

cobas[®] cfDNA Sample Preparation Kit

In-vitro-Diagnostikum



cobas[®] cfDNA Sample Preparation Kit 24 Tests M/N: 07247737190

INHALTSVERZEICHNIS

Verwendungszweck	3
Testprinzipien	3
Probenvorbereitung	3
Materialien und Reagenzien	4
Mittelieferte Materialien und Reagenzien.....	4
Lagerung und Handhabung der Reagenzien.....	6
Zusätzlich benötigtes Material.....	6
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung.....	7
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	7
Gute Laborpraxis.....	7
Kontamination.....	8
Handhabung	8
Entsorgung.....	8
Verschüttetes Material und Reinigung.....	8
Entnahme, Transport und Lagerung von Proben	9
Entnahme und Handhabung von Proben	9
Transport, Lagerung und Haltbarkeit von Proben.....	9
Lagerung und Haltbarkeit verarbeiteter Proben.....	9
Verfahren zur Probenvorbereitung.....	9
Verwendung des Kits.....	9
Gebrauchsanweisung.....	9
Weitere Informationen	12
Symbole.....	12
Technischer Support.....	13
Herstellung und Vertrieb	13
Marken und Patente.....	13
Copyright.....	13
Literatur	13
Dokumentversion.....	14

Verwendungszweck

Das **cobas**® cfDNA Sample Preparation Kit wird bei der manuellen Probenvorbereitung verwendet, um zirkulierende zellfreie DNA (cfDNA) aus Plasma und Proben zu isolieren.

Testprinzipien

Probenvorbereitung

Die Verarbeitung der Plasmaproben und die Isolierung der cfDNA erfolgt mit dem **cobas**® cfDNA Sample Preparation Kit. Dabei handelt es sich um eine generische, manuelle Probenvorbereitung, die auf der Bindung der Nukleinsäuren an Glasfasern beruht. Zwei Milliliter (ml) Plasma werden mit einer Protease und einem chaotropen Bindungspuffer bearbeitet, der die cfDNA vor DNase schützt. Anschließend wird Isopropanol zu der Bindungsmischung gegeben, die dann durch eine Säule mit Glasfaser-Filtereinsatz zentrifugiert wird. Beim Zentrifugieren wird die cfDNA an der Oberfläche des Glasfaserfilters gebunden. Durch das Zentrifugieren werden außerdem ungebundene Substanzen wie Salze, Proteine und andere Verunreinigungen entfernt. Die adsorbierten Nukleinsäuren werden gewaschen und anschließend mit einer wässrigen Lösung eluiert.

Materialien und Reagenzien

Mitgelieferte Materialien und Reagenzien

Kit/Kassetten	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Test	Sicherheitssymbole und -hinweise ^a
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 Tests (M/N: 07247737190)	PK (Proteinase K) (M/N: 05860695102) Proteinase K, lyophilisiert ^b	2 × 100 mg	 <p>GEFAHR H315: Verursacht Hautreizungen. H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H319: Verursacht schwere Augenreizung. H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. H335: Kann die Atemwege reizen. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P280: Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P284: Atemschutz tragen. P304 + P340 + P312: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p>
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 Tests (M/N: 07247737190)	DNA PBB (DNA-Paraffin ^c -Bindungspuffer) (M/N: 05517621001) Tris-HCl-Puffer 49,6 % Guanidinhydrochlorid ^b 0,05 % Harnstoff 20 % nichtionogenes Detergens ^b	8 × 10 ml	 <p>GEFAHR H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H315: Verursacht Hautreizungen. H318: Verursacht schwere Augenschäden. P264: Nach Gebrauch Haut gründlich waschen. P270: Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen. P280: Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P301 + P312 + P330 BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. Mund ausspülen. P302 + P352 BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P332 + P313 Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 50-01-1 Guanidinhydrochlorid (1:1) 9002-92-0 Polidocanol (Poly(oxy-1,2-ethanediyl), alpha-dodecyl-omega-hydroxy-)</p>

