AmoyDx
艾德生物

CE IVD

AmoyDx® Circulating DNA Kit

(Spin-Säule)

Gebrauchsanweisung

REF 8.02.0004 24 Tests/Kit

Amoy Diagnostics Co., Ltd.
Nr. 39, Dingshan Road, Haicang District,
361027 Xiamen, Volksrepublik China
Tel: +86 592 6806835
Telefax: +86 592 6806839
E-Mail: sales@amoydx.com
Webseite: www.amoydx.com

EC REP **QbD RepS BV**
Groenenborgerlaan 16
2610 Wilrijk
Belgien

CH REP **Qarad Suisse S.A.**
World Trade Center
Avenue Gratta-Paille 2
1018 Lausanne
Schweiz

Umedwings Netherlands B.V.
Treubstraat 1，2288EG，Rijswijk，
Niederlande
SRN: NL-IM-000000454
Diese Angaben zum Importeur gelten nur für den EU-Markt

Version: V02

Zweckbestimmung

Das AmoyDx® Circulating DNA Kit wurde speziell für die Isolierung und Aufreinigung von DNA aus peripherem Blut (Serum oder Plasma) und Pleuraerguss entwickelt. Die aufgereinigte DNA ist für Downstream-Anwendungen wie quantitative Real-Time PCR (qPCR & ddPCR) und NGS geeignet.

Vorgesehener Anwender

Das AmoyDx® Circulating DNA Kit ist ausschließlich für die Verwendung durch ausgebildetes Laborpersonal bestimmt.

Prinzip

Das AmoyDx® Circulating DNA Kit verfügt über eine Membran auf Silica-Basis und ein spezielles Lysepuffersystem für die effektive Extraktion zirkulierender DNA. Peripheres Blut- und Pleuraergussproben werden mit Puffer CDL und Verdau-Lösung lysiert, um die DNA freizusetzen. Das Lysat wird mit Isopropanol und DNA-Tracer gemischt und die DNA durch Zentrifugieren gesammelt. Danach werden die Präzipitate in Puffer CDB, Puffer CDD und Ethanol aufgelöst, um geeignete Bindungsbedingungen für die DNA zu schaffen. Anschließend wird die Mischung auf eine Micro-NA-Spin-Säule aufgetragen, wo die DNA an die Membran bindet und Verunreinigungen mit Waschpuffer entfernt werden. Die DNA wird in Puffer CDE eluiert.

Inhalt des Kits

Dieses Kit enthält die folgenden Materialien (Tabelle 1):

Tabelle 1: Inhalt des Kits

Röhrchen-Nr.	Komponente	Kennzeichnung	Menge
-	**Micro-NA-Spin-Säulen**	**Micro NA Spin Columns 微量核酸吸附柱**	24 Stck. ×1
-	**Sammelröhrchen (2 mL)**	**Collection Tubes (2 mL) 2 mL 收集管**	48 Stck. ×1
-	**Zentrifugenröhrchen (1,5 mL)**	**Centrigual Tubes (1.5 mL) 1.5 mL 离心管**	24 Stck. ×1
-	**Zentrifugenröhrchen (10 mL)**	**Centrigual Tubes (10 mL) 圆底离心管**	24 Stck. ×1
1	**Puffer CDL**	**Buffer CDL 裂解液 CDL**	31 mL ×2
2	**Verdau-Lösung**	**Digest Solution 消化液 DPK**	6 mL ×1
3	**DNA-Tracer**	**DNA Tracer DNA 助沉剂**	11 mL ×1
4	**Puffer CDB**	**Buffer CDB 结合液 CDB**	12 mL ×1
5	**Puffer CDD**	**Buffer CDD 助溶剂 CDD**	1,1 mL ×1
6	**Puffer CW1**	**Buffer CW1 洗涤液 CW1**	13 mL ×1
7	**Puffer CW2**	**Buffer CW2 洗涤液 CW2**	6,5 mL ×1
8	**Puffer CDE**	**Buffer CDE 洗脱液 CDE**	1,8 mL ×3

Hinweis:

