



Ιούνιος 2022

Οδηγίες χρήσης QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Χαρακτηριστικά απόδοσης)

Έκδοση 3



Για in vitro διαγνωστική χρήση
Για χρήση με το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

R1

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης είναι διαθέσιμα ηλεκτρονικά και παρατίθενται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Γενική εισαγωγή

Το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit χρησιμοποιεί τεχνολογία μεμβράνης διοξειδίου του πυριτίου (τεχνολογία QIAamp) για την απομόνωση και τον καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από βιολογικά δείγματα.

Οι διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini, οι οποίες έχουν σχεδιαστεί για ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων αίματος, αποδίδουν κεκαθαρμένο DNA έτοιμο για χρήση. Οι διαδικασίες είναι κατάλληλες για χρήση με φρέσκο ή κατεψυγμένο ολικό αίμα και αίμα που έχει υποβληθεί σε επεξεργασία με κιτρικό ή EDTA.

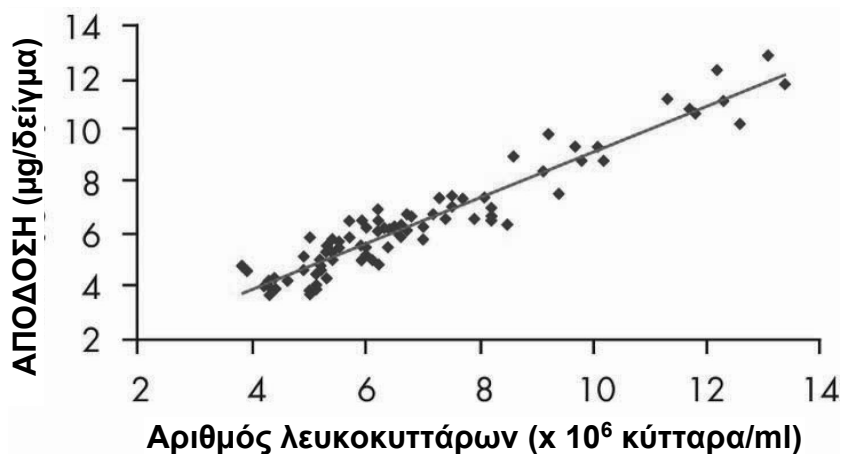
Οι απλές διαδικασίες διαχωρισμού και επεξεργασίας εν κενώ του QIAamp DSP είναι κατάλληλες για την ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων. Ορισμένες από τις διαδικασίες διαχωρισμού του QIAamp μπορούν να αυτοματοποιηθούν πλήρως στο QIAcube® Connect MDx για μεγαλύτερη τυποποίηση και ευκολία χρήσης. Το QIAcube Connect MDx προορίζεται για την εκτέλεση αυτοματοποιημένης απομόνωσης και καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων. Μπορεί να επεξεργαστεί έως και 12 δείγματα ανά μεμονωμένη εκτέλεση.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Σημείωση: Τα χαρακτηριστικά απόδοσης εξαρτώνται σε πολύ μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με την συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Τα χαρακτηριστικά απόδοσης έχουν τεκμηριωθεί για το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Ωστόσο, οι μέθοδοι για την απομόνωση νουκλεϊκών οξέων από βιολογικά δείγματα χρησιμοποιούνται ως το πρώτο βήμα για πολλαπλές καθοδικές εφαρμογές και πρέπει να καθοριστούν οι παράμετροι απόδοσης όπως η διασταυρούμενη μόλυνση ή η ακρίβεια εκτέλεσης για οποιαδήποτε τέτοια ροή εργασιών ως μέρος της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής. Κατά συνέπεια, αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Βασική απόδοση και συμβατότητα με τις διάφορες καθοδικές εφαρμογές