Kit/Kassetten	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Test	Sicherheitssymbole und -hinweise ^a
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 Tests (M/N: 07247737190)	WB I (DNA-Waschpuffer I) (M/N: 05517656001) Tris-HCl-Puffer 64 % Guanidinhydrochlorid ^b	1 × 25 ml	 <p>WARNUNG H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. H315: Verursacht Hautreizungen. H319: Verursacht schwere Augenreizung. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P264: Nach Gebrauch Haut gründlich waschen. P280: Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P304 + P340 + P312: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P337 + P313: Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen.</p>
	WB II (DNA-Waschpuffer II) (M/N: 05517664001) Tris-HCl-Puffer Natriumchlorid	1 × 12,5 ml	k. A.
	DNA EB (DNA-Elutionspuffer) (M/N: 05517630001) Tris-HCl-Puffer 0,09 % Natriumazid	1 × 6 ml	k. A.
	HPEA FT (High Pure-Aufsatz) (M/N: 07323204102) Filterröhrchen mit Verschlüssen	5 × 5 Stk.	k. A.
	CT (Sammelröhrchen) (M/N: 05880513001)	3 × 25 Stk.	k. A.

^a Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

^b Gefährliche Substanz.

^c Der Paraffin-Bindungspuffer wird für Plasmaproben verwendet.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenz	Lagertemperatur	Lagerdauer
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit	15–30 °C	Nach dem Öffnen und der Rekonstitution 90 Tage bzw. maximal bis zum Verfallsdatum haltbar.

Hinweis: Mit Ausnahme von **PK** dürfen Reagenzien nicht eingefroren werden.

Hinweis: Alle Reagenzien und Gefäße vor der Verwendung mittels Sichtprüfung auf auslaufende Flüssigkeiten überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.

Hinweis: Nach der Zugabe von sterilem, nukleasefreiem Wasser zu **PK** nicht verwendete rekonstituierte **PK** in 450-µl-Aliquots bei -20 °C aufbewahren. Nach der Rekonstitution muss **PK** innerhalb von 90 Tagen bzw. maximal bis zum Verfallsdatum verbraucht werden. **WB I** und **WB II** nach der Zugabe von reinem Ethanol bei 15–30 °C aufbewahren. Diese Gebrauchslösungen sind 90 Tage bzw. maximal bis zum Verfallsdatum stabil.

Zusätzlich benötigtes Material

Materialien	P/N
Reines Ethanol (200 Proof für die Molekularbiologie)	Beliebiger Hersteller
Isopropanol (ACS, ≥ 99,5 %)	Beliebiger Hersteller
Steriles, nukleasefreies Wasser (für die Molekularbiologie)	Beliebiger Hersteller
Bleiche	Beliebiger Hersteller
70%iges Ethanol	Beliebiger Hersteller
Sterile, serologische Einwegpipetten, 5 und 25 ml	Beliebiger Hersteller
Verstellbare Pipetten* (Kapazität von 5–1000 µl)	Beliebiger Hersteller
DNase-freie Aerosolfilter- oder Kolbenhub-Pipettenspitzen	Beliebiger Hersteller
Pipet-Aid™*	Beliebiger Hersteller
Tischzentrifuge* (mit einer Zentrifugalkraft von 6000 × g und geeignet für konische 50-ml-Röhrchen in einem Ausschwingrotor)	Beliebiger Hersteller
Tischmikrozentrifuge* (mit einer Zentrifugalkraft von 20.000 × g)	Beliebiger Hersteller
Kunststoffröhrchen, 15 ml, steril, konisch	Beliebiger Hersteller
Mikrozentrifugenröhrchen mit Einrastverschluss (1,5 ml, steril, RNase-/DNase-frei, PCR-Qualität)	Beliebiger Hersteller
Vortexer*	Beliebiger Hersteller
Gefrierschrank mit einem Temperaturbereich von -25 °C bis -15 °C	Beliebiger Hersteller
Racks für konische und Mikrozentrifugenröhrchen	Beliebiger Hersteller
Puderfreie Laborhandschuhe	Beliebiger Hersteller

* Alle Geräte müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers gepflegt und gewartet werden.

Weitere Informationen zu diesen separat erhältlichen Materialien erhalten Sie von Ihrem zuständigen Roche-Mitarbeiter.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist die gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Probenvorbereitungs-Kits.

- Nur zur Verwendung als In-vitro-Diagnostikum bestimmt.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.
- Alle Proben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in Biosafety in Microbiological Laboratories¹ und dem CLSI-Dokument M29-A4² beschrieben zu behandeln.
- **DNA PBB** enthält ein nichtionogenes Detergens, das die Schleimhäute reizt. Kontakt mit Haut, Augen und Schleimhäuten vermeiden.

