

TECHNISCHES HANDBUCH

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Gebrauchsanweisung für das Produkt
AS1820

Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben. Folienversiegelungen können scharfkantig sein.

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Die gesamte technische Literatur ist unter folgender Adresse erhältlich: www.promega.com/protocols/
 Rufen Sie diese Website auf. Dort finden Sie die jeweils aktuelle Version dieses technischen Handbuchs.
 Schreiben Sie eine E-Mail an Promega Technical Services, falls Sie Fragen zur Verwendung dieses Systems haben.
 Die E-Mail-Adresse lautet: techserv@promega.com

1. Beschreibung	2
2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung	3
3. Verwendungszweck des Produkts	5
4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts	5
5. Bevor Sie beginnen.....	6
5.A. Vorbereitung von Vollblutproben	6
5.B. Vorbereiten der Maxwell [®] CSC Whole Blood DNA Cartridge.....	6
6. Maxwell [®] Gerätelauflauf	8
7. Evaluierung der analytischen Leistung	10
7.A. DNA-Ertrag.....	10
7.B. DNA-Qualität	11
7.C. Reproduzierbarkeit	12
7.D. Amplifizierbarkeit	13
7.E. Inhibition (Interferierende Stoffe)	14
7.F. Kreuzkontamination	14
8. Evaluierung der klinischen Leistung	15
9. Fehlerbehebung	16
10. Literaturhinweis	17
11. Verwandte Produkte.....	17
12. Änderungsübersicht	17

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist nur in bestimmten Ländern erhältlich.

1. Beschreibung

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit^(a) wird mit den in Tabelle 1 angegebenen Maxwell® Instruments verwendet, um ein einfaches Verfahren zur effizienten, automatisierten Probenpräparation und Aufreinigung genomischer DNA (gDNA) aus humanen Vollblutproben zu ermöglichen. Die Maxwell® CSC Instruments wurden im Sinne maximaler Einfachheit und Zweckdienlichkeit für den Einsatz mit vorbereiteten Reagenzien-Kartuschen und vorprogrammierten Aufreinigungsverfahren entwickelt. Mit der Maxwell® Methode für das CSC Whole Blood DNA Kit können eine oder mehrere Proben (bis zur maximalen Anzahl) in weniger als 1 Stunde in dem Maxwell® CSC Instrument verarbeitet werden. Die aufgereinigte DNA kann direkt in verschiedensten nachfolgenden Anwendungen, wie beispielsweise PCR, verwendet werden.

Tabelle 1. Unterstützte Geräte.

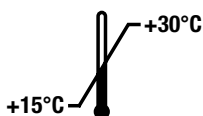
Gerät	Cat.#	Technisches Handbuch	Maximale Probenzahl
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

Prinzip der Methode: Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit reinigt gDNA aus Proben mithilfe paramagnetischer Partikel auf, die für eine mobile feste Phase sorgen, mit der die gDNA optimal aus der Probe gewonnen, gewaschen und aufgereinigt wird. Die Maxwell® Instruments sind Geräte zur magnetischen Partikelhandhabung, welche die Nukleinsäure effizient an die paramagnetischen Partikel in der ersten Kammer einer vorgefüllten Kartusche binden. Die Proben werden einer Reihe von Waschungen unterzogen, bevor die gDNA eluiert wird.

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung

PRODUKT	GRÖSSE	CAT.#
Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit	48 Präparationen	AS1820

Für den Einsatz in der In-vitro-Diagnostik. Verwendung nur durch Fachpersonal. Enthält genügend Reagenzien für 48 automatisierte Isolationen aus 500 µl Vollblutproben. Die Kartuschen sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.



Inhalt:

- 48 Maxwell® CSC Cartridges (CSCH)
- 50 CSC/RSC-Stößel
- 50 Elutions-Gefäße (0,5 ml)
- 20 ml Elutions-Pufferlösung

Lagerbedingungen: Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist bei +15 °C bis +30 °C zu lagern.



Sicherheitshinweise: Die Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) enthalten Ethanol, Isopropanol, Guanidinhydrochlorid und Guanidinthiocyanat. Ethanol und Isopropanol gelten als leichtentzündlich, gesundheitsschädlich und reizend. Guanidinthiocyanat und Guanidinhydrochlorid gelten als giftig, gesundheitsschädlich und reizend. Ausführliche Sicherheitshinweise finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDS).



Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) sind zum Gebrauch mit potenziell infektiösen Substanzen bestimmt. Bei der Handhabung infektiöser Substanzen ist angemessene Schutzkleidung (z. B. Handschuhe, Schutzbrille) zu tragen. Bleichmittel reagiert mit Guanidinthiocyanat, das in den Maxwell® CSC Cartridges (CSCH) verwendet wird, und darf daher mit keinem Probenabfall aus diesen Kartuschen vermengt werden. Beim Umgang mit allen infektiösen Substanzen in Verbindung mit diesem System und bei deren Entsorgung sind die Richtlinien Ihres Instituts zu befolgen.



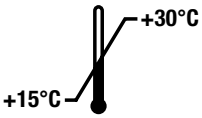














Achtung: Kartuschen vorsichtig handhaben. Folienversiegelungen können scharfkantig sein.