Η βασική απόδοση της διαδικασίας επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini έχει καθοριστεί για αίμα από υγιείς δότες με αριθμό λευκοκυττάρων $3,8 \times 10^6$ έως $1,34 \times 10^7$ κύτταρα/ml (βλ. Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Παρατηρούμενη απόδοση με χρήση της διαδικασίας επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini με όγκο έκλουσης 200 μ l. Οι αριθμοί λευκοκυττάρων των υγιών δοτών έχουν τεκμηριωθεί και βρίσκονταν εντός του εύρους $3,8 \times 10^6$ έως $1,34 \times 10^7$ κυττάρων/ml. Το DNA καθαρίστηκε από δείγματα αίματος με χρήση της διαδικασίας επεξεργασίας εν κενώ QIAamp DSP DNA Blood Mini με όγκο έκλουσης 200 μ l. Υποβλήθηκαν σε επεξεργασία 87 εις τριπλούν δείγματα.

Η ποσότητα DNA που καθαρίζεται στις διαδικασίες του QIAamp DSP DNA Blood Mini εξαρτάται από το περιεχόμενο λευκοκυττάρων σε κάθε δείγμα αίματος. Με χρήση της διαδικασίας φυγοκέντρισης ή επεξεργασίας εν κενώ, γονιδιωματικό DNA καθαρίζεται από 200 μ l δειγμάτων αίματος από υγιείς δότες. Για τη συλλογή δειγμάτων αίματος για τις διαδικασίες QIAamp DSP DNA Blood Mini μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαφορετικά κύρια σωληνάρια και αντιπηκτικά (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Μέσες σχετικές τιμές απόδοσης DNA από δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν με τη χρήση διαφόρων κύριων σωληναρίων και αντιπηκτικών

| Κύριο σωληνάριο | Κατασκευαστής | Αρ. κατ. | Ονομαστικός όγκος | Μέση τιμή απόδοσης* |
|---------------------|------------------|-------------|-------------------|---------------------|
| 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 |

Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 µl δειγμάτων αίματος από υγιείς δότες (4,0 έως 9,0 x 10⁶ κύτταρα/ml).

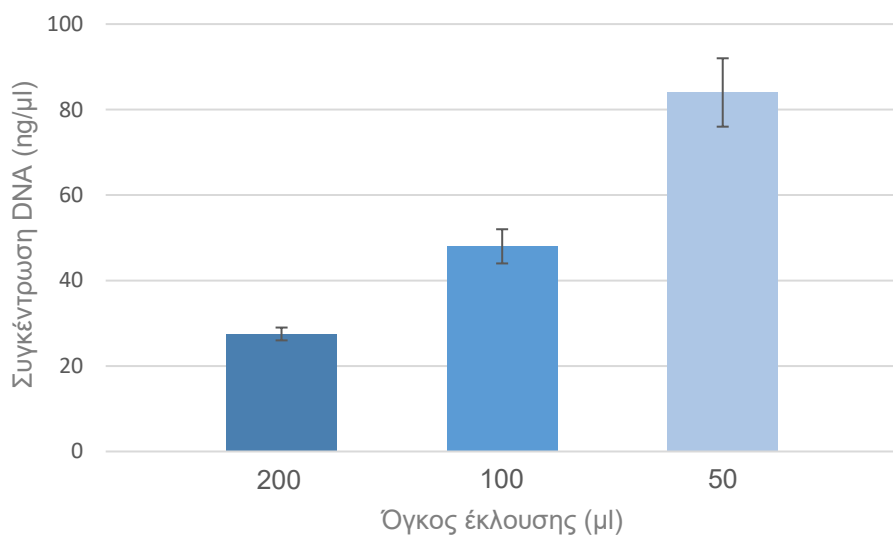
* Για κάθε κύριο σωληνάριο, η μέση τιμή απόδοσης προσδιορίζεται από 11 εις τριπλούν δείγματα.

Το εκλουσμένο γονιδιωματικό DNA είναι έτοιμο για χρήση σε διαφορετικούς προσδιορισμούς καθοδικής ροής.