Hinweis: *Handelsübliche flüssige Haushaltsbleiche enthält in der Regel Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 5,25 %. Durch Verdünnung im Verhältnis 1:10 erhält man eine 0,5%ige Natriumhypochloritlösung.*

- Es wird empfohlen, sterile Einwegpipetten und DNase-freie Pipettenspitzen zu verwenden.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden gemeldet werden.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Nach dem Umgang mit Proben und Testreagenzien gründlich die Hände waschen.
- Beim Umgang mit Reagenzien Schutzbrille, Laborkittel und Laborhandschuhe tragen. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit diesen Materialien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen. Unbehandelt können Verätzungen entstehen. Verschüttete Flüssigkeiten vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.

Hinweis: *Handelsübliche flüssige Haushaltsbleiche enthält in der Regel Natriumhypochlorit in einer Konzentration von 5,25 %. Durch Verdünnung im Verhältnis 1:10 erhält man eine 0,5%ige Natriumhypochloritlösung.*

Kontamination

- Um Kontaminationen zu vermeiden, müssen Handschuhe getragen und zwischen der Handhabung von Proben und cobas® cfDNA Sample Preparation Kit-Reagenzien gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit Proben nicht kontaminiert werden.
- Handschuhe regelmäßig wechseln, um das Kontaminationsrisiko zu senken.
- Die Handschuhe müssen vor dem Verlassen von DNA-Isolierungsbereichen gewechselt werden oder wenn ein Verdacht auf Kontakt mit Lösungen oder einer Probe besteht.
- Kontamination der Reagenzien und Proben durch Mikroorganismen und Ribonuklease vermeiden.
- Die Geräte und Materialien sollten den verschiedenen Arbeiten fest zugewiesen werden; sie dürfen dann nicht mehr für andere Arbeiten verwendet oder in einen anderen Bereich gebracht werden. So dürfen für die DNA-Isolierung verwendete Pipetten und Verbrauchsmaterialien zum Beispiel nicht für die Vorbereitung von Reagenzien für die Amplifikation und Detektion verwendet werden.
- Die Arbeitsabläufe im Labor sind so zu gestalten, dass sie nur in eine Richtung verlaufen, d. h. ein Arbeitsgang wird abgeschlossen, bevor der nächste gestartet wird. So sollte beispielsweise die DNA-Isolierung abgeschlossen sein, bevor Amplifikation und Detektion gestartet werden. Darüber hinaus ist die DNA-Isolierung in einem Bereich durchzuführen, der von Amplifikation und Detektion räumlich getrennt ist.

Handhabung

- Kits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien aus verschiedenen Kits oder Chargen nicht vermischen.
- Einwegkomponenten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Alle Einwegkomponenten sind für den einmaligen Gebrauch vorgesehen. Nicht wiederverwenden.
- Alle Geräte müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers gewartet werden.

Entsorgung

- **DNA EB** enthält Natriumazid. Natriumazid kann bei der Reaktion mit Blei- und Kupferleitungen hochexplosive Metallazide bilden. Beim Ausgießen natriumazidhaltiger Lösungen in Laborwaschbecken mit reichlich kaltem Wasser nachspülen, um Azidansammlung zu vermeiden.
- Nicht verbrauchte Reagenzien und Abfall gemäß den einschlägigen regionalen und überregionalen Vorschriften entsorgen.

Verschüttetes Material und Reinigung

- **DNA PBB** und **WB I** enthalten Guanidinhydrochlorid. Wird eine Flüssigkeit verschüttet, die diesen Puffer enthält, mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser beseitigen. Enthält eine verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Stoffe, muss der betroffene Bereich zunächst mit Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 0,5%igem Natriumhypochlorit gereinigt werden.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Hinweis: Alle Proben müssen wie potenzielle Überträger von Infektionserregern behandelt werden.

Entnahme und Handhabung von Proben

Das cobas® cfDNA Sample Preparation Kit wurde für die Verwendung mit antikoagulierten EDTA-Plasmaproben entwickelt.

Das Plasma ist gemäß den Angaben im Abschnitt **Entnahme, Transport und Lagerung von Proben** in der Gebrauchsanweisung des jeweiligen Tests vom Blut zu trennen.

Transport, Lagerung und Haltbarkeit von Proben

Beim Transport von Plasmaproben sind die geltenden Vorschriften für den Transport von Krankheitserregern zu beachten.³

Empfehlungen zur Lagerung können Sie dem Abschnitt **Entnahme, Transport und Lagerung von Proben** der Gebrauchsanweisung des jeweiligen Tests entnehmen.