Weitere Informationen: Die Komponenten des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit sind für den gemeinsamen Gebrauch geeignet und haben eine Qualitätskontrollprüfung durchlaufen. Es wird nicht empfohlen, Kit-Komponenten verschiedener Chargen miteinander zu vermischen. Verwenden Sie nur die in dem Kit enthaltenen Komponenten. Kartuschen, deren Siegel beim Erhalt nicht intakt ist, dürfen nicht verwendet werden. Weitere Sicherheitsinformationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt unter: www.promega.com.

2. Produktkomponenten, Lagerbedingungen und Symbolerklärung (Fortsetzung)

Erklärung der Symbole

Symbol	Erklärung	Symbol	Erklärung
	In-vitro-Diagnostikum		Bevollmächtigter
	Bei +15 °C bis +30 °C aufbewahren.		Hersteller
	Hautätzend.		Leichtentzündlich
	Reizend		Achtung
	Europäische Konformität		Ausreichend für „n“ Tests
	Warnung. Quetschgefahr.		Warnung. Biogefahr.
	Chargennummer		Bestellnummer
	Nicht zur Wiederverwendung		

3. Verwendungszweck des Produkts

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist in Kombination mit den Maxwell® CSC Instruments und dem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Aufreinigungsverfahren als medizinisches Gerät für die In-vitro-Diagnostik (IVD) zur Durchführung automatisierter Isolierungen genomischer DNA aus humanen Vollblutproben bestimmt. Die aufgereinigte DNA ist für den Einsatz in auf Amplifikation basierenden In-vitro-Diagnostik-Assays geeignet.

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist für den Einsatz bei Temperaturen zwischen 15 °C und 30 °C bestimmt. Der Einsatz außerhalb dieses Temperaturbereichs kann zu suboptimalen Ergebnissen führen.

Ganzblutproben, die in Blutentnahmeröhrchen mit EDTA-, Natriumcitrat- oder Heparin-Antikoagulantien gesammelt wurden, können im Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit verarbeitet werden. In der folgenden Tabelle sind die zulässigen Zeiten aufgeführt, über die hinweg Proben vor Gebrauch im Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit unter verschiedenen Bedingungen gelagert werden können.

Probenlagerungs- temperatur	Lagerzeit vor Aufreinigung
15 °C bis 30 °C	Bis zu 72 Stunden
2 °C bis 10 °C	Bis zu 7 Tage
–65 °C oder niedriger	Unbegrenzt

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist nicht für den Einsatz in Verbindung mit Proben bestimmt, die in anderen Blutentnahmeröhrchen gesammelt oder unter anderen Bedingungen als den aufgeführten gelagert wurden.

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist ausschließlich zur Verwendung durch Fachpersonal bestimmt. Diagnostische Ergebnisse, die aus genomischer DNA gewonnen werden, die mit diesem Gerät aufgereinigt wurde, müssen in Verbindung mit anderen Klinik- oder Labordaten ausgewertet werden.

4. Anwendungstechnische Grenzen des Produkts

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist nicht für den Einsatz mit Gewebeproben oder mit Proben aus anderen Körperflüssigkeiten als humanem Vollblut bestimmt.

Das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit ist nicht für den Einsatz mit nichthumanen Proben einschließlich Proben aus bakteriellem und viralem Material oder zur Aufreinigung von RNA bestimmt.

Die Leistung des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit wurde durch Isolierung von DNA aus Proben bestehend aus 500 µl Vollblut mit einer Anzahl an weißen Blutkörperchen (WBC) zwischen 4×10^6 und $1,1 \times 10^7$ Zellen/ml Vollblut und Eluierung der DNA in 60 µl bewertet.

Für die Festlegung von Leistungsmerkmalen, die für spätere Diagnostikanwendungen benötigt werden, ist der Benutzer zuständig. Jede nachfolgende Diagnostikanwendung, bei der mit dem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit aufgereinigte genomische DNA verwendet wird, muss geeignete Kontrollen beinhalten.

5. Bevor Sie beginnen

Vom Nutzer beizubringende Materialien

- Rotierender Rührchenmischer für Flüssigblutproben
- Pipettierer und Pipettenspitzen für die Übertragung der Proben in die vorgefüllten Reagenzien-Kartuschen

5.A. Vorbereitung von Vollblutproben

Der Gesamtertrag an genomischer DNA aus den Vollblutproben ist vom Probenvolumen und der Anzahl der weißen Blutkörperchen pro ml abhängig. Jede im Lieferumfang des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit enthaltene Kartusche kann genomische DNA aus 500 µl Vollblut mit einem Anteil an weißen Blutkörperchen von 4×10^6 bis $1,1 \times 10^7$ pro ml Vollblut aufreinigen (Werte eines normalen gesunden Erwachsenen; 1). Wir empfehlen, vor der DNA-Aufreinigung bei jeder Probe eine Zählung der weißen Blutkörperchen durchzuführen, um sicherzustellen, dass die Probe innerhalb des genannten Bereichs liegt. Proben außerhalb dieses Bereichs liefern u. U. keine optimalen Ergebnisse.

