

# QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit

## Gebrauchsanweisung (Leistungsmerkmale)

Version 3



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Die Leistungsmerkmale sind online unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) der Produktseite auf [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) zu finden.

# Allgemeine Einführung

Das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit verwendet Silikamembrantechnologie (QIAamp-Technologie) zur Isolierung und Aufreinigung genomischer DNA aus biologischen Proben.

Die QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren, die für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Blutproben entwickelt wurden, liefern aufgereinigte gebrauchsfertige DNA. Die Verfahren eignen sich für die Anwendung mit frischem oder gefrorenem Vollblut und Blut, das mit Citrat oder EDTA behandelt wurde.

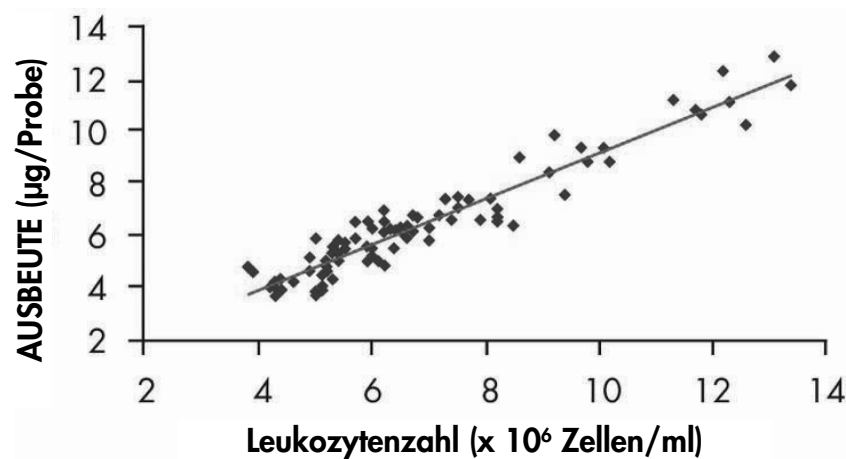
Die einfachen QIAamp DSP Spin- und Vakuum-Verfahren eignen sich für die gleichzeitige Verarbeitung mehrerer Proben. Einige der QIAamp Spin-Verfahren können für eine verbesserte Standardisierung und Benutzerfreundlichkeit auf dem QIAcube® Connect MDx vollständig automatisiert werden. Der QIAcube Connect MDx führt eine automatisierte Isolierung und Aufreinigung von Nukleinsäuren durch. Pro Einzellauf können bis zu 12 Proben verarbeitet werden.

# Leistungsmerkmale

**Hinweis:** Die Leistungsmerkmale hängen stark von verschiedenen Faktoren und der jeweiligen nachgelagerten Anwendung ab. Leistungsmerkmale wurden für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen ermittelt. Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren aus biologischen Proben werden jedoch als Vorbereitung mehrerer nachgelagerter Anwendungen eingesetzt, und Leistungsparameter wie Kreuzkontamination oder Laufpräzision müssen für jeden Arbeitsablauf im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung ermittelt werden. Daher liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu ermitteln.

## Grundlegende Leistung und Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen

Die grundlegende Leistung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahrens wurde für Blut von gesunden Spendern mit Leukozytenzahlen zwischen  $3,8 \times 10^6$  und  $1,34 \times 10^7$  Zellen/ml bestimmt (siehe Abbildung 1).



**Abbildung 1. Beobachtete Ausbeute bei Anwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahrens mit einem Elutionsvolumen von 200  $\mu\text{l}$ .** Die Leukozytenzahlen von gesunden Spendern wurden bestimmt und lagen im Bereich  $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$  Zellen/ml. Die DNA wurde mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Vakuum-Verfahren mit einem Elutionsvolumen von 200  $\mu\text{l}$  aus den Blutproben isoliert. Insgesamt wurden 87 Proben in Dreifachbestimmung verarbeitet.

