



Rapid DNA Extraction kit

Testkit zur DNA-Extraktion basierend auf thermischer Lyse
Gebrauchsanweisung: Seite 3

Kit for DNA extraction based on temperature lysis
Instructions for use: page 14












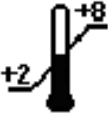





80-02



100 Extraktionen
100 extractions

1. KENNZEICHEN / SYMBOLS LEGENDS

	In vitro Diagnostikum In vitro diagnostic medical device		EG-Konformitätserklärung EC Declaration of conformity
	Katalognummer Catalogue number		Chargenbezeichnung Batch code
	Verwendbar bis Use by		Hersteller Manufacturer
	Herstellungsdatum Date of manufacture		Gebrauchsanweisung beachten Consult operating instructions
	Beiliegende Dokumente beachten Caution, consult accompanying documents		Ausreichend für <100> Extraktionen Sufficient for <100> extractions
	Lysepuffer Lysis buffer		Temperaturbegrenzung Temperature limitation
	Negativkontrolle Negative control		Transportmedium Transport medium
	Biogefährdung Biological risks		

2. VERWENDUNGSZWECK

Der **Rapid DNA Extraction kit** ist für die schnelle und effektive DNA Extraktion aus Speichel, Urin, Rückenmarksflüssigkeit, Prostatasekret sowie Abstrichen des Urogenitalsystems, des Mundrachenraums, der Bindehaut sowie von erosiv-ulzerösen Läsionen zur weiteren molekularbiologischen Analytik inklusive Real Time PCR bestimmt. Der Testkit ist ausreichend für 100 Extraktionen.

3. TESTPRINZIP

Der **Rapid DNA Extraction kit** basiert auf schneller thermischer Lyse. Die klinischen Proben werden in Transportmedium **TM-E** gebracht, in dem sie transportiert und aufbewahrt werden können. Ein Probenaliquot in **TM-E** wird in Lysepuffer **LB** überführt. Im Anschluss wird die DNA durch Denaturierung der Zellmembran und verschiedener Biopolymerkomplexe während Hitzebehandlung freigesetzt. Unlösliche Bestandteile werden bei einer anschließenden Zentrifugation abgetrennt. Der Zentrifugationsüberstand beinhaltet die gebrauchsfertige DNA.

4. PACKUNGSINHALT

LB	Lysepuffer	100x 300 µl
TM-E	Transportmedium	100x 500 µl
NC	Negativkontrolle	1x 1,5 ml

Anmerkung: Beim Extrahieren der DNA für eine nachfolgende Analyse anhand Astra Biotech PCR Infektionskits ist die dort enthaltene Interne Kontrolle **IC** bei der Durchführung des **Rapid DNA Extraction kits** zu verwenden.

5. ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTE REAGENZIEN, MATERIALIEN UND EQUIPMENT

- Sicherheitswerkbank;
- Bei nachfolgender Verwendung eines Astra Biotech PCR Infektionskits: Interne Kontrolle **IC** aus jeweiligem PCR Infektionskit;
- Heizblock oder Thermoschüttler (heizbar bis +95 °C) passend für 1,5 ml Röhrchen;
- Vortexer (bis 2.400 rpm);
- Mikrozentrifuge (max. 13.000 rpm) passend für 1,5 ml Röhrchen;

- Medizinische Absaugvorrichtung (nur für die Probenvorbereitung);
- Pipettenspitzen ohne Filter (bis zu 200 µl) zum Einsatz mit Absaugvorrichtung;
- 2 separate Pipettensätze für DNA-freie bzw. DNA-haltige Komponenten (20-200 µl, 100-1.000 µl);
- Filterspitzen (100 µl, 200 µl und 1.000 µl);
- 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen;
- 15 ml Zentrifugenröhrchen (konisch)
- DNA-Arbeitsplatz mit separater Laborschutzbekleidung;
- Abfallgefäß mit Desinfektionsmittel;
- 0,9 % NaCl-Lösung.

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DES TESTKITS

Das Verfallsdatum des kompletten Testkits ist auf dem Außenetikett angegeben. Die Verfallsdaten der einzelnen Testkomponenten können darüber hinausgehen und sind auf den jeweiligen Komponenten angegeben.

Der **Rapid DNA Extraction kit** kann bei +2 bis +8 °C in der Originalverpackung für die angegebene Haltbarkeitsdauer oder bei +25 °C für maximal 7 Tage gelagert werden.

