

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

IVD

Pour une utilisation en diagnostic in vitro

Ce mode d'emploi s'applique aux produits suivants :



REF

Version

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

50

61104

3



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R2

MAT

Les caractéristiques de performances sont disponibles sous forme électronique et se trouvent dans l'onglet Resource (Ressource), sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Introduction générale

Le QIAamp® DSP DNA Blood Mini Kit utilise une technologie à base de membranes de silice (la technologie QIAamp) pour extraire et purifier l'ADN génomique à partir d'échantillons biologiques.

Les procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini, qui ont été développées pour le traitement simultané de plusieurs échantillons de sang, permettent d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Ces procédures peuvent être utilisées avec des échantillons de sang total, décongelé ou congelé, et de sang traité à l'EDTA ou au citrate.

Faciles à mettre en œuvre, les procédures QIAamp DSP avec centrifugation et aspiration sous vide permettent le traitement simultané de plusieurs échantillons. Certaines procédures de centrifugation QIAamp peuvent être entièrement automatisées sur le QIAcube® Connect MDx pour favoriser la normalisation et simplifier l'utilisation. Le QIAcube Connect MDx effectue de façon automatisée l'extraction et la purification des acides nucléiques. Il peut traiter jusqu'à 12 échantillons par cycle d'exécution.

Caractéristiques de performances

Les caractéristiques de performances dépendent fortement de nombreux facteurs et sont liées à l'application en aval spécifique. Les caractéristiques de performances ont été établies pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en association avec des applications en aval exemplaires. Cependant, les méthodes d'extraction des acides nucléiques à partir d'échantillons biologiques sont utilisées comme méthode initiale pour de nombreuses applications en aval et les paramètres de performances tels que la contamination croisée ou la précision des cycles doivent être établis pour tout flux de travail de ce type dans le cadre du développement des applications en aval. L'utilisateur est donc responsable de valider l'ensemble du flux de travail afin d'établir les paramètres de performances appropriés.

Remarque : pour plus d'informations sur les caractéristiques de performances à l'aide d'échantillons d'aspirat de moelle osseuse, consulter le manuel de l'*ipsogen® IDH1 RGQ PCR Kit*.

Performance de base et compatibilité avec différentes applications en aval

La performance de base de la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini avec aspiration sous vide a été déterminée à partir de sang prélevé sur des donneurs sains, avec une numérotation leucocytaire comprise entre $3,8 \times 10^6$ et $1,34 \times 10^7$ cellules/ml (voir Figure 1).

