



Tháng 6 năm 2022

Hướng dẫn Sử dụng QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Đặc tính Hiệu suất)

Phiên bản 3

IVD

Dùng cho Mục đích Sử dụng Chẩn đoán trong Ống nghiệm
Để sử dụng với QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



REF

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Đức

R1

Đặc tính Hiệu suất có sẵn dưới dạng điện tử và có thể được tìm thấy trong thẻ tài nguyên của trang sản phẩm trên www.qiagen.com.

Giới thiệu chung

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sử dụng công nghệ màng silica (công nghệ QIAamp) để phân lập và lọc DNA bộ gen từ các bệnh phẩm sinh học.

Các quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini, được thiết kế để xử lý đồng thời nhiều mẫu máu, thu về DNA đã lọc sẵn sàng sử dụng. Quy trình này phù hợp để sử dụng với máu toàn phần tươi hoặc đông lạnh và máu đã được xử lý bằng citrate hoặc EDTA.

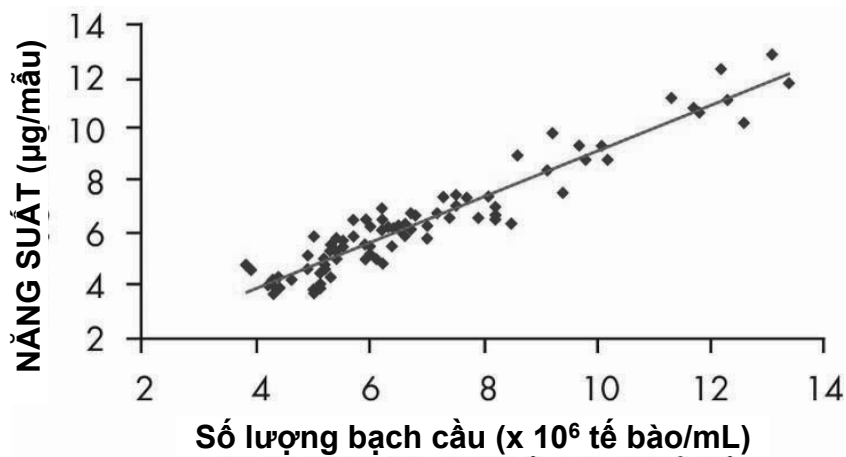
Quy trình quay và hút chân không QIAamp DSP là quy trình đơn giản, phù hợp để xử lý đồng thời nhiều mẫu. Một số quy trình quay QIAamp có thể chạy hoàn toàn tự động trên QIAcube® Connect MDx để tăng mức độ chuẩn hóa và để sử dụng. QIAcube Connect MDx thực hiện việc phân lập và lọc tự động các axit nucleic. Thiết bị có thể xử lý tối đa 12 mẫu mỗi lần chạy.

Đặc tính Hiệu suất

Lưu ý: Đặc tính Hiệu suất phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau và liên quan đến ứng dụng xuôi dòng cụ thể. Các đặc tính hiệu suất đã được thiết lập cho QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kết hợp với các ứng dụng xuôi dòng mẫu. Tuy nhiên, các phương pháp phân lập axit nucleic từ bệnh phẩm sinh học được sử dụng như một phương pháp phụ trợ cho nhiều ứng dụng xuôi dòng và các thông số hiệu suất như nhiễm bẩn chéo hoặc độ chụm lần chạy cần phải được thiết lập cho bất kỳ quy trình làm việc nào như một phần của quá trình phát triển ứng dụng xuôi dòng. Do đó, người dùng có trách nhiệm xác nhận toàn bộ quy trình làm việc để thiết lập các thông số hiệu suất phù hợp.

Hiệu suất cơ bản và khả năng tương thích với các ứng dụng xuôi dòng khác nhau

Hiệu suất cơ bản của quy trình hút chân không của QIAamp DSP DNA Blood Mini đã được xác định cho máu từ những người hiến khỏe mạnh có số lượng bạch cầu là $3,8 \times 10^6$ đến $1,34 \times 10^7$ tế bào/mL (xem Hình 1).



Hình 1. Năng suất DNA quan sát được sử dụng quy trình hút chân không QIAamp DSP DNA Blood Mini với thể tích rửa giải 200 µL. Số lượng bạch cầu của những người hiến khỏe mạnh được xác định và nằm trong khoảng $3,8 \times 10^6$ đến $1,34 \times 10^7$ tế bào/mL. DNA được lọc từ các mẫu máu sử dụng quy trình hút chân không QIAamp DSP DNA Blood Mini với thể tích rửa giải 200 µL. Tám mươi bảy mẫu gồm ba bản sao đã được xử lý.

