



юни 2022 г.

Инструкции за употреба (работни характеристики) на QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit

Версия 3

IVD

За инвитро диагностика
За употреба с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

CE

REF

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Германия

R1

Работните характеристики в електронен формат можете да намерите в раздела с източници на информация на страницата на изделието на уебсайта www.qiagen.com.

Общо представяне

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit използва технология с кварцова мембрана (технология QIAamp) за изолиране и пречистване на геномна ДНК от биологични проби.

Процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit са предвидени за едновременна обработка на множество аликвотни части от кръвни проби и осигуряват готова за употреба пречистена ДНК. Процедурите са подходящи за работа с прясна или замразена цяла кръв и кръв, обработена с цитрат или EDTA.

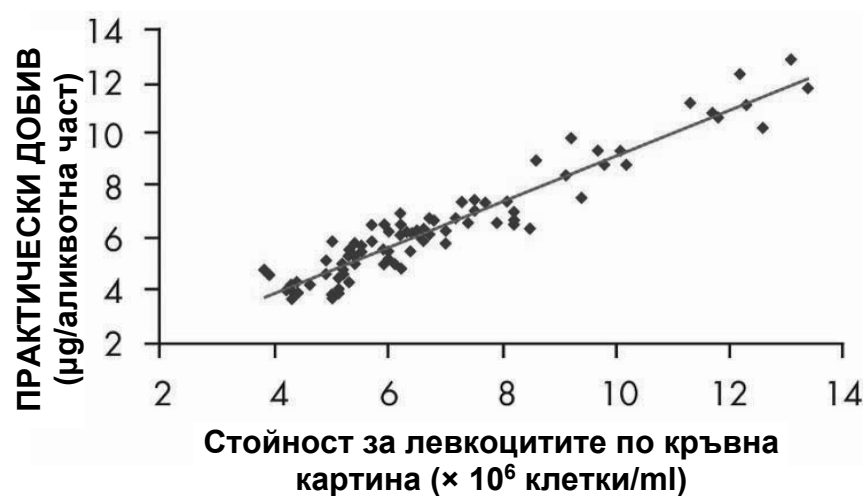
Простите процедури с QIAamp DSP за центрофугиране и изтегляне с вакуум са подходящи за едновременна обработка на повече от една аликвотна част. Някои процедури с QIAamp за центрофугиране може напълно да се автоматизират на QIAcube® Connect MDx за по-добро стандартизиране и улеснение. QIAcube Connect MDx извършва автоматизирано изолиране и пречистване на нуклеинови киселини. Може да се обработват до 12 аликвотни части на една серия.

Работни характеристики

Забележка: Работните характеристики много зависят от различни фактори и конкретното по-нататъшно приложение. Работните характеристики са установени за употреба на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit с примерни по-нататъшни приложения. Въпреки това методи за изолиране на нуклеинови киселини от биологична проба се използват като подготовка за различни по-нататъшни приложения и определени работни характеристики – например кръстосано замърсяване или прецизност вътре в серията – трябва да бъдат установени за всяка такава процедура като част от разработката на по-нататъшното приложение. Затова потребителят носи отговорността да валидира цялата процедура за установяване на необходимите работни характеристики.

Основни работни характеристики и съвместимост с различни по-нататъшни приложения

Основните работни характеристики на процедурата с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за изтегляне с вакуум са определени за кръв от здрави дарители със стойности за левкоцитите по кръвна картина от $3,8 \times 10^6$ до $1,34 \times 10^7$ клетки/ml (вижте фигура 1).



Фигура 1. Установен практически добив с процедура с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за изтегляне с вакуум при 200 μl обем за елуиране. Стойностите за левкоцитите по кръвна картина на здрави дарители са определени и са в диапазона от $3,8 \times 10^6$ до $1,34 \times 10^7$ клетки/ml. ДНК е пречистена от аликвотните части кръв с процедура с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit за изтегляне с вакуум при 200 μl обем за елуиране. Обработени са осемдесет и седем аликвотни части с три репликата.

