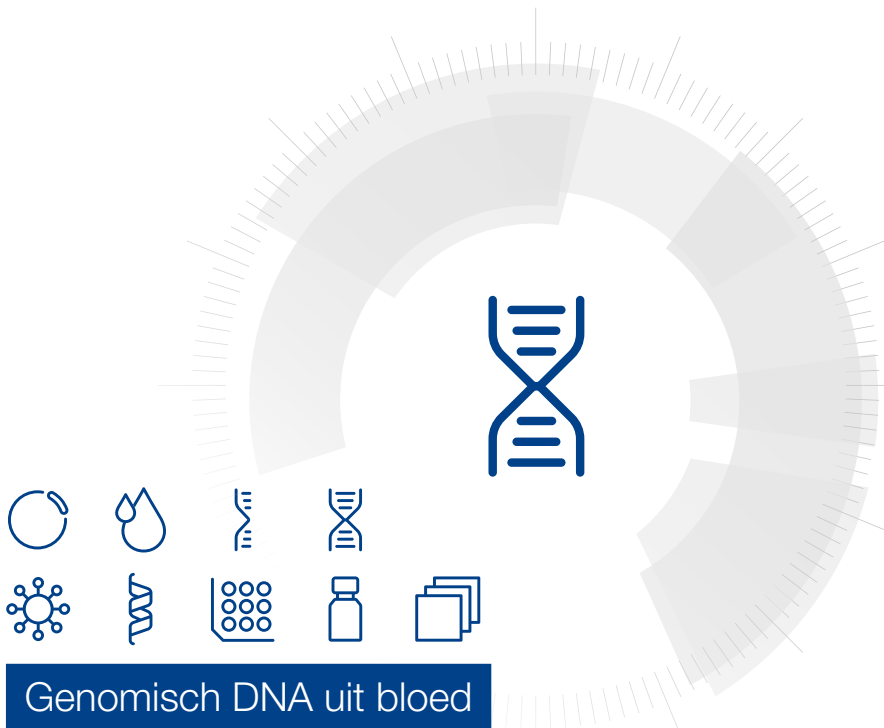


MACHEREY-NAGEL

Gebruikershandleiding



Genomisch DNA uit bloed

■ NucleoSpin® Dx Blood



In-vitro medisch hulpmiddel voor diagnostiek



740899.50,
740899.250



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
52355 Düren · Duitsland, Tel.: +49 24 21 969-0



50/250 preps



April 2022 / Rev. 05

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland



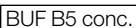




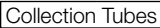
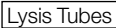


MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Inhoudsopgave

1 Componenten	4
1.1 Inhoud van de kit	4
1.2 Reagentia, verbruiksgoederen en door de gebruiker te leveren apparatuur	4
1.3 Over deze gebruikershandleiding	5
2 Productbeschrijving	6
2.1 Beoogd gebruik	6
2.2 Beperkingen aan gebruik van het product	6
2.3 Kwaliteitscontrole	6
2.4 Inleiding en kitspecificaties	7
2.5 Analytische prestaties	8
2.6 Elutieprocedures	9
3 Opslagomstandigheden en voorbereiding van werkoplossingen	10
4 Veiligheidsinstructies	11
4.1 Verwijdering	11
5 Zuivering van genomisch DNA met NucleoSpin® Dx Blood	12
5.1 Het protocol in één oogopslag	13
5.2 Procedure	14
6 Bijlage	16
6.1 Probleemoplossing	16
6.2 Vereiste melding	18
6.3 Algemene literatuur	18
6.4 Bestelinformatie	18
6.5 Verklaring van de symbolen	18
6.6 Beperkt gebruik van het product/garantie	19

1 Componenten

1.1 Inhoud van de kit

NucleoSpin® Dx Blood			
REF		50 preps 740899.50	250 preps 740899.250
Buffer B3		15 mL	60 mL
Wash Buffer BW		30 mL	150 mL
Wash Buffer B5 (Concentrate)*		12 mL	50 mL
Elution Buffer BE**		13 mL	60 mL
Proteinase Buffer PB		1,8 mL	8 mL
Proteinase K (lyophilized)*		30 mg	2 × 75 mg
NucleoSpin® Dx Blood Columns (red rings -plus Collection Tubes)		50	250
Collection Tubes (2 mL)		3 × 50	3 × 250
Lysis Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
Elution Tubes (1.5 mL)		50	5 × 50
Gebruikershandleiding		1	1

1.2 Reagentia, verbruiksgoederen en door de gebruiker te leveren apparatuur

Reagentia

- 96–100 % ethanol (voor aanpassing van DNA-bindingsvoorwaarden en om Wash Buffer B5 voor te bereiden)

Verbruiksgoederen

- Pipetpunten voor eenmalig gebruik (pipetpunten met aerosolbarrière worden aanbevolen om kruisbesmetting te vermijden)

* Zie hoofdstuk 3 voor voorbereiding van werkoplossingen en opslagvoorwaarden.

