

Gebruiksaanwijzing (prestatiekenmerken) QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit

Versie 3



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik in combinatie met QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R1

De prestatiekenmerken zijn in elektronische vorm beschikbaar. U kunt deze vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Algemene inleiding

De QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit is bedoeld voor isolatie en zuivering van genomisch DNA uit biologische monsters met behulp van silicamembraantechnologie (QIAamp-technologie).

De procedures voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini zijn geschikt voor het gelijktijdig verwerken van meerdere bloedmonsters en resulteren in gezuiverd DNA dat klaar is voor gebruik. De procedures kunnen worden toegepast bij vers of bevroren volbloed en bloed dat is behandeld met citraat of EDTA.

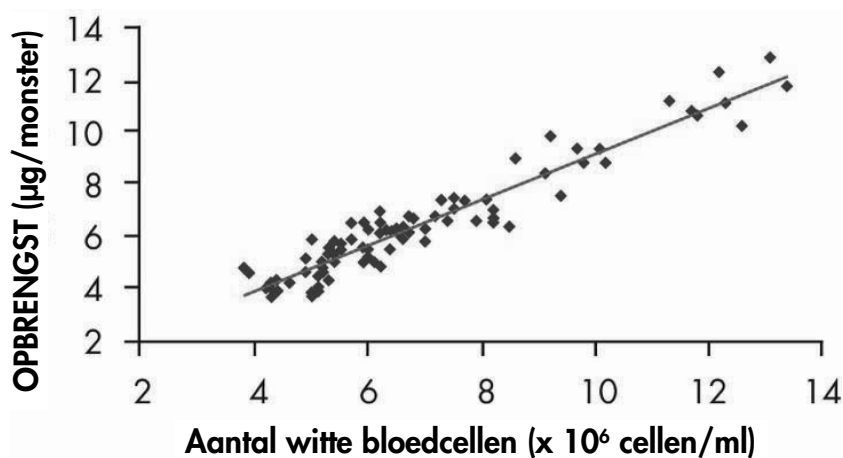
De eenvoudige centrifugeer- en vacuümprocedures van QIAamp DSP zijn geschikt om meerdere monsters gelijktijdig te verwerken. Een aantal van de QIAamp-centrifugeerprocedures kunnen volledig geautomatiseerd worden uitgevoerd met de QIAcube® Connect MDx, zodat u meer gestandaardiseerd en nog gebruiksvriendelijker kunt werken. De QIAcube Connect MDx voert geautomatiseerde isolatie en zuivering van nucleïnezuren uit. Er kunnen tot wel 12 monsters per run worden verwerkt.

Prestatiekenmerken

Opmerking: de prestatiekenmerken zijn sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houden verband met de specifieke latere toepassing. De prestatiekenmerken voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit zijn vastgesteld in combinatie met typische latere toepassingen. Methoden voor het isoleren van nucleïnezuren van biologische monsters worden echter gebruikt als startpunt voor meerdere latere toepassingen; de prestatieparameters, zoals kruisbesmetting of nauwkeurigheid van runs, moeten voor dergelijke latere toepassingen worden bepaald als onderdeel van de ontwikkeling van de latere toepassing. Daarom is het de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Basiswerking en compatibiliteit met verschillende latere toepassingen

De basiswerking van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini is vastgesteld bij bloed van gezonde donoren met $3,8 \times 10^6$ tot $1,34 \times 10^7$ witte bloedcellen/ml (zie afbeelding 1).



Afbeelding 1. Waargenomen opbrengst met behulp van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini met een elutievolume van 200 μl . Het aantal witte bloedcellen is vastgesteld bij gezonde donoren met $3,8 \times 10^6$ tot $1,34 \times 10^7$ cellen/ml. Het DNA werd gezuiverd uit bloedmonsters met behulp van de vacuümprocedure voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini met een elutievolume van 200 μl . Er zijn 87 monsters in drievoud verwerkt.