7. PROBENLAGERUNG

Proben	Temperaturbereich	Stabilität
Abstriche von Schleimhaut sowie von erosiv-ulzerösen Läsionen	+18...+25 °C	48 Stunden
	+2...+8 °C	4 Tage
	-18...-22 °C	Langfristig
Urin, Rückenmarksflüssigkeit	+18...+25 °C	48 Stunden
	+2...+8 °C	2 Wochen
	-18...-22 °C	Langfristig
Speichel	+18...+25 °C	6 Stunden
	+2...+8 °C	1 Woche
	-18...-22 °C	1 Jahr
	-68...-72 °C	Langfristig
Prostatasekret	+18...+25 °C	6 Stunden
	+2...+8 °C	1 Tag
	-18...-22 °C	1 Woche
	-68...-72 °C	Langfristig

8. PROBENVORBEREITUNG

Die Gewinnung klinischer Proben sollte in Übereinstimmung mit den gültigen nationalen Richtlinien erfolgen.

Anmerkung: *Klinische Proben sollten in die Kit-zugehörigen Röhrchen **TM-E**, überführt werden, sofern keine anderslautende Vorschrift vorliegt.*

Transportbedingungen für klinische Proben:

Temperaturbereich	Stabilität
+18...+25 °C	48 Stunden
+2...+8 °C	14 Tage
-20 °C und kälter	Langfristig

Wenn die extrahierte DNA für Analysen mit Astra Biotech PCR Infektionskits eingesetzt wird, ist nur einmaliges Einfrieren erlaubt.

- **Abstriche Schleimhaut sowie erosiv-ulzerösen Läsionen**

Die klinische Probe wird in **TM-E** Röhrchen überführt. Nur Einwegmaterialien für den medizinischen Einsatz verwenden.

- **Urin**

Urinprobe durch Schütteln durchmischen und 1 ml in ein frisches 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen überführen. Bei 13.000 rpm für 5 min zentrifugieren. Überstand mit der Absaugvorrichtung entfernen. Zum Pellet 500 µl **TM-E** hinzugeben. Gründlich vortexen bis das Pellet gelöst ist.

- **Rückenmarksflüssigkeit**

Mit Hilfe einer Einwegnadel mindestens 1 ml Rückenmarksflüssigkeit in ein frisches Mikrozentrifugenröhrchen überführen. Eine weitere Präparation ist nicht notwendig.

In Fällen verschiedener infektiöser Krankheiten wie West-Nil-Virus (WNV), *Tick-borne encephalitis* Virus (TBEV), Leptospirose und Lyme-Borreliose werden die virenhaltigen Zellen durch Zentrifugation bei 10.000-11.000 rpm für 5 min aufkonzentriert. Der Überstand wird auf etwa 100 µl mittels Absaugvorrichtung reduziert. Das Pellet wird in verbleibendem Überstand durch Vortexen resuspendiert.

- **Speichel**

Mund gründlich für 10-15 s mit 8-10 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung spülen. Flüssigkeit in sterilem 15 ml Mikrozentrifugenröhrchen sammeln. Bei 3.000 rpm für 3 min zentrifugieren. Das Volumen des Überstands mit der Absaugvorrichtung auf etwa 0,5-1 ml verringern und 200 µl Transportmedium hinzufügen. Gründlich vortexen bis das Pellet gelöst ist.

- **Abstriche der Mundschleimhaut**

Die klinischen Proben werden in das **TM-E** Röhrchen überführt. Nur Einwegmaterialien für den medizinischen Einsatz verwenden.

- **Prostatasekret**

Probe in ein frisches 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen überführen und 100 µl **TM-E** hinzugeben. Gründlich vortexen.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Vorbereitung

- A. Heizblock auf +95 °C vorwärmen.
- B. Lysepuffer **LB** und Negativkontrolle aus dem Kühlschrank nehmen und für 15 min bei RT inkubieren.
- C. Die notwendige Anzahl 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen mit Lysepuffer **LB** vorbereiten und kennzeichnen (Anzahl entsprechend zu extrahierenden Proben).

***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.*

Extraktion

***Anmerkung:** Wenn nach der Extraktion die DNA nicht für Real Time PCR anhand eines Astra Biotech Infektionskits genutzt wird, können Schritte A-C ausgelassen werden.*

- A. **IC**, **NC** und **LB** Gefäße kurz zentrifugieren, um Tropfen im Deckel zu entfernen.
- B. 20 µl Interne Kontrolle **IC** zu jedem vorbereiteten Mikrozentrifugenröhrchen hinzugeben.
- C. 100 µl der Negativkontrolle **NC** in das vorbereitete Mikrozentrifugenröhrchen „NK“ geben.
- D. 100 µl der Proben (siehe Abschnitt 8) in die mit Lysepuffer **LB** vorbereiteten Mikrozentrifugenröhrchen geben.