** Samenstelling van Elution Buffer BE: 5 mM Tris/HCl, pH 8.5

Apparatuur

- Handmatige pipetteerhulpen
- Centrifuge voor microcentrifugebuisjes
- Vortexmixer
- Thermisch verwarmingsblok of waterbad (voor monsterlyse op 70 °C)
- Persoonlijke beschermingsmiddelen (bijv. laboratoriumjas, handschoenen, bril)

1.3 Over deze gebruikershandleiding

Het wordt sterk aanbevolen dat u het gedetailleerde protocol in deze gebruikershandleiding leest. Het protocol in één oogopslag is uitsluitend bedoeld als extra hulpmiddel voor snelle naslag tijdens het uitvoeren van de zuiveringsprocedure.

Gebruikershandleidingen van MACHEREY-NAGEL zijn op het internet beschikbaar via www.mn-net.com.

Neem contact op met de Technische Service over informatie met betrekking tot wijzigingen in de actuele gebruikershandleiding ten opzichte van vorige revisies.

Contactgegevens

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Duren, Duitsland
Tel.: +49 24 21 969-0
Gratis: 0800 26 16 000 (alleen vanuit Duitsland)
E-mail: info@mn-net.com

Technische ondersteuning bioanalyse

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de la pagina del producto.



2 Productbeschrijving

2.1 Beoogd gebruik

NucleoSpin® Dx Blood is een kit voor het isoleren van genomisch DNA uit vers en ingevroren humaan volbloed, dat is gestabiliseerd met ofwel EDTA, citraat of heparine uit gebruikelijke bloedafnamesystemen voor daaropvolgende *in-vitro*analyse. Het product levert gezuiverd genomisch DNA voor gebruik in daaropvolgende verdere analyse zoals PCR, qPCR of sequentiëring om informatie over het genomisch DNA in het monster te verkrijgen. Het product wordt gebruikt door professionele gebruikers in diagnostische laboratoria.

De **NucleoSpin® Dx Blood**-kit is niet geschikt voor zelftests of near-patient-testing. De gebruiker moet ervaring hebben in technieken uit de moleculaire biologie en in het werken met volbloed en andere potentieel infectieuze monsters van menselijk materiaal.

De toepassing van geschikte controles zoals interne controles, extractiecontroles en positieve/negatieve controles wordt aanbevolen.

2.2 Beperkingen aan gebruik van het product

De **NucleoSpin® Dx Blood**-kit is niet bedoeld voor gebruik met weefsel-of ontlastingsmonsters, celvrije lichaamsvloeistoffen zoals plasma, serum, urine of cerebrospinaal vocht. De prestaties van de kit zijn niet geëvalueerd voor buffy coat, gekweekte of geïsoleerde cellen, wattenstaafjes, gedroogde bloedvlekken en viraal DNA. De kit is ook niet gespecificeerd voor isolatie en zuivering van bacteriële, schimmel-of parasitaire nucleïneazuren.

2.3 Kwaliteitscontrole

Overeenkomstig MACHEREY-NAGEL's systeem voor kwaliteitsbeheer wordt iedere partij **NucleoSpin® Dx Blood**-kit getest op vooraf bepaalde specificaties om een consistente productkwaliteit te waarborgen.

2.4 Inleiding en kitspecificaties

NucleoSpin® Dx Blood is gebaseerd op de gerenommeerde NucleoSpin®-silicamembraantechnologie en biedt een eenvoudige manier om genomisch DNA te isoleren uit 200 µL volbloedmonsters. Gezuiverd DNA is direct te gebruiken in downstream PCR-amplificatie.

De **NucleoSpin® Dx Blood**-procedure is gebaseerd op een reeks eenvoudige stappen:

Eerst worden de bloedmonsters gelyseerd in aanwezigheid van chaotropische zouten en Proteinase K. Het genomische DNA in het lysaat wordt dan gebonden aan een **NucleoSpin® Dx Blood**-kolom. Vervolgens wordt het membraan met gebonden nucleïnezuren gewassen en tot slot wordt zeer zuiver genomisch DNA afgegeven.

Monsters

De kit is te gebruiken met 200 µL vers of ingevroren humaan volbloed dat is behandeld met EDTA, citraat of heparine uit gebruikelijke systemen voor bloedafname.

Doorgaans levert 200 µL humaan volbloed 3–5 µg genomisch DNA op, afhankelijk van het aantal witte bloedlichaampjes in het monster.

Hieronder wordt een selectie van geschikte hulpmiddelen voor bloedafname weergegeven:

Tabel 1: Selectie van geschikte systemen voor bloedafname

Systeem voor bloedafname	Fabrikant
S-Monovette® Li-Heparin	Sarstedt
S-Monovette® EDTA	Sarstedt
S-Monovette® Citrat	Sarstedt
VACUETTE® EDTA	GREINER BIO-ONE
BD VACUTAINER® K2E	BD
K3 EDTA	DELTA LAB
K2 EDTA	APTACA

Monsterbeperkingen

Cryoprecipitaten die ontstaan bij het ontdooien van ingevroren monsters kunnen de **NucleoSpin® Dx Blood**-kolom verstoppem. Als dergelijke precipitaten zichtbaar zijn, dient u aspiratie hiervan te vermijden wanneer het lysaat in de bindende kolom wordt geladen.