Εύρος εισόδου δείγματος/εξόδου εκλούσματος και καθαρότητα DNA

Μπορούν να επιλεγούν διαφορετικοί όγκοι έκλουσης για απομόνωση γονιδιωματικού DNA από 200 µl πλήρους αίματος. Για τη χειροκίνητη διαδικασία, οι όγκοι έκλουσης κυμαίνονται από 50 έως 200 µl. Για την πλήρως αυτοματοποιημένη ροή εργασιών διαχωρισμού, οι πιθανοί όγκοι έκλουσης είναι 100 και 200 µl και για τη μερικώς αυτοματοποιημένη ροή εργασιών διαχωρισμού (μετά από μη αυτόματη λύση), οι πιθανοί όγκοι έκλουσης είναι 100–200 µl (σε προσαυξήσεις των 10 µl). Η έκλουση σε μικρότερους όγκους αυξάνει την τελική συγκέντρωση DNA στο έκλουσμα, αλλά μειώνει ελαφρά τη συνολική απόδοση DNA. Συνιστάται η χρήση κατάλληλου όγκου έκλουσης για την προβλεπόμενη καθοδική εφαρμογή.

Έχει αξιολογηθεί η επίδραση διαφόρων όγκων έκλουσης στη συνολική συγκέντρωση DNA. Η Εικόνα 2 δείχνει μία αύξηση στη συγκέντρωση DNA στα εκλούσματα, όταν μειώνεται ο όγκος έκλουσης.



Εικόνα 2. Συγκέντρωση DNA που ελήφθη μετά από απομόνωση DNA από πλήρες αίμα χρησιμοποιώντας το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit με διαφορετικούς όγκους έκλουσης. Κάθε γραμμή στο γράφημα αναπαριστά τα αποτελέσματα από 32 αντίγραφα (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

Επιπλέον, ως δείκτης καθαρότητας του DNA, μετρήθηκε η αναλογία μεταξύ απορρόφησης στα 260 και 280 nm για τους διάφορους όγκους έκλουσης που δοκιμάστηκαν. Δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μεταξύ των διαφόρων όγκων έκλουσης και γενικά η μέση αναλογία έδειξε χαμηλή επιμόλυνση με πρωτεΐνη.

Ακρίβεια

Προσδιορίστηκαν συντελεστές μεταβλητότητας (Coefficients of Variations, CVs) για την αυτοματοποιημένη εξαγωγή ανθρώπινου γονιδιωματικού DNA από πλήρες αίμα χρησιμοποιώντας το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit στο QIAcube Connect MDx. Η συνολική απόδοση DNA προσδιορίστηκε με μέτρηση OD.

Προσδιορίστηκε η επαναληψιμότητα (μεταβλητότητα εντός της ίδιας εκτέλεσης σε μία εκτέλεση διαδικασίας καθαρισμού) και η ενδιάμεση ακρίβεια (μεταβλητότητα σε διάφορες εκτελέσεις διαδικασίας καθαρισμού με διαφορετικούς χειριστές, σε διαφορετικά όργανα και σε διαφορετικές ημέρες). Τα δεδομένα ακρίβειας παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Ανάλυση εκτιμήσεων ακρίβειας

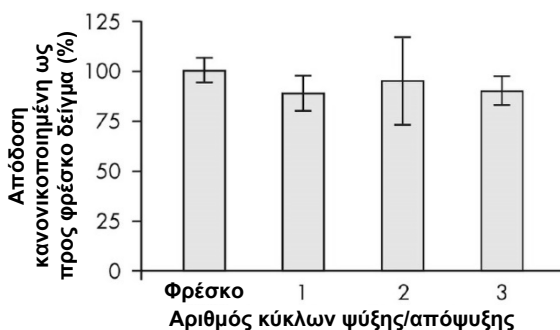
| Ακρίβεια | CV (%) |
|--------------------|--------|
| Ενδιάμεση ακρίβεια | 1,65 |
| Επαναληψιμότητα | 6,09 |
| Συνολική ακρίβεια | 6,24 |

Για τη μη αυτόματη διαδικασία επεξεργασίας εν κενώ, προσδιορίστηκαν και αξιολογήθηκαν οι μέσες αποδόσεις και οι CV για να αξιολογηθεί η ενδιάμεση ακρίβεια, η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα. Επιπλέον, αναλύθηκε η ακεραιότητα και η απόδοση DNA σε έναν εσωτερικό προσδιορισμό real-time PCR.