Lượng DNA được lọc trong quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini phụ thuộc vào hàm lượng bạch cầu của mỗi mẫu máu. Sử dụng quy trình quay hoặc hút chân không, DNA bộ gen được lọc từ 200 µL mẫu máu từ những người hiến khỏe mạnh. Nhiều ống chính và chất chống đông máu khác nhau có thể được sử dụng để thu thập mẫu máu cho các quy trình của QIAamp DSP DNA Blood Mini (Bảng 1).

Bảng 1. Năng suất tương đối trung bình của DNA từ các mẫu máu được thu thập bằng cách sử dụng các ống chính và chất chống đông máu khác nhau

Ống chính	Nhà sản xuất	Số danh mục	Thể tích danh nghĩa	Năng suất trung bình*
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

DNA bộ gen được lọc từ 200 µL mẫu máu của những người hiến khỏe mạnh (4,0 đến 9,0 x 10⁶ tế bào/mL).

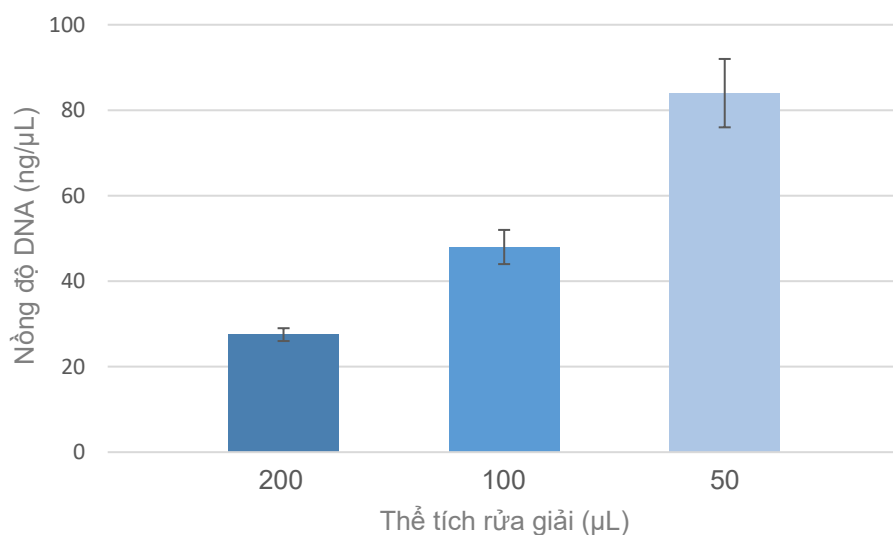
* Đối với mỗi ống chính, năng suất trung bình được xác định từ 11 mẫu gồm ba bản sao.

DNA bộ gen được rửa giải sẵn sàng để sử dụng trong các xét nghiệm xuôi dòng khác nhau.

Phạm vi và độ tinh khiết của DNA đầu vào mẫu/đầu ra dịch rửa giải

Có thể chọn các thể tích rửa giải khác nhau để phân lập DNA bộ gen từ 200 µL máu toàn phần. Đối với quy trình thủ công, thể tích rửa giải nằm trong khoảng từ 50 đến 200 µL. Đối với quy trình quay hoàn toàn tự động, thể tích rửa giải có thể có là 100 và 200 µL và đối với quy trình quay tự động một phần (sau khi ly giải thủ công), thể tích rửa giải có thể có là 100–200 µL (với số gia 10 µL). Rửa giải với thể tích nhỏ hơn làm tăng nồng độ DNA cuối cùng trong dịch rửa giải nhưng làm giảm năng suất DNA tổng thể một chút. Chúng tôi khuyến nghị sử dụng thể tích rửa giải thích hợp cho ứng dụng xuôi dòng dự kiến.

Ảnh hưởng của các thể tích rửa giải khác nhau đến nồng độ DNA tổng thể đã được đánh giá. Hình 2 cho thấy nồng độ DNA trong dịch rửa giải tăng khi thể tích rửa giải giảm.



Hình 2. Nồng độ DNA thu được sau khi phân lập DNA từ máu toàn phần bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit với các thể tích rửa giải khác nhau. Mỗi thanh trên biểu đồ đại diện cho kết quả từ 32 lần lặp lại (trung bình ± độ lệch chuẩn).

Ngoài ra, như một chỉ báo cho độ tinh khiết của DNA, tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở 260 và 280 nm được đo đối với các thể tích rửa giải được xét nghiệm khác nhau. Không quan sát thấy sự khác biệt nào giữa các thể tích rửa giải khác nhau và tỷ lệ trung bình tổng thể cho thấy độ nhiễm protein thấp.

Độ chụm

Hệ số biến thiên (Coefficients of Variations, CV) được xác định để tách chiết tự động DNA bộ gen người từ máu toàn phần bằng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit trên QIAcube Connect MDx. Tổng năng suất DNA được xác định bằng phép đo OD.

