

CONGEN

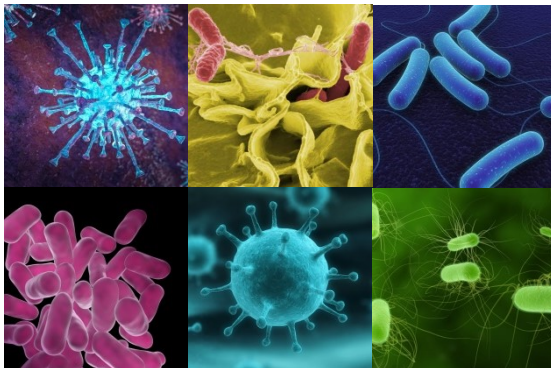
SureFast[®] PREP DNA/RNA Virus



Art. No. F1051
100 extractions

User Manual

Efficient DNA preparation of viral or bacterial DNA/RNA



January 2022

**Inhalt**

1	Allgemeines	4
1.1	Beschreibung	4
1.2	Prinzip	4
1.3	Kit-Inhalt (je Box) und Lagerung	4
1.4	Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien	4
2	Protokoll	5
2.1	Vorbereitungen	5
2.1.1	Allgemein	5
2.1.2	Vor jeder Präparation	5
2.2	Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Flüssigkeiten, Stuhlproben und Abstriche	5
2.2.1	Flüssigkeiten	5
2.2.2	Stuhlproben	5
2.2.3	Abstriche (auf einem Tupfer) und Filter	5
2.3	Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche zum Nachweis von SARS-CoV-2	6
2.3.1	Oberflächenabstrich	6
2.3.2	Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche für die direkte anschließende Analyse ohne Transport des Tupfers	6
2.3.3	Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche in Transportmedium (UTM) nach dem externen Transport (von maximal 48 Stunden Dauer)	6
2.4	Extraktionsprotokoll	6
3	Weitere Informationen	8
3.1	Weitere Dokumente und Hilfsmittel	8
3.2	Technischer Support	8
4	Gefahrenhinweise	8



Content

1	General Information	9
1.1	Description	9
1.2	Principle	9
1.3	Kit components and storage	9
1.4	Additionally required equipment and materials	9
2	Protocol	10
2.1	Preparations	10
2.1.1	General	10
2.1.2	Before each preparation	10
2.2	Preparation of the basic material	10
2.2.1	Liquid samples	10
2.2.2	Stool samples	10
2.2.3	Swabs and filters	10
2.3	Sample preparation for surface swabbing for the detection of SARS-CoV-2	10
2.3.1	Surface swabbing	10
2.3.2	Sample preparation for surface swabbing for direct analysis without transport of the swab	10
2.3.3	Sample preparation for surface swabbing with transport medium (UTM) after the external transport (48 hours maximal transport duration)	11
2.4	Extraction protocol	11
3	Further Information	12
3.1	Product Information	12
3.2	Technical Support	12
4	Safety information	12

1 Allgemeines

1.1 Beschreibung

Dieses Kit dient der Extraktion von viraler DNA und RNA aus Serum, Urin, Plasma, Zellkultur-Überständen, Lebensmitteln (z.B. Abspülflüssigkeiten von Früchten, Salaten etc.), Filtern von Wasserproben sowie Stuhlproben und Abstrichproben (Arbeitsflächen etc.). SureFast® PREP DNA/RNA Virus wurde in Kombination mit SureFast® SARS-CoV-2 PLUS (Art. Nr. F7110) für Abstriche von Edelstahloberflächen von AOAC validiert und zertifiziert (Lizenz Nr. 022102).

1.2 Prinzip

1. Vorbereitung des Ausgangsmaterials
2. Lyse bei 65°C und 95°C
3. Einstellen optimaler Bindungsbedingungen
4. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter
5. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren
6. Trocknen des Spin Filters
7. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter

1.3 Kit-Inhalt (je Box) und Lagerung

Kit Code	Reagenz /Material	Menge (per box)	Farbe
B	Binding Buffer	1 x 30 ml	
E	Elution Buffer	1 x 5 ml	
P	Pre-Wash Buffer*	1 x 40 ml	
W	Wash Buffer*	1 x 60 ml	
ET	Extraction Tubes	1 x 50 Tubes	klar
R	Receiver Tubes 2,0 ml	1 x 50 Tubes	klar
T	Receiver Tubes 1,5 ml	1 x 50 Tubes	klar
S	Spin Filter Set	1 x 50 Filter	pink

* Nach Zugabe von mindestens 96%igem Ethanol (nicht im Kit enthalten)

Die Bestandteile des Kits sollten bei Raumtemperatur (14-25°C) gelagert werden. Nach dem Öffnen verringert sich die Haltbarkeit des Kits auf 12 Monate.