Lagerung und Haltbarkeit verarbeiteter Proben

Empfehlungen zur Lagerung können Sie dem Abschnitt **Entnahme, Transport und Lagerung von Proben** der Gebrauchsanweisung des jeweiligen Tests entnehmen.

Extrahierte cfDNA sollte innerhalb des empfohlenen Lagerzeitraumes bzw. spätestens vor Erreichen des Verfallsdatums des cobas® cfDNA Sample Preparation Kits, mit dem die DNA extrahiert wurde, verwendet werden.

Vor der Verwendung extrahierter DNA-Stammlösung aus der Lagerung muss das Elutionsröhrchen mit der Stammlösung im Kurzzeitbetrieb des Vortexers (kurze Impulse) gemischt und zentrifugiert werden.

Verfahren zur Probenvorbereitung

Verwendung des Kits

Abbildung 1 Arbeitsablauf mit dem cobas® DNA Sample Preparation Kit

1	Proben und Reagenzien aus der Lagerung nehmen.
2	Probe für die Bindung an die Säule vorbereiten.
3	DNA-Isolierung durchführen.
4	DNA eluieren.

Gebrauchsanweisung

Hinweis: Das cobas® cfDNA Sample Preparation Kit wurde für die Verwendung mit antikoagulierten EDTA-Plasmaproben entwickelt.

Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzien

Vor der ersten Verwendung des Kits sind die Gebrauchsreagenzien wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben vorzubereiten. Zum Dispensieren des Wassers ist eine serologische 5-ml-Pipette zu verwenden. Zum Dispensieren des Ethanolts ist eine serologische 25-ml-Pipette zu verwenden. Wenn die Proteinase K bereits rekonstituiert und eingefroren wurde, eine ausreichende Anzahl von Aliquots für die Verarbeitung der zu analysierenden Proben auftauen.

Reagenzien	Rekonstitution/Vorbereitung
Proteinase K (PK)	Proteinase K (PK) rekonstituieren, indem 4,5 ml steriles Wasser mit einer sterilen, serologischen 5-ml-Einwegpipette in das Fläschchen gegeben werden. Durch 5- bis 10-maliges Umschwenken des Fläschchens mischen. 1,1 ml rekonstituierte PK in 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen geben und bei -20 °C maximal 90 Tage bzw. maximal bis zum Verfallsdatum aufbewahren. Wenn die PK bereits rekonstituiert und eingefroren wurde, eine ausreichende Anzahl von Aliquots auftauen, um die zu analysierenden Proben zu verarbeiten (für jede Probe werden 250 µl rekonstituierte PK benötigt).
Waschpuffer I (WB I)	Gebrauchswaschpuffer WB I durch Zugabe von 15 ml reinem Ethanol in die Flasche mit WB I herstellen. Durch 5- bis 10-maliges Umschwenken der Flasche mischen. Die Zugabe von Ethanol und das Datum auf der Flasche vermerken. Gebrauchswaschpuffer WB I bei 15 °C bis 30 °C maximal 90 Tage bzw. maximal bis zum Verfallsdatum aufbewahren.
Waschpuffer II (WB II)	Gebrauchswaschpuffer WB II durch Zugabe von 50 ml reinem Ethanol in die Flasche mit WB II herstellen. Durch 5- bis 10-maliges Umschwenken der Flasche mischen. Die Zugabe von Ethanol und das Datum auf der Flasche vermerken. Gebrauchswaschpuffer WB II bei 15 °C bis 30 °C maximal 90 Tage bzw. maximal bis zum Verfallsdatum aufbewahren.

Alle bei 15–30 °C aufbewahrten Lösungen müssen klar sein. Wenn sich in einem der Reagenzien Präzipitat befindet, die Lösung auf 37 °C erwärmen, bis sich das Präzipitat aufgelöst hat. Das Reagenz erst verwenden, wenn sich das Präzipitat vollständig aufgelöst hat.

DNA-Isolierung

1. Für jede Plasmaprobe sowie für die Negativkontrolle ein konisches 15-ml-Röhrchen beschriften. Für die Negativkontrolle kann steriles Wasser verwendet und auf die gleiche Weise verarbeitet werden wie die Proben.
2. Plasma vortexen und anschließend 2 ml jeder Plasmaprobe oder Negativkontrolle (steriles Wasser) in ein separates 15-ml-Röhrchen überführen.

Hinweis: Zur Verarbeitung einer Probe mit dem cobas® cfDNA Sample Preparation Kit werden mindestens 2 ml Plasma benötigt.

