

BRUKSANVISNING

chemagic™ BBS DNA Kit H24

Produktnummer: IVD-1074

Reagens för 240 extraktioner.

UDI-DI: 4260543364175

Version: V240503 SV

Tillverkare: Revvity chemagen Technologie GmbH
Arnold-Sommerfeld-Ring 2
52499 Baesweiler, Tyskland
www.revvity.com

CE

FÖR *IN VITRO*-DIAGNOSTISK ANVÄNDNING.

1. INNEHÅLLSFÖRTECKNING













| | |
|---|----|
| 1. Innehållsförteckning..... | 1 |
| 2. Förklaring av signalorden i den här bruksanvisningen | 3 |
| 3. Symboler som används i bruksanvisningen och på märkningar | 3 |
| 4. Avsett ändamål | 5 |
| 5. Sammanfattning och princip | 5 |
| 6. Rapportering av incidenter..... | 6 |
| 7. Allmän information och information om förvaring..... | 7 |
| 8. Bruksanvisning i elektroniskt format | 8 |
| 9. Varningar och försiktighetsåtgärder | 8 |
| 10. Kitreagens och säkerhetsinformation..... | 10 |
| 10.1 Magnetic Beads | 10 |
| 10.2 Lysis Buffer 1 | 10 |
| 10.3 Binding Buffer 2 | 11 |
| 10.4 Wash Buffer 3 | 12 |
| 10.5 Wash Buffer 4 | 13 |
| 10.6 Wash Buffer 5 | 14 |
| 10.7 Wash Buffer 6 | 15 |
| 10.8 Elution Buffer 7 | 15 |
| 10.9 Proteinase K | 15 |
| 10.10 Ytterligare kitkomponenter | 16 |
| 11. Protokollfiler som behövs..... | 17 |
| 12. Material som behövs men inte medföljer kitet..... | 17 |
| 12.1 Artiklar från Revvity chemagen Technologie GmbH | 17 |
| 12.2 Ytterligare artiklar som krävs | 18 |
| 12.3 Ytterligare valfria artiklar från Revvity chemagen Technologie GmbH..... | 18 |
| 12.4 Övriga valfria artiklar | 18 |
| 13. Provtagning och provhantering..... | 19 |
| 14. Beredning av buffy-coat-prover..... | 20 |
| 15. Detaljerad protokollbeskrivning..... | 21 |
| 15.1 Protokollprocedur | 21 |
| 15.2 Bearbetningssteg | 22 |
| 15.3 Kort beskrivning/snabbguide..... | 25 |
| 16. Prestandaegenskaper..... | 28 |
| 16.1 Linjäritet och återställning med spikat DNA-prov | 28 |
| 16.2 Erhållen mängd DNA med blod- och buffy-coat-prover..... | 29 |
| 17. Rengöring och underhåll..... | 30 |








| | |
|---|----|
| 18. Nedströmstillämpningar | 31 |
| 19. Mer information..... | 32 |
| 20. Användningsbegränsningar | 32 |
| 21. Påverkan av interfererande substanser | 32 |
| 22. Garanti..... | 33 |

2. FÖRKLARING AV SIGNALORDEN I DEN HÄR BRUKSANVISNINGEN

| Signalord | Beskrivning |
|------------------------|---|
| WARNING! | Potentiell risk som kan leda till lätt eller medelsvår skada. |
| VAR UPPMÄRKSAM! | Felaktig hantering kan skada instrumentet. |
| OBS: | Felaktig åtgärd av användaren som gör att det inte går att garantera optimal prestanda för kitet. |

3. SYMBOLER SOM ANVÄNDS I BRUKSANVISNINGEN OCH PÅ MÄRKNINGAR

| Symbol | Beskrivning | Symbol | Beskrivning |
|---|--|---|---|
|  | CE-märkning EU-överensstämmelse |  | Temperaturgräns |
|  | Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik |  | Innehåller tillräckligt för <n> tester |
|  | Se bruksanvisningen (tryckt eller elektroniskt format) |  | Kvantitet |
|  | Tillverkare |  | Får ej återanvändas |
|  | Batchkod |  | Översättning |
|  | Katalognummer |  | Utgångsdatum |

| Symbol | Beskrivning | Symbol | Beskrivning |
|---|--|---|--|
|  | Använd inte om förpackningen är skadad och läs |  | Denna sida upp |
|  | GHS02 |  | Farligt gods: klass 3 brandfarlig vätska |
|  | GHS07 |  | Farligt gods: klass 8 frätande ämnen |
|  | GHS08 | - | - |

chemagic™ är ett varumärke som tillhör Revvity chemagen Technologie GmbH.

4. AVSETT ÄNDAMÅL

chemagic™ BBS DNA Kit H24 (IVD-1074) är ett kit för automatiserad isolering och rening av DNA från humant blod, buffy coats (blod med reducerad mängd plasma) och stabiliserad saliv för *in vitro*-diagnostiska ändamål.

Andra provmaterial såsom lysat från pinnprover eller vävnad kan gå att använda men har inte validerats än. Vid användning av sådana material måste en validering utföras av användaren.

Produkten används på instrumentet chemagic™ 360-D och är avsedd för laboratoriepersonal som utbildats för instrumentet chemagic 360-D i kombination med reningskit för nukleinsyror från chemagic. Kitet är avsett att användas med nedströms-IVD-tillämpningar där enzymatisk amplifiering och detektion av DNA används (t.ex. PCR, RT-PCR, NGS).

Mer information finns i avsnitt "KITREAGENS OCH SÄKERHETSINFORMATION" och "VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER" i det här dokumentet.

5. SAMMANFATTNING OCH PRINCIP

chemagic BBS DNA Kit H24 är baserat på en teknisk plattform med Magnetic Beads som tillhör Revvity chemagen Technologie GmbH. Vita blodkropppar eller en annan DNA-källa som finns i blod, buffy-coat och saliv lyseras under extraktionsprocessen. De frisatta nukleinsyrorerna binder till de små magnetiska glaspartiklarna som sedan separeras magnetiskt från provmaterialet. Under de efterföljande stegen avlägsnas kontaminerande ämnen och de renade nukleinsyrorerna överförs till en elueringsbuffert. Den automatiska provbearbetningen utförs med instrumentet chemagic 360-D tillsammans med ett chemagic 24 Rod Head Set eller liknande instrument.