Het spreekt vanzelf dat hemolytische en hyperlipidemische monsters van invloed kunnen zijn op de opbrengst en zuiverheid van DNA.

Tabel 2: Kitspecificaties in één oogopslag

Parameter	NucleoSpin® Dx Blood
Monstermateriaal	Vers en ingevroren humaan volbloed dat is behandeld met EDTA, citraat of heparine uit gebruikelijke systemen voor bloedafname
Monstervolume	200 µL
Typische DNA-opbrengst	3–5 µg afhankelijk van het aantal witte bloedlichaampjes
Typische DNA-kwaliteit	Ratio A_{260}/A_{280} 1,7–1,9 Ratio A_{260}/A_{230} 1,8–2,3
Elutievolume	50–200 µL
Typische DNA-concentratie	40–60 ng/µL
Verwerking	Centrifugatie

2.5 Analytische prestaties

Intra-run herhaalbaarheid is berekend met parallele isolatie van 12 identieke aliquote delen van een bloedmonster. De gemiddelde DNA-opbrengst was $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3$, wat overeenkomt met een variatiecoëfficiënt van 6 %. De inter-run herhaalbaarheid is getest met twee onafhankelijke runs. In iedere run werd DNA geïsoleerd uit één bloedmonster met elk 6 kopieën. Het verschil tussen de gemiddelde opbrengst van de twee runs was $0,2 \mu\text{g}$ DNA, wat overeenkomt met 6 %. Voor herhaalbaarheid tussen batches werden drie batches NucleoSpin® Dx Blood naast elkaar vergeleken. Van iedere batch werd gDNA geïsoleerd in 6 kopieën. Alle kopieën werden ontleend aan één bloedmonster. De gemiddelde DNA-opbrengst per zes preparaten was 5,2, 4,8 en $5,0 \mu\text{g}$ met standaarddeviaties van respectievelijk 0,4, 0,5 en $0,5 \mu\text{g}$. De variatiecoëfficiënt van de gemiddelde opbrengsten van de drie batches was 4 %.

Voor de evaluatie van reproduceerbaarheid werd DNA geïsoleerd uit volbloedmonsters naast elkaar door twee operators. De gemiddelde opbrengst ($n = 6$) was respectievelijk $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$ en $3,0 \pm 0,2 \mu\text{g}$, wat overeenkomt met een variatiecoëfficiënt van 9 % en 7 % per zes preparaten. Het verschil tussen de gemiddelde opbrengst van beide operators was $0,1 \mu\text{g}$.

In-vitro diagnostisch gebruik van **NucleoSpin® Dx Blood** wordt beschreven in de volgende publicaties:

Hadzsiev, K. *et al.* (2019) Rubinstein-Taybi syndrome 2 with cerebellar abnormality and neural tube defect. *Clin Dysmorphol.*, 28(3), 137 – 141.

Komlósi, K. *et al.* (2015) Phenotypic variability in a Hungarian patient with the 4q21 microdeletion syndrome. *Mol Cytogenet.*, 8, 16.

Czakó, M. *et al.* (2019) Possible Phenotypic Consequences of Structural Differences in Idic(15) in a Small Cohort of Patients. *Int J Mol Sci.*, 20(19), 4935.

Szabo, A. *et al.* (2015) Partial tetrasomy of the proximal long arm of chromosome 15 in two patients: the significance of the gene dosage in terms of phenotype. *Mol Cytogenet.*, 8, 41.

2.6 Elutieprocedures

DNA wordt geëluëerd uit de **NucleoSpin® Dx Blood-kolommen** met 50 tot 200 μL Elution Buffer BE. De totale DNA-opbrengst neemt toe met toename van het elutievolume, terwijl de DNA-concentratie afneemt (zie afbeelding 1).

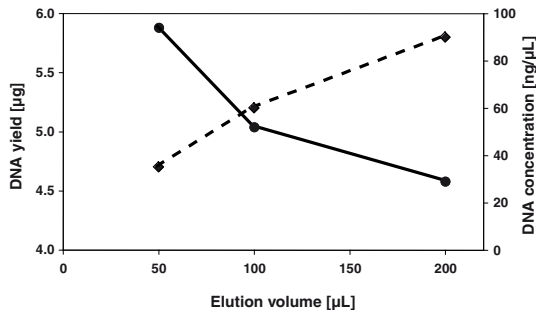
Tot 10 μL van het eluaat kan typisch worden gebruikt als sjabloon in een PCR-mengsel van 50 μL zonder invloed op de PCR-prestaties. Het wordt aanbevolen geëluëerd DNA te bewaren bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Meerdere vries-ontdooicycli hebben geen gevolgen voor de meeste downstreamtoepassingen.