1.4 Zusätzliche benötigte Geräte und Materialien

- Mikrozentrifuge
- Thermomixer/Heizblock (bis 100°C)
- Pipetten und Pipettenspitzen mit Filtern
- Reaktionsgefäße 1,5 ml
- Ethanol (≥ 96 %)
- RNase freies PCR grade H₂O

2 Protokoll

2.1 Vorbereitungen

2.1.1 Allgemein

Auffüllen des Pre-Wash Buffers (**Code P**) durch Zugabe von 20 ml Ethanol und mischen.

Auffüllen des Wash Buffers (**Code W**) durch Zugabe von 48 ml Ethanol und mischen.

2.1.2 Vor jeder Präparation

Vorwärmen des Elution Buffers (**Code E**) - Überführen der benötigten Menge unter Einrechnung einer Reservemenge an Elution Buffer (**Code E**) in ein Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten). Inkubation bei 65°C. Der Elution Buffer wird in Schritt 6 benötigt.

2.2 Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Flüssigkeiten, Stuhlproben und Abstriche

2.2.1 Flüssigkeiten

Bei Flüssigkeiten werden 200 µl Probe mit 200 µl RNase freiem PCR grade H₂O in einem Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten) vermischt. Bei geringerem Probenvolumina bitte auf 400 µl mit RNase freiem PCR grade H₂O auffüllen.

Bei Proben mit einer geringen Nucleinsäure Ausbeute können auch 400 µl Probe direkt eingesetzt werden. Die komplette Probe dann in ein Extraction Tube (**Code ET**) überführen.

2.2.2 Stuhlproben

Stuhlproben werden 10-20fach in RNase freiem PCR grade H₂O verdünnt (für geringere Viskosität). Diese Verdünnung wird bei maximaler Geschwindigkeit für 2 min zentrifugiert. 200 µl des Überstandes werden mit 200 µl RNase freiem PCR grade H₂O gemixt und in ein Extraction Tube (**Code ET**) überführt.

2.2.3 Abstriche (auf einem Tupfer) und Filter

Abstriche (auf einem Tupfer) und Filter werden komplett in ein Extraction Tube (**Code ET**) gegeben (bei Tupfern den Schaft abschneiden, damit der Deckel des Tubes geschlossen werden kann). Danach erfolgt die Zugabe von 400 µl RNase freiem PCR grade H₂O.

2.3 Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche zum Nachweis von SARS-CoV-2

2.3.1 Oberflächenabstrich

Für die Beprobung der Arbeitsfläche soll der Tupper zunächst mit 100 µL UTM befeuchtet werden. Es soll dann eine Fläche von ungefähr 25 cm² (entsprechend AOAC performance tested method (PTM) für rostfreie Stahloberflächen) mit dem befeuchteten Tupper beprobt werden.

Für einen Transport in ein externes Labor entsprechend der AOAC PTM wird der Tupper zurück in das Medium enthaltende Copan Röhrchen gegeben und versendet. Im Labor wird nach 2.3.3. weiter verfahren.

2.3.2 Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche für die direkte anschließende Analyse ohne Transport des Tuffers

Der Tupper wird komplett in ein Extraction Tube (**Code ET**) gegeben. Den Schaft des Tuffers abschneiden, damit der Deckel des Extraction Tube geschlossen werden kann. Danach erfolgt die Zugabe von 400 µl RNase freiem PCR grade H₂O.

2.3.3 Vorbereitung des Ausgangsmaterials für Oberflächenabstriche in Transportmedium (UTM) nach dem externen Transport (von maximal 48 Stunden Dauer)

Der Tupper wird komplett in ein Extraction Tube (**Code ET**) gegeben. Den Schaft des Tuffers abschneiden, damit der Deckel des Extraction Tube geschlossen werden kann. Danach erfolgt die Zugabe von 400 µl UTM aus dem Transportröhrchen. Der Transport der Tupper+UTM muss bei 2-8°C erfolgen.