1. ***Puffer CDL***, ***Puffer CDB*** *und* ***Puffer CW1*** *enthalten Guanidinsalz, das nicht in Kontakt mit bleichmittelhaltigen Desinfektionsmitteln oder säurehaltigen Lösungen gebracht werden darf.*
2. *Vor der ersten Verwendung geben Sie* ***19 mL*** *Ethanol (96~100 %) zu* ***Puffer CW1*** *und mischen Sie gründlich; geben Sie* ***19 mL*** *Ethanol (96~100 %) zu* ***Puffer CW2*** *und mischen Sie ebenfalls gründlich. Kreuzen Sie das Kontrollkästchen auf dem Flaschenetikett an.*
3. *Wenn der* ***DNA-Tracer, die Verdau-Lösung oder der Puffer CDD*** *Präzipitate enthalten, lösen Sie diese auf, indem Sie die Lösungen durch vorsichtiges Umdrehen mixen. Ein Auflösen durch Erhitzen sollte vermieden werden.*
4. *Wenn andere Reagenzien Präzipitate enthalten, lösen Sie diese durch Erhitzen auf.*

Lagerung und Stabilität

Die Haltbarkeit des Kits beträgt 12 Monate. Das Kit sollte trocken bei Raumtemperatur (10~30 ℃) transportiert und gelagert werden.

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Ausrüstung

1) Ethanol (96~100 %).
2) Isopropanol (vorgekühlt).
3) Wasserbad (60 ℃ einstellbar).
4) Heizblock (56 ℃ einstellbar).
5) Mikrozentrifuge (1,5 mL Rotor und 13.000 ×g einstellbar).
6) Zentrifuge (10 mL Rotor und 10.000 ×g einstellbar).
7) Vortexer (2.500 U/min einstellbar)
8) Handzentrifuge.
9) Sterile, DNase-freie Pipettenspitzen.

Vorsichtsmaßnahmen und Anforderungen an die Handhabung

Vorsichtsmaßnahmen

- Bitte lesen Sie vor der ersten Verwendung die Anleitung sorgfältig durch und machen Sie sich mit allen Komponenten des Kits vertraut. Befolgen Sie während des Gebrauchs strikt die Anweisungen.
- Verwenden Sie das Kit oder einzelne Komponente des Kits NICHT nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Verwenden Sie für die Tests KEINE Reagenzien aus anderen Chargen.
- Verwenden Sie KEINE Reagenzien anderer Testkits.

Sicherheitsinformationen

- **Puffer CDL**, **Puffer CDB** und **Puffer CW1** enthalten Guanidinsalz, das in Verbindung mit Bleichmittel hochreaktive Verbindungen bilden kann. **Geben Sie KEINE Bleichmittel oder säurehaltigen Lösungen direkt in den Probenaufbereitungsabfall.** Wenn die Flüssigkeit, die diesen Puffer enthält, verschüttet wird, reinigen Sie die betroffene Stelle mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser.

Signalwort	**Warnung**
Gefahrenhinweise:	
H302+H332:	Gesundheitsschädlich beim Verschlucken oder beim Einatmen.
H315:	Verursacht Hautreizungen.
H319:	Verursacht schwere Augenreizungen.
Sicherheitshinweise	
P261:	Vermeiden Sie das Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol.
P264:	Waschen Sie die Haut nach dem Umgang gründlich.
P301+P312:	BEIM VERSCHLUCKEN: Rufen Sie ein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder einen Arzt an, wenn Sie sich unwohl fühlen.
P302+P352:	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Waschen Sie sich mit viel Wasser und Seife.
P304+P340+P312:	BEI EINATMEN: Bringen Sie die Person an die frische Luft und sorgen Sie für eine ungehinderte Atmung.
P305+P351+P388:	BEI KONTAKT MIT AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen

- Behandeln Sie alle Proben und Komponenten des Kits als potenziell infektiöses Material unter Anwendung sicherer Laborverfahren.
- Verwendung nur durch geschultes Fachpersonal. Bitte tragen Sie beim Umgang mit den Reagenzien einen geeigneten Laborkittel und Einweghandschuhe.
- Vermeiden Sie den Kontakt von Haut, Augen und Schleimhäuten mit den Chemikalien. Im Falle eines Kontakts spülen Sie sofort mit Wasser.
- Wenn ein verschüttetes Produkt potenziell infektiöse Reagenzien enthält, reinigen Sie den betroffenen Bereich mit Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 1 % (v/v) Natriumhypochlorid oder einem geeigneten Labordesinfektionsmittel.
- NICHT mit dem Mund pipettieren.

Dekontamination und Entsorgung

- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sollten Sie Handschuhe tragen und diese häufig wechseln, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Verwenden Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien Filterspitzen, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Alle Einwegmaterialien sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt. BITTE NICHT wiederverwenden.
- Die nicht verwendeten Reagenzien, das gebrauchte Kit und der Abfall müssen ordnungsgemäß entsorgt werden.

