

# Magnetic DNA/RNA Extraction kit

Testkit für die DNA/RNA Extraktion basierend auf Guanidiniumthiocyanat Lyse und der Sorption an magnetische Partikel

*Gebrauchsanweisung: Seite 3*

Kit for DNA/RNA extraction based on guanidine thiocyanate lysis and sorption to magnetic beads

*Instructions for use: page 15*

Kit per l'estrazione di DNA/RNA basato su lisi di tiocianato di guanidinio e assorbimento su biglie magnetiche  
Istruzioni per l'uso: pagina 25

IVD









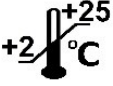











80-06

REF



100 Extraktionen  
100 extractions  
100 Estrazioni

# 1. KENNZEICHEN / SYMBOLS LEGENDS / LEGENDA SIMBOLI

	In vitro Diagnostikum In vitro diagnostic medical device Dispositivo medico diagnostico in-vitro		EG-Konformitätserklärung EC Declaration of conformity Dichiarazione di Conformità CE
	Katalognummer Catalogue number Codice di riferimento		Chargenbezeichnung Batch code Lotto
	Verwendbar bis Use by Data di scadenza		Hersteller Manufacturer Produttore
	Herstellungsdatum Date of manufacture Data di fabbricazione		Gebrauchsanweisung beachten Consult operating instructions Consultare la Metodica operativa
	Temperaturbegrenzung Temperature limitation Temperatura di conservazione		Ausreichend für <n> Extraktionen Contains sufficient for <n> extractions Contenuto sufficiente per <n> estrazioni
	Negativkontrolle Negative control Controllo negativo		Elutionspuffer Elution buffer Tampone di eluizione
	Lysepuffer Lysis buffer Tampone di lisi		Sorptionslösung Sorption solution Soluzione di assorbimento
	Interne Kontrolle Internal Control Controllo interno		Positivkontrolle Positive control Controllo positivo
	Magnetische Partikel Suspension Magnetic Beads Suspension Sospensione di biglie magnetiche		Waschlösung 1 Washing solution 1 Soluzione di lavaggio 1
	Waschlösung 2 Washing solution 2 Soluzione di lavaggio 2		Waschlösung 3 Washing solution 3 Soluzione di lavaggio 3

## 2. VERWENDUNGSZWECK

Das **Magnetic DNA/RNA Extraction kit** ist für die gleichzeitige Isolierung von viraler, bakterieller und menschlicher DNA und RNA aus klinischen Proben bestimmt: Blutplasma, Speichel, Abstriche (nasopharyngeal, bukkal, urogenital) und Urin. Die DNA/RNA eignet sich für weitere Nukleinsäure-Amplifikationstests einschließlich Real-Time PCR und RT-PCR. Der Kit ist für 100 Extraktionen ausgelegt.

## 3. TESTPRINZIP

Das **Magnetic DNA/RNA Extraction kit** basiert auf dem Prinzip das die Nukleinsäuren an die Oberfläche der magnetischen Beads binden, anschließend erfolgen Waschschriffe und die Elution der gereinigten Nukleinsäuren.

## 4. PACKUNGSIHALT

<b>LB</b>	<b>Lysispuffer</b>	1 Fläschchen - 30 mL
<b>SS</b>	<b>Sorptionslösung</b>	1 Fläschchen - 30 mL
<b>W1</b>	<b>Waschlösung 1</b>	3 Fläschchen - 3x50 mL
<b>W2</b>	<b>Waschlösung 2</b>	1 Fläschchen - 50 mL
<b>W3</b>	<b>Waschlösung 3</b>	1 Fläschchen - 20 mL
<b>EB</b>	<b>Elutionspuffer</b>	1 Fläschchen – 10 mL
<b>NC</b>	<b>Negativkontrolle</b>	1 Mikrozentrifugen-Röhrchen - 1.5 mL
<b>MBS</b>	<b>Magnetische Partikel Suspension</b>	1 Mikrozentrifugen-Röhrchen - 1.1 mL

**Anmerkung:** Wenn die extrahierte DNA/RNA für die anschließende Analyse mit den Infektionskits von Astra Biotech bestimmt ist, soll die in diesen PCR-Kits enthaltene interne Kontrolle **IC** für das Extraktionsverfahren mit dem **Magnetic DNA/RNA Extraction kit** eingesetzt werden.

## 5. ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE REAGENZIEREN, MATERIALIEN UND EQUIPMENT

- Biosicherheitskammer;
- Interne Kontrolle **IC** aus dem jeweiligen PCR-Diagnosekit (optional);
- Heizblock oder Thermoschüttler (heizbar bis +65 °C), geeignet für 1,5 mL-Röhrchen;
- Vortexer (bis 2.400 rpm);
- Magnetische Reaktionsgefäßständer;
- Gestell für Mikrozentrifugen-Gefäße;
- Mikrozentrifuge (max. Drehzahl 13.000 rpm), geeignet für 1,5-mL-Röhrchen (nur für die Probenvorbereitung);
- Medizinische Absaugvorrichtung;
- Pipettenspitzen ohne Filter (bis zu 200 µL) für den Einsatz mit medizinischer Absaugvorrichtung;
- 2 separate Pipettensätze für DNA-freie und DNA-haltige Komponenten (20-200 µL; 100-1.000 µL);
- Filterspitzen (100; 200 und 1.000 µL);
- RNase/DNase freie Mikrozentrifugenröhrchen (1,5 mL);
- 15 mL Zentrifugenröhrchen (konisch);

- DNA-Arbeitsplatz mit separater Laborschutzbekleidung;
- Abfallgefäß mit Desinfektionsmittel;
- 0,9 %ige Natriumchloridlösung und Transportmedium.