Xác định được độ lặp lại (độ biến thiên trong quá trình chạy trong một lần chạy lọc) và độ chụm trung gian (độ chụm giữa các lần chạy qua các lần chạy lọc khác nhau với những người vận hành khác nhau, trên các dụng cụ khác nhau và vào các ngày khác nhau). Dữ liệu độ chụm được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Phân tích các ước tính độ chụm

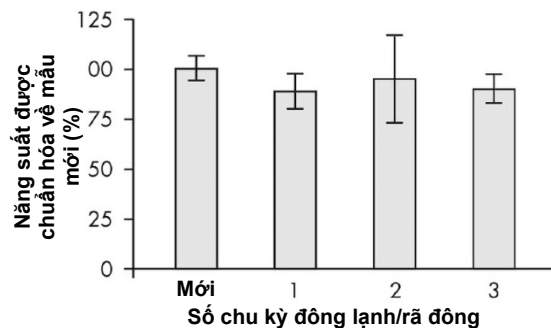
Độ chụm	CV (%)
Độ chụm trung gian	1,65
Khả năng lặp lại	6,09
Tổng độ chụm	6,24

Đối với quy trình hút chân không thủ công, năng suất trung bình và CV được xác định và đánh giá để đánh giá độ chụm trung gian, độ lặp lại và độ tái lập. Ngoài ra, tính toàn vẹn và hiệu suất của DNA trong xét nghiệm real-time PCR nội bộ cũng được phân tích.

Độ ổn định mẫu

Lưu ý: Độ ổn định mẫu phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau và liên quan đến ứng dụng xuôi dòng cụ thể. Độ ổn định mẫu đã được đánh giá với các ứng dụng xuôi dòng mẫu. Người dùng có trách nhiệm tham khảo hướng dẫn sử dụng của ứng dụng xuôi dòng cụ thể được sử dụng trong phòng thí nghiệm của họ và/hoặc xác nhận toàn bộ quy trình làm việc để thiết lập các điều kiện bảo quản thích hợp.

Ảnh hưởng của việc đông lạnh và rã đông đối với mẫu máu được xử lý EDTA trong quá trình lọc DNA bằng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit đã được xác định. Không quan sát thấy sự sụt giảm đáng kể năng suất (xem Hình 3) hoặc hiệu suất trong các xét nghiệm xuôi dòng.



Hình 3. Ảnh hưởng của việc đông lạnh và rã đông mẫu máu. Máu đã qua xử lý bằng EDTA được đông lạnh và rã đông tối đa 3 lần, sau đó được lọc DNA bằng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Năng suất DNA đã tính được chuẩn hóa về năng suất từ mẫu mới (100%). Mỗi thanh trên biểu đồ đại diện cho kết quả từ 32 lần lặp lại (trung bình ± độ lệch chuẩn).

Độ ổn định của dịch rửa giải

Lưu ý: Độ ổn định của dịch rửa giải phụ thuộc nhiều vào các yếu tố khác nhau và liên quan đến ứng dụng xuôi dòng cụ thể. Độ ổn định của dịch rửa giải đã được đánh giá cho QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit kết hợp với các ứng dụng xuôi dòng mẫu. Người dùng có trách nhiệm tham khảo hướng dẫn sử dụng của ứng dụng xuôi dòng cụ thể được sử dụng trong phòng thí nghiệm của họ và/hoặc xác nhận toàn bộ quy trình làm việc để thiết lập các điều kiện bảo quản thích hợp.

Độ ổn định của dịch rửa giải cho QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit được đánh giá sau khi tách chiết axit nucleic từ máu người bằng phép đo quang phổ và xét nghiệm real-time PCR nội bộ. DNA đã rửa giải có thể được bảo quản ở nhiệt độ 2–8 °C trong tối đa 4 tuần. Để bảo quản trong thời gian dài, chúng tôi khuyên bạn nên bảo quản ở –20 °C.

Các chất gây nhiễu

Các chất gây nhiễu nội sinh và ngoại sinh tiềm ẩn khác nhau có trong máu toàn phần của bệnh nhân được đưa vào mẫu máu để xét nghiệm tác động của chúng đối với các xét nghiệm xuôi dòng mẫu sau khi phân lập gDNA với QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Các chất gây nhiễu tiềm ẩn phổ biến có liên quan đến tán huyết (hemoglobin ở người), lipid máu (triglyceride) và vàng da (bilirubin không liên hợp) đã được đánh giá. Bên cạnh đó, tác dụng gây nhiễu của nồng độ K2-EDTA, K3-EDTA và Na2-EDTA chống đông máu cao gấp ba lần so với nồng độ đã có trong ống thu gom đã được đánh giá. Không quan sát thấy tác động tiêu cực đáng kể nào đối với các chất gây nhiễu tiềm ẩn này và đối với khoảng 20 chất gây nhiễu tiềm ẩn bổ sung như các loại thuốc thường được sử dụng để điều trị ung thư, do đó, có khả năng được tìm thấy trong các mẫu của bệnh nhân.

