

Brugsanvisning til QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (ydelseskarakteristika)

Version 3



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Ydelseskarakteristika er tilgængelige i digital form og kan findes på fanen Resource på siden Product på www.qiagen.com.

Generel introduktion

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit anvender silicamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af genomisk DNA fra biologiske prøver.

QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedureerne, som er beregnet til samtidig behandling af multiple blodprøver, resulterer i oprenset DNA klar til brug. Procedureerne er egnede til anvendelse med frisk eller frossent helblod og blod, som er blevet behandlet med citrat eller EDTA.

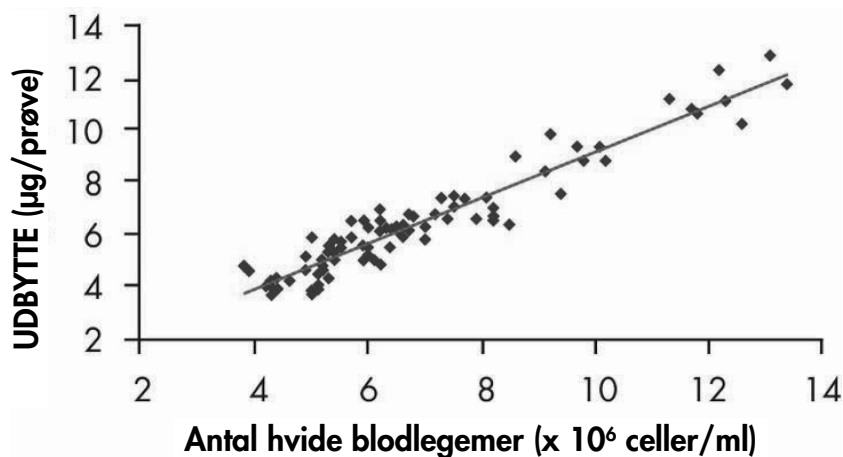
De enkle QIAamp DSP centrifugerings- og vacuumprocedurer er egnede til samtidig behandling af multiple prøver. Nogle af QIAamp-centrifugeringsprocedurerne kan fuldautomatiseres med QIAcube® Connect MDx for øget standardisering og nemmere anvendelse. QIAcube Connect MDx udfører automatisk isolering og oprensning af nukleinsyrer. Det kan behandle op til 12 prøver pr. kørsel.

Ydelseskarakteristika

Bemærk: Ydelseskarakteristika afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Ydelseskarakteristika er blevet fastlagt for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Metoder til isolering af nukleinsyrer fra biologiske prøver bruges dog som front-end for flere efterfølgende anvendelser og ydelsesparametre såsom krydskontaminering eller og kørselspræcision skal etableres for enhver sådan arbejdsgang som en del af udviklingen af den efterfølgende anvendelse. Derfor er det brugerens ansvar at validere hele arbejdsgangen for at etablere passende ydelsesparametre.

Grundlæggende ydelse og kompatibilitet med efterfølgende anvendelser

Grundydelsen af QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren er blevet bestemt for blod fra raske donorer med et antal hvide blodlegemer på $3,8 \times 10^6$ til $1,34 \times 10^7$ celler/ml (se figur 1).



Figur 1. Observeret udbytte ved brug af QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren med 200 µl elueringsmængde. Antal hvide blodlegemer fra raske donorer blev bestemt og lå i intervallet $3,8 \times 10^6$ til $1,34 \times 10^7$ celler/ml. DNA blev oprenset fra blodprøverne vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumpceduren med 200 µl elueringsmængde. 87 prøver blev behandlet med trippelbestemmelser.

Mængden af DNA oprenset i QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurerne afhænger af indholdet af hvide blodlegemer i hver blodprøve. Vha. centrifugerings- eller vakuumpceduren oprenses genomisk DNA fra 200 µl blodprøver fra raske donorer. Adskillige forskellige primære rør og antikoagulanter kan anvendes til indhentning af blodprøver til QIAamp DSP DNA Blood Mini-procedurer (tabel 1).

Tabel 1. Gennemsnitligt, relativt udbytte af DNA fra blodprøver indhentet vha. forskellige primære rør og antikoagulanter

Primært rør	Producent	Kat.-nr.	Nominelt volumen	Gennemsnitlig resultat*
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

Genomisk DNA blev opnået fra 200 µl-blodprøver fra raske donorer (4,0 til 9,0 x 10⁶ celler/ml).