## 6. LAGERUNG UND STABILITÄT DES KITS

Das Verfallsdatum des Kits ist auf dem Außenetikett angegeben, das Verfallsdatum für die einzelnen Komponenten ist auf dem jeweiligen Etikett angegeben. Das **Magnetic DNA/RNA Extraction kit** kann im Originalkarton bei +2...+25°C während der gesamten Haltbarkeitsdauer gelagert werden.

## 7. PROBENLAGERUNG

Proben	Temperaturbereich	Stabilität
Blutplasma	+2...+8 °C	5 Tage
	-18...-22 °C	1 Jahr
	-68...-72 °C	Langfristig
Abstriche und Urinproben	+18...+25 °C	2 Tage
	+2...+8 °C	4 Tage (2 Wochen für Urin)
	-18...-22 °C	Langfristig
Speichel	+18...+25 °C	6 Stunden
	+2...+8 °C	1 Woche
	-18...-22 °C	1 Monat
	-68...-72 °C	Langfristig

## 8. PROBENVORBEREITUNG

### • **Urinproben**

Schütteln Sie den Becher mit der Urinprobe. 1 mL Urin in ein neues 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen überführen. Bei 13.000 rpm für 5 Minuten zentrifugieren. Den Überstand mit einem medizinischen Absauggerät entfernen. 0,9 %ige NaCl-Lösung hinzufügen, um ein Gesamtvolumen von 200 µL zu erhalten. So lange vortexen, bis sich das Pellet auflöst.

### • **Speichel-Auswaschproben**

Mund mit 10 mL 0,9 %iger Natriumchloridlösung für 10-15 s gründlich ausspülen. Flüssigkeit in einem sterilen 15 mL Mikrozentrifugenröhrchen auffangen. Bei 3.000 rpm für 3 min zentrifugieren. Etwa 9 mL des Überstands mit einem medizinischen Absauggerät entfernen. Das Restvolumen sollte etwa 0,5-1 mL (Pellet und flüssige Phase) betragen. 200 µL des Transportmediums hinzufügen. So lange vortexen, bis sich das Pellet auflöst.

### • **Tupfer und Schabeproben**

Nehmen Sie den Tupfer mit einem geeigneten Werkzeug. Nach der Probenentnahme Tupfer in ein verschlossenes 1,5-mL-Mikrozentrifugenröhrchen mit Transportmedium geben und 15 s lang drehen. Vermeiden Sie das Spritzen der Lösung. Restflüssigkeit aus dem Tupfer auspressen und den Tupfer verwerfen.

### • **Blutplasma**

Zur Gewinnung von Blutplasma Vollblut mit Antikoagulans bei 3.000 rpm für 20 min bei Raumtemperatur (+18...+25 °C)

zentrifugieren. Den Überstand in ein 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen überführen.

## 9. TESTDURCHFÜHRUNG

**Anmerkung:** Falls keine anschließende Analyse mit Astra Biotech Infektions-PCR-Kits erfolgt, werden die Schritte D, E und G übersprungen.

**A.** Heizblock auf +65 °C vorheizen.

**B.** Den Lysepuffer **LB** auf Ausfällung prüfen. Falls **LB** einen Niederschlag bildet, sollte er erhitzt werden, bis sich der Niederschlag auflöst. Anschließend Flasche vor der Verwendung kurz schütteln und bei Raumtemperatur abkühlen lassen.

**C.** Bereiten Sie je nach Anzahl der Proben die benötigte Menge an 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen vor und beschriften Sie diese.

**Anmerkung:** Bei nachfolgender Verwendung der Astra Biotech PCR Infektionskits: Ein 1,5 mL Mikrozentrifugenröhrchen für die Negativkontrolle vorbereiten und mit „NK“ markieren. **NC** muss gleichzeitig mit den klinischen Proben im „NK“-Gefäß extrahiert werden.

**D.** Das **IC** -Röhrchen für die interne Kontrolle gut vortexen und dann kurz für 2-3 s bei 1.500-2.400 rpm zentrifugieren.

**E.** 20 µL **IC** in jedes vorbereitete Mikrozentrifugenröhrchen (einschließlich "NK") geben.

- F. 300 µL **LB** in jedes vorbereitete Mikrozentrifugenröhrchen geben.
- G. 200 µL **NC** in das mit "NK" beschriftete Mikrozentrifugenröhrchen geben.
- H. 200 µL der klinischen Probe in die Mikrozentrifugenröhrchen geben.
- I. für 3-5 s vortexen und kurz zentrifugieren.
- J. Bei +65 °C für 10 Minuten inkubieren. Alle 2 min für 1-2 s vortexen. Bei Verwendung eines Thermoschüttlers 1.300 rpm einstellen.
- K. Röhrchen zurück in das Gestell stellen, für 2-3 min abkühlen lassen und dann kurz zentrifugieren.
- L. **MBS** durch Vortexen mischen, bis die magnetischen Partikel vollständig resuspendiert sind.
- M. In jedes Röhrchen 300 µL **SS** und 20 µL **MBS** geben, kurz vortexen und dann 5 min inkubieren lassen.
- N. Erneut kurz vortexen und für 3 min. in den Magnetständer überführen. Sicherstellen, dass die magnetischen Partikel vollständig an die Röhrchenwand gegen den Magneten pelletiert sind.
- O. Überstand vorsichtig absaugen, dabei vermeiden, dass das Magnetpartikel-Pellet berührt wird.

