

Bruksanvisning för QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Prestandaegenskaper)

Version 3



För in vitro-diagnostisk användning
För användning med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Prestandaegenskaperna finns tillgängliga elektroniskt och hittas under resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Allmän introduktion

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit använder sig av kiselmembransteknik (QIAamp-teknik) för isolering och rening av genomiskt DNA från biologiska prover.

Procedurerna för QIAamp DSP DNA Blood Mini, som är avsedda för simultan bearbetning av flera blodprov, ger bruksfärdigt renat DNA. Procedurerna lämpar sig för användning med färskt eller fryst helblod och blod som har behandlats med citrat eller EDTA.

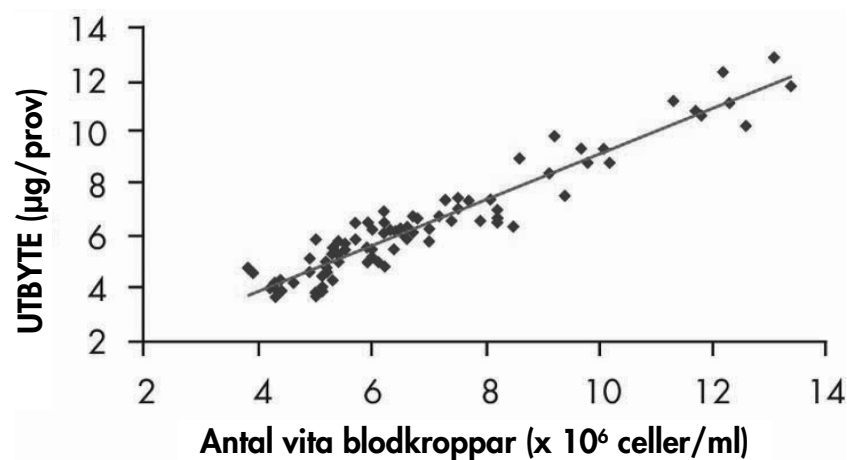
De enkla QIAamp DSP-spinn- och vakuumprocedurerna passar för simultan bearbetning av flera prover. Vissa av QIAamp-spinnprocedurerna kan automatiseras helt i QIAcube® Connect MDx för ökad standardisering och användarvänlighet. QIAcube Connect MDx utför automatiserad isolering och rening av nukleinsyror. Den kan bearbeta upp till 12 prover i varje körning.

Prestandaegenskaper

Obs! Prestandaegenskaperna är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Prestandaegenskaperna har fastställts för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i samband med exempel på nedströmsapplikationer. Metoder för isolering av nukleinsyror från biologiska prover används dock som ett första steg för flera nedströmsapplikationer och prestandaegenskaper som korskontaminering eller körningsprecision behöver fastställas för alla sådana arbetsflöden som en del av utvecklingen av nedströmsapplikationen. Därmed är det användarens ansvar att validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga prestandaparametrar.

Grundläggande prestanda och kompatibilitet med olika nedströmsapplikationer

Grundläggande prestanda för QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren har fastställts för blod från friska donatorer med antal vita blodkroppar $3,8 \times 10^6$ till $1,34 \times 10^7$ celler/ml (se Figur 1).



Figur 1. Observerat utbyte med vakuumpceduren i QIAamp DSP DNA Blood Mini med 200 µl elueringsvolym. Antalet vita blodkroppar hos friska givare bestämdes och låg inom intervallet $3,8 \times 10^6$ till $1,34 \times 10^7$ celler/ml. DNA renades från blodproven med vakuumpceduren för QIAamp DSP DNA Blood Mini med 200 µl elueringsvolym. Åttiosju triplikatprov bearbetades.

Mängden DNA som renats i QIAamp DSP DNA Blood Mini-proceduren beror på innehållet av vita blodkroppar i varje blodprov. Med spin- eller vakuumpceduren renas genomiskt DNA från 200 µl blodprov från friska givare. Flera olika primärrör och antikoagulanter kan användas för att ta blodprov för QIAamp DSP DNA Blood Mini-proceduren (tabell 1).

Tabell 1. Genomsnittligt relativt utbyte av DNA från blodprov tagna med olika primärrör och antikoagulanter

Primärrör	Tillverkare	Kat. nr	Nominell volym	Genomsnittligt utbyte*
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

Genomiskt DNA renades från 200 µl blodprov från friska givare (4,0 till 9,0 x 10⁶ celler/ ml).