Количеството пречистена ДНК при процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit зависи от количество левкоцити във всяка аликвотна част кръв. Геномна ДНК е пречистена от 200- μl аликвотни части кръв от здрави дарители с процедурата за центрофугиране или за изтегляне с вакуум. Различни първични епруветки и антикоагуланти може да се използват за вземането на аликвотните части кръв за процедурите с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (таблица 1).

Таблица 1. Среден относителен практически добив на ДНК от аликвотни части кръв, взети с различни първични епруветки и антикоагуланти

Първична епруветка	Производител	Каталожен №	Номинален обем	Среден практически добив*
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

Геномна ДНК е пречистена от 200-µl аликвотни части кръв от здрави дарители (от 4,0 до 9,0 × 10⁶ клетки/ml).

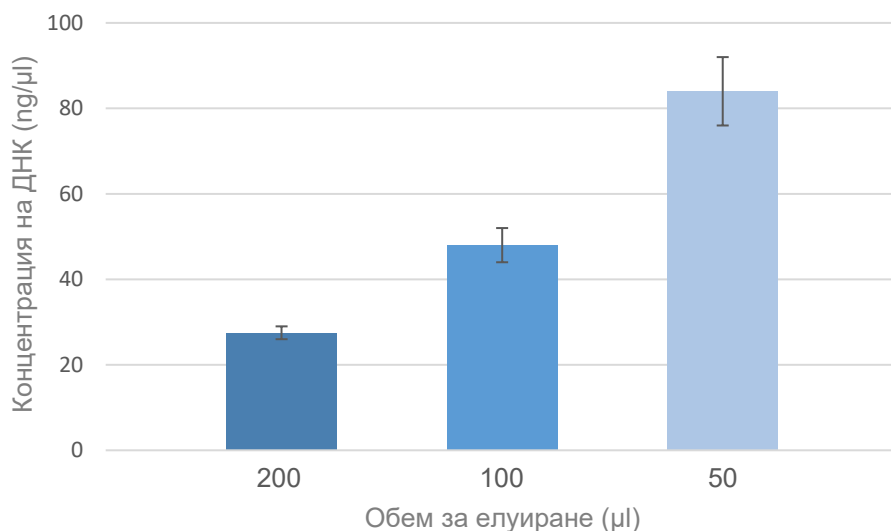
* За всяка първична епруветка е определен средният практически добив от 11 аликвотни части с три репликата.

Елуираната геномна ДНК е готова за употреба в различни по-нататъшни анализи.

Изходно количество аликвотна част, диапазон на получения елуат и степен на пречистване на ДНК

Различни обеми за елуиране може да се избера за изолиране на геномна ДНК от 200 µl цяла кръв. За ръчната процедура обемите за елуиране са в диапазона от 50 до 200 µl. За напълно автоматизираната процедура за центрофугиране възможните обеми за елуиране са 100 и 200 µl, а за полуавтоматизираната (след ръчно лизиране) – от 100 до 200 µl (кратни на 10 µl). Елуирането на по-малки обеми повишава окончателната концентрация на ДНК в елуата, но леко намалява общия практически добив на ДНК. Препоръчваме да се използва обем за елуиране, подходящ за предвиденото по-нататъшно приложение.

Оценено е отражението на различните обеми за елуиране върху общата концентрация на ДНК. На фигура 2 е представено повишаването на концентрацията на ДНК в елуатите при намаляване на обема за елуиране.



Фигура 2. Концентрация на ДНК, получена след изолиране на ДНК от цяла кръв с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit при различни обеми за елуиране.

С всяко стълбче на графиката са представени резултатите от 32 репликата (средна стойност ± стандартно отклонение).

Допълнително – като показател за степента на пречистване на ДНК – е измерено съотношението между абсорбцията при 260 и при 280 nm дължина на вълната за различните обеми за елуиране в изследването. Не се наблюдава разлика между различните обеми за елуиране и като цяло средното съотношение показва слабо замърсяване с протеини.