Die Menge der in den QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren aufgereinigten DNA ist abhängig vom Gehalt an weißen Blutzellen in jeder Blutprobe. Genomische DNA wird unter Anwendung des Spin- oder des Vakuum-Verfahrens aus 200- $\mu\text{l}$ -Blutproben von gesunden Probanden aufgereinigt. Zur Entnahme von Blutproben für die QIAamp DSP DNA Blood Mini-Verfahren eignen sich verschiedene Primärröhrchen und Antikoagulanzen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Durchschnittliche relative Ausbeuten an DNA aus Blutproben, die mit verschiedenen Primärröhrchen und Antikoagulanzen entnommen wurden

Primärröhrchen	Hersteller	Kat.-Nr.	Nennvolumen	Durchschnittliche Ausbeute*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 µg

Genomische DNA wurde aus 200-µl-Blutproben von gesunden Spendern aufgereinigt (4,0 bis 9,0 x 10<sup>6</sup> Zellen pro ml).

\* Für jedes Primärröhrchen wird die durchschnittliche Ausbeute aus 11 in Dreifachbestimmung gemessenen Proben ermittelt.

Eluierte genomische DNA ist gebrauchsfertig für den Einsatz in verschiedenen nachgelagerten Assays.

## Bereich für Probeneingabe/Eluatausgabe und DNA-Reinheit

Für die Isolierung genomischer DNA aus 200 µl Vollblut können verschiedene Elutionsvolumina ausgewählt werden. Für das manuelle Verfahren liegt das Elutionsvolumen in einem Bereich von 50 bis 200 µl. Für den voll automatisierten Spin-Arbeitsablauf ist ein Elutionsvolumen von 100 und 200 µl möglich, und für den teilweise automatisierten Spin-Arbeitsablauf (nach manueller Lyse) ist ein Elutionsvolumen von 100–200 µl (in 10-µl-Schritten) möglich. Durch eine Elution in kleineren Volumina wird zwar die endgültige DNA-Konzentration im Eluat erhöht, aber die DNA-Gesamtausbeute leicht reduziert. Wir empfehlen die Verwendung eines für die beabsichtigte nachgelagerte Anwendung geeigneten Elutionsvolumens.

Die Auswirkungen verschiedener Elutionsvolumina auf die Gesamt-DNA-Konzentration wurden untersucht. Abbildung 2 zeigt einen Anstieg der DNA-Konzentration in den Eluaten bei abnehmendem Elutionsvolumen.

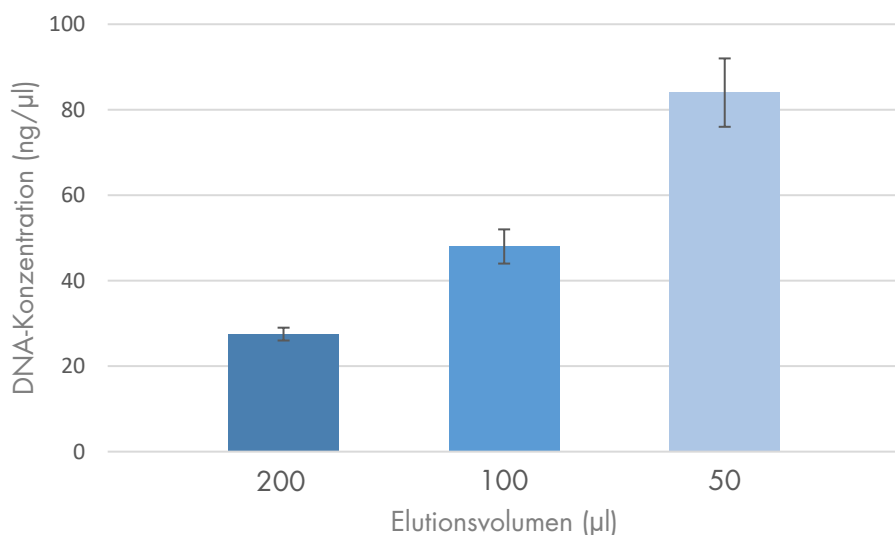


Abbildung 2. DNA-Konzentration, die nach DNA-Isolierung aus Vollblut mithilfe des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit unter Verwendung verschiedener Elutionsvolumina erhalten wurde. Jeder Balken im Diagramm repräsentiert die Ergebnisse von 32 Replikaten (Mittelwert ± Standardabweichung).