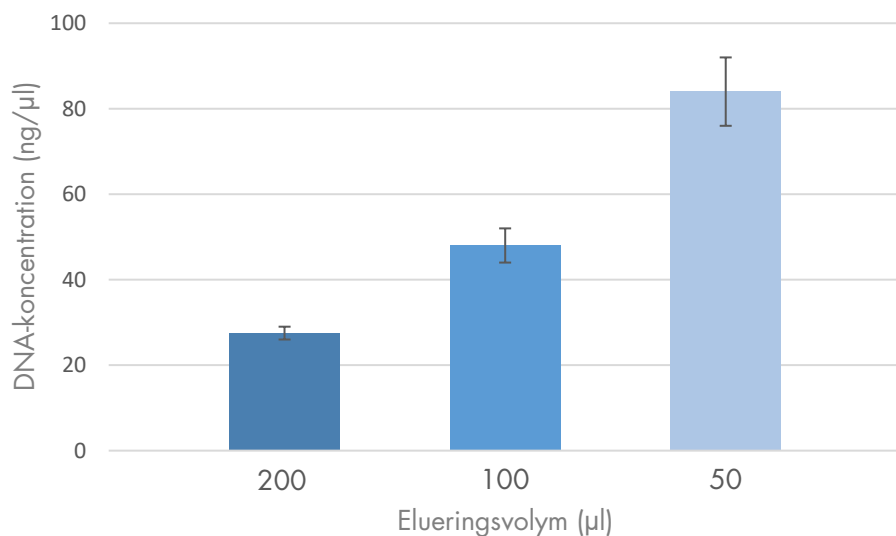
* För varje primärrör bestäms genomsnittligt utbyte från 11 triplikatprov.

Eluerat genomiskt DNA är redo för användning i olika nedströms analyser.

Provinmatnings-/eluatutmatningsintervall och DNA-renhet

Olika elueringsvolymerna kan väljas för isolering av genomiskt DNA från 200 µl helblod. För den manuella proceduren sträcker sig elueringsvolymerna från 50 till 200 µl. För det helt automatiska centrifugeringsarbetsflödet är 100 och 200 µl möjliga elueringsvolymerna och för det delvis automatiska centrifugeringsarbetsflödet (efter manuell lysning) är 100–200 µl (i 10 µl inkrement) möjliga elueringsvolymerna. Eluering i mindre volymer ökar den slutliga DNA-koncentrationen i eluatet men minskar något det övergripande DNA-utbytet. Vi rekommenderar att du använder en elueringsvolym som är lämplig för den avsedda nedströmstillämpningen.

Effekten av olika elueringsvolymerna på övergripande DNA-koncentration har bedömts. Figur 2 visar en ökning i DNA-koncentration i eluaten vid minskning av elueringsvolym.



Figur 2. Erhållen DNA-koncentration efter DNA-isolering från helblod med hjälp av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit med olika elueringsvolymerna. Varje stapel i grafen representerar resultat från 32 replikat (medelvärde ± standardavvikelse).

Som indikator för DNA-renhet mättes dessutom absorbansen vid 260 och 280 nm för de olika testade elueringsvolymerna. Ingen skillnad observerades mellan elueringsvolymerna och den genomsnittliga kvoten indikerade låg proteinkontaminering.

Precision

Variationskoefficienter (Coefficients of Variations, CV:er) fastställdes för automatisk extraktion av humant genomiskt DNA från helblod med hjälp av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit på QIAcube Connect MDx. Totalt DNA-utbyte fastställdes med OD-mätning.

Repetierbarhet (variationer intra-körning vid en reningskörning) och mellanliggande precision (variation inter-körning mellan olika reningskörningar med olika operatörer på olika instrument och vid olika dagar) fastställdes. Precisionsdata visas i Tabell 2.

Tabell 2. Analys av precisionsestimat

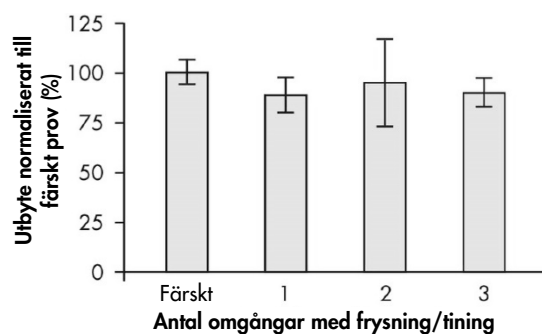
Precision	CV (%)
Variationer inom laboratoriet	1,65
Repetierbarhet	6,09
Total precision	6,24

För den manuella vakuumpceduren fastställdes och bedömdes genomsnittligt utbyte och CV för att utvärdera mellanliggande precision, repetierbarhet och reproducerbarhet. Dessutom analyserades DNA-integritet och prestanda med en real-time PCR-analys internt.

Provstabilitet

Obs! Provstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har utvärderas med exempelapplikationer nedströms. Det är användarens ansvar att se bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i laboratoriet och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera lämpliga förvaringsförhållanden.

Effekterna av nedfrysning och upptining på EDTA-behandlade blodprover på DNA-rening med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit har fastställts. Ingen markant minskning av utbyte (se Figur 3) eller prestanda i nedströmsanalyser observerades.



