



Juni 2022

Bruksanvisning (ytelsesegenskaper) for QIAsymphony[®] DSP DNA Kit

Versjon 2

IVD

Til in vitro-diagnostikk

Til bruk sammen med QIAsymphony DSP DNA Mini Kit og QIAsymphony DSP DNA Midi Kit



REF

937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Ytelsesegenskaper finnes elektronisk under ressursfanen på produktsiden på www.qiagen.com.

Generell innledning

QIASymphony DSP DNA Kit er beregnet på bruk bare i kombinasjon med QIASymphony SP.

QIASymphony DSP DNA Mini Kits gir reagenser for automatisert rensing av totalt DNA fra humant fullblod, buffycoat, vev og formalinfikserte, parafininnstøpte (Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded, FFPE) vevsprøver, samt viralt DNA fra humant fullblod. QIASymphony DSP DNA Midi Kits gir reagenser for helautomatisert rensing av totalt DNA fra humant fullblod og buffycoat. Ytelsesegenskapene til hvert blodprøvetakingsrør eller hver vevstype har imidlertid ikke blitt fastsatt og må godkjennes av brukeren.

Magnetpartikkelteknologi muliggjør rensing av nukleinsyrer av høy kvalitet som er fri for proteiner, nukleaser og andre urenheter. De rensede nukleinsyrene er klare for direkte bruk i nedstrømsapplikasjoner, f.eks. amplifikasjonsreaksjoner (PCR). QIASymphony SP utfører alle trinn i renseprosedyren. Opptil 96 prøver, i partier på opptil 24, behandles i en enkeltkjøring.

I det følgende vises utvalgte ytelsesdata for de forskjellige bruksområdene.

Ytelsesegenskaper

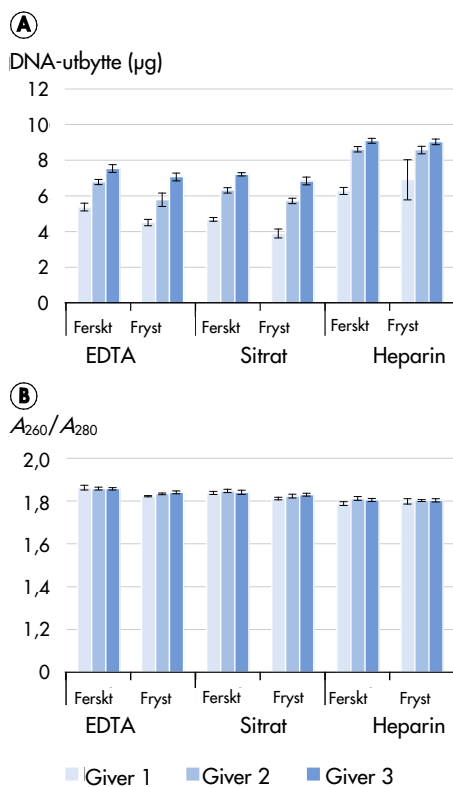
Merk: Ytelsesegenskaper avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. De er fastsatt for QIASymphony DSP DNA Mini og Midi Kits sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Metoder for å isolere nukleinsyrer fra biologiske prøver brukes imidlertid som en første løsning for flere nedstrømsapplikasjoner. Ytelsesparametere som krysskontaminering eller kjøringspresisjon må fastsettes for en slik arbeidsflyt som en del av utviklingen av nedstrømsapplikasjonen. Det er derfor brukerens ansvar å godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede ytelsesparametere.

Grunnleggende ytelse og kompatibilitet med forskjellige nedstrømsapplikasjoner

DNA-blod og buffycoat

DNA-utbytte

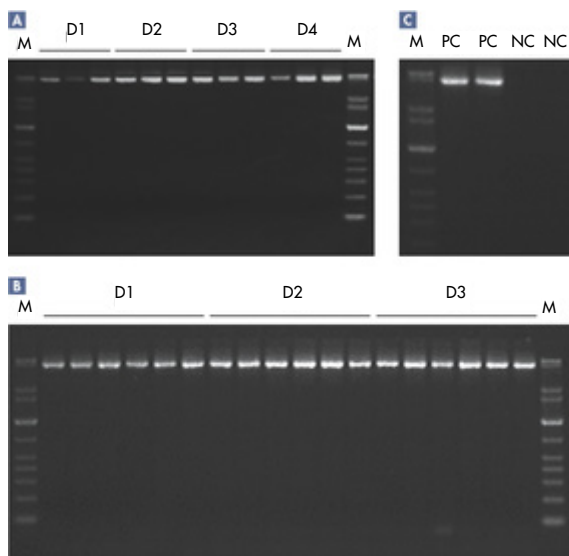
Den grunnleggende ytelsen til QIASymphony DSP DNA Mini Kit ble evaluert ved bruk av ulike prøvetakingsrør og antikoagulanter, samt ferskt og fryst humant fullblod. Fullblod ble tappet fra 3 friske givere (telling av hvite blodlegemer (White Blood Cell, WBC) 4,0 til 11,0 x 10⁶ celler/ml) i 3 forskjellige typer rør: EDTA, 10 ml BD™ Vacutainer® 16 x 100 mm (K2-EDTA); citrate, 2,7 ml Sarstedt® S-Monovette® 9NC Tube 13 x 75 mm (citrate); heparin, 7,5 ml Sarstedt S-Monovette 15 x 92 mm (Li-Heparin). Blod ble brukt enten ferskt (oppbevart ved 2–8 °C) eller fryst (oppbevart ved –20 °C). Genomisk DNA ble rensset fra 200 µl prøver, med 4 replikater per giver og rørtype, ved hjelp av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokoll med et elusjonsvolum på 200 µl. DNA-utbytte og -renhet ble bestemt ved spektroskopisk analyse (figur 1).