För att minimera avvikelser i de diagnostiska resultaten ska produkten användas med en internkontroll samt med lämpliga kontroller under processen för provberedning, provamplifiering och detektion enligt den nedströmsanalys som används.

6. RAPPORTERING AV INCIDENTER

För användare/tredje part i Europeiska unionen och i länder med identiskt regelverk (IVDR (EU) 2017/746) gäller följande: Om det inträffar en allvarlig incident i samband med användning av den här produkten eller som ett resultat av användningen ska du rapportera detta till behörig myndighet i ditt land samt till tillverkaren Revvity chemagen Technologie GmbH, +49 (0) 2401805500 eller support.chemagen@revvity.com, eller till tillverkarens juridiska ombud.

Behörig myndighet i Tyskland är det federala institutet för läkemedel och medicintekniska produkter, Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM). Kontaktinformation finns på BfArM:s webbplats: <https://www.bfarm.de>. (Behörig myndighet i Sverige är Läkemedelsverket: <https://www.lakemedelsverket.se/sv>.)

7. ALLMÄN INFORMATION OCH INFORMATION OM FÖRVARING

Kitet innehåller tillräckligt med reagens för att utföra 240 extraktioner.

Utgångsdatum för ett öppnat kit anges på etiketten på förpackningen. Använd inte någon komponent efter utgångsdatum. Förvaras i +2 till +25 °C.

När kitkomponenterna har öppnats har de en begränsad hållbarhet. Hållbarheten efter öppning för varje komponent anges separat i listan med reagens nedan (avsnittet "KITREAGENS OCH SÄKERHETSINFORMATION").

OBS: Förslut flaskorna tätt omedelbart efter användning för att förhindra avdunstning.

Flaskorna kan missfärgas vid förvaring. Missfärgningen påverkar dock inte analysens funktionalitet.

I vissa fall kan partiklar från Magnetic Beads finnas kvar i eluatet. Även om sådana partiklar vanligen inte interfererar med PCR eller de flesta nedströmstillämpningar rekommenderas ett ytterligare separationssteg med användning av antingen centrifugering eller en magnetisk separator (chemagic Stand 12, ingår i chemagic 360 24 Rod Head Set) för att separera eventuella partikelrester.

Extraherat DNA ska användas i det aktuella *in vitro*-diagnostiska testet omedelbart efter extraktionen.

I denna bruksanvisning hänvisar vi till användarhandboken till chemagic 360-D. Användarhandboken medföljer instrumentet chemagic 360-D.

Kitrelaterade protokollfiler finns tillgängliga på webbplatsen eller kan beställas från kundsupport (se avsnittet "PROTOKOLLFILER SOM BEHÖVS").

8. BRUKSANVISNING I ELEKTRONISKT FORMAT

Bruksanvisningen finns tillgänglig på olika språk i elektroniskt format på vår webbplats. Om du vill ladda ned en bruksanvisning i elektroniskt format går du till

<https://chemagen.com/products/ce-ivd-chemagic-kits/ivd-1074-chemagic-bbs-dna-kit-h24/>.

Bruksanvisningen i elektroniskt format (eIFU) finns alltid på engelska (EN), franska (FR), spanska (ES) och italienska (IT) och på begäran även på vissa andra språk.

Om du har frågor om nedladdning av bruksanvisningen i elektroniskt format kontaktar du oss på support.chemagen@revvity.com, info.chemagen@revvity.com eller +49 (0) 2401805500.

9. VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

För *in vitro*-diagnostisk användning.

Produkten är avsedd för laboratoriepersonal som utbildats för instrumentet chemagic 360-D i kombination med chemagic kit för rening av nukleinsyror.

En förutsättning för en problemfri användning av chemagic BBS DNA Kit H24 är att användaren har läst den här bruksanvisningen och användarhandboken till chemagic 360-D noga samt förstått innehållet.

Reagensen som medföljer detta kit är avsedda att användas som en integrerad enhet. Se till att du inte förväxlar identiska reagens från kit med olika lotnummer.

Använd inte kitreagens efter det utgångsdatum som anges på kitetiketten. Efter att reagensen har öppnats kan de användas under den tidsperiod som anges i listan med reagens i den här bruksanvisningen.

Avvikelser från protokollet kan påverka resultaten.

Reagensen dispensereras automatiskt i hela rader och därför ska chemagic Tips XL och chemagic Elution Tubes 13 mL även användas i hela rader på varje stav som kommer i kontakt med en reagenslösning.

Observera även att om partiella plattor körs så räcker eventuellt inte lösningarna till 240 extraktioner.

Kontrollera att alla kitkomponenter är oskadade. Kontakta tillverkaren om du upptäcker en skada.

Hantera alla prover som potentiellt smittbärande. Potentiellt smittbärande prover ska inaktiveras. Se dokumentet "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" från U.S. Department of Health and Human Services eller motsvarande lokalt eller nationellt regelverk.

Lysis Buffer 1 innehåller guanidiniumklorid och är skadligt vid förtäring, hudkontakt eller inandning. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3 och Wash Buffer 4 innehåller natriumperklorat och etanol och är brandfarliga vätskor och ångor som är skadliga vid förtäring. Wash Buffer 5 innehåller etanol som är en brandfarlig vätska och ånga. Proteinase K innehåller tritirachium album serinproteinase och orsakar irritation på hud och allvarlig irritation på ögon. Det kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter eller irritation vid inandning. Information om specifika försiktighetsåtgärder för alla komponenter finns i avsnitt "KITREAGENS OCH SÄKERHETSINFORMATION".

Använd alltid skyddsglasögon, engångshandskar och skyddskläder när du arbetar med kitkomponenterna för att undvika skador. Detaljerad information finns i de motsvarande säkerhetsdatabladen (SDS) som finns tillgängliga på vår webbplats.

Följ lokala bestämmelser för hantering av lösningar som innehåller etanol.