Figur 3. Effekter av frysning och tining av blodprover. EDTA-behandlat blod frystes och tinades upp till tre gånger, för att sedan undergå DNA-rening med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Det beräknade DNA-utbytet är normaliserat till utbytet av färskt prov (100 %). Varje stapel i grafen representerar resultat från 32 replikat (medelvärde \pm standardavvikelse).

Eluatstabilitet

Obs! Eluatstabiliteten är väldigt beroende av olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har utvärderats för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i samband med exempel på nedströmsapplikationer. Det är användarens ansvar att se bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i laboratoriet och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera lämpliga förvaringsförhållanden.

Eluatstabiliteten för QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utvärderades efter extraktion av nukleinsyror från humant blod med hjälp av spektrofotometri och en intern real-time PCR-analys. Eluerat DNA kan förvaras i 2–8 °C i upp till 4 veckor. För långtidsförvaring rekommenderar vi förvaring vid -20 °C.

Interfererande ämnen

Olika potentiellt interfererande exogena och endogena ämnen som förekommer i helblod från patienter spetsades till blodprover för att testa deras inverkan på exempelanalyser nedströms efter gDNA-isolering med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Vanliga relevanta potentiellt interfererande ämnen för hemolys (humant hemoglobin), lipemi (triglycerider) och gulsot (okonjugerat bilirubin) bedömdes. Dessutom bedömdes den interfererande effekten av tre gånger högre koncentration av antikoagulant K2-EDTA, K3-EDTA och Na2-EDTA än vad som redan fanns i provtagningsröret. Ingen betydande negativ inverkan observerades för dessa potentiella interferenter och för ungefär 20 andra potentiella interferenter såsom läkemedel som vanligtvis används för till exempel cancerbehandling och därmed sannolikt kan påträffas i patientprover.

Obs! Testningen utfördes med exempelapplikationer nedströms för en bedömning av kvaliteten på extraherade nukleinsyror. Olika nedströmsapplikationer kan dock ha olika krav med avseende på renhet (t.ex. frånvaro eller koncentration av potentiellt interfererande ämnen) så identifiering och testning av relevanta ämnen behöver också göras till en del av utvecklingen av nedströmsapplikationer för alla arbetsflöden som involverar QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Potentiella interfererande ämnen (t.ex. läkemedel) och motsvarande koncentration är väldigt specifikt för nedströmsapplikationen och eventuella tidigare medicinska behandlingar en patient genomgått och behöver utredas vid verifiering av sådana nedströmsapplikationer med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Obs! Enligt ISO 20186-2:2019(E) kan heparin från blodprovtagingsrör påverka de isolerade nukleinsyrornas renhet och möjlig överföring (carryover) till eluat kan orsaka inhiberingar i vissa nedströmsapplikationer. Därför rekommenderar vi användning av blodprover som behandlats med EDTA eller citrat som antikoagulant vid plasmaberedning.

Korskontaminering

Risken för korskontaminering för den automatiska reningen av nukleinsyror på QIAcube Connect MDx analyserades med hjälp av 12 provkörningar med alternativa schackrutebatcher (alternerande positiva och negativa prover) med ett QIAamp-exemplarbetsflöde (QIAamp DSP Virus Spin tillsammans med plasma- och serumprover med $1,00E+07$ kopior/ml av ett DNA-virus). En potentiell kontaminering av de negativa proverna under extraktionskörningar utvärderades genom efterföljande analys av eluaten med hjälp av intern real-time PCR-analys. Ingen korskontaminering detekterades för överföring (carryover) prov till prov eller körning till körning.

Symboler

Följande symboler förekommer i detta dokument. Se handboken för en fullständig lista med de symboler som används i bruksanvisningen eller på förpackningar och etiketter.

Symbol	Symbolförklaring
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Tillverkare

Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 3, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Uppdatering till version 3 för efterlevnad med IVDR• Överföring och uppdatering av prestandaegenskaper från satshandboken till det här dokumentet:<ul style="list-style-type: none">○ Överföring av avsnitten Utbyte av renat DNA och Prestanda i nedströmsanalyser till avsnittet Grundläggande prestanda och kompatibilitet med olika nedströmsapplikationer○ Tillägg av avsnittet Provinmatnings-/eluatutmatningsintervall och DNA-renhet○ Tillägg av Precisionsavsnitt○ Uppdatering av Eluatstabilitetsavsnitt○ Tillägg av Provstabilitetsavsnitt○ Tillägg av Interfererande ämnen-avsnitt○ Tillägg av Korskontamineringsavsnitt○ Tillägg av Symboler-avsnitt○ Tillägg av Revisionshistorik-avsnitt

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller användarmanual för QIAGEN-satsen. Handböcker och användarmanualer till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH);. Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

