valvola frangibile rossa. Al momento della processazione, scongelare il device, preparare la soluzione di DTT ed aprire la valvola frangibile rossa e continuare con l'analisi.

## H) POSIZIONARE IL DISPOSITIVO SULL'AGITATORE

Porre il dispositivo sull'agitatore meccanico (80 rpm) per 15 minuti per permettere alla soluzione di DTT di dissolvere il biofilm presente sul campione (Figura 11). È possibile manipolare il campione manualmente per facilitare l'azione del solvente.



Figura 11

## I) ESTRAZIONE DELL'ELUATO

Trascorso il tempo necessario, porre il MicroDTTect® sotto cappa a flusso laminare, aprire la valvola frangibile blu (Fig.12) per connettere la camera di contenimento dei campioni con il sistema di estrazione.

In seguito, prelevare il liquido dalla camera di contenimento del campione attraverso la siringa (Figura 13), aprire le clamp blu e trasferire il liquido nelle provette dedicate (Figura 14) riempiendole fino al livello massimo consentito. Al termine, chiudere le clamp blu per ogni tubo.



Figura 12

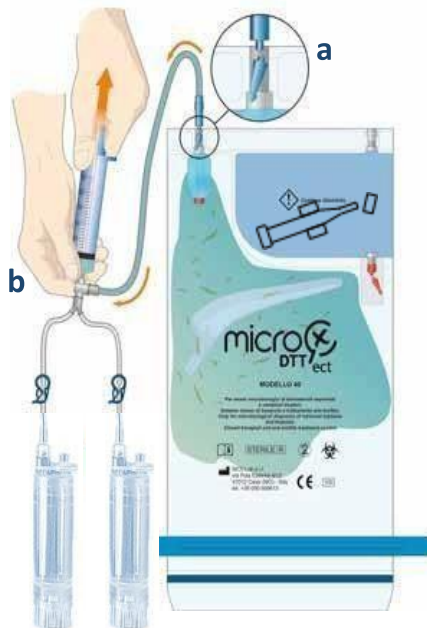


Figura 13



Figura 14

**J) EMOCOLTURA (Opzione facoltativa)**

Svitare il tappo di protezione (a) dalla porta luer-lock (2), posta sulla base inferiore della provetta e utilizzare la camicia di protezione (J), in dotazione, per inoculazione nei flaconi da emocoltura per microrganismi aerobi e anaerobi (Figura 15)

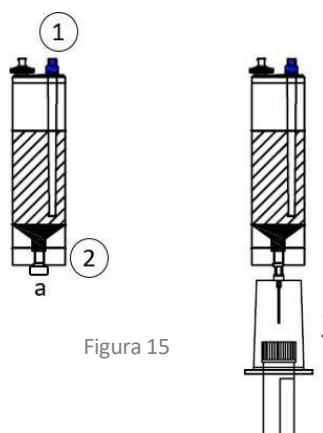


Figura 15

Riavvitare il tappino (a) per le successive fasi.

**K) CENTRIFUGAZIONE**

Disconnettere le provette dal dispositivo e posizionarle in centrifuga per 10 min a 3200rpm. (Figura 16)



Figura 16

**L) PRELIEVO DEL SURNATANTE E DEL PELLET**

A fine ciclo tramite la porta luer-lock (1) posta sulla parte superiore della provetta, prelevare il surnatante dalla provetta connettendo una siringa luer lock (Figura 17).

Agitare la provetta per permettere alla sfera presente all'interno della stessa di risospendere il pellet

Tramite la porta (2) posta sulla parte inferiore della provetta connettere una siringa luer lock e prelevare 100 µl di pellet (Figura 18) e procedere alla semina nei terreni solidi

selettivi e nei brodi arricchiti secondo la procedura di laboratorio (Figura 19).

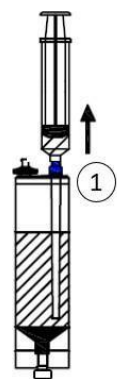


Figura 17

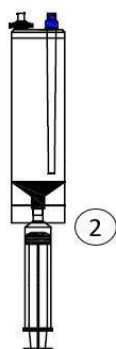


Figura 18

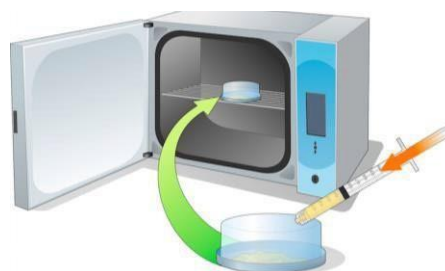


Figura 19