Allt avfall ska kasseras i enlighet med lokala bestämmelser.

10. KITREAGENS OCH SÄKERHETSINFORMATION


chemagic BBS DNA Kit H24 innehåller följande reagens.

10.1 MAGNETIC BEADS

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|----------------|---------------------------------|---|
| Magnetic Beads | 1 flaska (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Suspension av partiklar som innehåller nanopartiklar av järnoxid inkapslade i en matris av polyvinylalkohol. Magnetic Beads binder DNA/RNA under extraktionsprocessen.

10.2 LYSIS BUFFER 1

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|--|------------------------------------|--|
| Lysis Buffer 1  VARNING | 1 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Användningsklar vattenbaserad buffertlösning (pH 6,7–7,2) som innehåller guanidiniumklorid (30–50 %) och isotridecylalkohol (1–1,5 %). Lysis Buffer 1 används för lysering av cellerna eller en annan DNA-källa som finns i provet för att frigöra DNA i lösningen.

VARNING! Lysis Buffer 1 innehåller guanidiniumklorid och isotridecylalkohol.


Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|------|-----------------------------------|
| H302 | Skadligt vid förtäring. |
| H315 | Irriterar huden. |
| H319 | Orsakar allvarlig ögonirritation. |

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| P280 | Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. |
| P301+P312 | VID FÖRTÄRING: Vid obehag, kontakta GIFT-INFORMATIONSCENTRAL/läkare. P330 Skölj munnen. |
| P330 | Skölj munnen. |
| P305+P351+P338 | VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. |
| P332+P313 | Vid hudirritation: Sök läkarhjälp. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.3 BINDING BUFFER 2

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|---|------------------------------------|--|
| Binding Buffer 2  FARA | 2 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Användningsklar Tris-HCl-buffrad (pH 5,2–5,9) lösning med natriumperklorat (20–30 %), etanol (30–50 %) och isättika (0,75–1,5 %). Binding Buffer 2 används för att skapa rätt förhållanden för att få DNA att binda till Magnetic Beads.

WARNING! Binding Buffer 2 innehåller etanol och natriumperklorat.


Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|------|--|
| H226 | Brandfarlig vätska och ånga. |
| P210 | Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. |
| P240 | Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning. |

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| P241 | Använd explosionssäker [elektrisk/ventilations-/belysnings-/...] utrustning. |
| P280 | Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. |
| P303+P361+P353 | VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha]. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.4 WASH BUFFER 3

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|--|------------------------------------|--|
| Wash Buffer 3  FARA | 1 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Användningsklar Tris-HCl-buffrad (pH 5,0–5,6) lösning med natriumperklorat (10–20 %) och etanol (10–30 %). Används för att avlägsna kontaminerande icke-DNA-ämnen under tvättsteget.

WARNING! Wash Buffer 3 innehåller etanol och natriumperklorat.


Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|------|--|
| H226 | Brandfarlig vätska och ånga. |
| P210 | Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. |
| P240 | Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning. |
| P241 | Använd explosionssäker [elektrisk/ventilations-/belysnings-/...] utrustning. |
| P280 | Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. |

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| P303+P361+P353 | VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha]. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.5 WASH BUFFER 4

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|--|------------------------------------|--|
| Wash Buffer 4  FARA | 1 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |


Användningsklar Tris-HCl-buffrad (pH 5,0–5,6) lösning med natriumperklorat (10–20 %) och etanol (10–30 %). Används för att avlägsna kontaminerande icke-DNA-ämnen under tvättsteget.

WARNING! Wash Buffer 4 innehåller etanol och natriumperklorat.

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| H226 | Brandfarlig vätska och ånga. |
| P210 | Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. |
| P240 | Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning. |
| P241 | Använd explosionssäker [elektrisk/ventilations-/belysnings-/...] utrustning. |
| P280 | Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. |
| P303+P361+P353 | VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha]. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.6 WASH BUFFER 5

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|--|------------------------------------|--|
| Wash Buffer 5  FARA | 1 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Den användningsklara lösningen innehåller etanol (50–70 %). Används för att avlägsna de sista spåren av kontaminerande icke-DNA-ämnen under tvättsteget.

WARNING! Wash Buffer 5 innehåller etanol.

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| H225 | Mycket brandfarlig vätska och ånga. |
| P210 | Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. |
| P240 | Jorda och potentialförbind behållare och mottagarutrustning. |
| P241 | Använd explosionssäker [elektrisk/ventilations-/belysnings-/...] utrustning. |
| P280 | Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. |
| P303+P361+P353 | VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten [eller duscha]. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.7 WASH BUFFER 6

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|---------------|------------------------------------|--|
| Wash Buffer 6 | 1 behållare (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |



Användningsklar ultrafiltrerad vattenlösning. Används för att avlägsna eventuella rester av etanol.

10.8 ELUTION BUFFER 7

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|------------------|---------------------------------|---|
| Elution Buffer 7 | 1 flaska (volym, se etikett) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på flaskans etikett. Efter öppning: Hållbart i 60 dagar i +2 till +25 °C. |

Användningsklar 10 mM Tris-HCl-buffrad (pH 7,8–8,4) lösning.

10.9 PROTEINASE K

| Komponent | Kvantitet | Hållbarhet och förvaring |
|---|-----------------------------------|--|
| Proteinase K   FARA | 4 glasbehållare (lyofiliserat) | +2 till +25 °C till och med det utgångsdatum som anges på behållarens etikett. Efter rekonstituering: Hållbart i 28 dagar i +2 till +8 °C. |

Proteinase K rekonstitueras genom att tillsätta 1,25 ml renat vatten. Proteinase K tillsätts för att förbättra effektiviteten i lyseringssteget.

WARNING! Proteinase K innehåller tritirachium album serinproteinase och kalciumacetathydrat.

