

Mode d'emploi de QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Caractéristiques de performances)

Version 3



Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro
À utiliser avec QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

Les caractéristiques de performances sont disponibles en version électronique et se trouvent sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit sur le site www.qiagen.com.

Présentation générale

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utilise une technologie de membrane à base de silice (technologie QIAamp) pour l'isolation et la purification de l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, qui sont conçues pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, produisent de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Les procédures sont adaptées pour l'utilisation de sang total frais ou congelé et de sang traité au citrate ou à l'EDTA.

Les procédures simples de centrifugation et de dépression QIAamp DSP sont adaptées au traitement simultané de plusieurs échantillons. Certaines des procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur l'instrument QIAcube® Connect MDx pour une standardisation accrue et une plus grande facilité d'utilisation. L'instrument QIAcube Connect MDx effectue l'isolation et la purification automatisées des acides nucléiques. Il est capable de traiter jusqu'à 12 échantillons par série d'analyses.

Caractéristiques de performances

Remarque : Les caractéristiques de performances dépendent fortement de plusieurs facteurs et de l'application spécifique en aval. Les caractéristiques de performances de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ont été établies avec des exemples d'applications en aval. Cependant, les méthodes d'isolation des acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques sont utilisées avant plusieurs applications en aval et les paramètres de performances, telles que la contamination croisée ou la précision des séries d'analyses, doivent être déterminés pour de tels flux de travail dans le cadre du développement des applications en aval. Par conséquent, il incombe à l'utilisateur de valider le flux de travail en entier pour établir les paramètres de performances appropriés.

Performance de base et compatibilité avec les différentes applications en aval

La performance de base de la procédure de dépression QIAamp DSP DNA Blood Mini a été déterminée pour le sang de donneurs sains dont le nombre de leucocytes est compris entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml (voir la Figure 1).

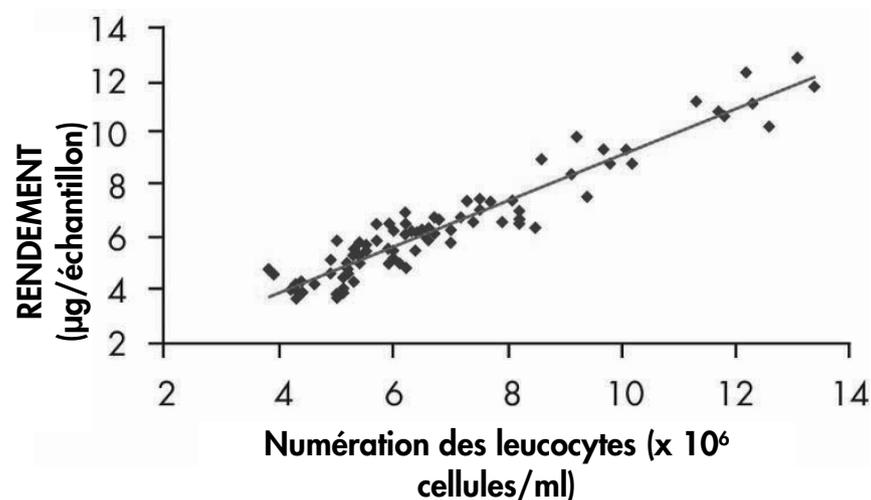


Figure 1. Rendement observé en utilisant la procédure de dépression QIAamp DSP DNA Blood Mini avec un volume d'élution de 200 µl. La numération des leucocytes des donneurs sains a été déterminée et se situait entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml. L'ADN a été purifié des échantillons de sang en utilisant la procédure de dépression QIAamp DSP DNA Blood Mini avec un volume d'élution de 200 µl. Quarante-sept échantillons en triplicata ont été traités.

La quantité d'ADN purifié dans les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini dépend de la teneur en globules blancs de chaque échantillon de sang. En utilisant la procédure de centrifugation ou de dépression, l'ADN génomique est purifié à partir de 200 µl d'échantillons de sang provenant de donneurs sains. Différents tubes primaires et anticoagulants peuvent être utilisés pour prélever des échantillons de sang pour les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tableau 1).

Tableau 1. Rendements relatifs moyens en ADN des échantillons de sang prélevés à l'aide de divers tubes primaires et anticoagulants

Tube primaire	Fabricant	n° de réf.	Volume nominal	Rendement moyen*
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

L'ADN génomique a été purifié à partir de 200 µl d'échantillons de sang de donneurs sains (4,0 à 9,0 x 10⁶ cellules/ml).

* Pour chaque tube primaire, le rendement moyen est déterminé à partir de 11 échantillons en triplicata.

L'ADN génomique élué est prêt à être utilisé dans différents dosages effectués en aval.

Plage de volumes d'entrée des échantillons/volumes de sortie des éluats et pureté de l'ADN

Différents volumes d'éluat peuvent être sélectionnés pour l'isolation de l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total. Pour la procédure manuelle, la plage de volumes d'éluat est de 50 à 200 µl. Les volumes d'éluat possibles sont 100 et 200 µl pour le flux de travail de la centrifugation entièrement automatisé et 100 à 200 µl par incréments de 10 µl pour le flux de travail de la centrifugation partiellement automatisé (après une lyse manuelle). Une élution effectuée dans de petits volumes augmente la concentration finale de l'ADN dans l'éluat, mais réduit légèrement le rendement en ADN. Il est conseillé d'utiliser un volume d'éluat approprié pour l'application prévue en aval.