Opslag van nucleïnezuren

Aanbeveling:

Kortdurende opslag (tot 24 uur): $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Langdurige opslag (meer dan 24 uur): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$



Afbeelding 1

Invoed van elutievolume op totale DNA-opbrengst (stippellijn) en concentratie (doorlopende lijn). Elutie werd uitgevoerd met 50, 100 en 200 μL .

3 Opslagomstandigheden en voorbereiding van werkoplossingen

Let op:

- Controleer alle componenten na ontvangst van de kit op schade. Als de inhoud van de kit, zoals bufferflessen of blisterverpakkingen, beschadigd is, neemt u contact op met de technische ondersteuning en klantenservice van MACHEREY-NAGEL of met uw plaatselijke leverancier.
- Gebruik geen beschadigde kitcomponenten.
- Na ontvangst van de **NucleoSpin® Dx Blood**-kit moet deze worden bewaard bij 18–25 °C. Het is NIET noodzakelijk om de kit na ontvangst te openen en individuele componenten eruit te halen voor afzonderlijke opslag.
- **NucleoSpin® Dx Blood-kolommen** zijn te gebruiken tot de uiterste gebruiksdatum die op de doos van de kit wordt vermeld.

Voor dat u het **NucleoSpin® Dx Blood**-protocol start, bereidt u het volgende voor:

- **Wash Buffer B5:** Voeg de aangegeven hoeveelheid ethanol (96–100 %, zie de tabel hieronder of op de fles) toe aan het **Wash Buffer B5-concentraat**. Markeer het label van de fles om aan te geven dat er ethanol is toegevoegd. Bewaar de Wash Buffer B5 bij 18–25 °C uiterlijk tot de uiterste gebruiksdatum.
- Gelyofiliseerd **Proteinase K** kan bij 18–25 °C worden bewaard tot de uiterste gebruiksdatum zonder dat de prestaties afnemen. Voeg vóór het eerste gebruik van de kit de aangegeven hoeveelheid **Proteinase Buffer PB** toe om het gelyofiliseerde Proteinase K op te lossen. Gereconstitueerd Proteinase K moet maximaal 6 maanden worden bewaard bij -20 °C, maar uiterlijk tot de uiterste gebruiksdatum.
- Tijdens de opslag, vooral bij lage temperaturen, kan zich een wit precipitaat vormen in Buffer B3 en Buffer BW. Dergelijke precipitaten kunnen makkelijk worden opgelost door de fles 5 minuten te incuberen bij 70 °C.

NucleoSpin® Dx Blood		
REF	50 preps 740899.50	250 preps 740899.250
Wash Buffer B5 (concentraat)	12 mL Voeg 48 mL ethanol toe	50 mL Voeg 200 mL ethanol toe
Proteinase K	30 mg Voeg 1,35 mL proteïnasebuffer toe	2 × 75 mg Voeg 3,35 mL proteïnasebuffer toe aan ieder flesje

4 Veiligheidsinstructies

Draag bij het werken met de **NucleoSpin® Dx Blood**-kit geschikte beschermende kleding (bijv. een laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril). Raadpleeg voor meer informatie het bijbehorende veiligheidsinformatieblad (dit is online beschikbaar op <http://www.mn-net.com/msds>).



Let op: Guanidiniumchloride in buffer B3 en buffer BW kan sterk reagerende samenstellingen vormen wanneer het wordt gecombineerd met bleekmiddel! Voeg dus geen bleekmiddel of zure oplossingen rechtstreeks toe aan resten van het geprepareerde monster.

Het afval dat wordt gegenereerd met de **NucleoSpin® Dx Blood**-kit is niet getest op resterend infectieus materiaal. Een verontreiniging van het vloeibare afval met resterend infectieus materiaal is zeer onwaarschijnlijk door een sterk denaturerende lysebuffer en Proteinase K-behandeling, maar kan niet volledig worden uitgesloten. Daarom moet vloeibaar afval worden beschouwd als infectieus en worden behandeld en afgevoerd volgens de plaatselijke veiligheidsvoorschriften.

4.1 Verwijdering

Voer gevaarlijke, infectieuze of biologisch verontreinigde materialen af op een veilige en aanvaardbare wijze en volgens alle plaatselijke en voorgeschreven vereisten.

5 Zuivering van genomisch DNA met NucleoSpin® Dx Blood

De onderstaande procedure bevat instructies voor de verwerking van één bloedmonster. Er kunnen echter ook meerdere monsters tegelijk worden verwerkt; het aantal is afhankelijk van de capaciteit van de gebruikte microcentrifuge.