3. In jedes Röhrchen 250 µl **PK** geben.
4. In jedes Röhrchen 2 ml **DNA PBB** geben.
5. Probenröhrchen mit **DNA PBB/PK** durch 3- bis 5-maliges Umschwenken der Röhrchen mischen.
6. Alle Röhrchen 30 Minuten bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) inkubieren.

Hinweis: Während der Inkubation die erforderliche Anzahl von Filterröhrchen (**HPEA FT**) vorbereiten, indem jedes **HPEA FT** auf dem Verschluss des **HPEA FT** mit der Probenbezeichnung beschriftet wird.

Hinweis: Für jede Probe werden ein **HPEA FT**, drei Sammelröhrchen (**CT**) und zwei Elutionsröhrchen (1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen) benötigt.

Hinweis: Während der Inkubation die erforderliche Anzahl von Elutionsröhrchen (1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen) mit der jeweiligen Probenbezeichnung beschriften.

7. 500 µl Isopropanol zugeben und das Lysat durch 3- bis 5-maliges Umschwenken mischen.
8. Das gesamte Lysat in das entsprechend beschriftete **HPEA FT** überführen.
9. Mit der Tischzentrifuge mit Ausschwingrotor das **HPEA FT** 5 Minuten bei 4000 × g zentrifugieren.
10. Nach dem Zentrifugieren das **HPEA FT** aus dem konischen 50-ml-Sammelröhrchen entnehmen. Das **HPEA FT** auf ein **CT** aufstecken. Den größeren Befestigungsclip durch Drehen lösen und von der Einheit abziehen.
11. Den kleineren Befestigungsclip unter dem Verschluss des Filterröhrchens (**FT**) nach oben drücken, so dass die Versiegelung auf beiden Seiten des Verschlusses durchbrochen wird, und den Riegel von der Einheit abziehen.
12. Die **HPEA**-Einheit vom **FT** abziehen, indem der Aufsatz von der Verschlussseite des **FT** weggeneigt wird.
13. Den Durchfluss aus dem **HPEA FT** in den Chemiemüll verwerfen und die gebrauchte Einheit fachgerecht entsorgen.
14. Filterverschluss ordnungsgemäß beschriften.

15. 500 µl des Gebrauchswaschpuffers **WB I** in jedes **FT** geben.

Hinweis: Die Herstellung des Gebrauchswaschpuffers **WB I** ist in der Tabelle im Abschnitt **Vorbereitung der Reagenzien** beschrieben.

16. Für die restlichen Schritte die Tischmikrozentrifuge verwenden.

17. Die **FT/CT**-Einheiten 1 Minute lang bei $8000 \times g$ zentrifugieren.

18. Jedes **FT** auf ein neues **CT** aufstecken. Den Durchfluss aus jedem **CT** in den Chemiemüll verwerfen und alte **CT** fachgerecht entsorgen.

19. 500 µl des Gebrauchswaschpuffers **WB II** in jedes **FT** geben.

Hinweis: Die Herstellung des Gebrauchswaschpuffers **WB II** ist in der Tabelle im Abschnitt **Vorbereitung der Reagenzien** beschrieben.

20. Die **FT/CT**-Einheiten 1 Minute lang bei $8000 \times g$ zentrifugieren.

21. Jedes **FT** auf ein neues **CT** aufstecken. Den Durchfluss aus dem alten **CT** in den Chemiemüll verwerfen und das alte **CT** fachgerecht entsorgen.

22. Die **FT/CT**-Einheiten 1 Minute lang bei $16.000 \times g$ bis $20.000 \times g$ zentrifugieren, um die Filtermembran zu trocknen.

23. Das **FT** auf ein Elutionsröhrchen (RNase-/DNase-freies 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen) aufstecken, das mit der Probenbezeichnung beschriftet ist, und eine Ausrichtungsmarkierung auf jedem Röhrchen aufbringen. Den Durchfluss aus jedem **CT** in den Chemiemüll verwerfen und alte **CT** fachgerecht entsorgen.

24. 100 µl **DNA EB** in die Mitte der **FT**-Membran geben, ohne dabei die **FT**-Membran zu berühren.