**Anmerkung:** *Verwenden Sie nicht die gleiche Spitze für verschiedene Proben.*



- P.** Rörchen sofort in das Gestell überführen und 700  $\mu\text{L}$  **W1** hinzufügen, indem der Puffer über das Magnetpartikel-Pellet gegossen wird, um es von der Wand abzuwaschen, anschließend vortexen, um die Magnetpartikel vollständig zu resuspendieren.
- Q.** Rörchen für 2 min in den Magnetständer stellen. Sicherstellen, dass die magnetischen Partikel an die Rörchenwand gegen den Magneten pelletiert werden.
- R.** Überstand vorsichtig absaugen und dabei vermeiden, dass die magnetischen Partikel das Pellet berühren.
- S.** Wiederholen der Schritte P-R.
- T.** Wiederholen der Schritte P-R mit 500  $\mu\text{L}$  **W2**.
- U.** Wiederholen der Schritte P-R mit 200  $\mu\text{L}$  **W3**.
- V.** Nach dem letzten Waschen die Rörchen auf dem Magnetständer lassen und das Magnetpartikel-Pellet 4 min lang bei geöffneten Rörchendeckeln lufttrocknen. Lassen Sie das Pellet aber nicht zu lange trocknen!
- W.** Rörchen im Rack überführen, 100  $\mu\text{L}$  **EB** zugeben, kurz vortexen, dann kurz zentrifugieren und dann im Wärmeblock bei +65 °C für 5 min inkubieren.
- X.** Rörchen in das Gestell überführen, 2-3 min abkühlen lassen, kurz vortexen und anschließend kurz zentrifugieren.
- Y.** Rörchen für 2 min in den Magnetständer stellen. Sicherstellen, dass die magnetischen Partikel an die Rörchenwand gegen den Magneten pelletiert werden.

**Z.** Den Überstand, der die gereinigten Nukleinsäuren enthält, abnehmen und in ein neues Mikrozentrifugenröhrchen überführen. Magnetpartikel-Pellet dabei nicht berühren. Es wird empfohlen, 5 µL je Probe für eine nachfolgende RNA-Reverse-Transkription und 10 µL für die PCR mit DNA als Template zu verwenden.

**Anmerkung:** Bei längerem Gebrauch wie empfohlen lagern:

*Für RNA: bei +2 ... +8 °C für bis zu 4 Stunden; bei -20 °C für bis zu 1 Monat; bei -70 °C für bis zu 1 Jahr;*

*Für DNA: bei +2 ... +8 °C für bis zu 7 Tage; bei -20 °C für bis zu 1 Jahr.*

## **10. TROUBLESHOOTING**

### 1. Geringe Ausbeute an DNA/RNA

- Das Volumen der hinzugefügten Probe ist zu groß. Die in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen Volumina dürfen nicht überschritten werden.
- Die Probe kann alt oder abgebaut sein. Lagern Sie die Proben angemessen oder verwenden Sie frische Proben.
- Die Probe ist unzureichend aufgeschlossen worden. Lysepuffer erwärmen, bis sich der Niederschlag vollständig aufgelöst hat.
- Pellet ist unvollständig aufgelöst. Pellets nicht zu lange trocknen lassen.

### 2. Nachgeschaltete Anwendungen werden gehemmt

- Rückstände von Waschpuffer in der gereinigten DNA/RNA: Entfernen Sie sorgfältig alle Waschlösungen so weit wie

möglich, und trocknen Sie dann die Pellets, wie es im Verfahren vorgesehen ist.

### 3. DNA/RNA wird abgebaut

- Die Probe wurde wiederholt eingefrorenen und aufgetaut. Vermeiden Sie wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen, verwenden Sie sofort frische Präparate.
- Ungeeignete Lagerbedingungen. Lagern Sie Proben und Komponenten wie in den Protokollen beschrieben.

## **11. TESTCHARAKTERISTIKA**

Die erwartete Ausbeute an genomischer DNA/RNA wird je nach Menge und Art des verwendeten Ausgangsmaterials variieren. Die Effizienz der Extraktion beträgt mindestens 85 %.

## **12. QUALITÄTSKONTROLLE**

Die Qualität der mit dem Kit erhaltenen DNA/RNA kann folgender Maßen beurteilt werden:

- durch die Analyse der internen Kontrolle falls nachfolgende Analysen mit einem Astra Biotech Infektions-PCR-Kit durchgeführt werden;
- durch DNA/RNA-Gelelektrophorese mit einem 1 %igen Agarose-Gel.

### 13. VORSICHTSMAßNAHMEN

Der Benutzer sollte die Gebrauchsanweisung sorgfältig befolgen, um zuverlässige Daten zu erhalten.



Lysepuffer **LB**, Sorptionslösung **SS**, Waschlösung 1 **W1**, Waschlösung 2 **W2** und Waschlösung 3 **W3** sind schädlich und reizend und können ernste Augenschäden verursachen. Die folgenden Vorsichtsmaßnahmen sollten beachtet werden:

- Waschen Sie sich nach der Verwendung gründlich die Hände.
- Während der Anwendung dieses Produkts nicht essen, trinken oder rauchen.
- Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/ Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
- Vermeiden Sie das Einatmen von Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dämpfe/ Aerosol.
- Nur im Freien oder in einem gut belüfteten Bereich verwenden.
- In einem gut belüfteten Bereich lagern.
- NACH DEM EINATMEN: betroffene Person an die frische Luft bringen und in einer für die Atmung bequemen Position ruhen lassen. Bei Unwohlsein die Giftzentrale oder einen Arzt anrufen. Kein Erbrechen herbeiführen.
- NACH DEM VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein die Giftzentrale oder einen Arzt anrufen. Mund ausspülen.

- BEI KONTAKT MIT DER HAUT: sofort alle verunreinigten Kleidungsstücke ausziehen, Haut mit viel Seife und Wasser abspülen/ duschen. Bei Unwohlsein die Giftzentrale oder einen Arzt anrufen.
- BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang vorsichtig mit Wasser ausspülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Spülen Sie weiter.
- Verschmutzte Kleidung vor der Wiederverwendung waschen.



Sorptionslösung **SS**, Waschlösung 1 **W1**, Waschlösung 2 **W2** und Waschlösung 3 **W3** sind leicht entzündliche Flüssigkeiten.