E. Mikrozentrifugenröhrchen gut verschließen und für 3-5 s vortexen.

Anmerkung: *Es muss sichergestellt werden, dass sich Mikrozentrifugenröhrchen während der Hitzebehandlung nicht öffnen.*

F. Bei +95 °C für 5 min inkubieren.

G. Mikrozentrifugenröhrchen für 2 min bei RT abkühlen lassen.

H. Für 1 min bei 13.000 rpm zentrifugieren.

I. Der Überstand enthält die, für molekularbiologische Anwendungen (inklusive Real Time PCR) einsatzbereite Gesamt-DNA. Diese kann bei -18...-22 °C für ein Jahr oder bei +2...+8 °C für eine Woche gelagert werden. Vor jedem Einsatz sind die DNA-Proben für 3-5 s zu vortexen und für 1 min bei 13.000 rpm zu zentrifugieren.

10. TROUBLESHOOTING

Problem	Ursache und Problemlösung
Folgende PCR Reaktion ist inhibiert.	Die Menge eingesetzter Ausgangsprobe ist zu groß. Das in der vorliegenden Gebrauchsanweisung angegebene Volumen nicht überschreiten.
DNA ist degradiert.	<p>1. Probe ist mehrfach eingefroren/aufgetaut worden. Mehrfaches Einfrieren/Auftauen verhindern. Frische Präparationen direkt in folgende Anwendungen einsetzen.</p> <p>2. Ungeeignete Lagerbedingungen. In dieser Gebrauchsanweisung angegebene Bedingungen für die Lagerung beachten.</p>

11. TESTCHARAKTERISTIKA

Die zu erwartende Ausbeute genomischer DNA variiert je nach Menge und Art des verwendeten Ausgangsmaterials. Die Ausbeute der Extraktion beträgt mindestens 80 %.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Die Qualität der mit dem Testkit isolierten DNA kann durch PCR-Analyse der Internen Kontrolle geprüft werden.

13. VORSICHTSMAßNAHMEN


- Um zuverlässige Testergebnisse zu erhalten, ist die Arbeitsanleitung strikt einzuhalten.



- Die Komponenten **LB**, **TM-E**, **NC** des **Rapid DNA Extraction kit** enthalten 0,05 % Natriumazid, das sehr giftig ist:
 - P260 - Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol nicht einatmen;
 - P262 - Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen;
 - P264 – Nach Gebrauch Hände gründlich waschen;
 - P270 - Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen;
 - P271 - Nur im Freien oder in gut belüfteten Räumen verwenden;

- P280 - Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen;
- P284 - Atemschutz tragen;
- P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen;
- P361 - Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen;
- P363 - Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen;
- P301 +P310 - BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen;
- P302 +P350 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Behutsam mit viel Wasser und Seife waschen;
- P304 +P340 - BEI EINATMEN: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert;
- P405 - Unter Verschluss aufbewahren;
- P403 +P233 - Behälter dicht verschlossen an einem gut belüfteten Ort aufbewahren;
- P 273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden;
- P 391 - Verschüttete Mengen aufnehmen;
- P501 - Inhalt / Behälter entsprechend den geltenden nationalen Bestimmungen der Entsorgung zuführen.

Die Vorsichtsmaßnahmen entsprechen der Verordnung EG Nr. 1272/2008.

-  Praktiken und Verfahren der **Biologischen Sicherheitsstufe 2** müssen bei der Extraktion von klinischen Proben mit dem Rapid DNA Extraction Kit befolgt

werden. Humanes Blut, Blutprodukte, Körperflüssigkeiten und Gewebe sollten immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.

- Bitte folgende Regeln beachten, um Kontaminationen zu vermeiden:
 - Zwei separate Pipettensätze für DNA-freie und DNA-haltige Komponenten nutzen.
 - Filter-Pipettenspitzen verwenden.
 - Dieselben Pipettenspitzen nie für zwei verschiedene Komponenten benutzen, weder DNA-frei noch DNA-haltig.
- Der Testkit darf nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Bei Verwendung mehrerer Astra Biotech PCR Infektionskits ist nur die jüngste Charge **IC** zu verwenden.
- Bei Gebrauch von diagnostischen PCR kits anderer Anbieter ist eine kompatible interne Kontrolle zu verwenden.