Hinweis: Dieses Kit wurde anhand von humanen Vollblutproben getestet, die in EDTA-, Natriumcitrat- und Heparinröhrchen gesammelt wurden. Die Wirksamkeit des Kits kann mit anderen Blutentnahmeröhrchen nicht garantiert werden. Die Blutproben können vor der DNA-Aufreinigung frisch (bei 15 °C bis 30 °C bis zu 72 Stunden gelagert), gekühlt (bei 2 °C bis 10 °C bis zu sieben Tage gelagert) oder tiefgefroren (bei –65 °C oder kälter gelagert) sein. Tiefgefrorene Proben müssen vor der Verarbeitung aufgetaut werden. Alle Blutproben müssen vor Gebrauch sorgfältig durchmischt werden.


5.B. Vorbereiten der Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge

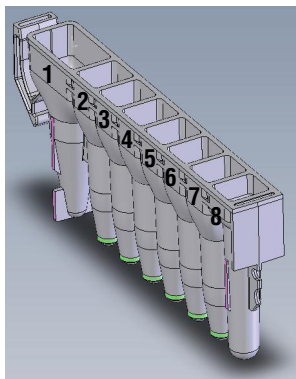
1. Wechseln Sie die Handschuhe, bevor Sie Kartuschen, CSC/RSC-Stöbel und Elutions-Gefäße (0,5 ml) handhaben. Die Kartuschen werden in der oder den Kartuschenhalterung(en) außerhalb des Geräts vorbereitet, bevor die Kartuschenhalterung(en) mit den Kartuschen und Proben zur Aufreinigung in das Gerät gestellt werden. Platzieren Sie jede Kartusche in der Kartuschenhalterung so, dass Kammer 1 (die größte Kammer in der Kartusche) am weitesten von den Elutions-Gefäßen entfernt ist (Abbildung 2). Drücken Sie die Kartusche nach unten, bis sie an Ort und Stelle einrastet. Vergewissern Sie sich, dass beide Enden der Kartusche vollständig in der Kartuschenhalterung sitzen. Ziehen Sie die Folienversiegelung vorsichtig ab, sodass die gesamte Folie von der Kartusche entfernt wird. Vergewissern Sie sich, dass sämtliches Versiegelungs-Tape und etwaige Kleberückstände von der Kartusche entfernt worden sind.
2. Übertragen Sie eine Blutprobe von 500 µl in Kammer 1 einer jeden Kartusche (Kammer 1 ist die größte).
3. Vermischen Sie die Blutprobe in Kammer 1 durch Pipettierung (5–10 Mal), um sicherzustellen, dass die Blutübertragung komplett abgeschlossen ist. Das Vermischen der Blutprobe durch Pipettierung kann die chemische Wirksamkeit steigern. Wechseln Sie zwischen den Probenahmen die Pipettenspitze aus.
4. Platzieren Sie einen Stöbel in Kammer 8 jeder Kartusche.
5. Platzieren Sie in allen Kartuschen ein leeres Elutions-Gefäß an die hierfür vorgesehene Position in der oder den Kartuschenhalterung(en). Geben Sie 60 µl der Elutions-Pufferlösung in das untere Ende eines jeden Elutions-Gefäßes.

Hinweise:

- a. Verwenden Sie nur die Elutions-Gefäße, die im Lieferumfang des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit enthalten sind. Andere Elutions-Gefäße können mit den Maxwell® CSC Instruments inkompatibel sein.
 - b. Verwenden Sie nur die Elutions-Pufferlösung, die im Lieferumfang des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit enthalten ist. Andere Elutions-Pufferlösungen können die DNA-Aufreinigungsleistung beeinträchtigen.
6. Fahren Sie fort mit Abschnitt 6, Maxwell® Gerätelauf.

Hinweise zur Vorbereitung der Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge:

 Proben- oder Reagenzienspritzer an der gesamten Kartuschenhalterung sind mit einer Lösung aus Wasser und Reinigungsmittel zu reinigen und anschließend mit einem antibakteriellen Spray einzusprühen bzw. abzuwischen und dann mit Wasser abzuwaschen. Verwenden Sie an keinem Teil des Geräts Bleiche.



Vom Benutzer zu Kammern hinzuzugeben

1. Vollblutprobe (500 µl)
8. CSC/RSC-Stößel

Abbildung 1. Maxwell® CSC Cartridge. In Kammer 1 wird eine Vollblutprobe gegeben und zu Kammer 8 wird ein Stößel hinzugefügt.



Abbildung 2. Anordnung und Konfiguration der Kartuschenhalterung(en). In die Elutions-Gefäße wird, wie angegeben, Elutions-Pufferlösung gegeben. Die abgebildete Kartuschenhalterung gehört zum Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000).

6. Maxwell® Gerätelauf

Ausführliche Informationen hierzu finden Sie im entsprechenden technischen Handbuch zu Ihrem Maxwell® CSC Instrument. Siehe Tabelle 1.