Hinweis: Nach der Lyse den Tupper vorsichtig an der Wand des Tubes ausdrücken und werfen.

Bei Verwendung der Internal Control RNA als Inhibitions- und Extraktionskontrolle, müssen 20 µl ICR in das Extraction Tube zur vorbereiteten Probe gegeben werden.

2.4 Extraktionsprotokoll

1. Lyse des Ausgangsmaterials

Überführen der Extraction Tubes in einen Thermomixer und Inkubation bei 65°C für 15 min und anschließend bei 95°C für 10 min unter kontinuierlichem Schütteln.

2. Einstellung optimaler Bindungsbedingungen

Bei Flüssigkeiten ohne Partikel in der Lösung werden nach der Lyse 400 µl Binding Buffer (**Code B**) zugegeben und auf dem Vortex gut durchmischt.

Hinweis: Wenn Partikel nach der Lyse im Extraction Tube zu erkennen sind, wird die Probe bei maximaler Geschwindigkeit für 1 min zentrifugiert und der komplette Überstand in ein neues Reaktionsgefäß (nicht im Kit enthalten) überführt. Zu dieser Probe werden dann die 400 µl Binding Buffer (**Code B**) gegeben und auf dem Vortex gut durchmischt

3. Bindung der Nucleinsäuren an einen Spin Filter

Komplette Probe in ein Spin Filter Set (**Code S**) überführen, den Deckel des Spin Filter Sets schließen und für 1 min bei 12.000 rpm zentrifugieren.

Anschließend den Spin Filter in ein neues 2,0 ml Receiver Tube (**Code R**) einsetzen.

4. Aufreinigung der gebundenen Nucleinsäuren

500 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

700 µl Wash Buffer (**Code W**) auf den Spin Filter geben. Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Filtrat verwerfen und den Spin Filter wieder in das Receiver Tube einsetzen.

5. Trocknen des Spin Filters

Zentrifugation für 4 min bei maximaler Geschwindigkeit, um Ethanol Reste von dem Spin Filter zu entfernen.

6. Elution der Nucleinsäuren vom Spin Filter

Den Spin Filter in ein klares 1,5 ml Receiver Tube (**Code T**) einsetzen und 60 µl des auf 65 °C erwärmten Elution Buffers (**Code E**) auf den Spin Filter pipettieren.

Inkubation für 3 min und anschließende Zentrifugation für 1 min bei 10.000 rpm. Den Spin Filter anschließend verwerfen.

Die eluierten Nucleinsäuren können direkt in die PCR oder RT-PCR eingesetzt werden. Die Nucleinsäuren bei -20°C oder -80°C aufbewahren.

Hinweis: Die Nucleinsäuren können auch mit einem niedrigeren Volumen (aber nicht weniger als 40 µl) oder mit einem höheren Volumen des Elution Buffers eluiert werden (hängt von der erwarteten oder benötigten Menge an Nucleinsäuren ab).

3 Weitere Informationen

3.1 Weitere Dokumente und Hilfsmittel

- Fließschema (Download: www.congen.de/unternehmen/download)
- Validierungsdaten auf Anfrage
- Material Safety Data Sheet auf Anfrage

3.2 Technischer Support

Bei Fragen zur Durchführung wenden sie sich bitte per E-Mail an info@congen.de.

4 Gefahrenhinweise

Binding Buffer



Gefahr

H225-319-336
P210-233-(305-351-338)

- H225:** Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar.
H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
H312: Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt.
H315: Verursacht Hautreizungen.
H319: Verursacht schwere Augenreizung.
H332: Gesundheitsschädlich bei Einatmen.
H335: Kann die Atemwege reizen.
H336: Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.
H411: Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung
H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.
EUH208: Enthält Proteinase K. Kann allergische Reaktion hervorrufen.
P210: Von Hitze / Funken / offener Flamme / heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen.
P233: Behälter dicht verschlossen halten.
P260: Staub / Rauch / Gas / Nebel / Dampf / Aerosol vermeiden
P262: Nicht in die Augen, auf die Haut oder auf die Kleidung gelangen lassen
P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
P304+340: Beim Einatmen: An die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert.
P310: Sofort Giftnformationszentrum oder Arzt anrufen.
P305+P351+P338: Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.