Riskfraser, försiktighetsåtgärder och EUH-fraser

| | |
|----------------|---|
| H315 | Irriterar huden. |
| H319 | Orsakar allvarlig ögonirritation. |
| H334 | Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andnings-svårigheter vid inandning. |
| H335 | Kan orsaka irritation i luftvägarna. |
| P261 | Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. |
| P280 | Använd skyddshandskar/ögonskydd/ansiktsskydd. |
| P284 | Använd andningsskydd vid otillräcklig ventilation. |
| P305+P351+P338 | VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. |
| P405 | Förvaras inlåst. |
| P501 | Innehållet/behållaren lämnas till godkänd mottagningsstation i enlighet med lokala, regionala, nationella och internationella bestämmelser. |

10.10 YTTERLIGARE KITKOMPONENTER

chemagic BBS DNA Kit H24 innehåller följande plastmaterial.

| Komponent | Kvantitet | Förvaring |
|--------------------------------|-----------|----------------|
| chemagic Tips XL | 250 | +2 till +25 °C |
| chemagic Deep Well Plate 24 XL | 50 | +2 till +25 °C |
| chemagic Elution Tube 13 mL | 288 | +2 till +25 °C |

11. PROTOKOLLFILER SOM BEHÖVS

Följande protokollfiler tillhandahålls av Revvity chemagen Technologie GmbH och finns tillgängliga på webbplatsen eller kan skickas av kundsupport.

| Protokoll (.che-fil) | Protokolltyp/syfte |
|---|---|
| chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml Tubes prefilling VD191213.che | Kitrelaterad extraktionsfil för instrumentet chemagic 360-D |
| prime manifolds H24 all 360 V150116.che | Påfyllning och prime av slangarna i instrumentet chemagic 360-D med reagens |
| check manifolds H24 all 360 V150116.che | Kontroll av pumparnas funktionalitet |
| regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che | Regelbunden rengöring av instrumentet chemagic 360-D (en gång i veckan) |
| intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che | Noggrann rengöring av instrumentet chemagic 360-D (en gång i månaden) |

12. MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER KITET

Artiklarna nedan behövs för chemagic BBS DNA Kit H24.

12.1 ARTIKLAR FRÅN REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

| Artikel | Produktnr |
|---|-----------|
| Instrumentet chemagic 360-D | 2024-0010 |
| chemagic 24 Rod Head Set | CMG-376 |
| Rack för chemagic Elution Tubes 13 mL (medföljer chemagic 24 Rod Head Set) | - |

12.2 YTTERLIGARE ARTIKLAR SOM KRÄVS

| Artikel | Syfte |
|---|---|
| Pipetter och pipettspetsar med aerosolbarriärer | Påfyllning av Magnetic Beads, Elution Buffer 7 och Proteinase K |
| Vatten med kvalitet för molekylärbiologi | Rekonstituering av Proteinase K |
| 70 % etanol | Rengöring av instrumentet chemagic 360-D |

12.3 YTTERLIGARE VALFRIA ARTIKLAR FRÅN REVVITY CHEMAGEN TECHNOLOGIE GMBH

| Produkt | Produktnr |
|---|-----------|
| chemagic Stand 12 (medföljer chemagic 24 Rod Head Set) | CMG-308 |
| Red Cell Lysis Buffer | CMG-848 |

12.4 ÖVRIGA VALFRIA ARTIKLAR

| Produkt | Syfte |
|-------------------------------|------------------------------|
| Isotonisk saltlösning, steril | Resuspendering av buffy-coat |

13. PROVTAGNING OCH PROVHANTERING

chemagic BBS DNA Kit H24 kan användas med humant blod, buffy-coat och saliv i aliquoter på 2–4 ml per isolering.

Humant helblod (2–4 ml) eller buffy-coat-prover (upp till 4 ml) som är färska, frusna eller förvarade i maximalt 10 dagar i +2 till +8 °C ska användas. Vid längre förvaring rekommenderas frysning i –20 °C eller –80 °C i aliquoter. Rekommenderade blodstabiliserare är EDTA eller citrat.

OBS: Användning av heparinstabiliserade blodprover kan orsaka hämning i nedströmstillämpningar och rekommenderas därför inte.

Antalet vita blodkroppar i helblodsprover minskar under förvaring. Förlängd förvaring av proverna kan leda till en bristfällig mängd erhållet DNA efter extraktion.

Human saliv (4 ml) som har förvarats enligt anvisningarna från provrörstillverkaren ska användas. De stabiliserade provrör som rekommenderas kommer från DNAgenotek[®], Isohelix[™] och Spectrum Solutions. Inkubering av provrören innan extraktionen i > 2 h i 50 °C ger större erhållen mängd DNA och rekommenderas därför.

Buffy-coat-prover som har sparats i maximalt en vecka i +2 till +8 °C ska användas. Vid längre förvaring rekommenderas frysning i –20 °C eller –80 °C i aliquoter. Buffy-coat ska tas fram med hjälp av stabiliserade blodprovror (följ provrörsrekommendationen ovan för blodprover). Innan extraktionen ska buffy-coat tinas till 37 °C. Vi rekommenderar följande procedur för beredning av buffy-coat.

14. BEREDNING AV BUFFY-COAT-PROVER

- Tillsätt upp till 5 ml färskt helblod i ett sterilt 50 ml-rör.
- Tillsätt 40 ml Red Cell Lysis Buffer (RCLB) i blodet och vänd röret 4 gånger.
- Inkubera i 5 minuter eller tills suspensionen blir genomskinlig.
- Centrifugera i 4 000 rpm i 10 minuter för att samla upp de vita blodkropparna.
- Dekantera supernatanten och aspirera försiktigt den återstående supernatanten ovanpå provet genom att pipettera.

OBS: Var försiktig så att inte cellpelleten störs. Var mycket försiktig vid pipetteringen för att undvika förlust av den vita cellpelleten.

- Tillsätt 20 ml Red Cell Lysis Buffer och tvätta noga och avlägsna de återstående röda blodkropparna ovanpå den vita cellpelleten utan att den vita cellpelleten störs.
- Dekantera supernatanten och aspirera försiktigt den återstående supernatanten ovanpå provet genom att pipettera.
- Resuspendera buffy-coaten i upp till 2 ml isotonisk saltlösning (NaCl 0,9 %).
- Om startvolymen blod är mindre eller mer än 6 ml ändrar du volymen Red Cell Lysis Buffer som används med motsvarande mängd.
- Buffy-coaten kan frysas, förvaras i +2 till +8 °C i en vecka eller användas direkt för extraktion.