Lưu ý: Xét nghiệm được thực hiện bằng cách sử dụng các ứng dụng xuôi dòng mẫu để đánh giá chất lượng của các axit nucleic được tách chiết. Tuy nhiên, các ứng dụng xuôi dòng khác nhau có thể có các yêu cầu khác nhau về độ tinh khiết (tức là không có hoặc nồng độ các chất gây nhiễu tiềm ẩn), do đó, việc xác định và xét nghiệm các chất liên quan và nồng độ tương ứng cũng cần được thiết lập như một phần của quá trình phát triển ứng dụng xuôi dòng cho bất kỳ quy trình làm việc nào liên quan đến QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Bất kỳ chất gây nhiễu tiềm ẩn nào (ví dụ: ma túy) và nồng độ tương ứng đều đặc hiệu với ứng dụng xuôi dòng và các phương pháp điều trị y tế có thể có trước đó của bệnh nhân và cần được nghiên cứu trong quá trình xác minh ứng dụng xuôi dòng bằng cách sử dụng QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Lưu ý: Theo ISO 20186-2:2019 (E), heparin từ các ống lấy máu có thể ảnh hưởng đến độ tinh khiết của các axit nucleic được phân lập và khả năng chuyển sang dịch rửa giải có thể gây ra ức chế trong một số ứng dụng xuôi dòng. Do đó, chúng tôi khuyên nghị sử dụng các mẫu máu được xử lý bằng EDTA hoặc citrate làm chất chống đông máu để chuẩn bị huyết tương.

Nhiễm bản chéo

Nguy cơ nhiễm bản chéo đối với quá trình tự động lọc axit nucleic trên QIAcube Connect MDx được phân tích bằng cách thực hiện năm lần chạy gồm 12 mẫu với các lô bàn cờ xen kẽ (các mẫu dương tính và âm tính xen kẽ) bằng cách sử dụng quy trình làm việc QIAamp mẫu (QIAamp DSP Virus Spin cùng với các mẫu huyết tương và huyết thanh 1,00E+07 bản sao/mL của vi-rút DNA). Khả năng nhiễm bản của các mẫu âm tính trong các lần chạy tách chiết được đánh giá bằng cách phân tích tiếp theo các dịch rửa giải bằng cách sử dụng xét nghiệm real-time PCR nội bộ. Không phát hiện nhiễm bản chéo khi chuyển sang giữa các mẫu hoặc giữa các lần chạy.

Biểu tượng

Các biểu tượng sau xuất hiện trong tài liệu này. Để biết danh sách đầy đủ các biểu tượng được sử dụng trong hướng dẫn sử dụng hoặc trên bao bì và nhãn mác, vui lòng tham khảo sổ tay.

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
	Sản phẩm này đáp ứng các yêu cầu của Quy định Châu Âu 2017/746 đối với các thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm.
	Thiết bị y tế chẩn đoán trong ống nghiệm
	Số danh mục
Rn	R là lần sửa đổi Hướng dẫn Sử dụng và n là số sửa đổi
	Nhà sản xuất

Lịch sử Sửa đổi

Lần sửa đổi	Mô tả
R1, tháng 6 năm 2022	<p>Phiên bản 3, Lần sửa đổi 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Cập nhật lên phiên bản 3 để tuân thủ IVDR• Chuyển và cập nhật phần đặc tính hiệu suất từ sổ tay bộ dụng cụ sang tài liệu này:<ul style="list-style-type: none">○ Chuyển phần Năng suất DNA đã lọc và phần Hiệu suất trong xét nghiệm xuôi dòng trong phần Hiệu suất cơ bản và khả năng tương thích với các ứng dụng xuôi dòng khác nhau○ Bổ sung phần Phạm vi và độ tinh khiết của DNA đầu vào mẫu/đầu ra dịch rửa giải○ Bổ sung phần Độ chụm○ Cập nhật phần Độ ổn định của dịch rửa giải○ Bổ sung phần Độ ổn định mẫu○ Bổ sung phần Các chất gây nhiễu○ Bổ sung phần Nhiễm bản chéo○ Bổ sung phần Biểu tượng○ Bổ sung phần Lịch sử sửa đổi

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ bỏ trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem sổ tay hoặc hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng. Sổ tay và hướng dẫn sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN có sẵn tại www.qiagen.com hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.

Nhãn hiệu: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube®, Pyrosequencing® (Tập đoàn QIAGEN); BD™, Vacuainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH);. Các tên, nhãn hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ về pháp lý.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, tất cả quyền được bảo lưu.