1. Schalten Sie das Maxwell® Instrument und den Tablet-PC ein. Melden Sie sich bei Ihrem Tablet-PC an und starten Sie die Maxwell® Software im IVD-Modus durch zweimaliges Antippen des Symbols auf dem Desktop. Das Gerät führt einen Selbsttest durch und setzt alle beweglichen Teile zurück.
2. Tippen Sie im Startbildschirm auf **Start**.
3. Scannen Sie den Barcode auf dem Etikett des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit oder geben Sie ihn ein und tippen Sie dann auf **OK**, um das auszuführende Verfahren automatisch auszuwählen (Abbildung 3).

Hinweis: Der Verfahrens-Barcode des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit wird für die DNA-Aufreinigung in den Maxwell® CSC Instruments benötigt. Das Etikett des Kits enthält zwei Barcodes. Der Verfahrens-Barcode ist in Abbildung 3 zu sehen. Wenn der Barcode nicht gescannt werden kann, wenden Sie sich bitte an Promega Technical Services.

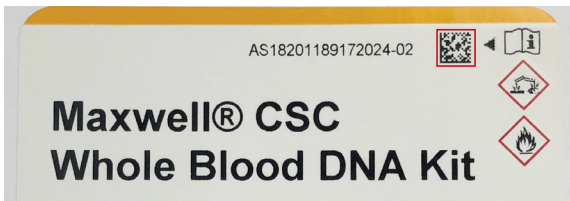


Abbildung 3. Kit-Etikett mit dem zu scannenden Barcode. Um einen Aufreinigungslauf zu starten, scannen Sie den Barcode, der in der roten Umrandung rechts oben auf dem Kit-Etikett aufgedruckt ist.

4. Tippen Sie auf dem Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ auf die Kartuschenpositionen, um für diesen Extraktionslauf Positionen auszuwählen oder die Auswahl aufzuheben. Geben Sie ggf. erforderliche Probenverfolgungsinformationen ein und tippen Sie auf die Schaltfläche **Fortsetzen**, um fortzufahren.
Hinweis: Bei Verwendung des Maxwell® CSC 48 Instrument müssen Sie auf die Schaltfläche **Vorderseite** oder **Rückseite** tippen, um die Kartuschenposition für die jeweilige Kartuschenhalterung festzulegen oder aufzuheben.
5. Überprüfen Sie nach dem Öffnen der Tür, ob alle Elemente der Checkliste Extraktion ausgeführt wurden. Überprüfen Sie, ob die Proben zur Kammer 1 der Kartuschen hinzugegeben wurden, ob die Kartuschen in das Gerät geladen wurden, ob offene Elutions-Gefäße mit Elutions-Pufferlösung vorhanden sind und ob die Stößel in Kammer 8 gesetzt wurden. Setzen Sie die Kartuschenhalterung(en) mit den vorbereiteten Kartuschen auf die Maxwell® Instrument Plattform.

Einsetzen der Maxwell® Kartuschenhalterung(en): Halten Sie die Kartuschenhalterung an den Seiten fest, damit keine Kartuschen herausfallen. Die Kartuschenhalterung muss so in das Maxwell® Instrument eingesetzt werden, dass die Elutions-Gefäße in nächster Nähe zur Tür stehen. Winkeln Sie die Rückseite der Kartuschenhalterung nach unten ab und setzen Sie sie so in das Gerät, dass die Rückseite der Kartuschenhalterung an der Rückseite der Geräteplattform anliegt. Drücken Sie auf die Vorderseite der Kartuschenhalterung, um sie fest in die Geräteplattform einzusetzen. Falls Sie Schwierigkeiten haben, die Kartuschenhalterung in die Plattform zu setzen, überprüfen Sie, ob sie richtig ausgerichtet ist. Stellen Sie sicher, dass die Kartuschenhalterung sich auf der Geräteplattform befindet und vollständig eingesetzt ist.

Hinweis: An Maxwell® Kartuschenhalterungen mit 24 Positionen müssen Sie die Bezeichnung überprüfen, um festzustellen, ob diese an der Vorder- oder Rückseite des Geräts platziert werden müssen.

6. Tippen Sie auf die Schaltfläche **Start**, um den Extraktionslauf zu starten. Die Plattform fährt ein, die Tür schließt sich.



Warnung: Quetschgefahr.

Hinweis: Wenn Sie ein Maxwell® Instrument mit 48 Positionen verwenden und das Vision System aktiviert ist, werden die Kartuschenhalterungen gescannt, sobald die Plattform eingezogen wird. Jegliche Fehler beim Einrichten der Kartuschenhalterung (z. B. Stößel nicht in Kammer 8, Elutions-Gefäße nicht vorhanden und offen) führen dazu, dass die Software zum Bildschirm „Kartuschen-Einrichtung“ zurückkehrt und die problematischen Positionen mit einem Ausrufezeichen in einem roten Kreis gekennzeichnet werden. Sie können durch Berühren des Ausrufezeichens eine Beschreibung des Fehlers aufrufen und alle Fehlerzustände später beheben. Berühren Sie erneut die Schaltfläche **Start**, um den Scan der Kartuschenhalterung zu wiederholen und mit dem Extraktionslauf zu beginnen.

7. Das Maxwell® Instrument beginnt sofort mit dem Aufreinigungslauf. Auf dem Bildschirm werden die aktuell durchgeführten Schritte sowie die ungefähre Restlaufzeit angezeigt.