25. Das **FT** mit dem Elutionsröhrchen 5 Minuten bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) inkubieren.

26. Die Röhrchen mit den Ausrichtungsmarkierungen nach außen in die Zentrifuge stellen. Das **FT** mit dem Elutionsröhrchen 1 Minute lang bei $8000 \times g$ zentrifugieren, um das Eluat im Elutionsröhrchen (beschriftetes, RNase-/DNase-freies 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen) zu sammeln. Das Eluat ist die DNA-Stammlösung.

27. **FT** entsorgen.

28. Langsam 80 µl DNA-Stammlösung entnehmen, ohne dabei das (unter Umständen nicht sichtbare) Pellet aufzuwirbeln. Die entnommene DNA-Stammlösung in ein zweites Elutionsröhrchen (RNase-/DNase-freies 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen) überführen, das mit der Probenbezeichnung beschriftet ist. Die Elutionsröhrchen mit den Verschlüssen verschließen. Die DNA-Stammlösung ist nun bereit für PCR-Tests. Die DNA-Stammlösung ist gemäß den Angaben im Abschnitt **Transport, Lagerung und Haltbarkeit von Proben** in der Gebrauchsanweisung des jeweiligen Tests aufzubewahren.

Hinweis: *Beim Pipettieren vom Boden des Elutionsröhrchens kann das Pellet aufgewirbelt werden, was zu einer Beeinträchtigung der Testergebnisse führen kann.*

Hinweis: *Wird das Pellet aufgewirbelt, die DNA-Stammlösung in das ursprüngliche Elutionsröhrchen zurückgeben, das Röhrchen verschließen und im Kurzbetrieb des Vortexers mischen. Anschließend das Röhrchen mit der Ausrichtungsmarkierung nach außen 1 Minute lang bei $8000 \times g$ zentrifugieren, damit sich das Eluat sammelt, und dann Schritt 28 wiederholen, um 80 µl DNA-Stammlösung zu entnehmen.*

Weitere Informationen

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 1 Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

 Alter oder Geburtsdatum	 Gerät nicht für eine patientennahe Testung geeignet	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
 Zusatz-Software	 Gerät nicht für Selbsttests geeignet	 Seriennummer
 Sollbereich (Kopien/ml)	 Vertrieb <i>(Hinweis: ggf. Angabe von Land/Region unter dem Symbol)</i>	 Zentrum, Labor
 Sollbereich (IE/ml)	 Nicht wiederverwenden	 Standardverfahren
 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	 Frauen, weiblich	 Mit Ethylenoxid sterilisiert
 Barcode-Datenblatt	 Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	 Im Dunkeln lagern
 Chargenbezeichnung	 Globale Artikelnummer GTIN	 Temperaturbegrenzung
 Biogefährdung	 Import	 Datei mit Testdefinitionen
 Bestellnummer	 <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	 Diese Seite oben
 CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	 Unterer Grenzwert des Sollbereichs	 Ultrasensitives Verfahren
 Entnahmedatum	 Männer, männlich	 Eindeutige Gerätekennung
 Gebrauchsanweisung beachten	 Hersteller	 Oberer Grenzwert des Sollbereichs
 Ausreichend für <n> Tests	 Negativkontrolle	 Fülllinie für Urin
 Inhalt der Packung	 Nicht steril	 Nur für die USA: In den USA darf dieser Test nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
 Kontrolle	 Patientennamen	 Verwendbar bis
 Herstellungsdatum	 Patienten-ID	
 Gerät für eine patientennahe Testung	 Hier abziehen	
 Gerät für Selbsttests	 Positivkontrolle	
	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Herstellung und Vertrieb

Tabelle 2 Herstellung und Vertrieb



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Hergestellt in den USA

Distributed by Roche Diagnostics
 9115 Hague Road
 Indianapolis, IN 46250-0457 USA
 (For Technical Assistance call the
 Roche Response Center
 toll-free: 1-800-526-1247)¹

¹ Nur für USA.

Marken und Patente

Siehe <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Literatur

1. Chosewood LC, Wilson DE. Biosafety and microbiological and biomedical laboratories-Fifth Edition. US Department of Health and Human Services Publication. (CDC). 2009;21-1112.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
3. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 60th Edition. 2019.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 6.0 12/2021	Es wurden einige Textstellen an die Vorgaben der IVDR angepasst. Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert. Der Abschnitt Technischer Support wurde hinzugefügt. Es wurde die Angabe hinzugefügt, wo das Produkt hergestellt wurde. Die Vertriebsadressen wurden aktualisiert. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.

Unter dem folgenden Link finden Sie eine Zusammenfassung des Berichts zu Sicherheit und Leistung:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>