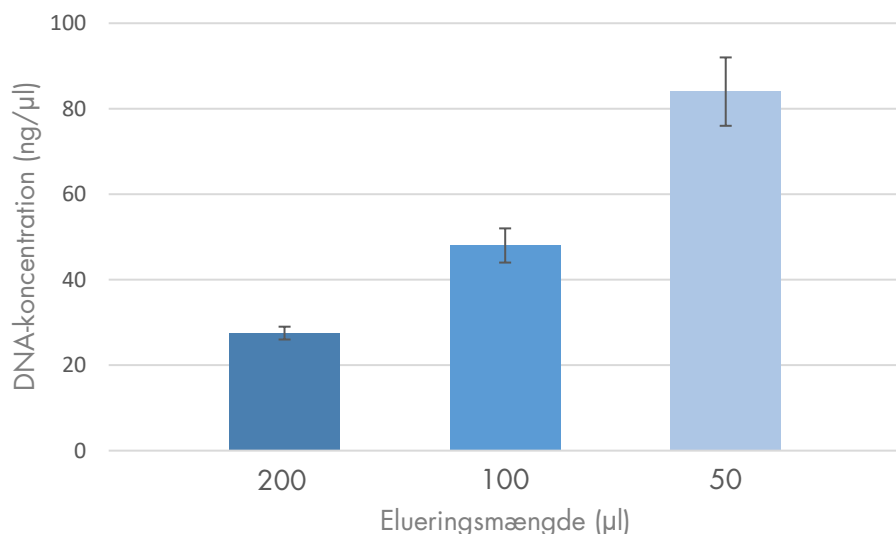
* For hvert primært rør bestemmes det gennemsnitlige udbytte fra 11 prøver med trippelbestemmelser.

Elueret genomisk DNA er klar til brug i forskellige efterfølgende analyser.

Område for prøveinput/eluat-output og DNA-renhed

Der kan vælges forskellige elueringsmængder til genomisk DNA-isolering fra 200 µl helblod. For den manuelle procedure ligger elueringsmængderne fra 50 til 200 µl. For den fuldautomatiske centrifugeringsarbejdsgang er 100 og 200 µl de mulige elueringsmængder, og for den delvist automatiserede centrifugeringsarbejdsgang (efter manuel lyse) er 100-200 µl (i intervaller på 10 µl) de mulige elueringsmængder. Elution i mindre mængder øger den endelige DNA-koncentration i eluatet, men reducerer det samlede DNA-udbytte en smule. Vi anbefaler at anvende en elueringsmængde, der er passende for den tilsigtede senere anvendelse.

Effekten af forskellige elueringsmængder på den samlede DNA-koncentration er blevet vurderet. Figur 2 viser en stigning i DNA-koncentrationen i eluaterne, når elueringsmængden reduceres.



Figur 2. DNA-koncentration opnået efter DNA-isolering fra helblod ved hjælp af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit med forskellige elueringsmængder. Hver søjle på diagrammet repræsenterer resultaterne fra 32 replikater (middel ± standardafvigelse).

Som en indikator for DNA-renhed blev forholdet mellem absorbans ved 260 og 280 nm desuden målt for de forskellige testede elueringsmængder. Der blev ikke observeret nogen forskel mellem forskellige elueringsmængder, og generelt indikerede det gennemsnitlige forhold lav proteinkontamination.

Præcision

Variationskoefficienter (Coefficients of Variations, CV'er) blev bestemt for den automatiserede ekstraktion af humant genomisk DNA fra helblod ved hjælp af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit på QIAcube Connect MDx. Samlet DNA-udbytte blev bestemt vha. OD-måling.

Repeterbarhed (variabilitet inden for samme kørsel i en oprensingskørsel) og laboratorienøjagtighed (variabilitet mellem kørsler på flere forskellige oprensingskørsler med forskellige brugere, på forskellige instrumenter og på forskellige dage) blev bestemt. Præcisionsdataene vises i tabel 2.

Tabel 2. Analyse af præcisionskøn

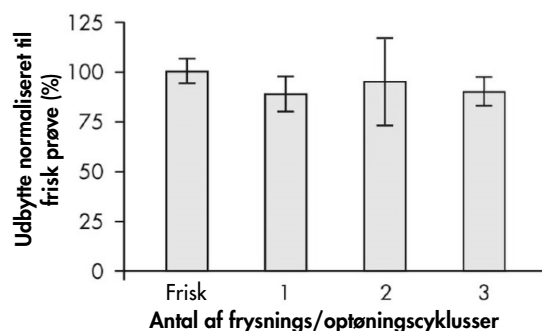
Præcision	CV (%)
Laboratorienøjagtighed	1,65
Repeterbarhed	6,09
Samlet præcision	6,24

For den manuelle vakuumprocedure blev middeludbytter og CV'er bestemt og evalueret for at vurdere laboratorienøjagtighed, repeterbarhed og reproducerbarhed. Derudover blev DNA-integritet og ydeevne i en intern real-time PCR-analyse analyseret.

Prøvestabilitet

Bemærk: Prøvestabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet evalueret i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Virkningerne af at fryse og optø EDTA-behandlede blodprøver på DNA-oprensningen vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit er blevet bestemt. I efterfølgende analyser blev der ikke observeret nogen betydelig reduktion i udbytte (se figur 3) eller ydelse.