Hinweise:

1. Wenn Sie die Schaltfläche **Abbruch** berühren, wird der aktuelle Lauf abgebrochen. Alle Proben aus einem abgebrochenen Lauf gehen verloren.
 2. Wird der Lauf vor Beendigung abgebrochen, kann die Aufforderung angezeigt werden, zu prüfen, ob noch Stößel auf der Stößelhalterung geladen sind. Wenn Stößel auf der Stößelhalterung vorhanden sind, müssen Sie auf Anforderung den Schritt **Reinigung** durchführen. Wenn sich keine Stößel auf der Stößelhalterung befinden, können Sie auf Anforderung den Schritt **Reinigung** überspringen. Die Proben sind dann nicht mehr zu verwenden.
8. Nach Abschluss des Laufs wird auf dem Bildschirm in einer Meldung angezeigt, dass das Verfahren abgeschlossen ist.

Ende des Laufs

9. Befolgen Sie am Ende des Verfahrens die Anweisungen auf dem Bildschirm, um die Tür zu öffnen. Vergewissern Sie sich, dass sich die Stößel am Ende des Laufs in Kammer 8 der Kartusche befinden. Sind noch Stößel an der Stößelhalterung geladen, befolgen Sie die Anweisungen im entsprechenden technischen Handbuch zu Ihrem Maxwell® Instrument (siehe Tabelle 1) und führen Sie das Verfahren **Reinigung** durch, um die Stößel zu entladen, sofern möglich.

6. Maxwell® Gerätelauf (Fortsetzung)

10. Nehmen Sie sofort nach dem Lauf die Kartuschenhalterung(en) aus dem Gerät, um zu verhindern, dass die Eluate verdunsten. Entnehmen Sie die Elutions-Gefäße mit der DNA und verschließen Sie die Gefäße.

Hinweis: Nach dem automatisierten Aufreinigungsverfahren ist bzw. sind die Kartuschenhalterung(en) heiß. Zum Entnehmen einer Kartuschenhalterung aus der Geräteplattform müssen Sie diese an den Seiten halten.

Entnehmen Sie unbedingt die Proben aus dem Gerät, bevor die UV-Reinigung durchgeführt wird, um zu verhindern, dass die Nukleinsäure Schaden nimmt.



11. Entnehmen Sie die Kartuschen und Stößel aus der oder den Maxwell® Kartuschenhalterung(en). Entsorgen Sie sie gemäß den Richtlinien Ihres Instituts für gefährliche Materialien. Maxwell® CSC Cartridges, CSC/RSC-Stößel und Elutions-Gefäße dürfen nicht wiederverwendet werden.

7. Evaluierung der analytischen Leistung

Die analytische Leistung wurde anhand humaner Vollblutproben mit dem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit und den Maxwell® CSC und Maxwell® CSC 48 Instruments evaluiert.

7.A. DNA-Ertrag

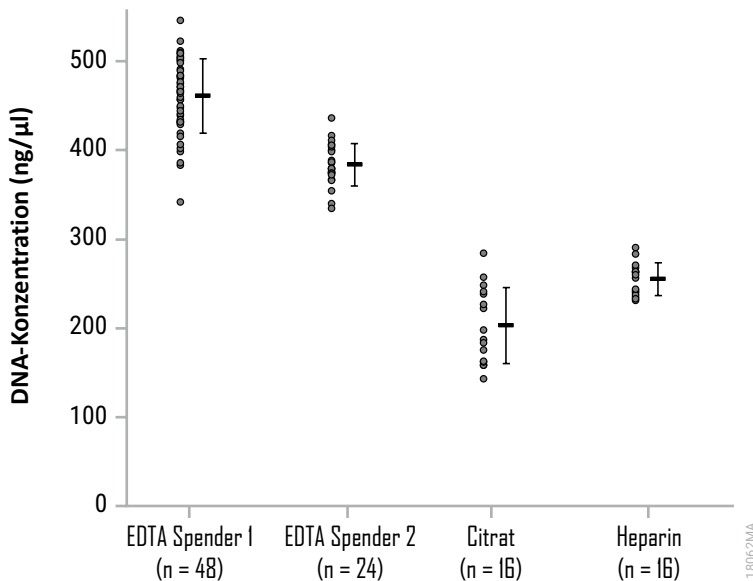


Abbildung 4. DNA-Konzentration, gemessen mittels Absorption (A_{260}). Die DNA-Replikate wurden aus 500 µl Vollblut extrahiert, die in den aufgeführten Anti-Koagulationsröhrchen gesammelt wurden. Die Punkte auf der linken Seite repräsentieren die einzelnen Messungen für den jeweiligen Datensatz, während rechts davon der entsprechende mittlere DNA-Konzentration aller Replikate mit der Standardabweichung abgebildet ist. Die durchschnittlichen DNA-Konzentrationen lagen im Bereich von 203,0–461,0 ng/µl.