Als Indikator für die DNA-Reinheit wurde außerdem das Verhältnis zwischen der Extinktion bei 260 und 280 nm für die verschiedenen getesteten Elutionsvolumina gemessen. Zwischen den verschiedenen Elutionsvolumina wurde kein Unterschied festgestellt, und insgesamt deutete das durchschnittliche Verhältnis auf eine geringe Proteinkontamination hin.

## Präzision

Es wurden Variationskoeffizienten (VK) für die automatisierte Extraktion von humaner genomischer DNA aus Vollblut unter Verwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit auf dem QIAcube Connect MDx ermittelt. Die Gesamt-DNA-Ausbeute wurde mittels Messung der optischen Dichte bestimmt.

Die Wiederholbarkeit (Variabilität innerhalb von Läufen innerhalb eines Aufreinigungslaufs) und die Laborpräzision (Variabilität zwischen Läufen über verschiedene Aufreinigungsläufe hinweg und mit verschiedenen Bedienern, auf verschiedenen Geräten und an verschiedenen Tagen) wurden bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2. Auswertung der Präzisionsuntersuchungen

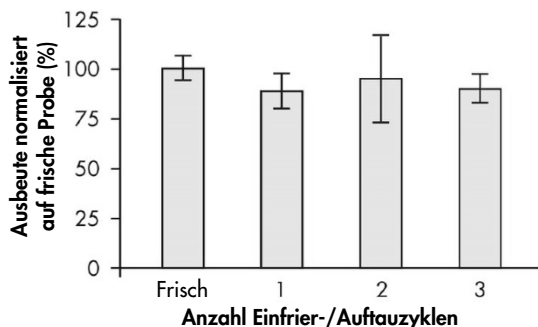
Präzision	VK (%)
Laborpräzision	1,65
Wiederholbarkeit	6,09
Gesamtpräzision	6,24

Für das manuelle Vakuum-Verfahren wurden die mittleren Ausbeuten und VK bestimmt und bewertet, um die Laborpräzision, Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit zu beurteilen. Darüber hinaus wurden Integrität und Leistung der DNA in einem laborinternen Real-time PCR-Assay analysiert.

## Probenstabilität

Hinweis: Die Stabilität der Proben hängt stark von verschiedenen Faktoren und der jeweiligen nachgelagerten Anwendung ab. Sie wurde mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen bewertet. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung für die jeweilige in seinem Labor verwendete nachgelagerte Anwendung heranzuziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu bewerten, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Die Auswirkungen des Einfrierens und Auftauens von mit EDTA behandelten Blutproben auf die Aufreinigung von DNA mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wurden untersucht. Es wurde keine signifikante Abnahme der Ausbeute (siehe Abbildung 3) oder der Leistung in nachgelagerten Assay beobachtet.



**Abbildung 3. Auswirkungen von Einfrieren und Auftauen der Blutproben.** Mit EDTA behandelte Blutproben wurden bis zu 3-mal eingefroren und aufgetaut und anschließend einer DNA-Aufreinigung mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit unterzogen. Die berechneten DNA-Ausbeuten sind normalisiert auf die Ausbeute bei Verwendung frischer Probe (100 %). Jeder Balken im Diagramm repräsentiert die Ergebnisse von 32 Replikaten (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung).

## Eluatstabilität

**Hinweis:** Die Stabilität des Eluats hängt stark von verschiedenen Faktoren und der jeweiligen nachgelagerten Anwendung ab. Sie wurde für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen untersucht. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung für die jeweilige in seinem Labor verwendete nachgelagerte Anwendung heranzuziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu bewerten, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Die Eluatstabilität für das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wurde nach Extraktion von Nukleinsäuren aus humanem Blut mittels Spektrophotometrie und eines laborinternen Real-time PCR-Assays untersucht. Eluierte DNA kann bis zu 4 Wochen bei 2–8 °C gelagert werden. Für eine längerfristige Lagerung empfehlen wir eine Lagerungstemperatur von –20 °C.

## Störsubstanzen

Blutproben wurden mit verschiedenen potenziellen exogenen und endogenen, in Patientenvollblut vorhandenen Störsubstanzen versetzt, um deren Auswirkungen auf beispielhafte nachgelagerte Assays nach Isolierung von gDNA mit dem QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit zu untersuchen.