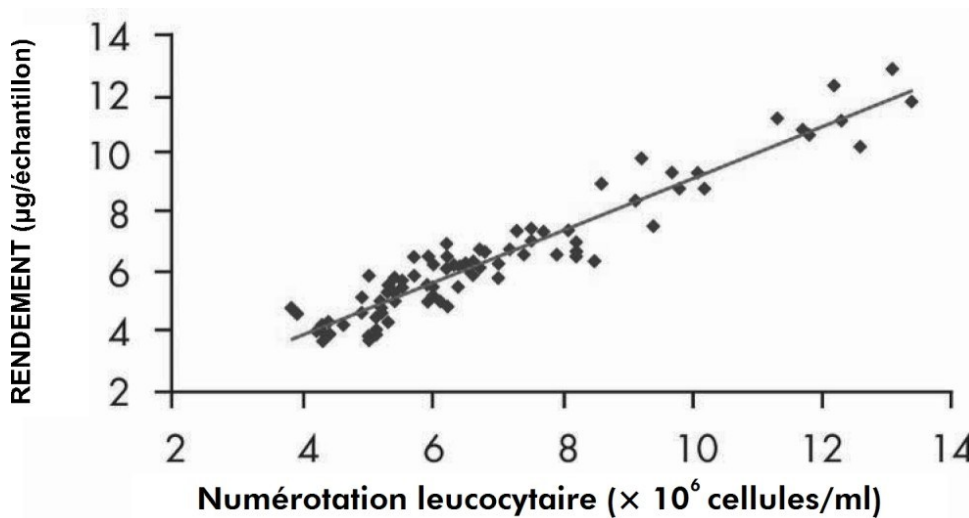


Figure 1. Rendement observé à l'aide de la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini avec aspiration sous vide et un volume d'élution de 200 µl. La numérotation leucocytaire des donneurs sains a été déterminée et se situait dans une plage de $3,8 \times 10^6$ à $1,34 \times 10^7$ cellules/ml. L'ADN a été purifié à partir des échantillons de sang en utilisant la procédure QIAamp DSP DNA Blood Mini sous vide avec un volume d'élution de 200 µl. 87 échantillons en triple 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. À l'aide de la procédure avec centrifugation ou aspiration sous vide, l'ADN génomique est purifié à partir d'échantillons de 200 µl de sang prélevé sur des donneurs sains. Divers tubes primaires et anticoagulants peuvent être utilisés pour prélever les échantillons de sang destinés aux procédures QIAamp DSP DNA Blood Mini (Performance de base et compatibilité avec différentes applications en aval).

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

Tube primaire	Fabricant	Réf. cat.	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

* Pour chaque tube primaire, le rendement moyen a été déterminé à partir de 11 échantillons en triple.

Remarque : l'ADN génomique a été purifié à partir d'échantillons de sang de 350 µl issus de donneurs sains (4,0 à 9,0 x 10⁶ cellules/ml)

Remarque : l'ADN génomique élué est prêt à être utilisé pour différents dosages en aval.

Plage d'entrée d'échantillon/sortie d'éluat et pureté de l'ADN

Différents volumes d'élution peuvent être sélectionnés pour l'extraction de l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total. Pour la procédure manuelle, les volumes d'élution sont compris entre 50 et 200 µl.. Pour un flux de travail avec centrifugation entièrement automatisé, les volumes d'élution possibles sont 100 et 200 µl. Pour un

flux de travail avec centrifugation partiellement automatisé (après lyse manuelle), les volumes d'élution possibles sont compris entre 100 et 200 µl (par incrément de 10 µl). L'élution dans des volumes plus petits augmente la concentration finale d'ADN dans l'éluat mais réduit légèrement le rendement global en ADN. Il est recommandé d'utiliser un volume d'élution approprié pour l'application prévue en aval.

L'effet des différents volumes d'élution sur la concentration globale d'ADN a été évalué. La Figure 2 montre que la concentration d'ADN augmente dans les éluats lorsque le volume d'élution diminue.

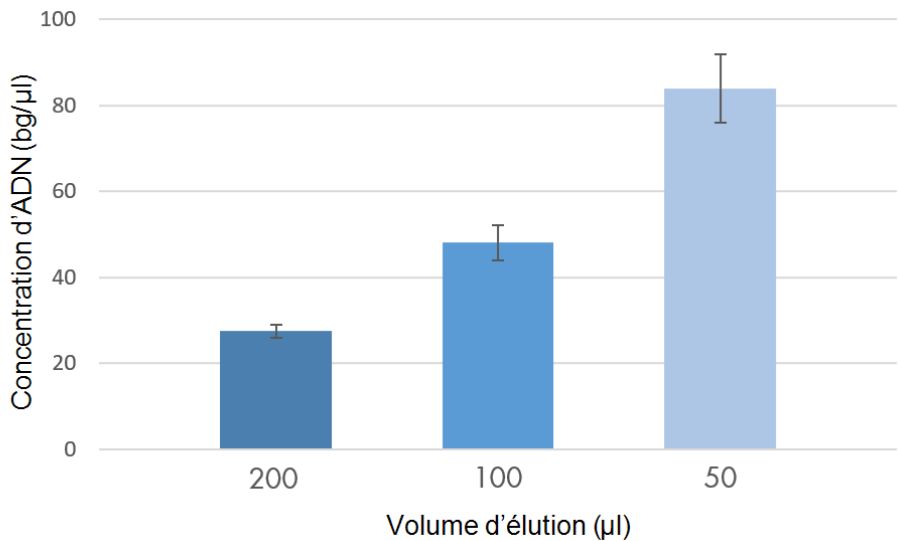


Figure 2. Concentration d'ADN obtenue après extraction de l'ADN à partir d'échantillon de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit avec différents volumes d'élution. Chaque colonne du graphique représente les résultats de 32 réplicats (moyenne ± écart-type).