7.B. DNA-Qualität

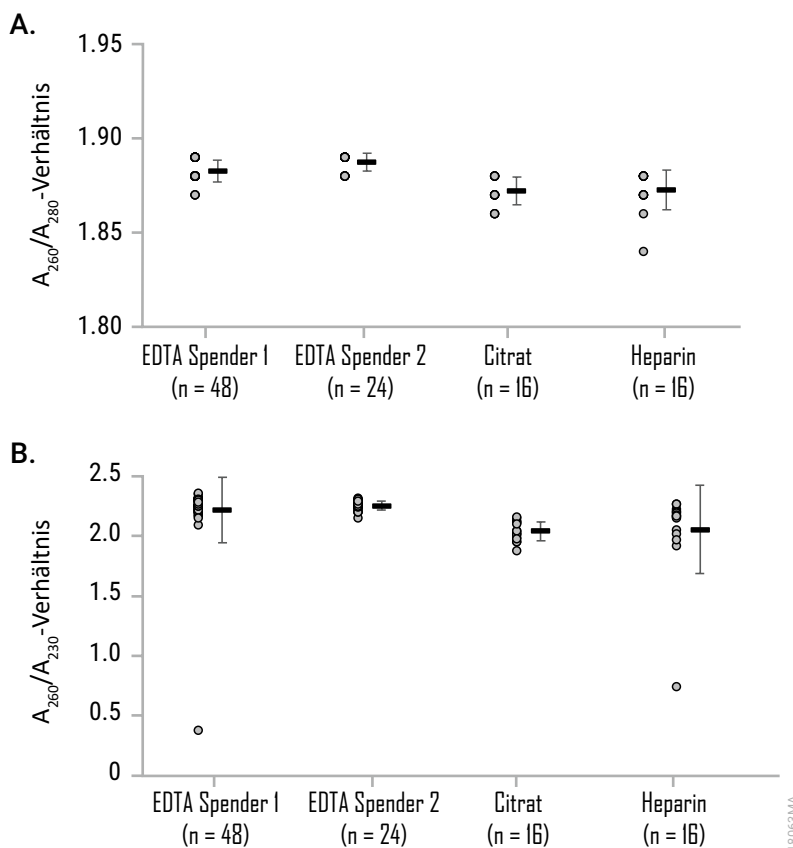


Abbildung 5. Reinheitsverhältniswerte von A_{260}/A_{280} und A_{260}/A_{230} . Die DNA-Qualität wurde anhand der Berechnung der Absorptionsverhältniswerte für Eluate bestimmt, die aus mehreren 500- μ l-Replikaten aus Vollblutproben gewonnen wurden, die in Entnahmeröhrchen mit EDTA, Citrat oder Heparin als Anti-Koagulans gesammelt wurden. Die Abbildung zeigt die Verhältniswerte von A_{260}/A_{280} (**Bild A**) und A_{260}/A_{230} (**Bild B**). Die Punkte auf der linken Seite repräsentieren die einzelnen Messungen für den jeweiligen Datensatz, während rechts davon der entsprechende Verhältnis-Mittelwert mit der Standardabweichung abgebildet ist. Die durchschnittlichen Verhältniswerte von A_{260}/A_{280} lagen im Bereich von 1,87–1,89. Die durchschnittlichen Verhältniswerte von A_{260}/A_{230} lagen im Bereich von 2,04–2,25.

7.C. Reproduzierbarkeit

Tabelle 2. Reproduzierbarkeit des DNA-Ertrags. Der prozentuale Variationskoeffizient (% CV) zwischen den Läufen für den Ertrag an DNA, der aus 3 Läufen mit 8 Replikaten aus Vollblut (jeweils 500 µl) unter Verwendung des Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit in den Maxwell® Instruments Nr. 1 und Nr. 2 aufgereinigt wurde. Der durchschnittliche DNA-Ertrag wurde mittels Absorptions-Spektroskopie evaluiert.

Instrumentnummer (n = 24)	Durchschnittlicher Ertrag (µg)	Standardabweichung (µg)	% CV
1	17,8	1,9	10,7
2	16,7	1,4	8,5

Tabelle 3. Der prozentuale Variationskoeffizient zwischen den Läufen. Die Variabilität zwischen den Läufen wurde für mehrere Instrumentenläufe für alle Typen von Blutentnahmeröhrchen ermittelt. Jeder Lauf beinhaltete 8 Replikate von 500 µl aus Vollblutproben. Der durchschnittliche Ertrag an aufgereinigter DNA aus 8 Replikaten bei jedem Lauf (gemäß der Evaluierung mittels Absorptions-Spektroskopie), die Standardabweichung und der prozentuale Variationskoeffizient (% CV) sind in der nachstehenden Tabelle aufgeführt. Die prozentualen CV-Werte für die Läufe lagen in einem Bereich von 2,7–11,6.