2. INTENDED USE

Rapid DNA Extraction kit is designed to provide fast and effective DNA extraction from saliva, urine, spinal fluid, prostatic fluid, swabs and scrapes from genitourinary system, oropharynx, conjunctiva, erosive and ulcerative lesions for further biomolecular applications including Real Time PCR.

Kit is designed for 100 extractions and for *in vitro* diagnostic use only.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

Rapid DNA Extraction kit is based on rapid thermal lysis. Clinical specimen is placed into Transport Medium **TM-E** wherein it could be transported and stored. Sample aliquot in **TM-E** is transferred into Lysis Buffer **LB**. Afterwards DNA is released due to destruction of cell membranes and various biopolymer complexes during heat treatment. Subsequent centrifugation causes precipitation of insoluble components. Hence, the supernatant contains ready-to-PCR DNA.

4. MATERIALS PROVIDED

LB	Lysis Buffer	100 tubes x 300 µL
TM-E	Transport Medium	100 tubes x 500 µL
NC	Negative Control	1 tube - 1.5 mL

Note: *If extracted DNA is intended for the subsequent analysis with Astra Biotech Infectious PCR kits, Internal controls **IC** contained in these PCR kits are needed for the extraction procedure with the Rapid DNA Extraction kit.*

5. MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Biosafety cabinet;
- Internal Control **IC** from the respective PCR diagnostic kit (*optional*);
- Heating block or thermo-shaker (temperature up to +100 °C) suitable for 1.5 mL tubes;
- Vortex mixer (maximum speed 2,400 rpm);
- Microcentrifuge (maximum speed 13,000 rpm) suitable for 1.5 mL tubes;
- Medical aspirator (for sample preparation only);
- Non-filter pipette tips (up to 200 µL) for use with medical aspirator;
- 2 separate pipette sets for DNA-free and DNA-containing components;
- Filter tips (200 and 1,000 µL);
- 1.5 mL microcentrifuge tubes;
- 15 mL conical centrifuge tubes;
- DNA-zone-only working area with separate laboratory coat, hat, shoes and disposable powder-free gloves;
- Waste bin with disinfectant for used tips.
- 0.9 % sodium chloride solution (for mouthwash sample preparation only).

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. **Rapid DNA Extraction kit** can be stored in the original kit box at +2...+8 °C during the entire shelf life or at +25 °C for no more than 7 days.

7. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

Specimen	Temperature range	Stability
Swabs and scrapes from mucous membranes, erosive and ulcerative lesions	+18...+25 °C	48 hours
	+2...+8 °C	4 days
	-18...-22 °C	Longtime
Urine Spinal fluid	+18...+25 °C	48 hours
	+2...+8 °C	2 weeks
	-18...-22 °C	Longtime
Saliva	+18...+25 °C	6 hours
	+2...+8 °C	1 week
	-18...-22 °C	1 year
	-68...-72 °C	Longtime
Prostatic fluid	+18...+25 °C	6 hours
	+2...+8 °C	1 day
	-18...-22 °C	1 week
	-68...-72 °C	Longtime

8. SAMPLE PREPARATION

Clinical specimen collection should be performed as consisted with local or state department of health regulatory guidelines.

*NOTE: If there is no special instruction, clinical specimens should be collected into **TM-E** tubes provided with kit.*

Clinical specimens transportation conditions:

Temperature range	Stability
+18...+25 °C	48 hours
+2...+8 °C	14 days
-20 °C and below	longtime

If extracted DNA is intended for the subsequent analysis with Astra Biotech Infectious PCR kits, only one freeze-thaw cycle is allowed.

- **Swabs and scrapes from mucous membranes, erosive and ulcerative lesions**

Clinical specimen should be placed into **TM-E** tube. Use disposable medical tools only.

- **Urine**

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 500 µL of **TM-E** solution to pellet. Vortex thoroughly.

- **Spinal fluid**

Collect at least 1 mL of spinal fluid into new 1.5 mL microcentrifuge tube using disposable needle. There is no special preparation needed.

In case of some infectious diseases such as WNV, TBEV, leptospirosis and Lyme disease, concentrate virus-containing cells by centrifuging at 10,000 – 11,000 rpm for 5 min. Reduce the supernatant volume to 100 µL approximately using medical aspirator. Vortex residual supernatant and pellet thoroughly.

- **Saliva**

Mouthwash sampling. Rinse mouth thoroughly with 8-10 mL of 0.9 % sodium chloride solution in 10-15 s. Collect fluid in sterile 15 mL conical centrifuge tube. Centrifuge at 3,000 rpm for 3 min. Reduce the supernatant volume to 0.5-1 mL approximately using medical aspirator. Add 200 µL of Transport Medium **TM-E**. Vortex thoroughly until pellet dissolves.