Figur 3. Virkning af frykning og optøning af blodprøver. EDTA-behandlet blod blev frosset og optøet op til 3 gange og dernæst udsat for DNA-oprensning vha. QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De beregnede DNA-udbytter normaliseres til resultaterne fra friske prøver (100 %). Hver søjle på diagrammet repræsenterer resultaterne fra 32 replikater (middel ± standardafvigelse).

Eluatstabilitet

Bemærk: Eluatets stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet evalueret for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

Eluatstabilitet for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit blev evalueret efter ekstraktion af nukleinsyre fra humant blod med spektrofotometri og en intern real-time PCR-analyse. Eluaret DNA kan opbevares ved 2-8 °C i op til 4 uger. Ved langtidsopbevaring anbefaler vi opbevaring ved -20 °C.

Interfererende stoffer

Forskellige potentielle eksogene og endogene interfererende stoffer, der er til stede i patientens helblod, blev tilsat i blodprøver for at teste deres indvirkning på typiske efterfølgende analyser efter gDNA-isolering med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Fælles relevante potentielle interfererende stoffer for hæmolyse (humant hæmoglobin), lipæmi (triglycerider) og gulsot (bilirubin ukonjugeret) blev evalueret. Desuden blev den interfererende virkning af tre gange højere antikoagulans K2-EDTA-, K3-EDTA -og Na2-EDTA koncentrationer, end der allerede var til stede i prøvetagningsrøret, vurderet. Der blev ikke observeret nogen betydelig negativ indvirkning for disse potentielle interfererende stoffer og for ca. 20 yderligere potentielle interfererende stoffer, såsom lægemidler, der typisk anvendes til eksempelvis kræftbehandling, og derfor sandsynligvis vil blive fundet i patientprøver.

Bemærk: Testning blev udført under anvendelse af typiske efterfølgende anvendelser med henblik på en vurdering af kvaliteten af de ekstraherede nukleinsyrer. Forskellige efterfølgende anvendelser kan dog have forskellige krav med hensyn til renhed (dvs. fravær eller koncentration af potentielle interfererende stoffer), så identifikation og testning af relevante stoffer og respektiv koncentration skal også etableres som en del af udviklingen af den efterfølgende anvendelse for enhver arbejdsgang, der involverer QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Eventuelle potentielt interfererende stoffer (f.eks. lægemidler) og tilsvarende koncentration er meget specifik for den efterfølgende anvendelse og mulige tidligere medicinske behandlinger af en patient og skal undersøges under verifikation af sådan efterfølgende anvendelse ved hjælp af QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Bemærk: Ifølge ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetagningsrør påvirke renheden af de isolerede nukleinsyrer, og eventuel overførsel til eluater kan forårsage hæmninger i nogle efterfølgende anvendelser. Derfor anbefaler vi brug af blodprøver, der er behandlet med EDTA eller citrat som antikoagulant til klargøring af plasma.

Krydskontaminering

Risikoen for krydskontaminering for den automatiserede oprensning af nukleinsyre på QIAcube Connect MDx blev analyseret ved at udføre fem 12-prøvekørsler med skiftende batches i skakbrætmønster (skiftevis positive og negative prøver) ved brug af en typisk QIAamp-arbejdsgang (QIAamp DSP Virus Spin sammen med plasma og serumprøver på 1,00E+07 kopier/ml af et DNA-virus). En potentiel kontaminering af de negative prøver under ekstraktionskørslerne blev evalueret ved efterfølgende analyse af eluaterne ved anvendelse af en intern real-time PCR-analyse. Der blev ikke detekteret nogen krydskontaminering for overførsel fra prøve til prøve eller kørsel til kørsel.

Symboler

De følgende symboler forekommer i dette dokument. For en komplet liste over symboler, der bruges i brugsanvisningen eller på emballagen og mærkningen, henvises til håndbogen.

Symbol	Symboldefinition
	Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Katalognummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret
	Producent

Revisionshistorik

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	<p>Version 3, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Opdatering til version 3 for overholdelse af IVDR• Overførsel og opdatering af ydelseskarakteristika fra kithåndbogen til dette dokument:<ul style="list-style-type: none">○ Overførsel af afsnittet Udbytte af oprenset DNA og afsnittet Ydelse i efterfølgende anvendelser under Grundlæggende ydelse og kompatibilitet til afsnittet Forskellige efterfølgende anvendelser○ Tilføjelse af afsnittet Område for prøveinput/eluat-output og DNA-renhed○ Tilføjelse af afsnittet Præcision○ Opdatering af afsnittet Eluatstabilitet○ Tilføjelse af afsnittet Prøvestabilitet○ Tilføjelse af afsnittet Interfererende stoffer○ Tilføjelse af afsnittet Krydskontaminering○ Tilføjelse af afsnittet Symboler○ Tilføjelse af afsnittet Revisionshistorik

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugsvejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugsvejledninger til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Varemærker: 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);. Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