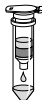

Voordat u begint met de voorbereiding:

- Controleer of Buffer B5 en Proteinase K zijn voorbereid volgens hoofdstuk 3.
- Zorg dat er 96 – 100 % ethanol (gedenatureerd of ongedenatureerd) beschikbaar is om de DNA-bindingsvoorwaarden te beïnvloeden.
- Stel een incubator (bijv. verwarmingsblok) of waterbad in op 70 °C.
- Stabiliseer de bloedmonsters op kamertemperatuur. Zorg dat de monsters goed worden gemengd.
- Als zich in de Lysis Buffer B3 of Buffer BW precipitaat heeft gevormd, stabiliseert u de buffer op 70 °C totdat het precipitaat is opgelost.
- Meng in het algemeen geen reagentia en kolommen uit andere kits en partijen.
- Stabiliseer Elution Buffer BE op kamertemperatuur.
- Voeg geen Proteinase K-oplossing rechtstreeks toe aan Lysis Buffer B3. Proteinase K moet worden gemengd met het bloedmonster voordat Buffer B3 wordt toegevoegd.
- Alle centrifugatiestappen moeten worden uitgevoerd op kamertemperatuur.

5.1 Het protocol in één oogopslag

Aanvullend protocoloverzicht:

Lees het gedetailleerde protocol (paragraaf 5.2) aandachtig door voordat u de procedure start.

Lyseer bloed-monsters	1	25 µL Proteinase K		
	2	200 µL bloed		
	3	200 µL B3, mengen		
	4	RT, 5 min		
	5	70 °C, 10 min, mengen		
	6	2.000 x g, 1 s		
Pas DNA-bindingsvoorwaarden aan	7	210 µL ethanol, mengen		
	8	2.000 x g, 1 s		
Bind DNA	9	Lysaat laden		
	10	11.000 x g, 1 min		
	11	Breng de NucleoSpin® Dx Blood-kolom over naar een nieuw verzamelbuisje		
Was het silica-membraan	12	500 µL BW		
	13	11.000 x g, 1 min		
	14	Breng de NucleoSpin® Dx Blood-kolom over naar een nieuw verzamelbuisje		
	15	600 µL B5		
	16	11.000 x g, 1 min		
	Droog het silica-membraan	17		Breng de NucleoSpin® Dx Blood-kolom over naar een nieuw verzamelbuisje
18		11.000 x g, 1 min		

Elueer DNA	19	Breng de NucleoSpin® Dx Blood-kolom over naar een elutiebusje
	20	50–200 µL BE
	21	11.000 x g, 1 min



5.2 Procedure

- 1 Pipetteer **25 µL Proteinase K**-oplossing in een lysebusje (1,5 mL, meegeleverd).
- 2 Voeg **200 µL bloedmonster** toe aan het lysebusje. Meng.
- 3 Voeg **200 µL Buffer B3** toe aan het lysebusje, sluit het deksel en meng krachtig met een puls-vortexmixer gedurende 10 s.
Meng Buffer B3 en Proteinase K niet van tevoren!
- 4 Incubeer op **kamertemperatuur** gedurende **5 min** (± 1 min).
- 5 Incubeer het lysebusje bij **70 °C** (± 2 °C) gedurende **10 min** (± 1 min). Meng na incubatie krachtig met een puls-vortexmixer gedurende 5 s.
- 6 **Centrifugeer** het lysebusje kort (circa 1 s op 2.000 x g) om druppels van het deksel te verwijderen (slechts kort draaien).
- 7 Voeg **210 µL ethanol** (96–100 %) toe aan het monster. Sluit het deksel en meng met een puls-vortexmixer gedurende 5 s.
Zorg dat de ethanol en het lysaat goed worden gemengd.
- 8 **Centrifugeer** het lysebusje kort (circa 1 s op 2.000 x g) om druppels van het deksel te verwijderen (slechts kort draaien).
- 9 **Plaats het volledige lysaat** voorzichtig in de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** in een verzamelbusje en sluit het deksel.
- 10 **Centrifugeer 1 min op 11.000 x g.**
Als het lysaat niet volledig door het membraan is getrokken, herhaalt u het centrifugereren op een hogere g-kracht (15.000–20.800 x g gedurende 1 min). Als het lysaat dan nog steeds niet volledig het membraan is gepasseerd, gooit u het monster weg en herhaalt u de isolatie met nieuw monstermateriaal.
- 11 Plaats de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** in een nieuw verzamelbusje (2 mL, meegeleverd) en gooi het verzamelbusje met het doorstroommateriaal van de vorige stap weg.
- 12 Open de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** en voeg **500 µL Buffer BW** toe aan de kolom. Sluit het deksel.
Opmerking: Zorg dat het resterende lysaat wordt weggespoeld met Buffer BW.

13 Centrifugeer 1 min op 11.000 x g.

14 Plaats de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** in een nieuw verzamelbuisje (2 mL, meegeleverd) en gooi het verzamelbuisje met het doorstroommateriaal van de vorige stap weg.

15 Open de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** en voeg **600 µL Buffer B5** toe aan de kolom. Sluit het deksel.

Opmerking: Zorg dat de resterende spoelbuffer uit de vorige stap wordt weggespoeld met Buffer B5.

16 Centrifugeer 1 min op 11.000 x g.

17 Plaats de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** in een nieuw verzamelbuisje (2 mL, meegeleverd) en gooi het verzamelbuisje met het doorstroommateriaal van de vorige stap weg.

18 Centrifugeer 1 min op 11.000 x g.

Tijdens deze stap wordt resterende ethanol verwijderd.