15. DETALJERAD PROTOKOLLBESKRIVNING

15.1 PROTOKOLLPROCEDUR

I följande procedur beskrivs hur extraktionsprotokollet bereds och utförs med instrumentet chemagic 360-D.

Det tar ungefär 78 minuter att utföra det automatiska extraktionsprotokollet.

Protokollet är lämpligt för bearbetning av upp till 24 prover parallellt (se "BEARBETNINGSTEG" nedan). Detaljerad information om användning av instrumentet chemagic 360-D finns i användarhandboken till chemagic 360-D.

OBS: Prover och reagens måste värmas till rumstemperatur (+19 till +25 °C) innan användning.

Anslut reagensflaskorna till instrumentet chemagic 360-D på följande sätt:

| Pump | Buffert | Minsta påfyllningsvolym |
|--------|------------------|-------------------------|
| Pump 1 | Lysis Buffer 1 | 150 ml |
| Pump 2 | Binding Buffer 2 | 350 ml |
| Pump 3 | Wash Buffer 3 | 200 ml |
| Pump 4 | Wash Buffer 4 | 200 ml |
| Pump 5 | Wash Buffer 5 | 200 ml |
| Pump 6 | Wash Buffer 6 | 200 ml |

OBS: Förslut flaskorna tätt omedelbart efter användning eller behåll flaskorna korrekt anslutna till instrumentet chemagic 360-D. Binding Buffer 2, Wash Buffer 3, Wash Buffer 4 och Wash Buffer 5 innehåller etanol. Om etanol avdunstar kan den optimala erhållna mängden eller detektionssensitiviteten inte garanteras.

15.2 BEARBETNINGSTEG

1. Kontrollera att alla kitkomponenter är oskadade. Kontakta tillverkaren om du upptäcker en skada.
2. Innan påfyllning av plattorna och chemagic Elution Tubes 13 mL i racket ska du markera dem med materialet på positionen (prover, Magnetic Beads och buffert).
Reagensen dispensereras automatiskt i hela rader och därför ska chemagic Elution Tubes 13 mL även användas i hela rader på varje stav som kommer i kontakt med en reagenslösning.
3. Rekonstituera Proteinase K:

| Komponent | Rekonstituering |
|--------------|---|
| Proteinase K | Tillsätt 1,25 ml vatten med kvalitet för molekylärbiologi i flaskan med Proteinase K och blanda försiktigt tills det har lösts upp. |

4. Fyll chemagic 360-D-slangarna med reagens och utför prime genom att välja protokollet "**prime manifolds H24 all 360 V150116.che**". Tryck på [Insert IDs], följ anvisningarna som visas i programvaran chemagic QA och börja utföra prime genom att trycka på [OK]. Om funktionerna som möjliggör inmatning av ID-data är inaktiverade börjar du utföra prime direkt genom att trycka på [Start].

OBS: Prime ska utföras när reagensflaskorna ansluts till instrument chemagic 360-D för första gången eller när instrumentets slangar inte redan är fyllda med ovan nämnda reagens.

5. Om prime inte behöver utföras väljer du protokollet "**check manifolds H24 all 360 V150116.che**" och trycker på [Insert IDs], eller så trycker du på [Start] om de utökade funktionerna är inaktiverade. En liten volym buffert kommer att dispensereras av varje pump i ordningsföljd med början på den första pumpen som används för den här tillämpningen. Om du märker att någon av pumparna inte dispenserar buffert genom alla munstycken ska du använda det motsvarande prime-protokollet för denna pump. Även om du utför flera körningar om dagen behöver du bara kontrollera pumparna en gång i början av dagen.
6. Välj protokollet "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13ml prefilling VD191213.che**", tryck på [Insert IDs] och följ anvisningarna som visas i programvaran chemagic QA.

7. Kontrollera att det finns tillräckligt med chemagic Tips XL och att de är anpassade till provernas positioner, och placera spetsracket i position 1 på tracking system. Reagensen dispensereras automatiskt i hela rader och därför ska chemagic Elution Tips XL även användas i hela rader på varje stav som kommer i kontakt med en reagenslösning.
8. Kontrollera volymerna i behållarna för tillförsel av buffert och bekräfta genom att trycka på [OK]. Minimivolymer anges i "PROTOKOLLPROCEDUR" ovan.

OBS: Säkerställ att alla behållare för tillförsel av buffert innehåller tillräckligt med buffert. Det måste finnas tillräckligt stor volym av samtliga buffertar för att det ska gå att utföra 24 isoleringar.

9. Välj antal prover för påfyllning med hjälp av den nedrullningsbara menyn. Schemat för positionering av proverna visas när du har valt klart. Var noga med att använda de givna positionerna. Bekräfta genom att trycka på [OK].
10. Fyll de valda brunnarna i provplattan med upp till 4 ml prov. Säkerställ att proverna är homogena genom att blanda dem försiktigt innan de pipetteras i brunnarna i provplattan.
11. Ladda två elueringsrack med chemagic Elution Tubes 13 mL.
12. Fyll på Elution Buffer 7 och noggrant resuspenderade Magnetic Beads genom att pipettera manuellt enligt vare motsvarande brunn eller slang som används.

| Komponent | Plattposition på instrumentet chemagic 360-D | Volym/brunn eller provrör |
|------------------|--|---------------------------|
| Magnetic Beads | 4 | 400 µl |
| Elution Buffer 7 | 7 | 300–500 µl |

OBS: Magnetic Bead-suspensionen ska blandas noggrant innan dispensering. Annars blir inte suspensionen homogen, vilket kan leda till en låg erhållen mängd DNA.

13. Tillsätt 15 µl Proteinase K i brunnarna som innehåller prov.
14. Placera chemagic Deep Well Plates 24 XL och de två racken med chemagic Elution Tubes 13 mL (ett rack med chemagic Elution Tubes 13 mL fyllt med Elution Buffer 7 och det andra racket med tomma chemagic Elution Tubes 13 mL för kassering av chemagic Tips XL) på tracking system enligt anvisningarna som visas i programvaran chemagic QA.