Lysepuffer **LB** und Waschlösung 1 **W1** sind schädlich für Wasserlebewesen. Vermeiden Sie eine Freisetzung in die Umwelt.

Vorsichtshinweise gemäß Verordnung (EG) № 1272/2008.

- Um die Kontamination zu vermeiden:
  - verwenden Sie zwei separate Pipettensätze für DNA-freie und DNA-haltige Komponenten,
  - verwenden Sie Filterspitzen,
  - Verwenden Sie nicht dieselbe Spitze für zwei verschiedene Komponenten, weder DNA-frei noch DNA-haltig.
- Verwenden Sie den Kit nicht nach dem Verfallsdatum.

- Vereinigen Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen oder aus verschiedenen Flaschen derselben Charge. Unmittelbar nach der Verwendung alle Flaschen verschließen, um ein Auslaufen zu vermeiden. Nach dem Öffnen sind alle Flaschen und Fläschchen in aufrechter Position zu lagern.
- Bei Verwendung mehrerer Astra Biotech Infektions Real-Time PCR Kits ist darauf zu achten, dass die **IC** aus der letzten Charge verwendet wird.

## 2. INTENDED USE

**Magnetic DNA/RNA Extraction kit** is designed for simultaneous isolation of viral, bacterial, and human DNA and RNA from clinical samples: blood plasma, saliva, swabs (nasopharyngeal, buccal, and urogenital), and urine for further nucleic acid amplification testing including Real-Time PCR and RT-PCR. The Kit is designed for 100 extractions.

## 3. PRINCIPLE OF THE TEST

**Magnetic DNA/RNA Extraction kit** uses the principle of nucleic acids binding to surface of magnetic beads, with subsequent washing steps and elution of purified nucleic acids.

## 4. MATERIALS PROVIDED

<b>LB</b>	<b>Lysis buffer</b>	1 bottle - 30 mL
<b>SS</b>	<b>Sorption solution</b>	1 bottle - 30 mL
<b>W1</b>	<b>Washing solution 1</b>	3 bottles - 3x50 mL
<b>W2</b>	<b>Washing solution 2</b>	1 bottle - 50 mL
<b>W3</b>	<b>Washing solution 3</b>	1 bottle - 20 mL
<b>EB</b>	<b>Elution buffer</b>	1 bottle – 10 mL
<b>NC</b>	<b>Negative control</b>	1 microcentrifuge tube -1.5 mL
<b>MBS</b>	<b>Magnetic Beads Suspension</b>	1 microcentrifuge tube -1.1 mL

**Note:** *If extracted DNA/RNA is intended for the subsequent analysis with Astra Biotech Infectious PCR kits, internal control*

**IC** contained in these PCR kits should be used for the extraction procedure with the **Magnetic DNA/RNA Extraction kit**.

## **5. EQUIPMENT AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED**

- Biosafety cabinet;
- Internal Control **IC** from the respective PCR diagnostic kit (optional);
- Heating block or thermo-shaker (temperature up to +65°C) suitable for 1.5 mL tubes;
- Vortex mixer (maximum speed 2,400 rpm);
- Magnetic separation stands;
- Microcentrifuge tubes rack;
- Microcentrifuge (max. speed 13,000 rpm) suitable for 1.5 mL tubes (for sample preparation only);
- Medical aspirator;
- Non-filter pipette tips (up to 200 µL) for use with medical aspirator;
- 2 separate sets of pipettes for DNA-free and DNA-containing components (20-200 µL; 100-1,000 µL);
- Filter tips (100; 200 and 1,000 µL);
- Disposable 1.5 mL microcentrifuge tubes, RNase/DNase free;
- 15 mL conical centrifuge tubes;
- DNA-zone-only working area with separate protective laboratory clothing;



- Waste bin with disinfectant;
- 0.9 % sodium chloride solution and transport medium.

## 6. STORAGE CONDITIONS AND STABILITY OF THE KIT

The expiry date of the kit is stated on the box label, expiry date for each component is indicated on the respective label. **Magnetic DNA/RNA Extraction kit** can be stored in the original kit box at +2...+25 °C during the entire shelf life.

## 7. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

Type	Conditions	Stability time
Blood plasma	+2...+8 °C	5 days
	-18...-22 °C	1 year
	-68...-72 °C	Longtime stability
Swabs and urine samples	+18...+25 °C	2 days
	+2...+8 °C	4 days (2 weeks for urine)
	-18...-22 °C	Longtime stability
Saliva	+18...+25 °C	6 hours
	+2...+8 °C	1 week
	-18...-22 °C	1 month
	-68...-72 °C	Longtime stability

## 8. SAMPLE PREPARATION

- **Urine samples**

Shake the urine specimen cup. Transfer 1 mL of urine into new 1.5 mL microcentrifuge tube. Centrifuge at 13,000 rpm for 5 min. Remove the supernatant using medical aspirator. Add 0.9 % NaCl solution to obtain overall volume of 200  $\mu$ L. Vortex thoroughly until pellet dissolves.

- **Saliva-Mouthwash samples**

Rinse mouth thoroughly with 10 mL of 0.9 % sodium chloride solution during 10-15 s. Collect fluid in sterile 15 mL microcentrifuge tube. Centrifuge at 3,000 rpm for 3 min. Remove approximately 9 mL of the supernatant using medical aspirator. Residual volume should be approximately 0.5-1 mL (pellet and liquid phase). Add 200  $\mu$ L of transport medium. Vortex thoroughly until pellet dissolves.

- **Swabs and scrapes samples**

Collect the swabs with a suitable tool. After specimen collection place swab into a capped 1.5 mL microcentrifuge tube with transport medium and rotate it for 15 s. Avoid splashing the solution. Squeeze out residual liquid from the swab and discard the swab.