Figur 1. DNA-utbytte og -renhet ved bruk av ulike prøvetakingsrør og antikoagulanter med ferskt og fryst humant fullblod. A DNA-utbytte, søylene viser absolutt DNA-utbytte med standardavvik. B DNA-renhet, søylene viser DNA-renhet med standardavvik.

DNA-integritet

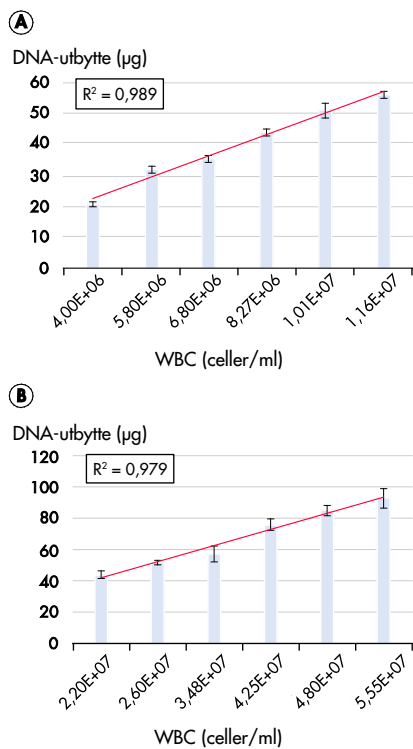
Lang PCR-produkter (5 kb) ble amplifisert ved bruk av LongRange PCR Assay (figur 2).



Figur 2. DNA-integritet testet ved hjelp av lang PCR. M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder. **A** Fullblod ble samlet inn fra 4 friske givere (D) i BD K2E-rør. Genomisk DNA for lang PCR ble renset fra 200 μ l alikvoter i triplikat ved hjelp av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 200 μ l. D1, giver 1; D2, giver 2; D3, giver 3; og D4, giver 4. **B** Fullblod ble tappet fra 3 friske givere i BD K2E-rør, og buffycoat ble klargjort. Genomisk DNA ble renset fra 200 μ l alikvoter i 6 replikater ved hjelp av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Buffy Coat 200 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 200 μ l. D1, giver 1; D2, giver 2; og D3, giver 3. **C** Kontroller: PC, positiv kontroll og NC, negativ kontroll.

Korrelasjon mellom DNA-utbytte og WBC-telling

Ytelsen til QIASymphony DSP DNA Blood- og Buffy Coat-applikasjonene ble evaluert ved bruk av blod- og buffycoatprøver med 6 ulike WBC-tellinger for hver prøvetype. For fullblod var WBC-tellinger i området 4×10^6 celler/ml til $11,6 \times 10^6$ celler/ml, og for buffycoat var tellingene i området $2,2 \times 10^7$ celler/ml til $5,6 \times 10^7$ celler/ml. DNA-utbytte ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse og plottet mot WBC-tellingen (figur 3).



Figur 3. Korrelasjon mellom DNA-utbytte og WBC-telling. **A** Genomisk DNA ble renset fra 1 ml humant fullblod ved bruk av QIASymphony DSP DNA Midi Kit og Blood 1000 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 500 µl. Søylen viser absolutt DNA-utbytte med standardavvik. **B** Genomisk DNA ble renset fra 400 µl buffycoat ved bruk av QIASymphony DSP DNA Midi Kit og Buffy Coat 400 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 400 µl. Søylen viser absolutt DNA-utbytte med standardavvik.

Virusblod

Treffraterstudier ble utført ved å fortenne forhåndskvantisert CMV WHO-standardmateriale i CMV-negativt humant fullblod. En deteksjonsrate på 100 % ble observert for prøver med virusbelastninger på 90 IE av CMV per milliliter (tabell 1).

Tabell 1. Sensitivitet for QIASymphony DSP Virus Blood-applikasjon

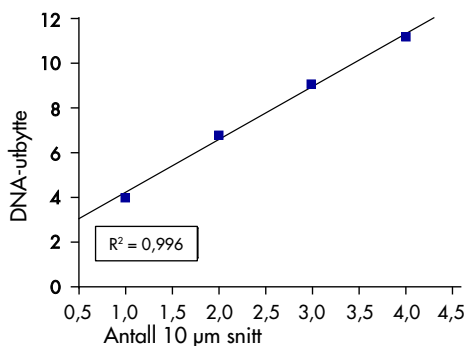
CMV (IE/ml)	Replikater	Treff	Treff (%)
350	18	18	100,00
230	32	32	100,00
115	31	31	100,00
90	32	32	100,00
60	30	24	80,00
30	30	15	50,00
15	30	10	33,33
6	21	5	23,81
2	21	2	9,52
0	15	0	0,00

Humant fullblod ble samlet inn fra 1 frisk CMV-negativ giver i BD K2E-rør og tilsatt CMV WHO-standardmateriale ved bruk av ulike titre. Viralt DNA ble renset ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 60 µl. Eluater ble analysert med en CMV real-time PCR-analyse.

Vev og FFPE-vev

DNA-utbytte

Ytelsen til QIAasymphony DSP DNA FFPE-vevsapplikasjonen ble evaluert ved bruk av 6 replikater på 1–4, 10 µm ferskt FFPE-snitt fra human milt. DNA-ekstraksjon ble utført ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Mini Kit i kombinasjon med DSP-protokollen for lavt vevsinnhold. Parafin fjerning og lysering ble utført ved bruk av xylene-/etanol-forhåndsbehandlingsmetoden. DNA ble eluert i 50 µl elusjonsbuffer, og DNA-utbyttet ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse (figur 4).