De plus, le rapport entre l'absorbance à 260 et 280 nm a été calculé pour les différents volumes d'élution testés et utilisé comme indicateur de pureté de l'ADN.

Aucune différence n'a été observée entre les différents volumes d'élution et globalement, le rapport moyen a indiqué une faible contamination protéique.

Précision

Des coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour l'extraction automatisée de l'ADN génomique humain à partir d'échantillons de sang total à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sur le QIAcube Connect MDx. Le rendement total d'ADN a été déterminé par mesure de la densité optique.

La répétabilité (variabilité intra-cycles dans un seul cycle de purification) et la précision intermédiaire (variabilité inter-cycles entre différents cycles de purification avec différents opérateurs, sur différents instruments et à des jours différents) ont été déterminées. Le Tableau 2 détaille les données de précision.

Tableau 2. Analyse des estimations de la précision

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

Pour la procédure avec aspiration sous vide manuelle, les rendements moyens et les CV ont été déterminés et évalués afin d'évaluer la précision intermédiaire, la répétabilité et la reproductibilité. En outre, l'intégrité de l'ADN et la performance dans le cadre d'un dosage real-time PCR en interne ont été analysées.

Stabilité de l'échantillon

la stabilité des échantillons et les performances de l'extraction des acides nucléiques dépendent fortement de divers facteurs, tels que le dispositif et la méthode de prélèvement des échantillons, la température de stockage, les cycles

de gel-dégel et les conditions de transport, et sont liées à l'application spécifique en aval. Elle a été établie pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en association avec des applications en aval exemplaires. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi du dispositif de prélèvement d'échantillons spécifique et de l'application en aval spécifique utilisés dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions appropriées.

Les effets de la congélation/décongélation des échantillons de sang traité à l'EDTA sur la purification d'ADN avec le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ont été déterminés. Aucune baisse significative du rendement (voir Figure 3) ou de la performance dans les analyses en aval n'a été observée.