- **Blood plasma**

To obtain blood plasma centrifuge whole blood with anticoagulant at 3,000 rpm for 20 min at room temperature (+18...+25 °C). Transfer the supernatant into 1.5 mL microcentrifuge tube.

## 9. ASSAY PROCEDURE FOR DNA/RNA EXTRACTION

**Note:** In case of *no* subsequent analysis with Astra Biotech Infectious PCR kits is followed; skip steps D, E and G.

- A. Preheat a heating block to +65°C.
- B. Check the Lysis buffer **LB** for precipitation. If **LB** forms a precipitate, it should be heated until the precipitate dissolves. Shake the bottle briefly and allow cooling to room temperature before use.
- C. Prepare and label required quantity of 1.5 mL microcentrifuge tubes equal to the number of samples.

**Note:** In case of subsequent analyses with Astra Biotech Infectious PCR kits: take one 1.5 mL microcentrifuge tube for negative extraction control and label as “NEC”. **NC** must be extracted simultaneously with clinical samples in “NEC” tube.

- D. Vortex thoroughly Internal control **IC** tube then centrifuge briefly for 2-3 s at 1,500-2,400 rpm.
- E. Add 20 µL **IC** into each prepared microcentrifuge tube (including “NEC”).
- F. Add 300 µL **LB** into each prepared microcentrifuge tube.
- G. Add 200 µL **NC** to the microcentrifuge tube marked as “NEC”.
- H. Add 200 µL of clinical sample to microcentrifuge tubes.
- I. Briefly vortex for 3-5 s and spin down by short centrifugation.
- J. Incubate at +65 °C for 10 min. Vortex tube every 2 min for 1-2 s. If thermo-shaker is used, set up 1,300 rpm.

- K.** Transfer tubes back to the rack, cool for 2-3 min, and then spin down by short centrifugation.
- L.** Mix **MBS** by vortexing until magnetic beads completely resuspended.
- M.** To each tube add 300  $\mu\text{L}$  **SS** and 20  $\mu\text{L}$  **MBS**, briefly vortex and then let stand for 5 min.
- N.** Briefly vortex again and place in magnetic stand for 3 min. Ensure that magnetic beads completely pelleted to the tube wall against magnet.
- O.** Carefully aspirate supernatant, avoiding touching magnetic beads pellet.

**Note:** Do not use the same tip for different samples.

- P.** Immediately transfer tubes in the rack and add 700  $\mu\text{L}$  **W1** by pouring it over magnetic beads pellet to wash it from the wall, and then vortex to completely resuspend magnetic beads.
- Q.** Place tubes in magnetic stand for 2 min. Ensure that magnetic beads pelleted to the tube wall against magnet.
- R.** Carefully aspirate supernatant, avoiding touching magnetic beads pellet.
- S.** Repeat steps **P-R**.
- T.** Repeat steps **P-R** using 500  $\mu\text{L}$  **W2**.
- U.** Repeat steps **P-R** using 200  $\mu\text{L}$  **W3**.
- V.** After last wash, leave tubes on magnetic stand and air-dry magnetic beads pellet for 4 min with the tubes lids open.  
**Do not allow the pellet to overdry!**
- W.** Transfer tubes in rack, add 100  $\mu\text{L}$  **EB**, briefly vortex, spin down by short centrifugation and then incubate in heat block at +65°C for 5 min.

- X. Transfer tubes to rack, cool for 2-3 min, briefly vortex and spin down by short centrifugation.
- Y. Place tubes in magnetic stand for 2 min. Ensure that magnetic beads pelleted to the tube wall against magnet.
- Z. Avoiding touching magnetic beads pellet, carefully collect supernatant, containing purified nucleic acids, and transfer it to fresh microcentrifuge tubes. It is recommended to use 5  $\mu\text{L}$  for PCR reaction with RNA reverse transcription step, and 10  $\mu\text{L}$  for PCR with DNA as template.

**Note:** For prolonged use, store as recommended:

*For RNA: at +2 ... +8 °C for up to 4 hrs; at -20 °C for up to 1 months; at -70 °C for up to 1 year;*

*For DNA: at +2 ... +8 °C for up to 7 days; at -20 °C for up to 1 year.*

## 10. TROUBLESHOOTING

### 1. Low yield of DNA/RNA

- Volume of added specimen is too large. Do not exceed volumes designated in this manual.
- Specimen may be old or degraded. Store specimens appropriately or use fresh specimens.
- Specimen inefficiently disrupted. Warm Lysis buffer until the precipitate dissolves completely.
- Pellet is dissolved incompletely. Do not overdry pellets.

### 2. Downstream applications are inhibited

Residual Washing solutions in purified DNA/RNA:

Carefully remove all Washing solutions as much as possible then dry pellets as consisted with procedure.

### 3. DNA/RNA is degraded

- Sample was undergone repeated frozen-thaw cycles. Avoid repeated frozen-thaw cycles, use fresh preparations immediately.
- Inappropriate storage conditions. Store samples and components as consisted with protocols.

## 11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS OF THE ASSAY

Expected yields of genomic DNA/RNA will vary depending on the amount and type of starting material used. The efficiency of extraction is not less than 85 %.

## 12. QUALITY CONTROL

The quality of obtained DNA/RNA with the kit can be assessed:

- by analysis of internal control in case of subsequent analyses with Astra Biotech Infectious PCR kits;
- by DNA/RNA gel electrophoresis on a 1 % agarose.

## 13. SAFETY PRECAUTIONS

The operator should thoroughly follow the manual to obtain the reliable data.



Lysis buffer **LB** , Sorption solution **SS** , Washing solution 1 **W1** , Washing solution 2 **W2** and Washing solution 3 **W3** are harmful, irritant and can cause serious eye damage; the following precautions should be observed:

- Wash the hands thoroughly after handling.