Figur 4. Korrelasjon mellom DNA-utbytte og antall FFPE-vevsnitt. Seks replikater av 1–4, 10 µm FFPE-vevsnitt av human milt ble deparafinisert gjennom xylene-/etanol-forhåndsbehandling. DNA-ekstraksjon ble utført på QIAasymphony SP ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Mini Kit i kombinasjon med DSP-protokollen for lavt vevsinnhold og et elusjonsvolum på 50 µl.

Analyse av mutasjonsstatus på biomarkører ved hjelp av real-time PCR

Analyse av mutasjonsstatusen til biomarkører ble utført ved bruk av DNA ekstrahert fra FFPE-snitt av human kolon og DNA ekstrahert fra prøver med humant lungevev.

For DNA-ekstraksjon fra FFPE-vevsprøver ble 3 x 10 µm snitt fra human kolon brukt til prøveklargjøring. DNA-ekstraksjon ble utført ved bruk av Deparaffinization Solution for forhåndsbehandling og DSP-protokoll for lavt vevsinnhold i kombinasjon med et elusjonsvolum på 100 µl. Mutasjonsanalyse av biomarkør KRAS ble utført ved hjelp av en real-time PCR-analyse for KRAS-deteksjon i samsvar med analysehåndboken. C_T-verdier av kontrollanalysen var innenfor det definerte området, og mutasjonsdeteksjonsanalyse viste en aminosyresubstitusjon i kodon 12 demonstrert ved en ΔC_T-verdi på 4,17, som er under den definerte cutoff-verdien på 8 for deteksjon av en 12SER-mutasjon (tabell 2).

Tabell 2. Resultater for FFPE-vev KRAS-biomarkør, mutasjonsanalyse

Prøve	Reaksjon	Mål C _T	Internkontroll C _T	ΔC _T *
Ingen templatkontroll	Kontroll	0,00	32,75	-
	12ALA	0,00	32,65	-
	12ASP	0,00	32,69	-
	12ARG	0,00	32,86	-
	12CYS	0,00	32,35	-
	12SER	0,00	32,76	-
	12VAL	0,00	32,41	-
	13ASP	0,00	32,26	-
Standard	Kontroll	25,95	32,73	-
	12ALA	26,39	32,29	0,44
	12ASP	26,54	32,15	0,59
	12ARG	26,35	32,14	0,40
	12CYS	26,31	32,47	0,36
	12SER	26,50	32,34	0,55
	12VAL	25,80	31,92	-0,15
	13ASP	27,09	32,54	1,14
FFPE-vev (human kolon)	Kontroll	24,94	31,98	-
	12ALA	n.d.	32,42	-
	12ASP	n.d.	32,73	-
	12ARG	n.d.	33,05	-
	12CYS	n.d.	32,74	-
	12SER	29,11	32,34	4,17
	12VAL	n.d.	32,81	-
	13ASP	n.d.	33,20	-

* ΔC_T = M C_T - C C_T, der M = mutasjon og C = kontroll; n.d. = ikke påvist.

For DNA-ekstraksjon fra fryste vevsprøver ble 25 mg human lunge brukt til prøveklargjøring ved bruk av DSP-protokollen for høyt vevsinnholdsprotokoll og et elusjonsvolum på 200 µl. Mutasjonsanalyse av EGFR-biomarkøren ble utført ved hjelp av en real-time PCR-analyse for EGFR. Analyse av kontroll- og mutasjonsdeteksjon ble utført som beskrevet i analysehåndboken. Resultatene avslørte en delesjon innenfor EGFR-genet, slik som demonstrert av en ΔC_T-verdi på 2,47, som er under den definerte cutoff-verdien på 12 for deteksjon av en mutasjon (tabell 3).

Tabell 3. Resultater for fryste vev EGFR-biomarkør, mutasjonsanalyse

Prøve	Reaksjon	Mål C _T	Internkontroll C _T	ΔC _T *
Ingen templatkontroll	Kontroll	0,00	31,71	-
	T790M	0,00	32,36	-
	Delesjoner	0,00	31,75	-
	L858R	0,00	32,05	-
	L861Q	0,00	31,77	-
	G719X	0,00	31,68	-
	S768I	0,00	32,25	-
	Ins	0,00	31,84	-
Standard	Kontroll	28,78	31,05	-
	T790M	30,08	31,13	1,30
	Delesjoner	28,23	31,19	-0,55
	L858R	27,58	30,83	-1,20
	L861Q	27,80	30,86	-0,98
	G719X	27,80	30,90	-0,98
	S768I	29,28	31,41	0,50
	Ins	28,00	31,64	-0,78
Vev (human lunge)	Kontroll	25,76	31,23	-
	T790M	n.d.	31,99	-
	Delesjoner	28,23	30,99	2,47
	L858R	n.d.	31,33	-
	L861Q	n.d.	31,98	-
	G719X	n.d.	32,06	-
	S768I	n.d.	31,88	-
	Ins	n.d.	31,62	-

* $\Delta C_T = M C_T - C C_T$, der M = mutasjon og C = kontroll; n.d. = ikke påvist.