15. Placera provplattan i position 2 på tracking system.
16. Kontrollera att alla plattor och rack är korrekt riktade och inpassade.
17. Stäng frontluckan och starta processen genom att trycka på [Start].
18. Den automatiska DNA-extraktionsprocessen inleds.
19. När isoleringsproceduren har slutförts använder du knappen [Turn Table] för att tömma tracking system. Vid varje klick på [Turn Table] flyttas tracking system (bordet) medurs med en position.

VAR UPPMÄRKSAM! Flytta aldrig tracking system (bordet) manuellt. Det kan göra att instrumentet skadas. Alla förflyttningar måste göras med funktionen [Turn Table].

OBS: Om luckan till instrumentet chemagic 360-D öppnas medan den automatiska extraktionskörningen pågår kommer körningen att avslutas och proverna som bearbetas kan bli obrukbara.

Information om rengöring av instrumentet finns i avsnittet "RENGÖRING OCH UNDERHÅLL".

15.3 KORT BESKRIVNING/SNABBGUIDE

Automatisk DNA-extraktionskörning på instrumentet chemagic 360-D:

- Välj protokollet "**check manifolds H24 all 360 V150116.che**" för att spola slangarna innan du startar den automatiska DNA-extraktionskörningen.
- Tryck på [Insert IDs], följ anvisningarna som visas i programvaran chemagic QA och börja spola genom att trycka på [OK].
- Om du använder funktionerna som möjliggör inmatning av ID-data väljer du protokollet "**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**" och trycker på [Insert IDs]. Följ anvisningarna som visas i programvaran chemagic QA för att ange de data som begärs.
- Reagensen dispenserar automatiskt i hela rader och därför ska chemagic Tips XL och chemagic Elution Tubes 13 mL även användas i hela rader på varje stav som kommer i kontakt med en reagenslösning.
- Ladda plattorna och racken med chemagic Elution Tubes 13 mL i position 1–8 på tracking system enligt nedan.
(Siffrorna på tracking system hänvisar till plattans position på instrumentet chemagic 360-D.)

| Position på tracking system | Material i position | Detaljerat protokollsteg |
|-----------------------------|---|--|
| 1 | Rack med chemagic Tips XL | Använd chemagic Tips XL enligt provernas positioner och placera in racket. OBS: Spetsarna måste finnas i racket i fullständiga rader. |
| 2 | Provplatta (chemagic Deep Well Plate 24 XL) | Placera in plattan med de beredda proverna (upp till 4 ml prov) och 15 µl Proteinase K. Lysis Buffer 1 och Binding Buffer 2 dispensereras automatiskt i plattan. |
| 3 | chemagic Deep Well Plate 24 XL med 400 µl Magnetic Beads | Pipettera 400 µl noggrant resuspende- rade Magnetic Beads i varje brunn på plattan enligt provpositionerna och placera in plattan. Wash Buffer 3 dispensereras automatiskt i plattan. |
| 4 | chemagic Deep Well Plate 24 XL | Placera in den tomma plattan. Wash Buffer 4 dispensereras automatiskt i plattan. |
| 5 | chemagic Deep Well Plate 24 XL | Placera in den tomma plattan. Wash Buffer 5 dispensereras automatiskt i plattan. |
| 6 | chemagic Deep Well Plate 24 XL | Placera in den tomma plattan. Wash Buffer 6 dispensereras automatiskt i plattan. |
| 7 | Rack med chemagic Elution Tubes 13 mL fyllt med 300–500 µl Elution Buffer 7 | Pipettera 300–500 µl Elution Buffer 7 i varje chemagic Elution Tubes 13 mL enligt provernas positioner och placera in racket. |

| Position på tracking system | Material i position | Detaljerat protokollsteg |
|-----------------------------|---|--------------------------|
| 8 | Rack med tomma chemagic Elution Tubes 13 mL | Placera in racket. |

- Kontrollera att alla plattor och rack är korrekt riktade och inpassade.
- Tryck på [OK] när alla plattor och rack är på plats.
- Stäng frontluckan och starta DNA-extraktionsprocessen omedelbart genom att trycka på [Start]. Provlysatet kommer att blandas automatiskt.
- Om funktionerna som möjliggör inmatning av ID-data är inaktiverade laddar du plattorna på tracking system i position 1–8.
- När alla plattor är på plats väljer du protokollet ”**chemagic BBS DNA 360 H24 EB 13 ml Tubes prefilling VD191213.che**”, markerar kolumnerna som används på plattlayouten i dialogrutan och startar extraktionskörningen omedelbart genom att trycka på [Start].
- När isoleringsproceduren har slutförts använder du knappen [Turn Table] för att tömma tracking system. Vid varje klick på [Turn Table] flyttas tracking system (bordet) medurs med en position.

VAR UPPMÄRKSAM: Flytta aldrig tracking system (bordet) manuellt. Det kan göra att instrumentet skadas. Alla förflyttningar måste göras med funktionen [Turn Table].

OBS: Om luckan till instrumentet chemagic 360-D öppnas medan den automatiska extraktionskörningen pågår kommer körningen att avslutas och proverna som bearbetas kan bli obrukbara.

16. PRESTANDAEGENSKAPER

16.1 LINJÄRITET OCH ÅTERSTÄLLNING MED SPIKAT DNA-PROV

För att visa linjäritet för extraktionen med kitet IVD-1074 spikades NaCl-lösning 0,9 % med fem koncentrationer av humant genomiskt DNA; 150 µg, 200 µg, 300 µg, 400 µg och 500 µg. Extraktioner utfördes med 4 ml av de olika DNA-mängderna som prov med extraktionsprotokollet ”**chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che**”. Fyra replikat av varje DNA-mängd spikade i NaCl 0,9 % extraherades.