19 Plaats de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** in een schoon elutiebuisje (1,5 mL, meegeleverd) en gooi het verzamelbuisje uit de vorige stap weg.

20 Open de **NucleoSpin® Dx Blood-kolom** en voeg **50 – 200 µL Buffer BE** rechtstreeks toe aan het midden van het membraan.

21 Centrifugeer 1 min op 11.000 x g om het DNA uit de kolom te elueren.

6 Bijlage

6.1 Probleemoplossing

Probleem	Mogelijke oorzaak en suggesties
Geen of slechte DNA-opbrengst	<p><i>Lage concentratie van witte bloedlichaampjes in monster</i></p> <ul style="list-style-type: none"> De DNA-opbrengst is afhankelijk van het aantal witte bloedlichaampjes per monster. Bloedmonsters met een laag aantal witte bloedlichaampjes brengen weinig DNA op.
	<p><i>Onvolledige monsterlyse</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Niet-homogeen bloedmonster of bloedstolsels in het monster: Zorg dat bloedmonsters worden afgenomen volgens de instructies van de fabrikant van het bloedafnamebuisje. Zorg dat als monstermateriaal alleen bloed wordt gebruikt dat makkelijk gepipetteerd kan worden. Homogeniseer het bloedmonster vóór gebruik, indien nodig. Monster niet grondig gemengd met Proteinase K en lysebuffer. Het mengsel moet onmiddellijk na toevoeging van Lysis Buffer B3 krachtig in een vortexmixer worden gemengd. Geen optimale ontbinding van Proteinase K. Voeg Proteinase K nooit rechtstreeks toe aan Lysis Buffer B3.
	<p><i>Reagentia niet goed toegediend</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Bereid buffers en Proteinase K-oplossing voor volgens de instructies (hoofdstuk 3). Voeg ethanol toe aan het lysaat voordat lysaat in de kolom wordt geladen.
	<p><i>Geen goede centrifugatie</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Overschrijd de tijd en snelheid van het centrifugeren in stap 6 en 8 niet. Draai slechts kort om druppels van het deksel te verwijderen. <p><i>Minder dan optimale elutie van DNA uit de kolom</i></p> <ul style="list-style-type: none"> De efficiëntie van elutie is afhankelijk van het volume van de elutiebuffer. Gebruik voor een zo efficiënt mogelijke elutie 200 µL elutiebuffer; voor een zo hoog mogelijke DNA-concentratie 50 µL elutiebuffer.
Verstopte DNA-bindende kolom	<p><i>Niet-homogeen bloedmonster</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Cryoprecipitaat dat ontstaat bij het ontdooien van ingevroren monsters kan de NucleoSpin® Dx Blood-kolom verstopen. Als dergelijke precipitaten zichtbaar zijn, dient u aspiratie hiervan te vermijden wanneer het lysaat in de bindende kolom wordt geladen. Precipitaten kunnen ook ontstaan in verse bloedmonsters. Zorg dat de monsters goed worden gemengd. Als de kolom verstopt raakt tijdens de DNA-bindingsstap, herhaalt u het centrifugeren op een hogere g-kracht (15.000 – 20.800 x g gedurende 1 min).

Probleem **Mogelijke oorzaak en suggesties**

	<p><i>Reagentia niet goed toegediend</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Bereid buffers en Proteinase K-oplossing voor volgens de instructies (hoofdstuk 3). Voeg ethanol toe aan het lysaat en meng deze voordat u ze in kolommen laadt.
Slechte DNA-kwaliteit	<p><i>Onvolledige monsterlyse</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Monster niet grondig gemengd met Proteinase K-oplossing en lysebuffer. Het mengsel moet onmiddellijk na toevoeging van de lysebuffer krachtig in een vortexmixer worden gemengd.• Geen optimale ontbinding van Proteinase K. Voeg geen Proteinase K rechtstreeks toe aan Lysis Buffer B3. <p><i>Oude of gestolde bloedmonsters verwerkt</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Zorg dat als monstermateriaal alleen bloed wordt gebruikt dat makkelijk kan worden overgebracht door pipetteren. Homogeniseer het bloedmonster vóór gebruik indien nodig.
Minder dan optimale prestaties van genomisch DNA in enzymatische reacties	<p><i>Overdracht van ethanol</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Zorg dat alle ethanolhoudende Buffer B5 is verwijderd voordat u het DNA elueert. Als het vulpeil van Wash Buffer B5 doorstroommateriaal na de tweede wasbeurt om een of andere reden de kolomuitgang bereikt, gooit u het doorstroommateriaal weg, plaatst u de kolom terug in het verzamelbuisje en centrifugeert u opnieuw.• DNA-eluaat kan sporen van ethanol bevatten. Er is echter geen afname in PCR prestaties waargenomen bij gebruik van DNA-eluaat tot 20 % van het uiteindelijke PCR-volume als sjabloon (bijv. gebruik van 4 µL uit 100 µL eluaat als sjabloon in een PCR van 20 µL). Het maximale percentage aan sjabloonvolume in een PCR kan variëren, afhankelijk van de robuustheid van het PCR-systeem, en moet door de gebruiker worden bepaald. <p><i>Verontreiniging van DNA met inhiberende stoffen</i></p> <ul style="list-style-type: none">• Als u DNA uit oude of gestolde bloedmonsters haalt, moet u zorgen dat als monstermateriaal alleen bloed wordt gebruikt dat makkelijk kan worden overgebracht door pipetteren. Homogeniseer het bloedmonster vóór gebruik, indien nodig.