De hoeveelheid gezuiverd DNA dat wordt verkregen door de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini is afhankelijk van de hoeveelheid witte bloedcellen in elk bloedmonster. Aan de hand van de centrifugeer- of vacuümprocedure wordt genomisch DNA gezuiverd uit 200 μl bloed van gezonde donoren. Er kunnen verschillende soorten primaire buisjes en anticoagulantia worden gebruikt om bloed af te nemen voor de procedures met de QIAamp DSP DNA Blood Mini (tabel 1).

Tabel 1. Gemiddelde relatieve opbrengst van DNA uit bloedmonsters die zijn afgenomen met behulp van verschillende soorten primaire buisjes en anticoagulantia

Primair buisje	Fabrikant	Cat.nr.	Nominaal volume	Gemiddelde opbrengst*
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

Er werd genomisch DNA gezuiverd uit 200 µl bloed van gezonde donoren (4,0 tot 9,0 x 10⁶ cellen per ml).

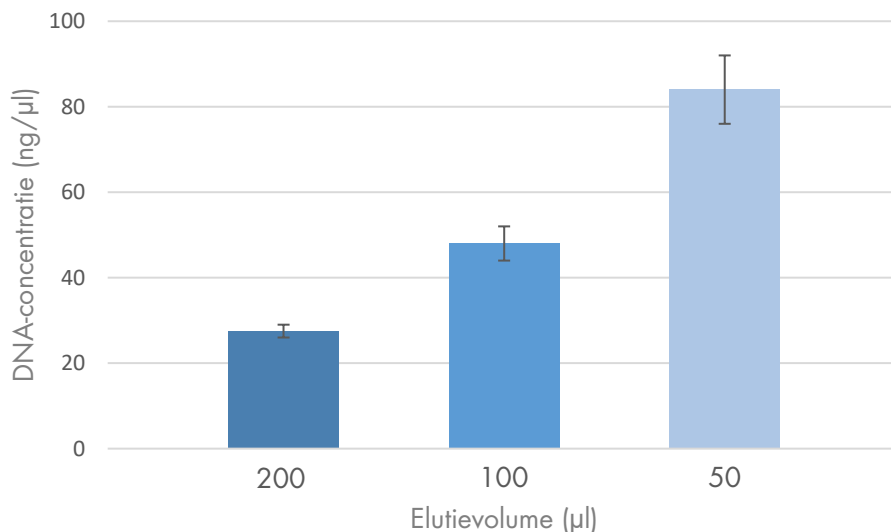
* Voor elk primair buisje is de opbrengst vastgesteld op basis van 11 in drievoud geteste monsters.

Geëluëerd genomisch DNA is klaar voor gebruik in verschillende vervolgassays.

Bereik van monsterinvoer/elutaatuitvoer en DNA-zuiverheid

Er kunnen verschillende elutievolumes worden geselecteerd voor de isolatie van genomisch DNA uit 200 µl volbloed. Voor de handmatige procedure variëren de elutievolumes van 50 tot 200 µl. Voor de volledig geautomatiseerde centrifugatieworkflow zijn 100 en 200 µl mogelijke elutievolumes en voor de gedeeltelijk geautomatiseerde centrifugatieworkflow (na handmatige lysering) zijn 100-200 µl (in stappen van 10 µl) mogelijke elutievolumes. Door elutie in kleinere volumes stijgt de uiteindelijke DNA-concentratie in het eluaat, maar daalt de algehele DNA-opbrengst iets. Wij adviseren om een elutievolume te gebruiken dat geschikt is voor de beoogde vervolgtoepassing.

Het effect van verschillende elutievolumes op de algehele DNA-concentratie is geëvalueerd. In afbeelding 2 wordt een toename van de DNA-concentratie in de eluaten getoond bij verlaging van het elutievolume.



Afbeelding 2. DNA-concentratie verkregen na DNA-isolatie uit volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit met verschillende elutievolumes. Elke balk in de grafiek representeert de resultaten van 32 replica's (gemiddelde ± standaardafwijking).