L'effet de volumes d'éluat différents sur la concentration totale d'ADN a été évalué. La Figure 2 montre une augmentation de la concentration d'ADN dans les éluats lorsque le volume d'éluat diminue.

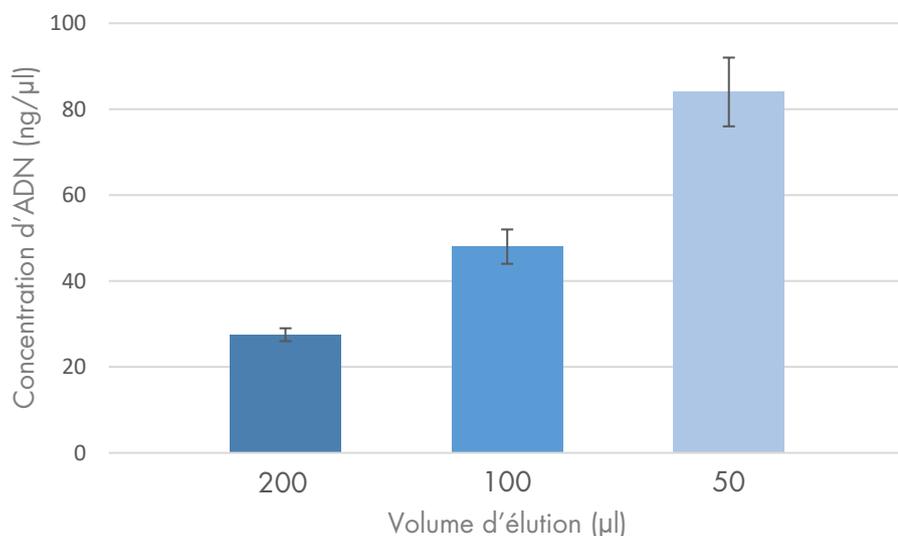


Figure 2. Concentration d'ADN obtenue après l'isolation d'ADN à partir de sang total avec QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit et différents volumes d'éluat. Chaque barre du graphique représente les résultats de 32 répétitions (moyenne ± écart-type).

De plus, comme indicateur de la pureté de l'ADN, le rapport entre la valeur d'absorbance à 260 nm et celle à 280 nm a été déterminé pour les différents volumes d'éluat. Aucune différence n'a été observée entre les différents volumes d'éluat, et dans l'ensemble, le rapport moyen a révélé une faible contamination par des protéines.

Précision

Les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour l'extraction automatisée de l'ADN génomique humain à partir de sang total en utilisant QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur l'instrument QIAcube Connect MDx. Le rendement en ADN total a été déterminé par une mesure de l'absorbance.

La répétabilité (variabilité au sein d'une même série de purifications) et la précision intermédiaire (variabilité entre les séries de purification effectuées par des opérateurs différents, sur des instruments différents et à des jours différents) ont été déterminées. Les données sur la précision sont présentées au Tableau 2.

Tableau 2. Analyse des estimations de la précision

Précision	CV (%)
Précision intermédiaire	1,65
Répétabilité	6,09
Précision totale	6,24

Pour la procédure de dépression manuelle, les rendements moyens et les CV ont été déterminés pour évaluer la précision intermédiaire, la répétabilité et la reproductibilité. De plus, l'intégrité et la performance de l'ADN ont été analysées par un test de real-time PCR interne.

Stabilité de l'échantillon

Remarque : La stabilité de l'échantillon dépend fortement de plusieurs facteurs et de l'application spécifique en aval. Elle a été évaluée avec des exemples d'applications en aval. Il incombe à l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application spécifique en aval utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin d'établir les conditions de conservation appropriées.

Les effets de la congélation et la décongélation des échantillons de sang traités à l'EDTA sur la purification de l'ADN ont été déterminés avec QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Aucune diminution significative n'a été observée dans le rendement (voir Figure 3) ou la performance des dosages effectués en aval.

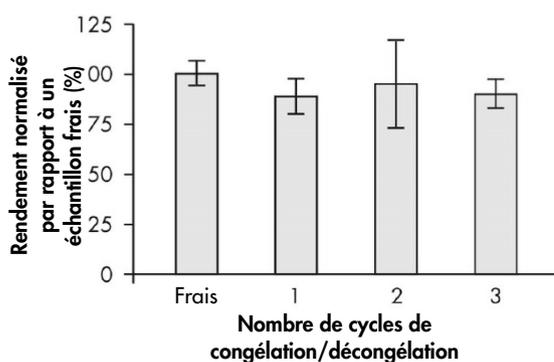


Figure 3. Effets de la congélation et de la décongélation des échantillons de sang. Le sang traité à l'EDTA a été congelé et décongelé jusqu'à 3 fois, puis soumis à une purification de l'ADN à l'aide de la trousse QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Les rendements en ADN calculés sont normalisés par rapport au rendement d'un échantillon frais (100 %). Chaque barre du graphique représente les résultats de 32 répétitions (moyenne \pm écart-type).