Repeterbarhet og reproduserbarhet

DNA-blod

DNA-ekstraksjon ble utført ved bruk av Blood 200 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 200 µl. Repeterbarhet ble evaluert av en enkelt operatør som utførte 3 uavhengige kjøring (96 prøver hver) på 3 ulike dager, der hver kjøring besto av 4 partier på 24 prøver (tabell 4 og tabell 5).

Reproduserbarhet ble evaluert ved utføring av 3 uavhengige kjøring (96 prøver hver) på 3 ulike dager, av 3 ulike operatører på ulike QIASymphony SP-instrumenter, der hver kjøring besto av 4 partier på 24 prøver (tabell 6 og tabell 7).

Tabell 4. Resultater av repeterbarhetsevaluering

Kjøring	Parti	n	Gj.sn. DNA-utbytte (µg)	SD	CV
1	1	24	5,32	0,22	4,22
	2	24	4,90	0,22	4,54
	3	24	4,95	0,21	4,26
	4	24	5,05	0,18	3,60
2	1	24	5,17	0,30	5,84
	2	24	4,90	0,15	3,14
	3	24	4,82	0,20	4,13
	4	24	4,87	0,17	3,52
3	1	24	5,11	0,17	3,33
	2	24	4,84	0,24	4,91
	3	24	4,87	0,16	3,38
	4	24	4,78	0,16	3,38
Totalt	–	288	4,96	–	–

n = antall replikater; SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient.

Tabell 5. Presisjonsdata for repeterbarhetsevaluering

	SD	CV
Parti til parti innenfor samme kjøring	0,25	4,95
Helhetlig repetisjonsnøyaktighet	0,26	5,18

SD, standardavvik; CV, variasjonskoeffisient.

Tabell 6. Resultater av reproduserbarhetsevaluering

Kjøring	Parti	n	Gj.sn. DNA-utbytte (µg)	SD	CV
1	1	24	5,32	0,22	4,22
	2	24	4,90	0,22	4,54
	3	24	4,95	0,21	4,26
	4	24	5,05	0,18	3,60
2	1	24	5,73	0,22	3,81
	2	24	5,56	0,26	4,63
	3	24	5,40	0,20	3,63
	4	24	5,46	0,21	3,89
3	1	24	5,73	0,26	4,62
	2	24	5,54	0,24	4,40
	3	24	5,41	0,18	3,34
	4	24	5,49	0,17	3,16
Totalt	–	288	5,38	–	–

n = antall replikater; SD = standardavvik; CV = variasjonskoeffisient.

Tabell 7. Presisjonsdata for reproduserbarhetsevaluering

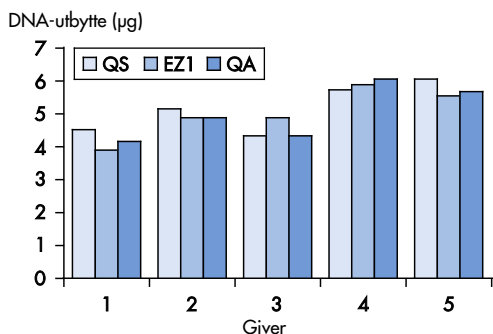
	SD	CV
Parti til parti innenfor samme kjøring	0,25	4,73
Helhetlig repetisjonsnøyaktighet	0,38	7,03

SD, standardavvik; CV, variasjonskoeffisient.

Sammenlignbar ytelse

DNA-blod

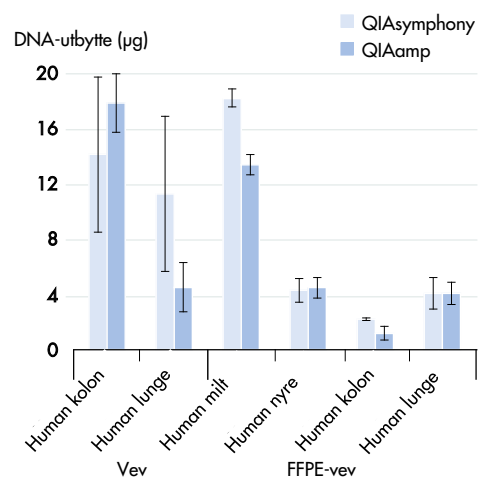
Ytelse ble analysert for QIAasymphony DSP DNA Blood-systemet sammenlignet med EZ1® DSP DNA Blood-systemet og den manuelle klargjøringsprosedyren for QIAamp® DNA Blood Mini Kit. DNA ble renset fra forskjellige blodprøver og analysert for DNA-utbytte (figur 5).



Figur 5. Sammenligning av DNA-utbytte mellom ulike systemer for blod-DNA-rensing. Fullblod ble samlet inn fra 5 friske givere i BD K2E-rør. For alle metoder ble det anvendt prøvetilførselsvolum på 200 µl og elusjonsvolum på 200 µl. QS = QIAasymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokoll; EZ1, EZ1 Advanced XL ved bruk av EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA, QIAamp DNA Blood Mini Kit. Søylene viser absolutt DNA-utbytte for hver prøve.

Vev og FFPE-vev

Ytelsen til QIAasymphony DSP DNA Mini Kit ble sammenlignet med ytelsen til det manuelle QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit og QIAamp DSP DNA Mini Kit ved bruk av henholdsvis FFPE-vev og ferskt og fryst vev som prøvemateriale. Manuelle og automatiske prøveklargjøringer, samt kvantifisering av DNA-utbytte, ble utført samtidig. DNA-utbytte etter ekstraksjon fra ferske/fryste og FFPE-vevsprøver ved bruk av QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit (vev) og QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (FFPE-vev) er vist på figur 6.