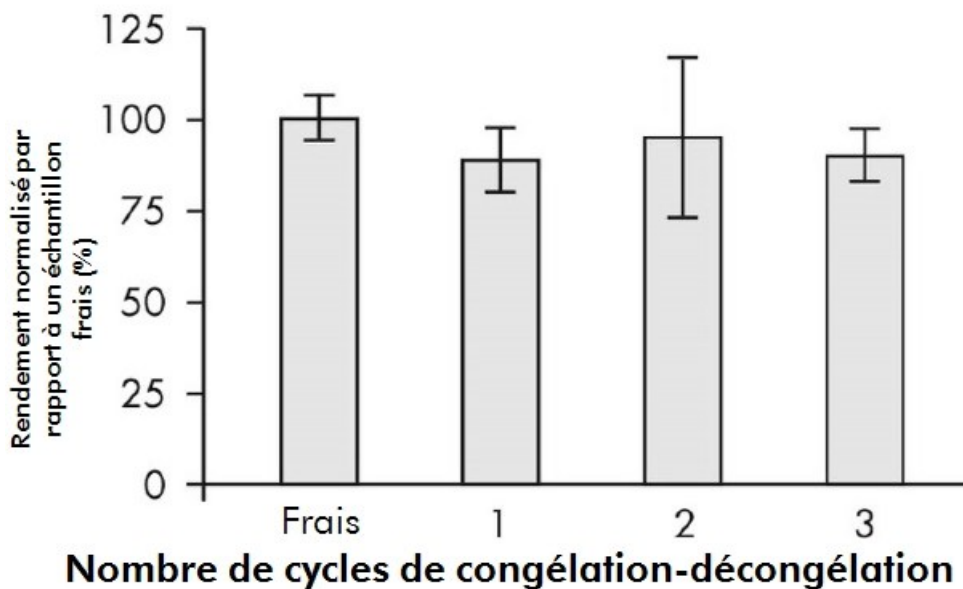


Figure 3. Effets des cycles de congélation-décongélation des échantillons de sang. Du sang traité à l'EDTA a été congelé et décongelé jusqu'à 3 fois, puis soumis à une purification d'ADN à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Les rendements d'ADN calculés ont été normalisés par rapport au rendement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

Stabilité des éluats

La stabilité de l'éluat dépend fortement de divers facteurs et est liée à l'application en aval spécifique. Elle a été évaluée pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit en association avec des applications en aval exemplaires. L'utilisateur est responsable de consulter le mode d'emploi de l'application en aval spécifique utilisée dans son laboratoire et/ou de valider l'ensemble du flux de travail afin de déterminer les conditions de stockage appropriées.

La stabilité de l'éluat pour le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit a été évaluée après extraction des acides nucléiques à partir d'échantillon de sang humain par spectrophotométrie. L'ADN élué a été stocké jusqu'à 4 à 5 semaines entre 2 et 8 °C.

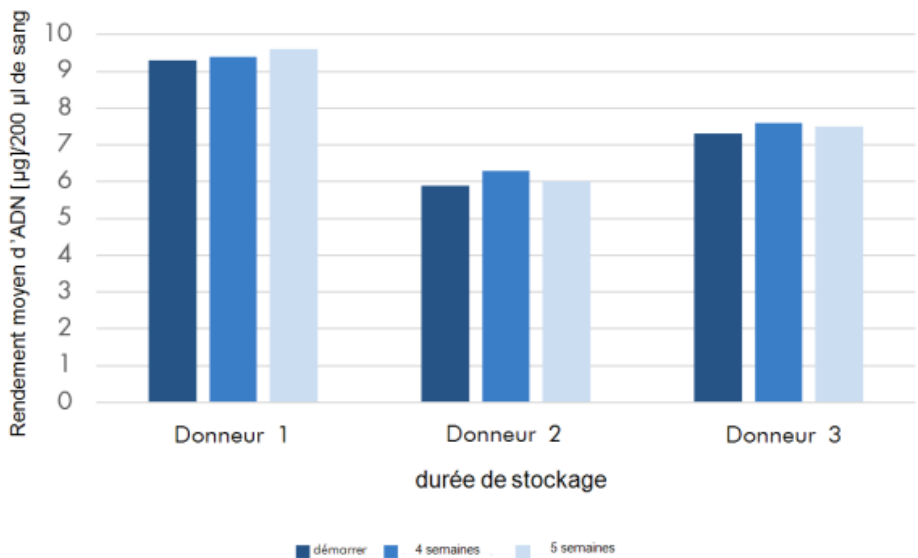


Figure 4. Stabilité de l'ADN génomique purifié stocké entre 2 et 8 °C. L'ADN génomique a été préparé à partir de sang traité à l'EDTA provenant de 3 donneurs différents à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit avec le protocole sous vide et un volume d'élution de 200 µl. 12 répliques de chaque donneur ont été préparées et regroupées après extraction. La teneur en ADN de chaque pool a été déterminée par spectrophotométrie à trois moments : après l'extraction (début), après 4 semaines de stockage entre 2 et 8 °C et après 5 semaines de stockage entre 2 et 8 °C.