Bovendien werd als indicator voor de DNA-zuiverheid de verhouding tussen absorptie bij 260 en 280 nm gemeten voor de verschillende geteste elutievolumes. Er werd geen verschil waargenomen tussen verschillende elutievolumes en over het algemeen gaf de gemiddelde verhouding een lage proteïnecontaminatie aan.

Precisie

Variatiecoëfficiënten (Coefficients of Variations, CV's) werden bepaald voor de geautomatiseerde extractie van humaan genomisch DNA uit volbloed met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit met de QIAcube Connect MDx. De totale DNA-opbrengst werd bepaald door OD-meting.

Herhaalbaarheid (variabiliteit binnen runs binnen één zuiveringsprocedure) en intermediaire precisie (variabiliteit tussen runs bij verschillende zuiveringsprocedures met verschillende gebruikers, op verschillende apparaten en op verschillende dagen) werden bepaald. De nauwkeurighedsgegevens zijn vermeld in tabel 2.

Tabel 2. Analyse van schattingen van de nauwkeurigheid

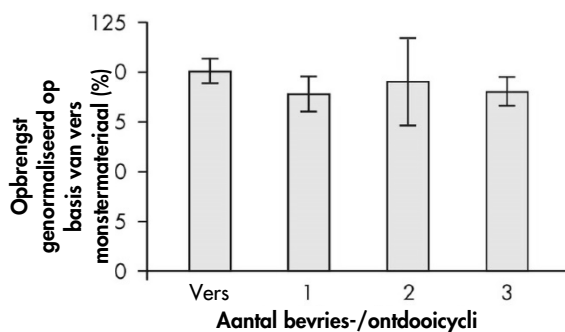
Precisie	CV (%)
Intermediaire nauwkeurigheid	1,65
Reproduceerbaarheid	6,09
Totale nauwkeurigheid	6,24

Voor de handmatige vacuümprocedure werden gemiddelde opbrengsten en CV's bepaald en geëvalueerd om de gemiddelde precisie, herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid te evalueren. Daarnaast werden de DNA-integriteit en prestaties in een real-time PCR-assay van het eigen laboratorium geanalyseerd.

Monsterstabiliteit

Opmerking: de stabiliteit van monsters is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze is geëvalueerd met behulp van typische latere toepassingen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

De effecten van het bevriezen en ontdooien van met EDTA behandelde bloedmonsters tijdens zuivering van DNA met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit zijn vastgesteld. Er werd geen significante afname van de opbrengst (zie afbeelding 3) of de prestatie bij vervolgassays waargenomen.



Afbeelding 3. Effecten van het bevriezen en ontdooien van bloedmonsters. Met EDTA behandeld bloed is maximaal 3 keer bevroren en ontdooid, waarna het DNA is gezuiverd met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De berekende DNA-opbrengst is genormaliseerd op basis van de opbrengst van vers monstermateriaal (100%). Elke balk in de grafiek representeert de resultaten van 32 replica's (gemiddelde \pm standaardafwijking).

Stabiliteit van het eluaat

Opmerking: de stabiliteit van eluaat is sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houdt verband met de specifieke latere toepassing. Deze is voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit vastgesteld in combinatie met typische latere toepassingen. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gebruiksaanwijzing voor de specifieke latere toepassing die in het laboratorium wordt gebruikt te raadplegen en/of de gehele workflow te valideren om de juiste opslagomstandigheden te bepalen.

De stabiliteit van het eluaat voor de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit werd geëvalueerd na extractie van nucleïnezuur uit menselijk bloed met behulp van spectrofotometrie en een real-time PCR-assay van het eigen laboratorium. Geëluëerd DNA kan maximaal 4 weken worden opgeslagen bij 2 tot 8 °C. Voor langdurige opslag adviseren wij om ze te bewaren bij -20°C.