Pre-Wash Buffer



Achtung

H302-312-332-412 EUH032
P273-(304+340)

Extraction Tubes



Achtung

H302-315-319-335-411 P260-
262-(305+351+338)-310
EUH208

Für weitere Informationen stellen wir auf Anfrage ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung. Bitte wenden Sie sich an Ihren Distributor oder per E-Mail an info@congen.de.

1 General Information

1.1 Description

The kit is intended to be used for the isolation of DNA and RNA viruses nucleic acids from serum, urine, plasma, cell culture supernatants, foods (for example wash up fluids from fruits, salads etc.), filters from water samples as well as stool samples and swabs (from work surfaces etc.). SureFast® PREP DNA/RNA virus in combination with SureFast® SARS-CoV-2 PLUS (Art. Nr. F7110) has been validated and certified for stainless steel environmental swabs by AOAC (license no. 022102).

1.2 Principle

1. Preparation of the basic material
2. Lysis at 65°C and 95°C
3. Setting of optimal binding conditions
4. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter
5. Purification of the bound nucleic acids
6. Drying of the Spin Filter
7. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

1.3 Kit components and storage

Kit Code	Reagent / Material	Amount (per box)	Color
B	Binding Buffer	1 x 30 ml	
E	Elution Buffer	1 x 5 ml	
P	Pre-Wash Buffer*	1 x 40 ml	
W	Wash Buffer*	1 x 60 ml	
ET	Extraction Tubes	1 x 50 Tubes	clear
R	Receiver Tubes 2,0 ml	1 x 50 Tubes	clear
T	Receiver Tubes 1,5 ml	1 x 50 Tubes	clear
S	Spin Filter Set	1 x 50 Filter	pink

* After adding ethanol (purity $\geq 96\%$; not supplied with the kit)

All reagents of the kit should be stored dry and at room temperature (14-25°C). After opening the stability of the kit is reduced to 12 months.

1.4 Additionally required equipment and materials

- Microcentrifuge
- Thermomixer/heating block (to 100°C)
- Pipettes with filter tips
- Reaction tubes 1.5 ml
- Ethanol ($\geq 96\%$)
- RNase free PCR grade H₂O

2 Protocol

2.1 Preparations

2.1.1 General

Add 20 ml ethanol to the Pre-Wash Buffer (**Code P**) and mix thoroughly.

Add 48 ml ethanol to the Wash Buffer (**Code W**) and mix thoroughly.

2.1.2 Before each preparation

Preheating the Elution Buffer (**Code E**) - Transfer the needed amount under calculation of a reserve volume of Elution Buffer (**Code E**) into a reaction tube (not provided with the kit)

Equilibrate the Elution Buffer to 65°C. The Elution Buffer is necessary for step 6.

2.2 Preparation of the basic material

2.2.1 Liquid samples

Mix 200 µl samples fluids with 200 µl RNase free PCR grade H₂O in a reaction tube (not supplied with the kit). For samples which have a smaller volume than 200 µl please fill up to a total volume of 400 µl with RNase free PCR grade H₂O. By small yields of nucleic acids use directly 400 µl sample fluid.

Transfer the complete sample in an Extraction Tube (**Code ET**).

2.2.2 Stool samples

Dilute stool samples 10 to 20 fold in RNase free PCR grade H₂O (for a lower viscosity). Centrifuge the dilution for 2 min at maximum speed. Mix 200 µl supernatant with 200 µl RNase free PCR grade H₂O. Transfer the complete sample in an Extraction Tube (**Code ET**).

2.2.3 Swabs and filters

Place swabs and filters complete in the Extraction Tube (**Code ET**) (Cut off the shaft of the swab, so that the cap of the extraction tube can be closed). Add 400 µl RNase free PCR grade H₂O.

2.3 Sample preparation for surface swabbing for the detection of SARS-CoV-2

2.3.1 Surface swabbing

The swab should be pre-moisten with 100 µl UTM prior of swabbing the surface. Swab a surface of approximately 25 cm² (2 x 2 inch according to AOAC performance tested method (PTM) for stainless steel surfaces) with the wet swab.

For transport to an external laboratory according to the AOAC PTM, put the swab back into the Copan tube with UTM and send it to the designated laboratory. After transport follow with 2.3.3.