Substances interférentes

Différentes substances interférentes exogènes et endogènes potentielles présentes dans les échantillons de sang total de patients ont été dopées dans des échantillons sanguins afin de tester leurs impacts sur les dosages en aval exemplaires après extraction d'ADN génomique à l'aide du QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Les substances potentiellement interférentes les plus courantes pour l'hémolyse (hémoglobine humaine), la lipémie (triglycérides) et la jaunisse (bilirubine non conjuguée) ont été évaluées. En outre, l'effet d'interférence d'une concentration d'anticoagulant K2-EDTA, K3-EDTA et Na2-EDTA trois fois plus élevée que celle déjà présente dans le tube de prélèvement a été évalué. Aucun impact négatif significatif n'a été observé pour ces interférents potentiels et pour environ 20 autres interférents potentiels, tels que les médicaments généralement utilisés, par exemple, pour le traitement du cancer, et donc susceptibles d'être présents dans les échantillons de patients.

L'analyse a été réalisée avec les applications en aval en exemple afin d'évaluer la qualité des acides nucléiques extraits. Cependant, différentes applications en aval peuvent avoir des exigences différentes en ce qui concerne la pureté (c.-à-d., l'absence ou la concentration de substance interférente potentielles). De ce fait, l'identification et le test des substances pertinentes et de leur concentration respective doivent également être établis dans le cadre du développement des applications en aval pour tout flux de travail impliquant le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Toute substance potentiellement interférente (par exemple, médicaments) et la concentration correspondante sont très spécifiques à l'application en aval et aux éventuels traitements médicaux antérieurs d'un patient, elles doivent être examinées avec soin lors de la vérification de l'application en aval avec le QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Conformément à la norme ISO 20186-2:2019(E), l'héparine présente dans les tubes de prélèvement sanguin peut avoir un impact sur la pureté des acides nucléiques isolés et qu'un éventuel transfert dans les éluats pourrait provoquer des inhibitions dans certaines applications en aval. Il est donc recommandé d'utiliser des échantillons sanguins traités avec de l'EDTA ou du citrate comme anticoagulant pour la préparation du plasma.

Contamination croisée

Le risque de contamination croisée pour la purification automatisée des acides nucléiques sur le QIAcube Connect MDx a été analysé en effectuant cinq cycles de 12 échantillons avec des lots en damier alternés (échantillons positifs et négatifs alternés) à l'aide d'un flux de travail QIAamp exemplaire (QIAamp DSP Virus Spin avec des échantillons de plasma et de sérum de 1,00E+07 copies/ml d'un virus à ADN). Une contamination potentielle des échantillons négatifs lors des cycles d'extraction a été évaluée par une analyse ultérieure des éluats avec un dosage real-time PCR interne. Aucune contamination croisée n'a été détectée pour le transfert d'un échantillon à l'autre ou d'un cycle d'exécution à l'autre.

Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et les étiquettes :

Symbole	Définition du symbole
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

Symbole	Définition du symbole
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro
REF	Numéro de référence
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision



Fabricant

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, juin 2022	• Version 3, Révision 1 • Mise à jour de la version 3 pour respecter l'IVDR ○ Déplacement et mise à jour des caractéristiques de performances du manuel du kit à ce document : ○ Déplacement de la section « Rendement de l'ADN purifié » et de la section « Performances dans les dosages en aval » dans la section « Performances de base et compatibilité avec différentes applications en aval » ○ Ajout de la section « Plage d'entrée d'échantillon/sortie d'éluat 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 d'une section « Symboles » ○ Ajout de la section « Historique des révisions »
R2, mai 2026	• Version 3, révision 2 ○ Informations ajoutées sur les aspirats de moelle osseuse ○ Mise à jour de la section « Stabilité de l'échantillon » : ajout d'informations ○ Mise à jour de la section « Stabilité de l'éluat » : ajout de données et d'informations

Pour connaître les dernières informations sur les licences 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 à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques de QIAGEN ou du distributeur local.

Marques commerciales : 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 noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

05/2026 HB-3030-D01-002 © 2026 QIAGEN, tous droits réservés.