Laufnummer (n = 8)	Typ des Blutprobenröhrchens	Durchschnittlicher Ertrag (µg)	Standard- abweichung (µg)	% CV
1	EDTA ¹	18,8	1,4	7,3
2	EDTA ¹	18,0	1,9	10,3
3	EDTA ¹	16,5	1,9	11,6
4	Heparin	10,1	0,3	2,7
5	EDTA ²	14,8	0,8	5,5
6	Citrat	9,3	0,9	9,4
7	EDTA ¹	17,0	1,5	9,0
8	EDTA ¹	17,3	1,2	7,2
9	EDTA ¹	15,9	1,2	7,7
10	EDTA ²	16,1	0,7	4,1
11	EDTA ²	14,9	0,6	4,3
12	Citrat	6,6	0,6	9,0
13	Heparin	9,2	0,5	5,4

¹Spender 1

²Spender 2

7.D. Amplifizierbarkeit

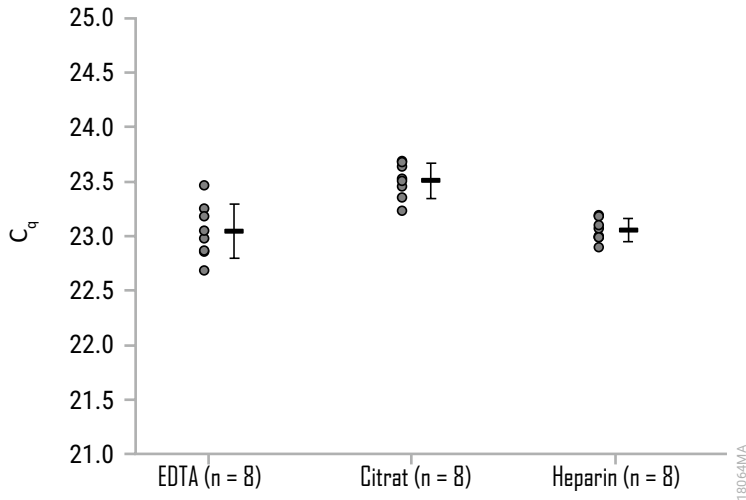


Abbildung 6. qPCR-Amplifizierung. Die Eluate wurden mittels qPCR analysiert, nachdem sie auf eine Konzentration innerhalb der qPCR-Standardkurve verdünnt worden waren. EDTA-Eluate wurden 50-fach verdünnt, während Citrat- und Heparin-Eluate 20-fach verdünnt wurden. Diese Proben ergaben autosomale C_q -Werte im Bereich von 22,69–23,69 Zyklen, die alle unterhalb des durchschnittlichen C_q -Wertes für den 0,0032-ng/ μ l-DNA-Standard (35,12 Zyklen) lagen.

7.E. Inhibition (Interferierende Stoffe)

Tabelle 4. Die DNA-Eluate wurden mittels qPCR analysiert, um eine mögliche Inhibition durch interferierende Stoffe zu erkennen. Die DNA-Eluate wurden auf zwei Konzentrationen innerhalb der qPCR-Standardkurve verdünnt, die eine achtfache Differenz bei der DNA-Konzentration darstellen, und mittels qPCR analysiert, um die Differenz der C_q -Werte (ΔC_q) zwischen den beiden Verdünnungen zu bestimmen. Der resultierende ΔC_q -Wert sollte bei diesem Verdünnungsfaktor erwartungsgemäß bei 3 ± 1 Zyklen liegen. Die Probeneluate ergaben einen ΔC_q -Wert von 2,5–3,3 Zyklen, wobei keine Inhibition der DNA-Amplifizierung erkennbar war.

Probennummer	Anfänglicher C_q	C_q der achtfachen Verdünnung	ΔC_q
1	23,3	26,1	2,8
2	23,1	26,0	2,9
3	22,9	25,6	2,7
4	23,5	26,1	2,5
5	23,6	26,5	3,0
6	23,2	26,4	3,2
7	23,1	26,1	3,0
8	23,1	26,2	3,1
9	23,3	26,0	2,8
10	22,9	25,8	2,9
11	22,7	25,5	2,8
12	23,0	25,9	2,9
13	23,5	26,3	2,8
14	23,1	26,0	3,0
15	22,9	26,0	3,1
16	23,2	26,5	3,3

7.F. Kreuzkontamination

Männliche und weibliche Vollblutproben zu jeweils 500 μ l wurden im IVD-Modus in wechselnden Kartuschenpositionen in dem Maxwell[®] CSC Instrument verarbeitet. Die resultierenden Eluate wurden mittels qPCR eines Y-Chromosom-DNA-Ziels analysiert, um eine eventuelle Kreuzkontamination von männlicher DNA in den weiblichen Proben zu erkennen. Es wurde keine Kreuzkontamination erkannt. Die männlichen Probeneluate wurden 50-fach verdünnt und ergaben C_q -Werte im Bereich von 22,69–23,55. Die weiblichen DNA-Proben wiesen keine erkennbaren C_q -Werte für das Y-Chromosom-DNA-Ziel auf.

8. Evaluierung der klinischen Leistung

Die klinische Leistung wurde anhand humaner Vollblutproben mit dem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit und dem Maxwell® CSC 48 Instrument evaluiert.

Tabelle 5. HLA-B27-Assay mit humanem Vollblut. Von einem externen Labor wurde ein HLA-B27-Assay durchgeführt, wobei aus humanem Vollblut extrahierte DNA aus 12 vermutlich positiven und 12 vermutlich negativen Proben verwendet wurde. Die DNA-Extraktion wurde von zwei Testern vorgenommen, die das Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit und das Standardverfahren zur DNA-Extraktion des Labors (Laborreferenz-Methode) anwendeten. Die mit dem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit gewonnenen DNA-Eluate wurden fünffach verdünnt und in einem qPCR-Assay mit den DNA-Eluaten aus der Laborreferenz-Extraktionsmethode analysiert. Die 24 Proben zeigten eine Übereinstimmung zwischen den beiden Maxwell® CSC-Systemtestern und der Laborreferenz-Methode.