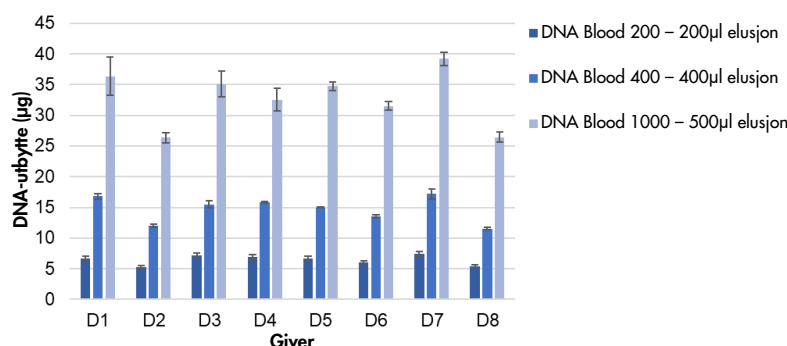
Figur 6. DNA-ekstraksjon fra vev og FFPE-vevsprøver. For ferskt/fryst vev ble prøver fra human lunge og kolon kuttet i 6 x 25 mg stykker. Tre stykker prøver av hver vevstype ble brukt til prøveklargjøring ved bruk av QIAasymphony SP i kombinasjon med DSP-protokollen for høyt vevsinnhold. DNA-ekstrahering fra resterende prøver ble utført ved bruk av QIAamp DSP DNA Mini Kit. DNA ble eluert i 200 µl, og DNA-utbyttet ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse. For DNA-ekstrahering fra FFPE-vev ble 12 replikater som inneholdt 3 x 10 µm FFPE-vevsnitt fra ulike humane organer, klargjort. Seks prøver ble brukt til prøveklargjøring ved bruk av QIAasymphony SP i kombinasjon med forhåndsbehandlingen av Deparaffinization Solution og DSP-protokollen for lavt vevsinnhold. DNA-ekstrahering fra resterende prøver ble utført ved bruk av QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. DNA ble eluert i 50 µl, og DNA-utbyttet ble fastslått ved hjelp av spektroskopisk analyse. Søylene viser absolutt DNA-utbytte med standardavvik.

Prøvetilførsel-/eluatutmatingsområde

DNA-blod

Forskjellige prøvetilførsels- og eluatutmatingsområder for DNA-blodsapplikasjonen ble sammenlignet ved hjelp av prøver fra blodgivere med et WBC-tellingsområde fra $5,0$ til $8,0 \times 10^6$ celler/ml.

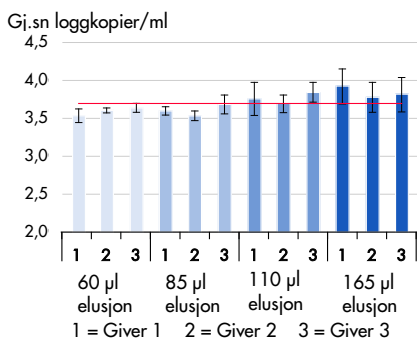
Fullblod ble samlet inn fra 8 friske givere i BD K2E-rør. DNA ble renset fra 6 replikater, hver ved hjelp av QIASymphony DSP DNA Mini/Midi Kit og DNA Blood 200 DSP-protokollen med $200 \mu\text{l}$ elusjonsvolum, DNA Blood 400 DSP-protokollen med $400 \mu\text{l}$ elusjonsvolum og DNA Blood 1000 DSP-protokollen med $500 \mu\text{l}$ elusjonsvolum (figur 7).



Figur 7. Sammenligning av forskjellige prøvetilførsler og elusjonsvolum for blod-DNA-rensingsystemer. Fullblod ble samlet inn fra 8 friske givere i BD K2E-rør. DNA-ekstraksjon ble utført ved hjelp av DNA Blood 200-protokollen med $200 \mu\text{l}$ elusjonsvolum, DNA Blood 400-protokollen med $400 \mu\text{l}$ elusjonsvolum og DNA Blood 1000-protokollen med $500 \mu\text{l}$ elusjonsvolum. DNA-utbytte ble bestemt ved spektroskopisk analyse. Søylene viser absolutt DNA-utbytte (gjennomsnittsverdi med standardavvik) for hver giver.

Virusblod

Fullblod ble tappet fra 3 friske givere, med en WBC-telling fra $4,0$ til $11,0 \times 10^6$ celler/ml, i BD K2E-rør og tilsatt CMV-standardmateriale (titer $3,7$ loggkopier/ml). Viralt DNA ble renset fra 7 replikater, hver ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med 4 ulike elusjonsvolum (figur 8).



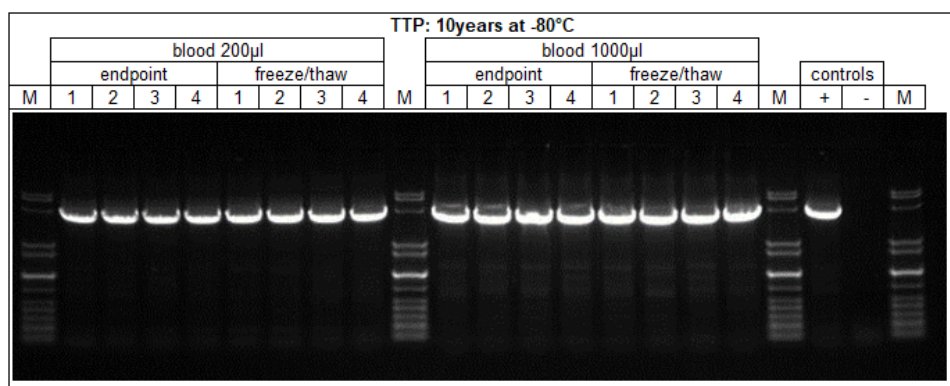
Figur 8. Sammenligning av kvantifisering av viralt DNA for ulike elusjonsvolum. Eluater fra hver donorprøve og elusjonsvolum (60 , 85 , 110 og $165 \mu\text{l}$) ble analysert med en CMV real-time PCR-analyse. Den røde streken representerer måltiteren, og søylene viser gjennomsnittlige loggkopier per milliliter med standardavvik.