Neem contact op met:

MACHEREY-NAGEL Duitsland
Tel.: +49 (0) 24 21 969 270
E-mail: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Vereiste melding

Merk op dat ieder ernstig incident dat zich in samenhang met dit product voordoet, onmiddellijk gemeld moet worden bij de fabrikant en bij de bevoegde instantie van de Europese lidstaat waarin het incident zich heeft voorgedaan. Contactinformatie Europese vigilantie-contactpunten: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Algemene literatuur

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik -Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471-7.

Orzińska A. *et al.* (2015) 14 Years of Polish Experience in Non-Invasive Prenatal Blood Group Diagnosis. *Transfus Med Hemother*, 42, 361 – 364.

Papadopoulou A. *et al.* (2014) Calcium sensing receptor in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. *Placenta*, 35, 632e638.











Bleda S. *et al.* (2012) Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. *Diabetes & Vascular Disease Research*, 9(1), 68 – 74.

6.4 Bestelinformatie

Product	REF	Pakket met
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Ga naar www.mn-net.com voor meer gedetailleerde productinformatie.

6.5 Verklaring van de symbolen

 REF	Artikelnummer		Toegestaan temperatuurbereik voor opslag
 LOT	Batchidentificatie		Te gebruiken vóór
	Fabrikant		Let op: Raadpleeg de gebruikershandleiding voor meer informatie
 IVD	Producten voor <i>in-vitro</i> diagnostiek		Niet hergebruiken
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		
	Voldoende voor < n> tests		

6.6 Beperkt gebruik van het product/garantie

De **NucleoSpin® Dx Blood**-kit is een generiek systeem voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit monsters van humaan volbloed ten behoeve van daaropvolgende *in-vitro*diagnostiek.

De kit is ontworpen voor gebruik met downstreamtoepassingen die gebruikmaken van enzymatische amplificatie en detectie van DNA (bijv. PCR). Alle diagnoseresultaten die worden gegenereerd met het DNA dat is geïsoleerd met de **NucleoSpin® Dx Blood**-kit in combinatie met een diagnoseassay, moet worden geïnterpreteerd met inachtneming van aanvullende klinische of laboratoriumbevindingen. De **NucleoSpin® Dx Blood**-kit levert geen diagnoseresultaat. Het is uitsluitend de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de kit correct te gebruiken en te evalueren in samenhang met een downstream *in-vitro*diagnoseassay. ALLEEN producten van MACHEREY-NAGEL die speciaal zijn gemarkeerd als IVD, zijn geschikt voor *in-vitro*diagnostiek.

Raadpleeg voor veiligheidsinstructies het betreffende hoofdstuk in de gebruikershandleiding. **NucleoSpin® Dx Blood**-kit mag uitsluitend worden gebruikt in een geschikte testomgeving, d.w.z. een passende laboratoriumsituatie.

De betreffende gebruiker is aansprakelijk voor enigerlei schade die voortkomt uit gebruik van de **NucleoSpin® Dx Blood**-kit voor enig ander dan het beoogde doel dat in de gebruikershandleiding is beschreven.

Dit product van MACHEREY-NAGEL wordt geleverd met documentatie waarin de specificaties en andere technische informatie worden gegeven. MACHEREY-NAGEL garandeert dat aan de vermelde specificaties wordt voldaan. De enige verplichting van MACHEREY-NAGEL en de enige garantie voor de gebruiker is dat producten gratis worden vervangen wanneer deze niet de prestaties leveren die worden gegarandeerd. In aanvulling hierop wordt verwezen naar de algemene voorwaarden van MACHEREY-NAGEL, die op de prijslijst worden vermeld. Neem contact met ons op als u hiervan een extra exemplaar wilt ontvangen.

Er wordt geen garantie gegeven voor en MACHEREY-NAGEL is niet aansprakelijk voor schade of defecten die voortkomen uit het transport en de hantering (transportverzekering voor klanten uitgezonderd), of uit ongevallen of onjuist of abnormaal gebruik van dit product; defecten in producten of componenten die niet zijn vervaardigd door MACHEREY-NAGEL, of schade die voortvloeit uit dergelijke componenten of producten die niet zijn vervaardigd door MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL biedt geen garanties in welke vorm dan ook en WIJST ALLE ANDERE GARANTIES MET BETREKKING TOT PRODUCTEN VAN MACHEREY-NAGEL VAN DE HAND, VAN WELKE SOORT OF AARD DAN OOK, DIRECT OF INDIRECT, EXPLICIET OF IMPLICIET, INCLUSIEF MAAR NIET BEPERKT TOT DE GESCHIKTHEID, REPRODUCEERBAARHEID, DUURZAAMHEID, GESCHIKTHEID VOOR ENIG DOEL OF GEBRUIK, VERHANDELBAARHEID, OMSTANDIGHEID OF ENIG ANDER DOEL.