2.3.2 Sample preparation for surface swabbing for direct analysis without transport of the swab

Place the swab with the shaft in an Extraction Tube (**Code ET**) and cut the shaft, so that the lid of the Extraction Tube can be closed. Add 400 µl RNase free PCR grade H₂O.

2.3.3 Sample preparation for surface swabbing with transport medium (UTM) after the external transport (48 hours maximal transport duration)

Place the swab with the shaft in an Extraction Tube (**Code ET**) and cut the shaft, so that the lid of the Extraction Tube can be closed. Add 400 µl of the transported UTM. Transportation of the swab samples with UTM should take place at 2-8 °C.

Note: After lysis time carefully squeeze out the swab on the wall of the tube and discard the swab.

If the Internal Control RNA is used as an inhibition and extraction control, 20 µl of the ICR must be added after sample preparation in the Extraction tube.

2.4 Extraction protocol

1. Lysis of the basic material

Place the Extraction Tubes (**Code ET**) into a Thermomixer and incubate under continuously shaking for 15 minutes at 65 °C and for 10 minutes at 95°C.

2. Setting of optimal binding conditions

Add directly 400 µl Binding Buffer (**Code B**) to fluids without particles and mix the sample by vortexing.

Note: Does the sample lysate show particles it has to be centrifuged for 1 min at maximum speed. The liquid supernatant has to be transferred into a new reaction tube (not supplied with the kit). Add 400 µl Binding Buffer (**Code B**) to the supernatant and mix the sample by vortexing.

3. Binding of the nucleic acids on a Spin Filter

Transfer the complete sample in a Spin Filter Set (**Code S**). Close the cap and centrifuge for 1 minute at 12,000 rpm. Discard the Receiver Tube with the filtrate and place the Spin Filter in a new 2.0 ml Receiver Tube (**Code R**)

4. Purification of the bound nucleic acids

Add 500 µl Pre-Wash Buffer (**Code P**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 10,000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

Add 700 µl Wash Buffer (**Code W**) to the Spin Filter and centrifuge at 1 min for 10,000 rpm. Discard the filtrate and place the Spin Filter back into the Receiver Tube.

5. Drying of the Spin Filter

Remove the residual ethanol by final centrifugation for 4 min at maximum speed.

6. Elution of nucleic acids from the Spin Filter

Place the Spin Filter into a clear 1.5 ml Receiver Tube (**Code T**) and add 60 µl of the preheated to 65°C Elution Buffer (**Code E**) directly onto the Spin Filter.

Incubate for 3 min and centrifuge for 1 min at 10,000 rpm. After centrifugation discard the Spin Filter.

The eluted nucleic acid is ready-to-use for the PCR or RT-PCR. Store the nucleic acids at -20°C or -80°C.

Note: The nucleic acids can also be eluted with a lower (but not lower than 40 µl) or a higher volume of Elution Buffer (depends on the expected yield or needed concentration of the nucleic acids).

3 Further Information

3.1 Product Information

- Flow chart (Download: www.congen.de/en/company/downloads)
- Validation Report upon request
- Material Safety Data Sheet upon request

3.2 Technical Support

For further questions please send an e-mail to info@congen.de.

4 Safety information

Binding Buffer



Danger

Pre-Wash Buffer



Warning

Extraction Tubes



Warning

H225-319-336 P210-233-(305-351-338)

H302-312-332-412 EUH032 P273-(304+340)

H302-315-319-335-411 P260-262-(305+351+338)-310 EUH208

H225:	Highly flammable liquid and vapour.
H319:	Causes serious eye irritation.
H302:	Harmful if swallowed.
H312:	Harmful in contact with skin.
H315:	Causes skin irritation.
H319:	Causes serious eye irritation.
H332:	Harmful if inhaled.
H335:	May cause respiratory irritation.
H336:	May cause drowsiness or dizziness.
H411:	Toxic to aquatic life with strong lasting effects
H412:	Harmful to aquatic life with long lasting effects.
EUH032:	Contact with acids liberates very toxic gas.
EUH208:	Contains Proteinase K. May produce an allergic reaction.
P210:	Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.
P233:	Keep container tightly closed.
P260:	Do not breathe dust / fume / gas / mist / vapours / spray.
P262:	Do not get in eyes, on skin, or on clothing.
P273:	Avoid release to the environment.
P304+340:	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338:	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

For further information we offer a Material Safety Data Sheet. Please contact your distributor or send an e-mail to info@congen.de.