Reinigung

- Reinigen Sie nach dem Experiment den Arbeitsbereich und besprühen Sie die Pipetten und Geräte mit 75 %igem Ethanol oder 10 % Natriumhypochlorid.

Probenentnahme, Transport und Lagerung

Plasma (mit Antikoagulantien wie Citrat oder EDTA) oder Serum sowie Pleuraerguss – gelagert bei unter -15 ℃ für weniger als 2 Jahre.. Beachten Sie folgende Empfehlungen:

1) Periphere Blut- und Pleuraergussproben sollten wie infektiöses Material behandelt werden. Seien Sie vorsichtig im Umgang mit den Proben.
2) Verwenden Sie kein Heparin als Antikoagulans, da Heparin die PCR-Amplifikation und den Enzymverdau hemmt.

Assay-Verfahren

Hinweis:

- *Vor dem ersten Gebrauch geben Sie bitte **19 mL** Ethanol (96~100 %) zu **Puffer CW1** und mischen Sie gründlich; geben Sie **19 mL** Ethanol (96~100 %) zu **Puffer CW2** und mischen Sie ebenfalls gründlich. Markieren Sie dies deutlich.*
- *Überprüfen Sie vor der DNA-Extraktion, dass keine Reagenzien auslaufen, und mischen Sie die Reagenzien gut.*
- *Wenn der DNA-Tracer ein Präzipitat enthält, lösen Sie es auf, indem Sie ihn durch vorsichtiges Umdrehen mischen; vermeiden Sie ein Auflösen durch Erhitzen.*

1) Geben Sie 4 mL Serum, Plasma oder Pleuraerguss vorsichtig in ein sauberes 10 mL Zentrifugenröhrchen.
2) Geben Sie 2,4 mL **Puffer CDL**, 210 µL **Verdau-Lösung** in das Röhrchen, schließen Sie den Deckel und mischen Sie durch Vortexen für mehr als 10 Sekunden.
3) Inkubieren Sie bei 60 ℃ für 15 Minuten.
   Hinweis: *Wir empfehlen die Inkubation im Wasserbad.*
4) Stellen Sie das Röhrchen für 5 Minuten auf Eis, um es auf Raumtemperatur abzukühlen, und zentrifugieren Sie es dann kurz für 5~10 Sekunden.
5) Geben Sie 400 µL **DNA-Tracer** hinzu und mischen Sie vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren.
6) Geben Sie 3,3 mL vorgekühltes Isopropanol (unter 4 ℃) hinzu, schließen Sie den Deckel und mischen Sie, indem Sie das Röhrchen 20-mal umdrehen.
7) Zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 5 Minuten.
8) Entfernen Sie den Überstand und die restliche Lösung durch Pipettieren.
   Hinweis: *Stellen Sie sicher, dass die restliche Lösung gründlich entfernt wird, damit keine PCR-Inhibitoren zurückbleiben.*
9) Geben Sie 470 µL **Puffer CDB** zum verbleibenden Präzipitat und fügen Sie dann 40 µL **Puffer CDD** hinzu, schließen Sie den Deckel.
   Hinweis: *Puffer CDD unter die Flüssigkeitsoberfläche entladen.*
10) Auflösen des Präzipitats: Vortexen Sie das Röhrchen bei 2.500 U/min für 15 Minuten.
    Hinweis:
    - *Verlängern Sie, wenn nötig, die Vortexzeit, um sicherzustellen, dass das Präzipitat vollständig aufgelöst wird.*
    - *Wenn Sie diese Art von Vortexer nicht zur Verfügung haben, vortexen Sie das Röhrchen mit Unterbrechungen mit einem herkömmlichen Vortexer, um das Präzipitat aufzulösen.*
11) Geben Sie 250 µL Ethanol (96~100 %) in das Röhrchen und mischen Sie gut, indem Sie auf- und abpipettieren. Schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie bei 500 ×g für 1 Minute.
12) Übertragen Sie das gesamte Lysat auf die Micro-NA-Spin-Säule (in einem 2 mL Sammelröhrchen), ohne den Rand zu benetzen, schließen Sie den Deckel und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 30 Sekunden.
13) Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.
14) Geben Sie 700 µL **Puffer CW1** auf die Micro-NA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 30 Sekunden.
15) Verwerfen Sie den Durchfluss im Sammelröhrchen.
16) Geben Sie 700 µL **Puffer CW2** auf die Micro-NA-Spin-Säule und zentrifugieren Sie bei 10.000 ×g für 30 Sekunden.
17) Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.
18) Setzen Sie die Micro-NA-Spin-Säule in ein sauberes 2,0 mL Sammelröhrchen. Zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 1 Minute.
19) Verwerfen Sie das Sammelröhrchen mit dem Durchfluss.
20) Geben Sie die Micro-NA-Spin-Säule in ein sauberes 1,5 mL Zentrifugenröhrchen und inkubieren Sie es bei 56 ℃ für 2 Minuten unter