Einzigartige Patientenproben und vermuteter HLA-B27-Status	Maxwell® CSC Purification System		
	Tester A	Tester B	Laborreferenz-Methode
12 Positive	12 Positive	12 Positive	12 Positive
12 Negative	12 Negative	12 Negative	12 Negative

9. Fehlerbehebung

Bei Fragen, die hier nicht angesprochen werden, wenden Sie sich bitte an Ihre Promega-Niederlassung oder Ihren Vertriebspartner vor Ort. Die Kontaktdaten finden Sie unter: **www.promega.com**. E-Mail:

techserv@promega.com

Symptome	Ursachen und Anmerkungen
Konzentration niedriger als erwartet	<p>Die DNA in Blut, das mehrmals eingefroren und wieder aufgetaut wurde, ist möglicherweise degradiert. Verwenden Sie Proben, die unter den in Abschnitt 3 genannten Bedingungen entnommen und gelagert wurden.</p> <p>Die Vollblutprobe enthielt eine geringe Anzahl an weißen Blutzellen. Die genomische DNA-Konzentration aus Blutproben hängt von der in der Probe vorliegenden Anzahl an weißen Blutkörperchen ab.</p>
Reinheit geringer als erwartet	<p>Die Vollblutprobe wurde vor der Verarbeitung nicht vermischt. Achten Sie darauf, die Vollblutproben unbedingt zu mischen, bevor Sie sie verarbeiten, um sicherzustellen, dass die weißen Blutzellen gleichmäßig verteilt sind.</p> <p>Das Blut wurde längere Zeit ohne Einfrieren gelagert oder mehrmals eingefroren und wieder aufgetaut. Verwenden Sie Proben, die unter den in Abschnitt 3 genannten Bedingungen entnommen und gelagert wurden.</p> <p>Das Blut wurde beim Hinzufügen zur Kartusche nicht mit dem Inhalt aus Kammer 1 vermengt. Vermischen Sie die Blutprobe in Kammer 1 durch Pipettierung (5–10 Mal).</p>
Harzübertragung	<p>Eine Harzübertragung ist normal und beeinträchtigt nicht die Wirksamkeit nachfolgender Prozesse. Falls erforderlich, benutzen Sie einen Elutions-Magneten ([Cat.# AS4017, Cat.# AS4018 oder beides]) für die Übertragung des Eluats in ein neues Gefäß. Siehe Abschnitt 11, Verwandte Produkte.</p>

Jeder schwerwiegende Vorfall in Zusammenhang mit dem Produkt, der zum Tod oder zu schweren Verletzungen eines Benutzers oder Patienten geführt hat oder führen könnte, ist dem Hersteller unverzüglich zu melden. Benutzer mit Sitz in der Europäischen Union sollten alle schwerwiegenden Vorfälle zudem der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaats, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen ist, melden.

10. Literaturhinweis

1. Henry, J.B. (2001) *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed., W.B. Saunders Company, 509.

11. Verwandte Produkte

Geräte und Zubehör

Produkt	Größe	Cat.#
Maxwell® CSC 48 Instrument*	Jeweils 1	AS8000
Maxwell® CSC Instrument*	Jeweils 1	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	Jeweils 1	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	Jeweils 1	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	Jeweils 1	AS8402
Elution Tubes (0,5 ml)	50/Packung	AS6201
Elution Magnet, 16 Position	Jeweils 1	AS4017
Elution Magnet, 24 Position	Jeweils 1	AS4018

*Für den Einsatz in der In-vitro-Diagnostik. Dieses Produkt ist nur in bestimmten Ländern erhältlich.

Maxwell® CSC Reagent Kits

Eine Liste der verfügbaren Maxwell® CSC Purification Kits finden Sie unter www.promega.com.

12. Änderungsübersicht

Folgende Änderungen wurden an der Version dieses Dokuments vom Oktober 2022 vorgenommen:

1. Abschnitt 3 umbenannt zu Verwendungszweck des Produkts.
2. Abschnitte 7 und 8 wurden hinzugefügt und nachfolgende Abschnitte neu nummeriert.
3. Dokument aktualisiert, um die Einhaltung der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika zu gewährleisten.
4. Haftungsausschluss hinzugefügt.



^(a)US-Pat. Nr. 7,329,488 und S. Korean Pat. Nr. 100483684.

© 2021–2022 Promega Corporation. Alle Rechte vorbehalten.

Maxwell ist eine Marke der Promega Corporation.

Die Produkte können angemeldeten oder erteilten Patenten oder bestimmten Einschränkungen unterliegen. Weitere Informationen finden Sie auf unserer Website.

Alle Preise und technischen Daten können ohne vorherige Ankündigung geändert werden.

Änderungen zu Produktansprüchen bleiben vorbehalten. Bitte wenden Sie sich an Promega Technical Services oder rufen Sie den Online-Katalog von Promega auf, um die aktuellsten Informationen zu Promega-Produkten zu erhalten.