In geen geval aanvaardt MACHEREY-NAGEL aansprakelijkheid voor claims van enige andere schade, hetzij direct of indirect, incidenteel, als vergoeding, voorzienbaar, als gevolg of speciaal (inclusief maar niet beperkt tot derving van gebruik, opbrengst of winst), noch op basis van garantie, contract, onrechtmatigheid (inclusief achteloosheid) of strikte aansprakelijkheid die voortvloeit uit de verkoop of het falen van MACHEREY-NAGEL-producten in prestaties conform de beschreven specificaties. Deze garantie is exclusief en MACHEREY-NAGEL geeft geen andere garantie, expliciet noch impliciet.

De garantie die hier wordt geboden en de gegevens, specificaties en beschrijvingen van dit product van MACHEREY-NAGEL die worden gegeven in catalogi en productbeschrijvingen van MACHEREY-NAGEL zijn de enige representaties van MACHEREY-NAGEL ten aanzien van het

product en de garantie. Geen andere verklaringen of representaties, hetzij in schrift of mondeling, door medewerkers, agenten of vertegenwoordigers van MACHEREY-NAGEL, met uitzondering van schriftelijke verklaringen die zijn ondertekend door een geautoriseerde leidinggevende van MACHEREY-NAGEL, hebben enige autoriteit; hierop mag niet worden vertrouwd door de klant en ze maken geen deel uit van het verkoopcontract of van deze garantie.

Productbeschrijvingen zijn aan verandering onderhevig. Neem daarom contact op met ons technischeserviceteam voor de meest recente informatie over producten van MACHEREY-NAGEL. U kunt ook contact opnemen met uw plaatselijke distributeur voor algemene wetenschappelijke informatie. Toepassingen die in geschriften van MACHEREY-NAGEL worden genoemd, worden uitsluitend ter informatie vermeld. MACHEREY-NAGEL garandeert niet dat alle toepassingen zijn getest in laboratoria van MACHEREY-NAGEL met producten van MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL garandeert niet dat dergelijke toepassingen correct zijn.

Laatst bijgewerkt: April 2022 / Rev. 05

Reden voor revisie:

Toevoeging van analytische en klinische prestaties aan paragraaf 2.5. Verwijzing naar nieuwe talen voor de gebruikershandleiding (paragraaf 1.3).

Handelsmerken:

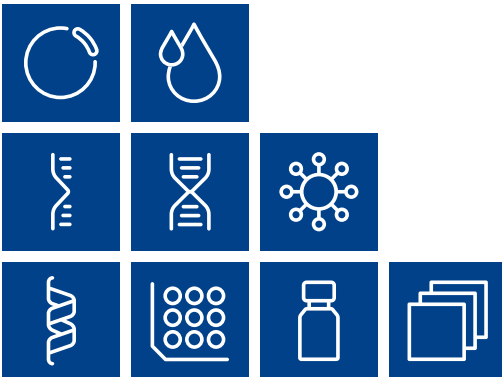
BD VACUETTE is een handelsmerk van BD

NucleoSpin® is een handelsmerk van MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG

S-Monovette is een gedeponeerd handelsmerk van Sarstedt

Vacurette is een handelsmerk van GREINER BIO-ONE

Alle gebruikte namen en vermeldingen kunnen merken, handelsmerken of gedeponeerde labels zijn van de respectieve eigenaren, ook als dit niet specifiek wordt vermeld. Producten en merken worden uitsluitend vermeld ter informatie (d.w.z. de vermelding is geen aantasting van handelsmerken en merken en mag niet worden beschouwd als een aanbeveling of beoordeling). Voor deze producten of diensten kunnen wij geen garanties geven ten aanzien van keuze, efficiëntie of werking.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

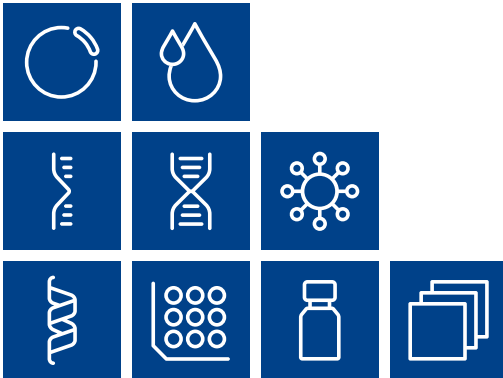
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennner Str. 11
52355 Düren · Germany

DE	Tel.: +49 24 21 969-0	info@mn-net.com
CH	Tel.: +41 62 388 55 00	sales-ch@mn-net.com
FR	Tel.: +33 388 68 22 68	sales-fr@mn-net.com
US	Tel.: +1 888 321 62 24	sales-us@mn-net.com