- Do not eat, drink or smoke when using this product.
- Wear protective gloves/ protective clothing/eye protection/ face protection.
- Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapors/ spray.
- Use only outdoors or in a well-ventilated area.
- Store in a well-ventilated area.
- IF INHALED: remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. Call a poison center or doctor/physician if you feel unwell. Do not induce vomiting.
- IF SWALLOWED: call a poison center or doctor/physician if you feel unwell. Rinse mouth.
- IF ON SKIN: remove/ take off immediately all contaminated clothes, rinse skin with plenty of soap and water/ shower. Call a poison center or doctor/physician if you feel unwell.
- IF IN EYES: rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses if present and easy to do. Continue rinsing.
- Wash contaminate clothing before reuse.



Sorption solution **SS**, Washing solution 1 **W1**, Washing solution 2 **W2** and Washing solution 3 **W3** are highly flammable liquids.



Lysis buffer **LB** and Washing solution 1 **W1** are harmful for aquatic life. Avoid release to the environment.

Precautionary statements according to Regulation EC № 1272/2008.

- To avoid the contamination:
  - use two separate pipette sets for DNA-free and DNA-containing components,
  - use filter tips,
  - do not use the same tip for two different components, neither DNA-free nor DNA-containing.
- Do not use the kit after its expiration date.
- Do not pool reagents from different lots or from different bottles of the same lot. Immediately after use, close all bottles in order to avoid leakage. After opening, store all bottles and vials in an upright position.
- In case of using several Astra Biotech Infectious Real-Time PCR kits be sure of using **IC** from latest lot.



## 2. UTILIZZO PREVISTO

Il **Kit per l'estrazione di DNA/RNA mediante biglie magnetiche** è progettato per l'isolamento simultaneo di DNA e RNA virali, batterici e umani da campioni clinici: plasma del sangue, saliva, tamponi (rinofaringeo, buccale e urogenitale) e urina, per ulteriori test di amplificazione degli acidi nucleici, inclusi Real-Time PCR e RT-PCR. Il kit è progettato per 100 estrazioni.

## 3. PRINCIPIO DEL TEST

Il **Kit per l'estrazione di DNA/RNA mediante biglie magnetiche** utilizza il principio secondo il quale gli acidi nucleici si legano alla superficie di biglie magnetiche, con successive fasi di lavaggio ed eluizione di acidi nucleici purificati.

## 4. MATERIALI FORNITI

<b>LB</b>	<b>Tampone di lisi</b>	1 bottiglia – 30 mL
<b>SS</b>	<b>Soluzione di assorbimento</b>	1 bottiglia - 30 mL
<b>W1</b>	<b>Soluzione di lavaggio 1</b>	3 bottiglie - 3x50 mL
<b>W2</b>	<b>Soluzione di lavaggio 2</b>	1 bottiglia - 50 mL
<b>W3</b>	<b>Soluzione di lavaggio 3</b>	1 bottiglia - 20 mL
<b>EB</b>	<b>Tampone di eluizione</b>	1 bottiglia – 10 mL
<b>NC</b>	<b>Controllo negativo</b>	1 provetta per microcentrifuga - 1.5 mL
<b>MBS</b>	<b>Sospensione di biglie magnetiche</b>	1 provetta per microcentrifuga - 1.1 mL

**Nota:** se il DNA/RNA estratto è destinato alla successiva analisi con i kit PCR per malattie infettive Astra Biotech, è necessario utilizzare controllo interno contenuto in questi kit PCR per la procedura di estrazione con il **Kit per l'estrazione di DNA/RNA mediante biglie magnetiche**.

## **5. ATTREZZATURE E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI**

- Cappe di biosicurezza;
- Controllo interno **IC** del rispettivo kit diagnostico PCR (facoltativo);
- Piastra riscaldante o agitatore termico (temperatura fino a +65°C) adatto per provette da 1,5 mL;
- Agitatore a vortice (velocità massima 2.400 giri/min);  
Supporti di separazione magnetica;
- Rack per provette per microcentrifuga;
- Microcentrifuga (velocità massima 13.000 giri/min) adatta per provette da 1,5 mL (solo per la preparazione dei campioni);
- Aspiratore medicale;
- Puntali per pipette senza filtro (fino a 200 µL) per l'uso con l'aspiratore medicale;
- 2 set separati di pipette per componenti privi di DNA e componenti contenenti DNA (20-200 µL; 100-1.000 µL);
- Puntali con filtro (100; 200 e 1.000 µL);
- Provette monouso per microcentrifuga da 1,5 ml, prive di RNasi/DNasi;
- Provette coniche per centrifuga da 15 mL;

- Area di lavoro con zona riservata alle operazioni sul DNA, provvista di indumenti protettivi dedicati;
- Pattumiera con disinfettante;
- Soluzione di cloruro di sodio allo 0,9% e mezzo di trasporto.

## 6. CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEL KIT

La data di scadenza del kit è indicata sull'etichetta della confezione, la data di scadenza per ciascun componente è indicata sull'etichetta corrispondente. Il **Kit per l'estrazione di DNA/RNA mediante biglie magnetiche** può essere conservato nella sua confezione originale a +2...+25°C per tutta la durata.

## 7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Tipo	Condizioni	Tempo di stabilità
Plasma del sangue	+2...+8 °C	5 giorni
	-18...-22 °C	1 anno
	-68...-72 °C	Stabilità a lungo termine
Tamponi e campioni di urina	+18...+25 °C	2 giorni
	+2...+8 °C	4 giorni (2 settimane per l'urina)
	-18...-22 °C	Stabilità a lungo termine
Saliva	+18...+25 °C	6 ore
	+2...+8 °C	1 settimana
	-18...-22 °C	1 mese
	-68...-72 °C	Stabilità a lungo termine

## 8. PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- **Campioni di urina**

Agitare il contenitore del campione di urina. Trasferire 1 mL di urina in nuova provetta per microcentrifuga da 1,5 mL. Centrifugare a 13.000 giri/min per 5 min. Rimuovere il surnatante usando un aspiratore medico. Aggiungere la soluzione di NaCl allo 0,9% per ottenere un volume complessivo di 200  $\mu$ L. Agitare accuratamente fino a quando il pellet non si dissolve.