- **Buccal swabs sampling.**

Clinical specimen should be placed into **TM-E** tube. Use disposable medical tools only.

- **Prostatic fluid**

Collect specimen into new 1.5 mL microcentrifuge tube. Add 100 µL of **TM-E**. Vortex thoroughly.

9. ASSAY PROCEDURE

Preparation Instructions

- A. Preheat a heating block to +95 °C
- B. Take **Lysis Buffer** **LB** and **Negative Control** **NC** out from the refrigerator. Incubate them at room temperature for 15 min.
- C. Prepare and mark an appropriate quantity of **Lysis Buffer** **LB** 1.5 mL microcentrifuge tubes equal to the number of samples.

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

Extraction procedure

NOTE: *If no Real Time PCR-analysis using Astra Biotech Real Time PCR diagnostic kit is followed, ignore steps A-C.*

- A. Briefly centrifuge the **IC**, **NC** and **LB** tubes to remove drops from the inside of the lid.
- B. Add 20 µL of **Internal control** **IC** into each prepared microcentrifuge tube.
- C. Add 100 µL of **Negative Control** **NC** to the microcentrifuge tube marked as «NEC».
- D. Add 100 µL of prepared samples (paragraph **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**) to the **LB** microcentrifuge tubes.
- E. Close the tubes tightly. Vortex tubes for 3-5 s.

NOTE: To avoid opening during the heat treatment check on tubes are closed tight!

- F. Incubate at +95 °C for 5 min.
- G. Cool the tubes at room temperature for 2 min.
- H. Centrifuge at 13,000 rpm for 1 min.
- I. The supernatant contains ready to molecular biology applications (including Real Time PCR) total DNA. It can be stored at -18...-22 °C for one year or at 2-8 for one week. If repeated use is needed vortex tubes for 3-5 s and centrifuge them at 13,000 rpm for 1 min.

10. TROUBLESHOOTING

Problem	Cause and solution
PCR application is inhibited	The amount of loaded specimen is too high. Do not exceed volumes designated in this manual.
DNA is degraded	<ol style="list-style-type: none"> 1. The sample undergone repeated freeze-thaw cycles. Avoid repeated freeze-thaw cycles, use fresh preparations immediately. 2. Inappropriate storage conditions. Store samples and components as consistent with instructions.

11. PERFORMANCE CHARACTERISTICS OF THE ASSAY

Expected yields of genomic DNA will vary depending on the amount and type of starting material used. The efficiency of extraction is not less than 80 %.

12. QUALITY CONTROL

The quality of DNA obtained with the kit can be assessed PCR using an internal control.

13. SAFETY PRECAUTIONS

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




- Components **LB**, **TM-E**, **NC** of **Rapid-DNA Extraction kit** contain 0.05% of sodium azide which is very toxic:

- P260 - Do not breathe dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray;
- P262 - Do not get in eyes, on skin, or on clothing;
- P264 – Wash hands thoroughly after handling;
- P270 - Do not eat, drink or smoke when using this product;
- P271 - Use only outdoors or in a well-ventilated area;
- P280 - Wear protective gloves/ protective clothing/ eye protection/ face protection;
- P284 - Wear respiratory protection;
- P310 - Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician;

- P361 - Remove/Take off immediately all contaminated clothing;
- P363 - Wash contaminated clothing before reuse;
- P301 +P310 - IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician;
- P302 +P350 - IF ON SKIN: Gently wash with plenty of soap and water;
- P304 +P340 - IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing;
- P405 - Store locked up;
- P403 +P233 - Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed;
- P 273 - Avoid release to the environment;
- P 391 - Collect spillage;
- P501 - Dispose of contents/container in accordance with national regulation.

Precautionary statements according to Regulation EC No 1272/2008.

-  When using Rapid DNA Extraction Kit for DNA extraction of clinical materials, **biosafety level 2 practices and procedures** have to be followed. Human blood, blood products, body fluids and tissues should be treated as potentially infectious.
- 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.
- In case of using several Astra Biotech Real Time PCR diagnostic kits be sure of using **IC** from latest lot.
- In case of using third-party vendor's diagnostical PCR kits be sure of using internal control compatible with actual kit.

March, 19, 2019



Astra Biotech GmbH
Rudower Chaussee 29
12489 Berlin, Germany
Telefon: +49 (0)30 74 696 509
E-Mail: info@astrabiotech.de
www.astrabiotech.de