



Junio de 2022

Instrucciones de uso (características del rendimiento) del QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit

Versión 3



Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1

Encontrará las características del rendimiento en formato electrónico en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Introducción general

El QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para el aislamiento y la purificación de ADN genómico procedente de muestras biológicas.

Los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini, diseñados para el procesamiento simultáneo de múltiples muestras de sangre, obtienen ADN purificado listo para su uso. En los procedimientos se puede utilizar sangre total fresca o congelada y sangre tratada con citrato o EDTA.

Los sencillos procedimientos QIAamp DSP de centrifugación y vacío permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. Algunos de los procedimientos de centrifugación de QIAamp pueden ser completamente automatizados en el QIAcube o el QIAcube® Connect MDx para tener una mayor estandarización y facilidad de uso. El QIAcube Connect MDx realiza el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos de forma automatizada. Puede procesar un máximo de 12 muestras por serie.

Características del rendimiento

Nota: Las características del rendimiento dependen en gran medida de diferentes factores y están relacionadas con la aplicación posterior específica. Se han establecido las características del rendimiento del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit junto con aplicaciones posteriores ejemplares. Sin embargo, se utilizan métodos para aislar ácidos nucleicos de muestras biológicas como métodos iniciales para una variedad de aplicaciones posteriores; y los parámetros de rendimiento, como la contaminación cruzada o la necesidad de precisión, deben establecerse para cualquiera de esos flujos de trabajo como parte del desarrollo de la aplicación posterior. Por lo tanto, el usuario es responsable de validar todo el flujo de trabajo para establecer los parámetros de rendimiento adecuados.

Rendimiento básico y compatibilidad con diferentes aplicaciones posteriores

Se ha determinado el rendimiento básico del procedimiento de vacío mediante el QIAamp DSP DNA Blood Mini a partir de sangre de donantes sanos con recuentos leucocitarios de $3,8 \times 10^6$ - $1,34 \times 10^7$ células/ml (consulte la Figura 1).

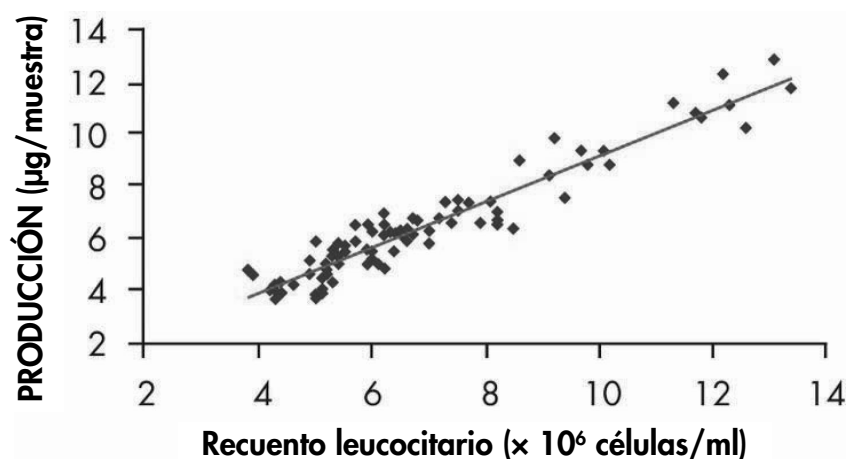


Figura 1. La producción observada del procedimiento de vacío mediante el QIAamp DSP DNA Blood Mini con 200 μl de volumen de elución. Se determinaron los recuentos leucocitarios de los donantes sanos, que se hallaban en el rango de $3,8 \times 10^6$ - $1,34 \times 10^7$ células/ml. Se purificó el ADN a partir de las muestras de sangre mediante el procedimiento de vacío QIAamp DSP DNA Blood Mini con un volumen de elución de 200 μl . Se procesaron 87 muestras en triplicado.

La cantidad de ADN purificado en los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini depende del contenido de leucocitos de cada muestra de sangre. Mediante el procedimiento de centrifugación o vacío, el ADN genómico se purifica a partir de 200 μl de muestras de sangre de donantes sanos. Para recoger las muestras de sangre que se van a analizar con los procedimientos QIAamp DSP DNA Blood Mini se pueden utilizar varios tipos distintos de tubos primarios y anticoagulantes (Tabla 1).

Tabla 1. Rendimientos relativos medios de ADN de muestras de sangre recogidas utilizando diversos tipos de tubos primarios y anticoagulantes

Tubo primario	Fabricante	N.º de cat.	Volumen nominal	Rendimiento medio*
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

El ADN genómico se purificó a partir de muestras de sangre de 200 µl de donantes sanos (de 4,0 a 9,0 × 10⁶ células/ml).

* Para cada tubo primario, se determina el rendimiento medio a partir de 11 muestras triplicadas.

El ADN genómico eluido está listo para utilizarse en diferentes ensayos anterógrados.