- **Campioni di Saliva-Collutorio**

Sciacquare accuratamente la bocca con 10 ml di soluzione di cloruro di sodio allo 0,9% per 10-15 secondi. Raccogliere il fluido in una provetta sterile per microcentrifuga da 15 ml. Centrifugare a 3.000 giri/min per 3 min. Rimuovere circa 9 ml di surnatante usando un aspiratore medicale. Il volume residuo dovrebbe essere di circa 0,5-1 mL (pellet e fase liquida). Aggiungere 200  $\mu$ L di mezzo di trasporto. Agitare accuratamente fino a quando il pellet non si dissolve.

- **Tamponi e campioni da raschiature**

Raccogliere i tamponi con uno strumento adatto. Dopo la raccolta del campione, posizionare il tampone in una provetta per microcentrifuga da 1,5 mL con tappo e con mezzo di trasporto e farlo ruotare per 15 secondi. Evitare di far schizzare la soluzione. Spremere il liquido residuo dal tampone ed eliminare il tampone.

- **Plasma del sangue**

Per ottenere il plasma del sangue, centrifugare il sangue intero con anticoagulante a 3.000 giri/min per 20 minuti a

temperatura ambiente (+18...+25°C). Trasferire il surnatante in una provetta per microcentrifuga da 1,5 mL.

## 9. PROCEDIMENTO DELL'ESTRAZIONE DI DNA/RNA

**Nota:** nel caso *non* venga eseguita la successiva analisi con i kit PCR per malattie infettive Astra Biotech; saltare i passaggi D, E e G.

- A. Preriscaldare una piastra riscaldante a +65°C.
- B. Verificare la presenza di precipitazione nel tampone di lisi **LB**. Se il tampone di lisi **LB** forma un precipitato, dovrebbe essere riscaldato fino a quando il precipitato si dissolve. Agitare brevemente la bottiglia e consentire il raffreddamento a temperatura ambiente prima dell'uso.
- C. Preparare ed etichettare la quantità necessaria di provette per microcentrifuga da 1,5 mL pari al numero dei campioni.

**Nota:** nel caso di successiva analisi con i kit PCR per malattie infettive Astra Biotech: prendere una provetta per microcentrifuga da 1,5 mL per il controllo negativo dell'estrazione ed etichettarla come "NEC". **NC** deve essere estratto contemporaneamente con campioni clinici nella provetta "NEC".

- D. Agitare accuratamente la provetta di controllo interno **IC** quindi centrifugare brevemente per 2-3 secondi a 1.500-2.400 giri/min.
- E. Aggiungere 20 µL di **IC** in ciascuna provetta per microcentrifuga preparata (inclusa "NEC").

- F. Aggiungere 300  $\mu$ L di **LB** in ciascuna provetta per microcentrifuga preparata.
- G. Aggiungere 200  $\mu$ L di **NC** nella provetta per microcentrifuga contrassegnata come “NEC”.
- H. Aggiungere 200  $\mu$ L di campione clinico nelle provette per microcentrifuga.
- I. Agitare brevemente per 3-5 secondi e centrifugare mediante centrifugazione breve.
- J. Incubare a +65°C per 10 min. Agitare le provette ogni 2 minuti per 1-2 secondi. Se si utilizza l'agitatore termico, impostare 1.300 giri/min.
- K. Trasferire le provette nel rack, raffreddare per 2-3 minuti, quindi centrifugare per centrifugazione breve.
- L. Mescolare **MBS** tramite l'agitatore a vortice fino a quando le biglie magnetiche sono completamente risospese.
- M. Ad ogni provetta aggiungere 300  $\mu$ L di **SS** e 20  $\mu$ L di **MBS**, agitare brevemente con l'agitatore a vortice e lasciare riposare per 5 minuti.
- N. Agitare brevemente con l'agitatore a vortice di nuovo e posizionare su un supporto magnetico per 3 min. Accertarsi che le biglie magnetiche siano completamente pellettizzate contro la parete del tubo contro il magnete.
- O. Aspirare attentamente il surnatante, evitando di toccare il pellet di biglie magnetiche.

**Nota:** *Non utilizzare lo stesso puntale per diversi campioni.*

- P. Trasferire immediatamente le provette nel rack e aggiungere 700  $\mu$ L di **W1** versandola sopra il pellet di biglie magnetiche

per lavarlo dalla parete, quindi agitare con l'agitatore a vortice per risospendere completamente le biglie magnetiche.

- Q.** Collocare i tubi nel supporto magnetico per 2 minuti. Accertarsi che le sfere magnetiche pellettizzino sulla parete del tubo contro il magnete.
- R.** Aspirare attentamente il surnatante, evitando di toccare il pellet di biglie magnetiche.
- S.** Ripetere i passaggi **P-R**.
- T.** Ripetere i passaggi **P-R** usando 500  $\mu\text{L}$  di **W2**.
- U.** Ripetere i passaggi **P-R** usando 200  $\mu\text{L}$  di **W3**.
- V.** Dopo l'ultimo lavaggio, lasciare le provette sul supporto magnetico e asciugare all'aria il pellet di biglie magnetiche per 4 minuti con i tappi delle provette aperti. **Non lasciare asciugare il pellet troppo a lungo!**
- W.** Trasferire le provette sul rack, aggiungere 100  $\mu\text{L}$  di **EB**, agitare brevemente con l'agitatore a vortice, centrifugare mediante centrifugazione breve e quindi incubare in piastra riscaldante a  $+65^{\circ}\text{C}$  per 5 minuti.
- X.** Trasferire le provette sul rack, raffreddare per 2-3 minuti, agitare brevemente con l'agitatore a vortice e centrifugare mediante centrifugazione breve.
- Y.** Collocare le provette sul supporto magnetico per 2 minuti. Accertarsi che le biglie magnetiche si pellettizzino sulla parete del tubo contro il magnete.
- Z.** Evitando di toccare il pellet di biglie magnetiche, raccogliere con attenzione il surnatante contenente acidi nucleici

purificati e trasferirlo in provette per microcentrifuga nuove. Si consiglia di utilizzare come modello 5 µL per la reazione PCR con passaggio di trascrizione inversa dell'RNA e 10 µL per PCR con DNA.