Interfererende stoffen

Verschillende potentiële exogene en endogene interfererende stoffen die aanwezig zijn in het volbloed van de patiënt, werden toegevoegd aan bloedmonsters om hun invloed op typische vervolgcassays te testen na gDNA-isolatie met de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Veelvoorkomende relevante potentiële interfererende stoffen voor hemolyse (humane hemoglobine), lipemie (triglyceriden) en geelzucht (bilirubine ongeconjugeerd) werden geëvalueerd. Daarnaast werd de interferentie beoordeeld van drie keer hogere concentraties antistollingsmiddel K2-EDTA, K3-EDTA en Na2-EDTA dan reeds aanwezig in het verzamelbuisje. Er werd geen significante negatieve invloed opgemerkt voor deze potentiële interfererende stoffen en meer dan ongeveer 20 potentiële interfererende stoffen, zoals geneesmiddelen die doorgaans worden gebruikt, bijvoorbeeld voor de behandeling van kanker, en dus waarschijnlijk worden aangetroffen in patiëntmonsters.

Opmerking: de testen werden uitgevoerd met behulp van typische latere toepassingen, waarbij de kwaliteit van de geëxtraheerde nucleïnezuren werd beoordeeld. Verschillende latere toepassingen kunnen echter verschillende eisen met betrekking tot zuiverheid hebben (d.w.z. afwezigheid of concentratie van potentiële interfererende stoffen), zodat het bepalen en testen van relevante stoffen en respectieve concentraties ook plaats moet vinden als onderdeel van de ontwikkeling van latere toepassingen voor elke workflow waarvoor de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit wordt gebruikt.

Potentiële interfererende stoffen (zoals geneesmiddelen) en overeenkomende concentratie zijn zeer specifiek voor latere toepassingen en mogelijke eerdere medische behandelingen van een patiënt en moeten onderzocht worden tijdens verificatie van dergelijke latere toepassingen met behulp van de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Opmerking: volgens ISO 20186-2:2019(E) kan heparine uit bloedafnamebuisjes invloed hebben op de zuiverheid van de geïsoleerde nucleïnezuren en mogelijke carry-over naar eluaten kan remmingen veroorzaken in bepaalde latere toepassingen. Daarom raden we aan bloedmonsters te gebruiken die zijn behandeld met EDTA of citraat als antistollingsmiddel voor plasmabereiding

Kruisbesmetting

Het risico op kruisbesmetting voor de geautomatiseerde zuivering van nucleïnezuur met de QIAcube Connect MDx werd onderzocht door het uitvoeren van vijf 12-monsterruns met afwisselende dambordpatronen (afwisselend positieve en negatieve monsters) met behulp van een typische QIAamp-workflow (QIAamp DSP Virus Spin samen met plasma- en serummonsters van $1,00E+07$ kopieën/ml van een DNA-virus). Mogelijke besmetting van de negatieve monsters tijdens de extractieruns werd beoordeeld door een navolgende analyse van de eluaten met behulp van een real-time PCR-assay van het eigen laboratorium. Er werd geen kruisbesmetting gedetecteerd door carry-over van monster op monster of run op run.

Symbolen

Dit document bevat de volgende symbolen. Raadpleeg de handleiding voor een volledige lijst met symbolen die worden gebruikt in de gebruiksaanwijzing, op de verpakking of op de labels.

Symbol	Symbooldefinitie
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Fabrikant

Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	<p>Versie 3, revisie 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Update naar versie 3 voor naleving van IVDR• Verplaatsing en update van prestatiekenmerken uit de handleiding van de kit naar dit document:<ul style="list-style-type: none">○ Verplaatsing van het gedeelte Opbrengst van gezuiverd DNA en het gedeelte Prestatie bij vervolgassays naar het gedeelte Basiswerking en compatibiliteit met verschillende latere toepassingen○ Toevoeging van het gedeelte Bereik van monsterinvoer/elutaatuitvoer en DNA-zuiverheid○ Toevoeging van het gedeelte Nauwkeurigheid○ Update van het gedeelte Eluaatstabiliteit○ Toevoeging van het gedeelte Monsterstabiliteit○ Toevoeging van gedeelte Interfererende stoffen○ Toevoeging van gedeelte Kruisbesmetting○ Toevoeging van gedeelte Symbolen○ Toevoeging van het gedeelte Revisiegeschiedenis

Raadpleeg de handleiding of gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: 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);. Gedeponeerde namen, handelsmerken enz. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