Rango de entrada de muestras/salida de eluidos y pureza del ADN

Es posible seleccionar volúmenes de elución diferentes para el aislamiento de ADN genómico de 200 µl de sangre total. Para el procedimiento manual, los volúmenes de elución varían de 50 a 200 µl. En el caso del flujo de trabajo de centrifugación totalmente automatizado, 100 y 200 µl son posibles volúmenes de elución; y en el caso del flujo de trabajo de centrifugación parcialmente automatizada (tras la lisis manual), 100-200 µl (en incrementos de 10 µl) son volúmenes de elución posibles. Los volúmenes de elución más pequeños aumentan la concentración de ADN final en el eluido, pero reducen ligeramente el rendimiento de ADN general. Recomendamos utilizar un volumen de elución adecuado para la aplicación posterior prevista.

Se ha evaluado el efecto de diferentes volúmenes de elución en la concentración de ADN general. La Figura 2 muestra un aumento en la concentración de ADN de los eluidos al disminuir el volumen de elución.

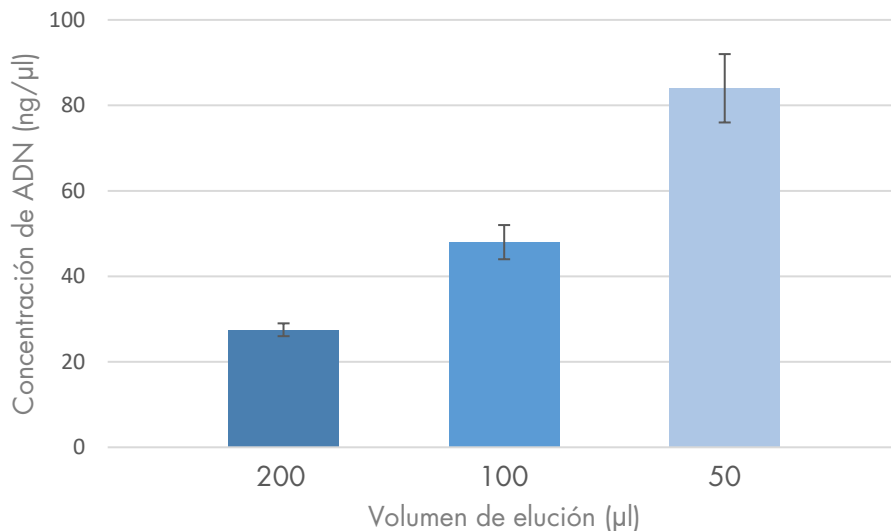


Figura 2. Concentración de ADN obtenida tras el aislamiento de ADN de sangre total mediante el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit con diferentes volúmenes de elución.

Cada columna en la gráfica representa los resultados de 32 réplicas (media ± desviación estándar).

Además, como indicador de pureza del ADN, se midió la razón entre absorbancia a 260 y 280 nm para los diferentes volúmenes de elución analizados. No se observaron diferencias entre los distintos volúmenes de elución y, en general, la razón media indicó contaminación proteica baja.

Precisión

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) para la extracción automatizada de ADN genómico humano de sangre total mediante el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en el QIAcube Connect MDx. El rendimiento de ADN total se determinó mediante la medición de la DO.

Se determinaron la repetibilidad (variabilidad intraserie en una serie de purificación) y la precisión intermedia (variabilidad interserie en diferentes series de purificación con diferentes operadores, en diferentes instrumentos y en diferentes días). Los datos de precisión se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Análisis de los cálculos de precisión

Precisión	CV (%)
Precisión intermedia	1,65
Repetibilidad	6,09
Precisión total	6,24

Para el procedimiento de vacío manual, se determinaron y evaluaron los rendimientos y CV medios para evaluar la precisión, la repetibilidad y la reproducibilidad intermedias. Además, se analizaron la integridad y el rendimiento del ADN en un ensayo real-time PCR interno.

Estabilidad de las muestras

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de diferentes factores y está relacionada con la aplicación posterior específica. Se ha evaluado con aplicaciones posteriores ejemplares. El usuario es responsable de consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en su laboratorio o de validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Se han determinado los efectos de congelar y descongelar muestras de sangre tratada con EDTA en la purificación de ADN con el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. No se ha observado una disminución significativa en la producción (consulte la Figura 3) ni en el rendimiento en los ensayos anterógrados.

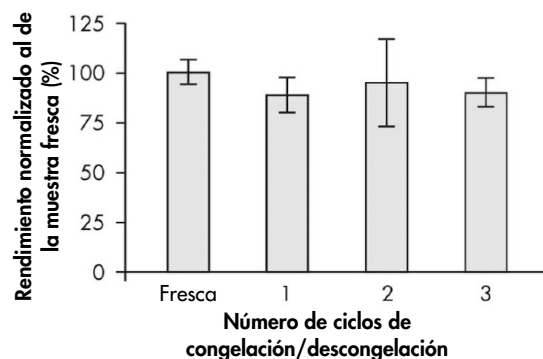


Figura 3. Efectos de la congelación y descongelación de las muestras de sangre. Se congeló y descongeló hasta 3 veces la sangre tratada con EDTA y seguidamente se sometió a una purificación del ADN con el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Los rendimientos de DNA calculados se normalizan respecto al rendimiento de muestra fresca (100 %). Cada columna en la gráfica representa los resultados de 32 réplicas (media \pm desviación estándar).