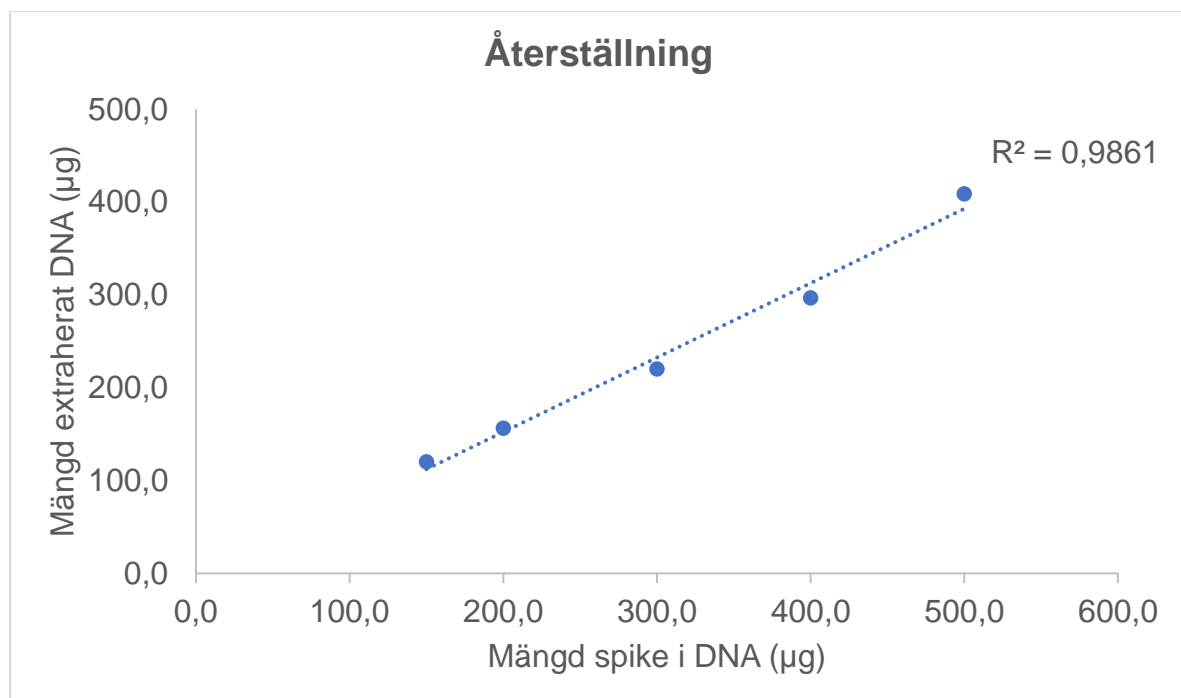


Bild 1: Extraktionsåterställning av spike i DNA-prover. Extraherat med instrumentet chemagic 360-D med hjälp av kitet IVD-1074.

Återställningen visar en god linjäritet i intervallet 150–500 µg DNA som provvolym. Återställningen ligger mellan 69,8 och 98,9 % beroende på mängden provvolym av humant genomiskt DNA.

16.2 ERHÅLLEN MÄNGD DNA MED BLOD- OCH BUFFY-COAT-PROVER

De förväntade erhållna mängderna DNA för extraktionen från humant blod och buffy-coat beror på antalet vita blodkroppar. Mängden extraherade vita blodkroppar avgörs av provvolymen och antalet vita blodkroppar (WBC). För de flesta prover är antalet vita blodkroppar inte känt, men hos friska personer ligger det i intervallet 4–10 miljoner vita blodkroppar per ml blod. Kitet IVD-1074 med protokollet "chemagic BBS DNA 360 H24 prefilling VD190913.che" extraherar i genomsnitt 4,38 µg per vit blodkropp. En provvolym på 4 ml blod med en differentialräkning av vita blodkroppar på 8,2 miljoner vita blodkroppar per ml blod förväntas resultera i 150 µg DNA.

Tabell 1: Genomsnittlig erhållen mängd, % CV (standardavvikelse) och renhet för extraherat DNA med hjälp av kitet IVD-1074, extraherat med instrumentet chemagic 360-D.

| Provmaterial / Förvaringsvillkor | Volym [ml] | WBC [mn celler/ ml blod] | Genomsn. erhållen mängd [µg] | CV [%] | Genomsn. renhet [260/280] |
|----------------------------------|------------|--------------------------|------------------------------|--------|---------------------------|
| Blod 1 / 4 °C | 4 | 8,2 | 150,0 | 9,2 | 1,84 |
| Blod 1 / -20 °C | 4 | 8,2 | 141,1 | 8,3 | 1,79 |
| Blod 3 / 4 °C | 2 | 6,2 | 73,3 | 2,4 | 1,85 |
| Blod 4 / 4 °C | 2 | 5,7 | 61,7 | 1,9 | 1,86 |
| Blod 4 / 4 °C | 4 | 5,7 | 98,7 | 12,0 | 1,86 |
| Blod 4 / -20 °C | 4 | 5,7 | 94,2 | 8,2 | 1,81 |
| Buffy-coat* | 4 | 5,7 | 125,5 | 10,0 | 1,72 |
| Saliv / 4 °C | 4 | n.a. | 42,3 | 20,9 | 1,78 |

* Buffy-coat genererades från 5 ml av Blod 4

Från alla extraktioner (inklusive olika provmaterial, förvaringsvillkor och provpolymer) användes specifika eluat i en qPCR med humant serumalbumin för att påvisa lämpligheten hos extraherat DNA för enzymatiska reaktioner. Alla eluat användes utan problem – se qPCR-diagrammet (exempel) nedan.