Eluatstabilitet

Merk: Eluatstabilitet avhenger mye av forskjellige faktorer og er knyttet til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er fastsatt for QIASymphony DSP Mini og Midi Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å se bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å fastsette egnede oppbevaringsvilkår.

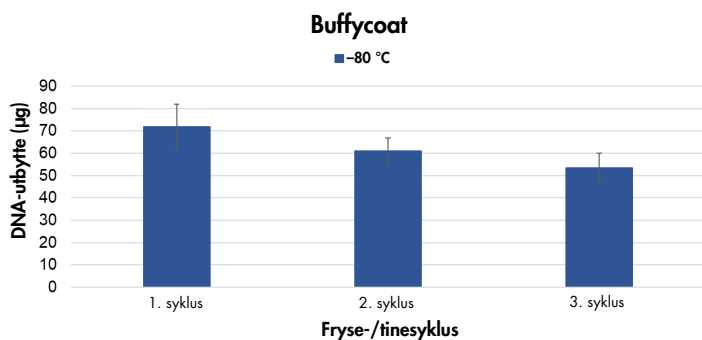
DNA-blod og buffycoat

Eluatstabilitet for DNA-blodapplikasjonen ble testet ved hjelp av eluater fra QS-kjøringer utført med DNA Blood 200-protokollen med 200 µl elusjonsvolum og med DNA Blood 1000-protokollen med 500 µl elusjonsvolum. Eluater ble oppbevart i 2 ml Sarstedt-rør ved romtemperatur, 2–8 °C, –20 °C og –80 °C. DNA-utbytte og -renhet ble bestemt ved spektroskopisk analyse. DNA-integritet ble analysert ved gelelektroforese og en LongRange PCR-analyse (figur 9).



Figur 9. Eluatstabilitet for DNA-blod. DNA-et ble renset ved hjelp av DNA Blood 200 µl- og 1000 µl-protokollene. Eluater er oppbevart ved –80 °C i 2 ml Sarstedt-rør. Fire replikater ble analysert. DNA-integritet ble testet ved lang PCR. Figurene viser resultatene etter oppbevaring i 10 år. M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder.

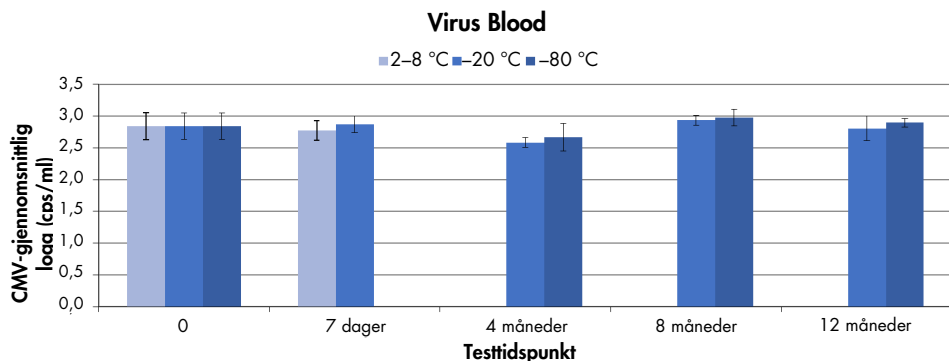
Eluatstabilitet for buffycoatapplikasjonen ble testet ved hjelp av eluater fra QS-kjøringer utført med BC 400 µl-protokollen og 200 µl elusjonsvolum. Eluater ble oppbevart i 2 ml Sarstedt-rør og røstativ for elusjonsmikrorør ved romtemperatur, 2–8 °C, –20 °C og –80 °C. Eluater ble dessuten utsatt for fryse/tine-testing i opptil 3 sykluser (figur 10). DNA-utbytte og -renhet ble bestemt ved hjelp av spektroskopisk analyse. DNA-integritet ble analysert ved gelelektroforese og en LongRange PCR-analyse (50 µl reaksjon).



Figur 10. Eluats fryse/tine-sykluser for buffycoat. DNA-et ble renset ved hjelp av DNA BC 400 µl-protokollen. Buffycoat ble generert fra EDTA-blod. Eluater har vært lagret i 2 ml Sarstedt-rør. DNA-utbyttet ble bestemt på testtidspunktene ved hjelp av samme eluater ved 3 fryse/tine-sykluser. DNA-utbytte ble bestemt ved spektroskopisk analyse. Søylene viser absolutt DNA-utbytte (gjennomsnittsverdi med standardavvik).