**Nota:** *Per un uso prolungato, conservare come raccomandato:*

*Per RNA: a +2...+8°C per un massimo di 4 ore; a -20°C per un massimo di 1 mese; a -70°C per un massimo di 1 anno;*

*Per DNA: a +2...+8°C per un massimo di 7 giorni; a -20°C per un massimo di 1 anno.*

## 10. RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

### 1. Bassa resa di DNA/RNA

- Il volume del campione aggiunto è troppo grande. Non superare i volumi indicati in questo manuale.
- Il campione può essere vecchio o degradato. Conservare i campioni in modo appropriato o utilizzare campioni freschi.
- Il campione non è stato sufficientemente disgregato. Riscaldare il tampone di lisi fino a quando il precipitato si dissolve completamente.
- Il pellet è stato sciolto in modo incompleto. Non lasciare asciugare il pellet troppo a lungo.

### 2. Le applicazioni a valle sono inibite

- Residui delle soluzioni di lavaggio nel DNA/RNA purificati: rimuovere accuratamente tutte le soluzioni di lavaggio per quanto possibile, quindi asciugare i pellet secondo la procedura.
- Condizioni di conservazione inadeguate. Conservare



campioni e componenti secondo i protocolli.

### 3. DNA/RNA degradati

- Il campione è stato sottoposto a ripetuti cicli di scongelamento. Evitare ripetuti cicli di scongelamento, utilizzare preparati freschi immediatamente.
- Condizioni di conservazione inadeguate. Conservare campioni e componenti secondo i protocolli.

## 11. CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI DEL SAGGIO

Le rese attese di DNA/RNA genomici varieranno a seconda della quantità e del tipo di materiale di partenza utilizzato. L'efficienza di estrazione non è inferiore all'85%.

## 12. CONTROLLO DELLA QUALITA'

La qualità di DNA/RNA ottenuti con il kit può essere valutata:

- tramite l'analisi del Controllo Interno, in caso di successive analisi con i kit PCR per malattie infettive Astra Biotech;
- mediante elettroforesi su gel di agarosio all'1%.

## 13. MISURE DI SICUREZZA

L'operatore deve seguire attentamente il manuale per ottenere dati affidabili.



Il tampone di lisi **LB**, la soluzione di assorbimento **SS**, la soluzione di lavaggio 1 **W1**, la soluzione di lavaggio 2 **W2** e la soluzione di lavaggio 3 **W3**

sono dannosi, irritanti e possono causare gravi lesioni oculari; devono essere osservate le seguenti precauzioni:

- Lavare accuratamente le mani dopo la manipolazione.
- Non mangiare, bere o fumare durante l'utilizzo di questo prodotto.
- Indossare guanti / indumenti protettivi / protezioni per gli occhi / protezioni per il viso.
- Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli spruzzi.
- Utilizzare solo all'aperto o in un'area ben ventilata.
- Conservare in un'area ben ventilata.
- IN CASO DI INALAZIONE: trasportare il ferito all'aria aperta e mantenerlo a riposo in una posizione comoda per respirare. Chiamare un centro antiveneni o un medico in caso di malessere. Non indurre il vomito.
- IN CASO DI INGESTIONE: contattare un centro antiveneni o un medico in caso di malessere. Sciacquare la bocca.
- IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati, sciacquare la pelle con abbondante sapone e acqua. Chiamare un centro antiveneni o un medico in caso di malessere.
- IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare con cautela per diversi minuti. Rimuovere le lenti a contatto se presenti e facilmente asportabili. Continuare con il risciacquo.
- Lavare gli indumenti contaminati prima di riutilizzarli.



La soluzione di assorbimento **SS**, la soluzione di lavaggio 1 **W1**, la soluzione di lavaggio 2 **W2**, la soluzione di lavaggio 3 **W3** sono liquidi altamente infiammabili.



Il tampone di lisi **LB** e la soluzione di lavaggio 1 sono dannosi per la vita acquatica. Evitare il rilascio nell'ambiente.

Consigli di prudenza ai sensi del regolamento CE N. 1272/2008.

- Per evitare la contaminazione:
  - utilizzare due set di pipette separati per componenti privi di DNA e componenti contenenti DNA,
  - utilizzare puntali con filtro,
  - non utilizzare lo stesso puntale per due componenti diversi, né privi di DNA né contenenti DNA.
- Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza.
- Non raggruppare reagenti di lotti diversi o di diverse bottiglie dello stesso lotto. Immediatamente dopo l'uso, chiudere tutte le bottiglie per evitare perdite. Dopo l'apertura, conservare tutti i flaconi e tutte le fiale in posizione verticale.
- In caso di utilizzo di diversi kit Real-Time PCR per malattie infettive Astra Biotech, assicurarsi di utilizzare il controllo

interno **IC** dell'ultimo lotto.

April, 20, 2020



Astra Biotech GmbH  
Rudower Chaussee 29  
12489 Berlin, Germany  
Telefon: +49 (0)30 74696509  
E-Mail: [info@astrabiotech.de](mailto:info@astrabiotech.de)  
[www.astrabiotech.de](http://www.astrabiotech.de)