Прецизност

Определени са коефициентите на вариация (CV) при автоматизираното извличане на човешка геномна ДНК от цяла кръв с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit на QIAcube Connect MDx. Общият практически добив на ДНК е определен с измерване на оптичната плътност.

Определени са повторяемостта (разликите между стойностите в една серия за пречистване) и междинната прецизност (разликите между стойностите в различни серии за пречистване с различни оператори, на различни апарати и в различни дни). Данните за прецизността са представени в таблица 2.

Таблица 2. Приблизителни стойности от анализа на прецизността

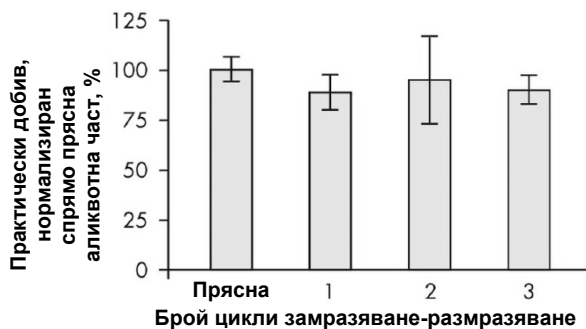
Прецизност	CV, %
Междинна прецизност	1,65
Повторяемост	6,09
Обща прецизност	6,24

За ръчната процедура за изтегляне с вакуум са определени средният практически добив и съответните CV, които са използвани за оценка на междинната прецизност, повторяемостта и възпроизводимостта. Допълнително са анализирани целостта на ДНК и нейните характеристики при вътрешнофирмен анализ с real-time PCR.

Стабилност на аликвотните части

Забележка: Стабилността на аликвотните части много зависи от различни фактори и конкретното по-нататъшно приложение. Оценена е с примерни по-нататъшни приложения. Потребителят носи отговорността да прочете инструкциите за употреба на конкретното по-нататъшно приложение в неговата лаборатория и/или да валидира цялата процедура, за да установи подходящите условия на съхранение.

Определено е отражението на замразяването и размразяването върху обработени с EDTA аликвотни части кръв за пречистване на ДНК с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Не се наблюдава значително понижаване на практическия добив (вижте фигура 3) или характеристиките при по-нататъшни анализи.



Фигура 3. Отражение на замразяването и размразяването върху аликвотни части кръв. Обработена с EDTA кръв е замразена и размразена до 3 пъти и след това е използвана за пречистване на ДНК с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Изчисленият практически добив на ДНК е нормализиран спрямо практически добив от прясна аликвотна част (100%). С всяко стълбче на графиката са представени резултатите от 32 репликата (средна стойност ± стандартно отклонение).

Стабилност на елуата

Забележка: Стабилността на елуата много зависи от различни фактори и конкретното по-нататъшно приложение. Тя е оценена при употреба на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit с примерни по-нататъшни приложения. Потребителят носи отговорността да прочете инструкциите за употреба на конкретното по-нататъшно приложение в неговата лаборатория и/или да валидира цялата процедура, за да установи подходящите условия на съхранение.

Стабилността на елуата за QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit след извличане на нуклеинова киселина от човешка кръв е оценена със спектрофотометрия и вътрешнофирмен анализ с real-time PCR. Елуираната ДНК може да се съхранява до 4 седмици при 2–8 °C. За по-продължително време препоръчваме да се съхранява при –20 °C.

Интерфериращи вещества

Различни потенциално интерфериращи екзогенни и ендогенни вещества в цяла кръв от пациенти са добавени в аликвотни части кръв за изследване на тяхното отражение върху примерни по-нататъшни анализи след изолиране на геномна ДНК с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Направена е оценка на най-често срещаните потенциално интерфериращи вещества за хемолиза (човешки хемоглобин), липемия (триглицериди) и жълтеница (неконюгиран билирубин). Допълнително е оценено интерфериращото отражение на антикоагулантите K2-EDTA, K3-EDTA и Na2-EDTA при трикратно по-висока концентрация от тази в епруветката за вземането на пробата. Не се наблюдава значително отрицателно отражение както от тези, така и от около 20 други потенциално интерфериращи вещества – например лекарства за ракови заболявания, които често се използват и съответно е вероятно да се съдържат в аликвотни части кръв от пациенти.