Virusblod

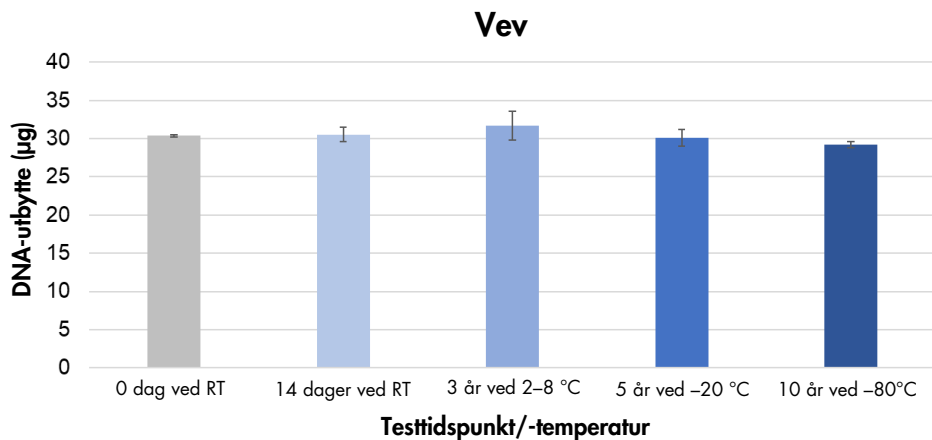
Eluatstabilitet for virusblodapplikasjonen ble testet ved hjelp av eluater fra QS-kjøringer utført med Virus Blood 200-protokollen med 60 µl elusjonsvolum. K₂ EDTA-blod tilsatt kommersiell CMV-standard (titer 2,7 loggkopier/ml) ble brukt som prøvemateriale. Eluater ble oppbevart i 2 ml Sarstedt-rør ved 2–8 °C, –20 °C og –80 °C. Eluater ble analysert ved hjelp av en CMV real-time-analyse (figur 11). I det følgende vises resultater av flere testtidspunkter.



Figur 11. Eluatstabilitet for virusblodapplikasjon. EDTA-blodprøver tilsatt kommersiell CMV-standard ble renset med Virus Blood 200-protokollen. Eluater er oppbevart ved flere temperaturer i rørstativer med elusjonsmikrorør og 2 ml Sarstedt-rør. Iht. testtidspunkt ble 4 replikater analysert. Søylen viser CMV-titeren (gjennomsnittlig loggverdi med standardavvik).

Vev

Eluatstabilitet for vevsapplikasjonen ble testet ved hjelp av Tissue HC 200 µl-protokollen og 200 µl elusjonsvolum. Fersk bovin lever ble brukt som prøvemateriale. Eluater ble oppbevart i 2 ml Sarstedt-rør og rørstativ for elusjonsmikrorør ved romtemperatur, 2–8 °C, –20 °C og –80 °C. DNA-utbytte og -renhet ble bestemt ved spektroskopisk analyse (figur 12). DNA-integritet ble analysert ved gelelektroforese.

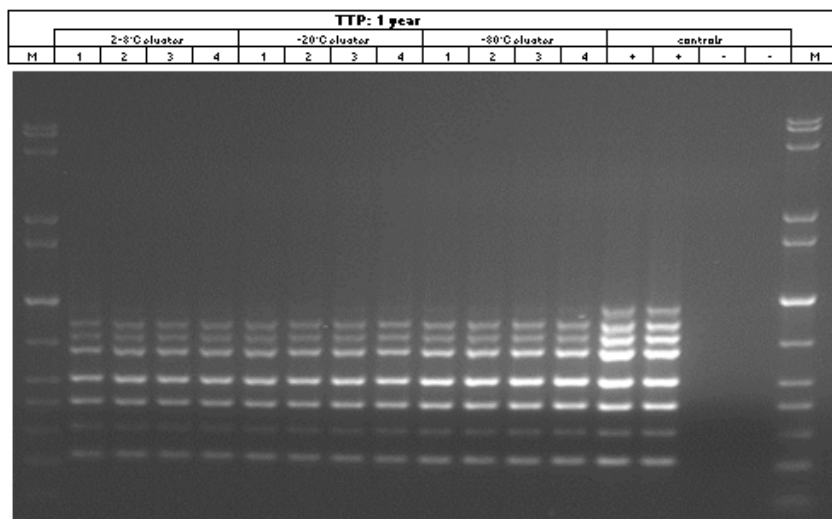


Figur 12. Eluatstabilitet for vev. DNA-et ble renset ved hjelp av DNA Tissue HC-protokollen med 200 µl elusjonsvolum. Fersk bovin lever ble brukt som prøvemateriale. Eluater er oppbevart ved flere temperaturer i rørstativer med elusjonsmikrorør og 2 ml Sarstedt-rør. Iht. testtidspunkt ble 4 replikater analysert. DNA-utbytte ble bestemt ved spektroskopisk analyse. Søylen viser absolutt DNA-utbytte (gjennomsnittsverdi med standardavvik).

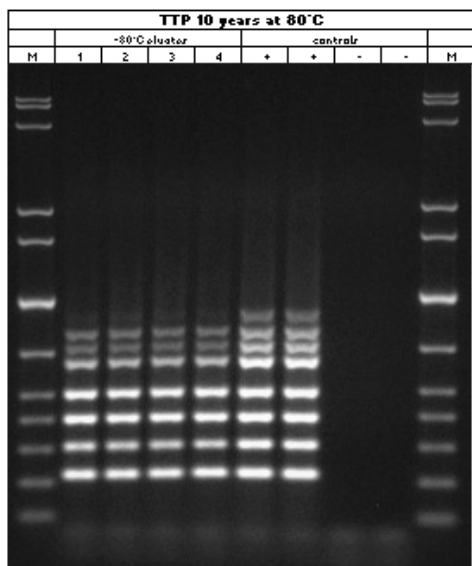
FFPE-vev

Eluatstabilitet for the FFPE-vevsapplikasjon ble testet ved hjelp av Tissue LC 200 µl-protokollen og 100 µl elusjonsvolum. Kommersielt humant FFPE-vev ble brukt som prøvemateriale. Eluater ble oppbevart i 2 ml Sarstedt-rør og rørstativer for elusjonsmikrorør ved romtemperatur, 2–8 °C, –20 °C og –80 °C. Eluater ble analysert med en intern human 8-plekset PCR-analyse (figur 13). I det følgende vises resultater av to testtidspunkter.