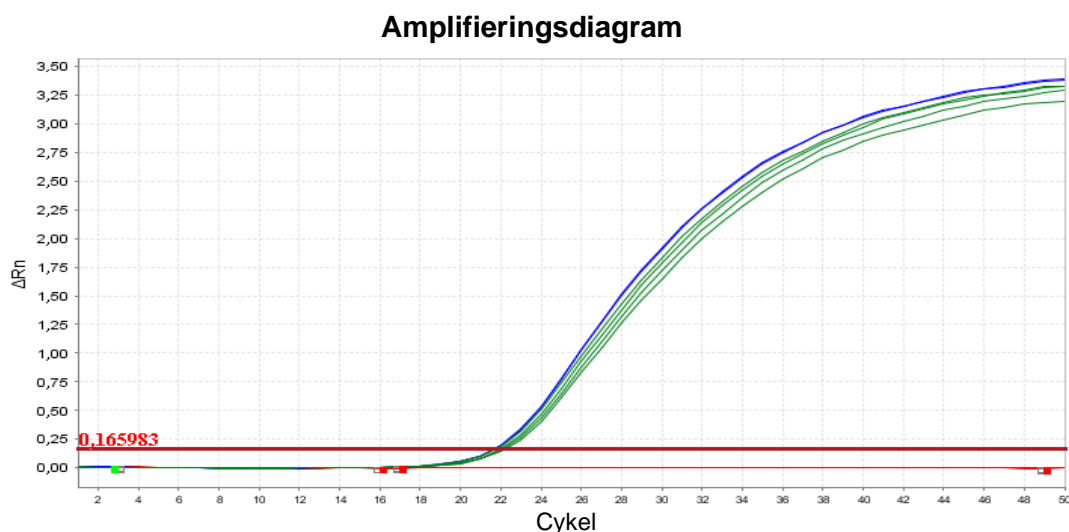


Bild 2: qPCR-kurvor för DNA-eluat som extraherats med chemagic 360-D med hjälp av kitet IVD-1074. Röd – negativ kontroll, blå – positiv kontroll, grön – extraherat DNA från Blod 1.

17. RENGÖRING OCH UNDERHÅLL

Rengöring och underhåll av systemet beskrivs i detalj i användarhandboken till chemagic 360-D. Systemrengöringen utförs en gång i veckan. Rengör chemagic-dispensern enligt följande.

- Välj protokollet ”**regular cleaning procedure 24 dispenser 360 V150116.che**” och tryck på [Insert IDs] eller [Start] om de utökade funktionerna är inaktiverade. Följ anvisningarna som visas i programvaran.
- Utför lämpligt prime-protokoll innan nästa användning av chemagic-dispensern.
- Rengöring av chemagic-dispensern med etanol 70 % rekommenderas en gång i månaden. Då väljer du bara protokollet ”**intensive cleaning procedure H24 dispenser 360 V150116.che**” istället för det vanliga.
- Om chemagic-dispensern inte ska användas under en längre tid är det obligatoriskt att utföra den ”vanliga rengöringsproceduren” för att bibehålla prestandan hos instrumentet när det ska användas igen.

18. NEDSTRÖMSTILLÄMPNINGAR

Följande nedströmstillämpningar har utförts och beskrivits i litteraturen efter isolering av genomiskt DNA.

Tabell 2: Expertgranskade (peer reviewed) och publicerade nedströmstillämpningar.

| Prov-material | Nedströmstillämpning | Titel | Referens |
|---------------|---|---|---|
| Blod | Genotypning, DNA-metyleringsanalys, PCR, sekvensering | Identification of dynamic glucocorticoid-induced methylation changes at the FKBP5 locus | Wiechmann et al. Clinical Epigenetics 11 Article Number 83 (2019) https://clinicalepigeneticsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13148-019-0682-5#Abs1 |
| Helblod | Metyleringsanalys | A new molecular classification to drive precision treatment strategies in primary Sjögren's syndrome | Soret P. et al. Nature Communications 12, Article number: 3523 (2021) https://www.nature.com/articles/s41467-021-23472-7 |
| Lymfocyter | Long-range PCR, NGS, Sanger-sekvensering, MLPA | Advances in genetic technologies result in improved diagnosis of mismatch repair deficiency in colorectal and endometrial cancers | Evans D.G. et al. Med Genet: first published as 10.1136/jmedgenet-2020-107542 (2021) https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452216/ |
| Saliv | Genom-sekvensering, qPCR | Genetic Effect of Chemotherapy Exposure in Children of Testicular Cancer Survivors | Gregory V. et al. Clinical Cancer Research Volume 22, Issue 9 (2016) https://aacrjournals.org/clinicalres/article/22/9/2183/79766/Genetic-Effect-of-Chemotherapy-Exposure-in |

19. MER INFORMATION

För ytterligare tillämpningar, tekniska frågor eller mer information kring hur data har genererats kan du kontakta oss på support.chemagen@revvity.com eller +49 (0) 2401805500.

20. ANVÄNDNINGSBEGRÄNSNINGAR

Kitet IVD-1074 har validerats för extraktion av DNA från blod, buffy-coat och saliv. Andra provmaterial såsom lysat från vävnad, celler eller pinnprover från munhålan kan gå att använda men har inte validerats. Vid användning av sådana material måste en validering utföras av användaren.

Användning av heparinstabiliserade blodprover kan orsaka hämning i nedströmstillämpningar och rekommenderas därför inte.

21. PÅVERKAN AV INTERFERERANDE SUBSTANSER

Effekten av interfererande substanser som förekommer i humant helblod som möjligen interfererar med DNA-extraktion testades i helblod. De substanser och koncentrationer som testats presenteras i tabellen nedan. Baserat på resultaten fastställdes att de testade substanserna inte interfererar med DNA-extraktionen.

Tabell 3: Påverkan av interfererande substanser.

| Interfererande substanser | Koncentration [µg/ml] | Interferens |
|---------------------------|--------------------------|-------------|
| Bilirubin, konjugerat | 332 | Nej |
| Bilirubin, okonjugerat | 200 | Nej |
| Triglycerider | 30 | Nej |
| Humant serumalbumin | 30 | Nej |



22. GARANTI

Eventuella ändringar eller modifieringar av användningen som inte rekommenderas av tillverkaren kan påverka resultaten, varvid Revvity chemagen Technologie GmbH och dess dotterbolag friskriver sig från alla garantier (uttryckta, underförstådda eller enligt lag), inklusive underförstådda garantier om säljbarhet och lämplighet för ett visst ändamål.

Revvity chemagen Technologie GmbH, dess dotterbolag och auktoriserade distributörer ska vid ett sådant fall inte hållas ansvariga för skador som uppstår indirekt eller som en konsekvens därav.

Maj 2024

www.revvity.com

revvity