Es wurden häufig auftretende, relevante potenzielle Störsubstanzen für Hämolyse (humanes Hämoglobin), Lipämie (Triglyceride) und Ikterus (unkonjugiertes Bilirubin) untersucht. Außerdem wurde der störende Effekt von dreimal höheren Konzentrationen von gerinnungshemmendem K2-EDTA, K3-EDTA und Na2-EDTA als denen, die bereits in dem Probenentnahmeröhrchen vorhanden sind, untersucht. Für diese potenziellen Störsubstanzen und für ca. 20 weitere potenzielle Störsubstanzen wie häufig angewendete Arzneimittel, die zum Beispiel zur Krebsbehandlung eingesetzt werden und somit mit hoher Wahrscheinlichkeit in Patientenproben vorzufinden sind, wurden keine signifikanten negativen Auswirkungen beobachtet.

**Hinweis:** Die Untersuchung wurde mithilfe beispielhafter nachgelagerter Anwendungen durchgeführt, um die Qualität der extrahierten Nukleinsäuren zu beurteilen. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können jedoch unterschiedliche Anforderungen in Bezug auf die Reinheit (d. h. das Nichtvorhandensein oder die Konzentration potenzieller Störsubstanzen) haben, sodass die Identifizierung und Untersuchung relevanter Substanzen und der jeweiligen Konzentrationen für jeden Arbeitsablauf, bei dem das QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit eingesetzt wird, ebenfalls im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung etabliert werden müssen.

Alle potenziellen Störsubstanzen (z. B. Arzneimittel) und die entsprechenden Konzentrationen sind für die nachgelagerte Anwendung sehr spezifisch, und bei der Verifizierung der entsprechenden nachgelagerten Anwendung unter Verwendung des QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit müssen mögliche frühere medizinische Behandlungen des Patienten überprüft werden.





**Hinweis:** Laut ISO 20186-2:2019 (E) kann Heparin aus Blutentnahmeröhrchen die Reinheit der isolierten Nukleinsäuren beeinträchtigen und eine mögliche Verschleppung in Eluate könnte zu Inhibitionen in einigen nachgelagerten Anwendungen führen. Daher empfehlen wir für die Plasmavorbereitung die Verwendung von Blutproben, die mit EDTA oder Citrat als Antikoagulans behandelt wurden.

## Kreuzkontaminationen

Das Risiko einer Kreuzkontamination bei der automatisierten Aufreinigung von Nukleinsäure auf dem QIAcube Connect MDx wurde analysiert, indem 12 Probenläufe mit Chargen mit abwechselnd positiven und negativen Proben unter Verwendung eines beispielhaften QIAamp Arbeitsablaufs (QIAamp DSP Virus Spin zusammen mit Plasma- und Serumproben mit 1,00E+07 Kopien/ml eines DNA-Virus) durchgeführt wurden. Eine potenzielle Kontamination der negativen Proben während der Extraktionsläufe wurde mittels einer anschließenden Analyse der Eluate unter Verwendung eines laborinternen Real-time PCR-Assays untersucht. Für die Verschleppung von Probe zu Probe oder Lauf zu Lauf wurde keine Kreuzkontamination nachgewiesen.

## Symbole

In diesem Dokument werden die folgenden Symbole verwendet. Eine vollständige Liste der in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendeten Symbole ist dem Handbuch zu entnehmen.

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Hersteller

# Bearbeitungsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	<p>Version 3, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktualisierung auf Version 3 zur Einhaltung der Verordnung für In-vitro-Diagnostika (IVDR)</li><li>• Übertragung der Leistungsmerkmale vom Kit-Handbuch in dieses Dokument, und entsprechende Aktualisierung:<ul style="list-style-type: none"><li>○ Übertragung des Abschnitts „Ausbeute an aufgereinigter DNA“ und des Abschnitts „Leistung in nachgelagerten Assays“ in Abschnitt „Grundlegende Leistung und Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Bereich für Probeneingabe/Eluatausgabe und DNA-Reinheit“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Präzision“</li><li>○ Aktualisierung des Abschnitts „Eluatstabilität“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Probenstabilität“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Störsubstanzen“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Kreuzkontaminationen“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Symbole“</li><li>○ Hinzufügung des Abschnitts „Bearbeitungsverlauf“</li></ul></li></ul>

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG und Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.  
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.