Estabilidad del eluido

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de diferentes factores y se relaciona con la aplicación posterior específica. Se ha evaluado para el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit junto con aplicaciones posteriores ejemplares. El usuario es responsable de consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en su laboratorio o de validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

La estabilidad del eluido del QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit se evaluó tras la extracción de ácido nucleico de sangre humana con espectrofotometría y un ensayo real-time PCR interno. El ADN eluido puede conservarse a 2-8 °C durante un máximo de 4 semanas. Para el almacenamiento a largo plazo, recomendamos una temperatura de almacenamiento de -20 °C.

Sustancias interferentes

Diferentes sustancias interferentes exógenas y endógenas posibles presentes en la sangre total de los pacientes se añadieron a las muestras de sangre para analizar su impacto en los ensayos anterógrados ejemplares tras el aislamiento de ADN_g con el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Se evaluaron sustancias interferentes posibles relevantes comunes en busca de hemólisis (hemoglobina humana), lipemia (triglicéridos) e ictericia (bilirrubina no conjugada). Además, se evaluó el efecto interferente de una concentración de K₂-EDTA, K₃-EDTA y Na₂-EDTA anticoagulante tres veces más elevada que la que se encuentra ya presente en el tubo de recogida. No se observó un impacto negativo significativo para estas posibles sustancias interferentes y para aproximadamente 20 posibles sustancias interferentes posibles, como los fármacos de uso frecuente (por ejemplo, para el tratamiento del cáncer) que es probable que se encuentren en las muestras de los pacientes.

Nota: El análisis se realizó con aplicaciones posteriores ejemplares para realizar una evaluación de la calidad de los ácidos nucleicos extraídos. Sin embargo, las diferentes aplicaciones posteriores pueden tener diferentes requisitos con respecto a la pureza (es decir, ausencia o concentración de sustancias interferentes posibles), para que la identificación y el análisis de las sustancias relevantes y su concentración respectiva también deban establecerse como parte del desarrollo de la aplicación posterior para cualquier flujo de trabajo en el que participe el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Cualquier sustancia interferente posible (p. ej., fármacos) y su concentración correspondiente son muy específicas de la aplicación posterior y los tratamientos médicos anteriores posibles de un paciente deben investigarse durante la verificación de dicha aplicación posterior utilizando el QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Nota: Según la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre puede afectar la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos podría causar inhibiciones en algunas aplicaciones posteriores. Por lo tanto, recomendamos el uso de muestras de sangre tratadas con EDTA o citrato como anticoagulante para la preparación del plasma.

Contaminación cruzada

El riesgo de contaminación cruzada para la purificación automatizada de ácidos nucleicos en el QIAcube Connect MDx se analizó en cinco series de 12 muestras con lotes en formato de cuadrícula alternativos (alternación de muestras positivas y negativas) mediante el uso de un flujo de trabajo de QIAamp ejemplar (QIAamp DSP Virus Spin junto con muestras de plasma y suero de 1,00E+07 copias/ml de un virus ADN). Se evaluó una posible contaminación de las muestras negativas durante las series de extracción mediante el análisis posterior de los eluidos utilizando un ensayo real-time PCR interno. No se detectó contaminación cruzada para el arrastre de muestra a muestra o de serie a serie.

Símbolos

Los siguientes símbolos aparecen en este documento. Para ver una lista completa de los símbolos utilizados en las instrucciones de uso o en el envase o el etiquetado, consulte el manual de uso.

Símbolo	Definición del símbolo
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
Rn	"R" es la revisión de las Instrucciones de uso y "n" es el número de revisión
	Fabricante

Historial de revisiones

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p>Versión 3, Revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Actualización a la versión 3 para cumplir con el IVDR• Transferencia y actualización de las características del rendimiento del manual de uso del kit a este documento:<ul style="list-style-type: none">○ Transferencia de la sección Rendimiento del ADN purificado y de la sección Rendimiento en ensayos anterógrados a la sección Rendimiento básico y compatibilidad con diferentes aplicaciones posteriores○ Incorporación de la sección Rango de entrada de muestras/salida de eluidos y pureza del ADN○ Incorporación de la sección Precisión○ Actualización de la sección Estabilidad del eluido○ Incorporación de la sección Estabilidad de las muestras○ Incorporación de la sección Sustancias interferentes○ Incorporación de la sección Contaminación cruzada○ Incorporación de la sección Símbolos○ Incorporación de la sección Historial de revisiones

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: 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). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