Σταθερότητα δείγματος

Σημείωση: Η σταθερότητα δείγματος εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχει αξιολογηθεί με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώσει ολόκληρη τη ροή εργασιών για να ορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Η επίδραση της ψύξης και απόψυξης στα δείγματα αίματος που έχουν υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA κατά τον καθαρισμό του DNA με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit έχει τεκμηριωθεί. Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική μείωση της απόδοσης (βλ. Εικόνα 3) ή των επιδόσεων σε καθοδικούς προσδιορισμούς.



Εικόνα 3. Επίδραση της ψύξης και της απόψυξης δειγμάτων αίματος. Αίμα που είχε υποβληθεί σε επεξεργασία με EDTA ψύχθηκε και αποψύχθηκε έως και 3 φορές και, στη συνέχεια, υπεβλήθη σε καθαρισμό DNA με χρήση του QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Οι εκτιμώμενες αποδόσεις DNA κανονικοποιούνται ως προς την απόδοση από φρέσκο δείγμα (100%). Κάθε γραμμή στο γράφημα αναπαριστά τα αποτελέσματα από 32 αντίγραφα (μέση τιμή ± τυπική απόκλιση).

Σταθερότητα εκλουσμάτων

Σημείωση: Η σταθερότητα του εκλούσματος εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με την συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχει αξιολογηθεί για το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώσει ολόκληρη τη ροή εργασιών για να ορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Η σταθερότητα του εκλούσματος για το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit αξιολογήθηκε μετά την εκχύλιση νουκλεϊκού οξέος από ανθρώπινο αίμα με φασματοφωτομετρία και έναν εσωτερικό προσδιορισμό real-time PCR. Το εκλουσμένο DNA μπορεί να φυλαχτεί στους 2–8 °C για έως και 4 εβδομάδες. Για μακροπρόθεσμη φύλαξη, συνιστάται η φύλαξη στους –20 °C.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Διάφορες πιθανές εξωγενείς και ενδογενείς παρεμβαλλόμενες ουσίες που υπάρχουν στο ολικό αίμα των ασθενών εμβολιάστηκαν σε δείγματα αίματος για να εξεταστεί η επίδρασή τους σε υποδειγματικούς καθοδικούς προσδιορισμούς μετά την απομόνωση gDNA με το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Αξιολογήθηκαν κοινές σχετικές πιθανές παρεμβαλλόμενες ουσίες για αιμόλυση (ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη), λιπαιμία (τριγλυκερίδια) και ίκτερο (μη συζευγμένη χολερυθρίνη). Επιπλέον, αξιολογήθηκε η επίδραση παρεμβολής τριπλάσιας συγκέντρωσης αντιπηκτικού K2-EDTA, K3-EDTA και Na2-EDTA από ό,τι ήδη υπάρχει στο σωληνάριο συλλογής. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική αρνητική επίδραση για αυτούς τους πιθανούς παρεμποδιστές και για περίπου 20 επιπλέον πιθανούς παρεμποδιστές, όπως φάρμακα που χρησιμοποιούνται συνήθως, π.χ. για τη θεραπεία του καρκίνου, και επομένως είναι πιθανό να βρεθούν σε δείγματα ασθενών.