Забележка: Направени са изследвания с примерни по-нататъшни приложения за оценка на качеството на извлечените нуклеинови киселини. Въпреки това различните по-нататъшни приложения може да имат различни изисквания за степента на пречистване (тоест отсъствието или концентрацията на потенциално интерфериращи вещества) и затова съответните вещества трябва да се идентифицират и тяхната концентрация да се установи като част от разработката на по-нататъшните приложения за всяка процедура с QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Всички потенциално интерфериращи вещества (например лекарства) и техните съответни концентрации много зависят както от по-нататъшното приложение, така и от евентуалните предишни лечения на пациента и затова трябва да се проучат при проверката на по-нататъшното приложение след използването на QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Забележка: Съгласно ISO 20186-2:2019(E) хепаринът от епруветки за взимане на кръв може да намали степента на пречистване на изолираните нуклеинови киселини, а евентуалното пренасяне на елуатите от предишни обработки може да доведе до инхибиране при някои по-нататъшни приложения. Затова препоръчваме аликвотните части кръв да се обработват с EDTA или цитрат като антикоагулант при подготовката на плазмата.

Кръстосано замърсяване

Рискът от кръстосано замърсяване при автоматизираното пречистване на нуклеинова киселина на QIAcube Connect MDx е анализиран с обработка на 12 серии с аликвотни части в шахматна конфигурация (редуване на положителни и отрицателни аликвотни части) по примерна процедура с QIAamp (QIAamp DSP Virus Spin с аликвотни части от плазма и серум с ДНК вирус при 1,00E+07 копия/ml). Потенциалното замърсяване на отрицателните аликвотни части по време на извличането е оценено с последващо тестване на елуатите с вътрешнофирмен анализ с real-time PCR. Не е открито кръстосано замърсяване от предишно пренасяне на аликвотни части или серии.

СИМВОЛИ

Следващите символи фигурират в този документ. В наръчника ще намерите пълния списък със символите, използвани в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите.

Символ	Описание на символа
	Това изделие изпълнява изискванията на Регламент (ЕС) 2017/746 на Европейския парламент и на Съвета за медицинските изделия за инвитро диагностика.
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	Каталожен номер
Rn	„R“ означава редакция на инструкциите за употреба, а „n“ е номерът на редакцията
	Производител

Хронология на редакциите

Редакция	Описание
R1, юни 2022 г.	<p>Версия 3, редакция 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Промяна до версия 3 за съответствието с Регламента за медицинските изделия за инвитро диагностика• Прехвърляне и промяна на работните характеристики от наръчника към набора в този документ:<ul style="list-style-type: none">○ Прехвърляне на раздела „Практически добив на пречистена ДНК“ и „Работни характеристики при по-нататъшния анализ“ в раздела „Основни работни характеристики и съвместимост с различни по-нататъшни приложения“○ Добавяне на раздел „Изходно количество алиquotна част, диапазон на получения елуат и степен на пречистване на ДНК“○ Добавяне на раздел „Прецизност“○ Промяна в раздел „Стабилност на елуата“○ Добавяне на раздел „Стабилност на алиquotните части“○ Добавяне на раздел „Интерфериращи вещества“○ Добавяне на раздел „Кръстосано замърсяване“○ Добавяне на раздел „Символи“○ Добавяне на раздел „Хронология на редакциите“

За актуална информация за лицензиране и декларации за освобождаване от отговорност за конкретни изделия вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчници и ръководства за потребителя на набори QIAGEN може да се изтеглят от уебсайта www.qiagen.com, да се поръчат от „Техническо обслужване“ или от местния дистрибутор на QIAGEN.

Търговски марки: 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); Регистрираните наименования, търговски марки и пр., използвани в този документ, дори да не са изрично обозначени като такива, не следва да се считат за незащитени от закона.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