Stabilité de l'éluat

Remarque : La stabilité de l'éluat dépend fortement de plusieurs facteurs et de l'application spécifique en aval. Elle a été évaluée pour QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit avec des exemples d'applications en aval. Il incombe à l'utilisateur de consulter le mode d'emploi de l'application spécifique en aval utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin d'établir les conditions de conservation appropriées.

La stabilité de l'éluat avec QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit a été évaluée après l'extraction des acides nucléiques à partir de sang humain en utilisant la spectrophotométrie et un test de real-time PCR interne. L'ADN élué peut être conservé à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pendant un maximum de 4 semaines. Pour une conservation à long terme, il est conseillé de le conserver à -20 °C.

Substances interférentes

Les différentes substances exogènes et endogènes possiblement interférentes, qui sont présentes dans le sang total des patients, ont été introduites dans des échantillons de sang pour déterminer leur impact sur des exemples de dosage effectués en aval après l'isolation d'ADN génomique avec QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Les substances pertinentes courantes possiblement interférentes pour l'hémolyse (hémoglobine humaine), la lipidémie (triglycérides) et la jaunisse (bilirubine non conjuguée) ont été évaluées. De plus, les effets interférents de concentrations trois fois plus élevées des anticoagulants K2-EDTA, K3-EDTA et Na2-EDTA que celles déjà présentes dans le tube de prélèvement ont été évalués. Aucun impact négatif significatif n'a été observé pour ces substances possiblement interférentes et pour environ 20 substances possiblement interférentes supplémentaires, y compris des médicaments couramment utilisés comme les médicaments contre le cancer, qui pourraient être présents dans les échantillons des patients.

Remarque : Les analyses ont été effectuées en utilisant des exemples d'applications en aval pour une évaluation de la qualité des acides nucléiques extraits. Toutefois, différentes applications en aval pourraient avoir des exigences différentes pour la pureté (c.-à-d. l'absence ou la concentration de substances possiblement interférentes). Par conséquent, l'identification et l'analyse des substances pertinentes et de leurs concentrations respectives doivent également être établies dans le cadre du développement des applications en aval pour tout flux de travail utilisant QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Les substances possiblement interférentes (p. ex. les médicaments) et leurs concentrations respectives sont très spécifiques pour chaque application en aval et les traitements médicaux antérieurs possibles d'un patient, et elles doivent être analysées pendant la vérification de ces applications en aval en utilisant QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Remarque : Selon la norme ISO 20186-2:2019(E), l'héparine retrouvée dans les tubes de prélèvement sanguin peut affecter la pureté des acides nucléiques isolés, et son éventuel transfert dans les éluats peut inhiber certaines applications en aval. Par conséquent, il est conseillé d'utiliser des échantillons de sang traités à l'EDTA ou au citrate comme anticoagulant pour la préparation du plasma.

Contamination croisée

Le risque de contamination croisée pendant la purification automatisée des acides nucléiques sur l'instrument QIAcube Connect MDx a été analysé en effectuant 5 séries d'analyses comprenant 12 échantillons chacun, avec des lots disposés en damier (alternance d'échantillons positifs et négatifs), en utilisant un exemple de flux de travail QIAamp (QIAamp DSP Virus Spin avec des échantillons de plasma et de sérum contenant 1,00 E+07 copies/ml de virus à ADN). Une contamination croisée possible des échantillons négatifs pendant les séries d'extraction a été déterminée par une analyse subséquente des éluats à l'aide d'un test de real-time PCR interne. Aucune contamination croisée par transfert entre les échantillons ou entre les séries d'analyses n'a été détectée.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans ce document. La liste complète des symboles utilisés dans le mode d'emploi, ou sur l'emballage et les étiquettes, est disponible dans le manuel.

Symbole	Définition du symbole
	Ce produit répond aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 pour les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Numéro de référence
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Fabricant

Historique des révisions

Révision	Description
R1, Juin 2022	<p>Version 3, révision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Mise à jour à la version 3 par conformité aux exigences de l'IVDR• Transfert et mise à jour des caractéristiques de performances du manuel de la trousse dans ce document :<ul style="list-style-type: none">○ Transfert de la section Rendement en ADN purifié et la section Performance dans les dosages effectués en aval dans la section Performance de base et compatibilité avec les différentes applications en aval○ Addition de la section Plage de volumes d'entrée des échantillons/volumes de sortie des éluats et pureté de l'ADN○ Ajout de la section Précision○ Mise à jour de la section Stabilité de l'éluat○ Ajout de la section Stabilité de l'échantillon○ Ajout de la section Substances interférentes○ Ajout de la section Contamination croisée○ Ajout de la section Symboles○ Ajout de la section Historique des révisions

Pour obtenir des renseignements actualisés et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur www.qiagen.com ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au distributeur local.

Marques de commerce : 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). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