Σημείωση: Η δοκιμή έγινε χρησιμοποιώντας υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές για την αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμένων νουκλεϊκών οξέων. Ωστόσο, διάφορες μεταγενέστερες εφαρμογές μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις όσον αφορά την καθαρότητα (δηλαδή, απουσία ή συγκέντρωση πιθανών παρεμβαλλόμενων ουσιών), επομένως η ταυτοποίηση και η δοκιμή των σχετικών ουσιών και της αντίστοιχης συγκέντρωσης πρέπει επίσης να τεκμηριωθεί ως μέρος της ανάπτυξης καθοδικών εφαρμογών για οποιαδήποτε ροή εργασιών που περιλαμβάνει το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Οποιοσδήποτε δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες (π.χ. φάρμακα) και η αντίστοιχη συγκέντρωσή τους είναι πολύ συγκεκριμένες για την καθοδική εφαρμογή και τις πιθανές προηγούμενες ιατρικές θεραπείες ενός ασθενούς και πρέπει να διερευνηθούν κατά την επαλήθευση αυτής της καθοδικής εφαρμογής χρησιμοποιώντας το QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Σημείωση: Σύμφωνα με το ISO 20186-2:2019(E), η ηπαρίνη από τους σωλήνες συλλογής αίματος μπορεί να επηρεάσει την καθαρότητα των απομονωθέντων νουκλεϊκών οξέων και η πιθανή επιμόλυνση των εκλουσμάτων θα μπορούσε να προκαλέσει αναστολές σε ορισμένες καθοδικές εφαρμογές. Επομένως, συνιστάται η χρήση δειγμάτων αίματος που έχουν υποστεί επεξεργασία με EDTA ή κιτρικό ως αντιπηκτικό για την προετοιμασία του πλάσματος.

Διασταυρούμενη επιμόλυνση

Ο κίνδυνος διασταυρούμενης επιμόλυνσης για τον αυτοματοποιημένο καθαρισμό νουκλεϊκού οξέος στο QIAcube Connect MDx αναλύθηκε εκτελώντας πέντε δοκιμές 12 δειγμάτων με εναλλασσόμενες παρτίδες με διάταξη τύπου σκακιέρας (εναλλασσόμενα θετικά και αρνητικά δείγματα) χρησιμοποιώντας μια υποδειγματική ροή εργασιών QIAamp (QIAamp DSP Virus Spin μαζί με δείγματα πλάσματος και ορού με 1,00E+07 αντίγραφα/ml ιού DNA). Αξιολογήθηκε μία πιθανή επιμόλυνση των αρνητικών δειγμάτων κατά τις εκτελέσεις εκχύλισης με επακόλουθη ανάλυση των εκλουσμάτων χρησιμοποιώντας έναν εσωτερικό προσδιορισμό real-time PCR. Δεν ανιχνεύθηκε διασταυρούμενη επιμόλυνση από δείγμα σε δείγμα ή από εκτέλεση σε εκτέλεση.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα εμφανίζονται σε αυτό το έγγραφο. Για μια πλήρη λίστα των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την ετικέτα, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο.

| Σύμβολο | Ορισμός συμβόλου |
|---|---|
|  | Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα. |
|  | In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν |
|  | Αριθμός καταλόγου |
| Rn | Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης |
|  | Κατασκευαστής |

Ιστορικό αναθεώρησης

Αναθεώρηση

Αναθ. 1, Ιούνιος 2022

Περιγραφή

Έκδοση 3, Αναθώρηση 1

- Ενημέρωση σε έκδοση 3 για σκοπούς συμμόρφωσης με τις απαιτήσεις για τα IVDR
- Μεταφορά και ενημέρωση των χαρακτηριστικών απόδοσης από το εγχειρίδιο kit σε αυτό το έγγραφο:
 - Μεταφορά της ενότητας Απόδοση κεκαθαμένου DNA και της ενότητας Απόδοση σε προσδιορισμούς καθοδικής ροής στην ενότητα Βασική απόδοση και συμβατότητα με τις διάφορες καθοδικές εφαρμογές
 - Προσθήκη ενότητας Εύρος εισόδου δείγματος/εξόδου εκλούσματος και καθαρότητα DNA
 - Προσθήκη ενότητας Ακρίβεια
 - Ενημέρωση ενότητας Σταθερότητα εκλουσμάτων
 - Προσθήκη ενότητας Σταθερότητα δείγματος
 - Προσθήκη ενότητας Παρεμβαλλόμενες ουσίες
 - Προσθήκη ενότητας Διασταυρούμενη επιμόλυνση
 - Προσθήκη ενότητας Σύμβολα
 - Προσθήκη ενότητας Ιστορικό αναθεώρησης

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. το αντίστοιχο εγχειρίδιο kit ή εγχειρίδιο χρήστη της QIAGEN. Τα εγχειρίδια kit και τα εγχειρίδια χρήστη της QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: 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). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα, κ.λπ., που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