Verwendung des Heizblocks.

Hinweis: *Lassen Sie die Micro-NA-Spin-Säule geöffnet.*

21) DNA-Elution: Geben Sie 30~100 µL **Puffer CDE** in die Mitte der Membran. Schließen Sie den Deckel und inkubieren Sie bei 56 ℃ für 2 Minuten, und zentrifugieren Sie danach bei 13.000 ×g für 1 Minute.

Hinweis:

- *Berühren Sie die Membran nicht.*
- *Wenn das Elutionsmittel mehr als 50 µL beträgt, verwenden Sie bitte zwei Elutionen, um eine höhere Ausbeute zu erhalten.* (Eluieren Sie die DNA zweimal mit dem gleichen Volumen an Elutionsmittel: Geben Sie zuerst 50 µL **Puffer CDE** in die Mitte der Membran, inkubieren Sie bei 56 ℃ für 2 Minuten und zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 1 Minute Geben Sie dann erneut 50 µL **Puffer CDE** in die Mitte der Membran, inkubieren Sie bei 56 ℃ für 2 Minuten und zentrifugieren Sie bei 13.000 ×g für 1 Minute. Die resultierende eluierte DNA beträgt 100 µL.)

22) Die eluierte DNA ist sofort einsatzbereit oder kann bei unter -15 °C gelagert werden.

Hinweis: *Puffer CDE ist nur für die Elution und Lagerung von DNA, NICHT für andere Zwecke geeignet*.

Leistungsmerkmale

Die Extraktionseffizienz des Kits wurde durch die Untersuchung von sechs klinischen Serum-, Plasma- oder Pleuraergussproben nachgewiesen.

- Extrahierte DNA: Mittlere Absorption bei 260 nm (A260) ≥ 0,1, und mittleres Verhältnis A260/A280 ≥ 1,6.

Einschränkungen

1) Die Qualität der extrahierten DNA unterliegt dem Einfluss von Faktoren wie Probenquelle, Probennahmeverfahren, Entnahmeort und Lagerbedingungen.
2) Die Qualität der Probe hat einen großen Einfluss auf die Qualität und Menge der aufgereinigten DNA.

Allgemeine Hinweise

Sollte es bei der Verwendung dieses Kits oder als Folge davon zu einem schwerwiegenden Zwischenfall gekommen sein, melden Sie dies bitte dem Hersteller und Ihrer nationalen Behörde.

Referenzen

Chevillard S. A method for sequential extraction of RNA and DNA from the same sample, specially designed for a limited supply of biological material. *Biotechniques.* 1993 Jul;15(1):22-4

Symbole

EC REP	Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft/Europäischen Union	IVD	In-vitro-Diagnostikum
	Hersteller	REF	Katalognummer
LOT	Chargennummer		Haltbarkeitsdatum
Σ	Ausreichend für <n> Tests		Temperaturgrenze
	Gebrauchsanweisung beachten		Trocken halten
	Hier nach oben		Zerbrechlich, mit Vorsicht zu behandeln
COMP	Kitkomponenten	Done?□	Kreuzen Sie das Kästchen an, nachdem Sie Ethanol in das Fläschchen gegeben haben
ADD	Hinzufügen von	EtOH	Ethanol
	Importeur		

Änderungshistorie

Änderung	Datum des Inkrafttretens	Änderungshistorie
B1.0	2022-05-26	Erste Ausgabe
V01	04.11.2022	1. Fügen Sie das Symbol und die Informationen des Importeurs hinzu; 2. Änderungshistorie hinzufügen; 3. Verschieben Sie das "Gültigkeitsdatum" von der ersten auf die letzte Seite; 4. Umsetzung der neuen Kodierungsregeln.
V02	10.03.2025	Aktualisierung des europäischen und schweizerischen Bevollmächtigten