A:



B:



Figur 13. Eluatstabilitet for FFPE-vev. DNA-et ble renset ved hjelp av DNA Tissue LC-protokollen. Kommersielt FFPE-vev ble brukt som prøvemateriale. Eluater er oppbevart ved flere temperaturer i rørstativer med elusjonsmikrorør og 2 ml Sarstedt-rør. Iht. testtidspunkt ble 4 replikater analysert. Eluater ble analysert ved hjelp av internt human 8-plekset PCR-analyse.

Interfererende stoffer

Effekten av hemmende stoffer, som kan finnes i fullblod, på DNA-blodapplikasjonens, virusblodapplikasjonens og vevsapplikasjonens ytelse, ble testet ved å tilsette følgende stoffer:

Tabell 8. Potensielle interfererende stoffer som testes for de forskjellige bruksområdene

Interfererende stoffer	Konsentrasjon	Blod	Virusblod	Vev
Bilirubin	200 mg/l	√	√	√
Hemoglobin	200 g/l	√	√	
Triglyserider	30 g/l	√	√	√
Protein	120 g/l	√	√	√

Merk: «√» angir hvilke prøvematerialer som ble testet for respektive potensielle interfererende stoff.)

For hemoglobin (200 g/l) og protein (120 g/l) ble eksisterende nivåer i blodprøven fastslått, og ytterligere hemoglobin eller protein ble tilsatt for å oppnå de indikerte konsentrasjonene, henholdsvis 200 eller 120 g/l. For bilirubin (200 mg/l) og triglyserider (30 g/l) ble den totale mengden av hvert stoff tilsatt i prøvene for å oppnå de indikerte konsentrasjonene.

For vev ble samlet antall av hvert stoff tilsatt direkte i lysatene. Ingen bestemmelse for bilirubin, triglyserid eller proteinkonsentrasjon av den benyttede vevsprøven ble utført.

Potensielle interfererende stoffer (f.eks. legemidler) og tilsvarende konsentrasjon er svært spesifikk for nedstrømsapplikasjonen og mulige tidligere medisinske behandlinger hos en pasient og må undersøkes under kontroll av slik nedstrømsapplikasjon ved hjelp av QIASymphony DSP DNA Mini og Midi Kit.

Merk: Testing ble utført ved hjelp av eksempler på nedstrømsapplikasjoner for å vurdere kvaliteten på de ekstraherte nukleinsyrene. Forskjellige nedstrømsapplikasjoner kan imidlertid ha forskjellige krav med hensyn til renhet (dvs. fravær eller konsentrasjon av potensielle interfererende stoffer), så identifisering og testing av relevante stoffer og respektive konsentrasjoner må også fastsettes som en del av utviklingen av nedstrømsapplikasjonen for arbeidsflyt som omfatter QIASymphony DSP Mini og Midi Kits.

Merk: Merk at det under utvikling av QIASymphony DSP DNA Midi Kit ikke ble sett indikasjoner på at heparin har en negativ påvirkning på ytelsen. ISO 20186-2:2019(E) angir imidlertid at heparin fra blodprøvetakingsrør kan påvirke de isolerte nukleinsyrenes renhet, og mulig medrivning over i eluater kan forårsake hemninger i noen nedstrømsapplikasjoner. Det er derfor brukerens ansvar å godkjenne om heparin påvirker arbeidsflyten negativt.

DNA-blod og buffycoat

For DNA-blodsapplikasjoner ble det utført testing ved hjelp av DSP DNA 1000-protokollen, som dekker det høyeste prøvetilførselsvolumet ved hjelp av 200 og 500 µl elusjonsvolum.

Eluater ble analysert ved spektroskopisk analyse for DNA-utbytte og -renhet. PCR-kompatibilitet ble testet ved hjelp av en real-time PCR- og en endepunkts-PCR-analyse.

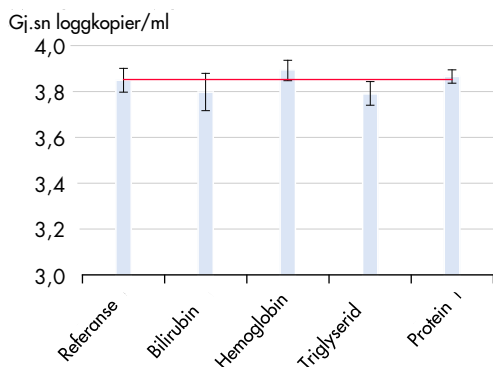
Ingen av stoffene i tabell 9 er interfererende. Blodprøver med høye konsentrasjoner av triglyserider (> 30 g/l) kan imidlertid føre til redusert gDNA-utbytte.

Virusblod

For virusblodapplikasjonen ble testing utført ved hjelp av DSP Virus Blood 200-protokollen med 60 µl elusjonsvolum. CMV-negative blodprøver ble tilsatt 500 kopier/ml (lav konsentrasjon) og 1×10^4 kopier/ml (høy konsentrasjon, figur 14) av en kommersiell CMV-standard.

Eluater ble analysert med en CMV real-time PCR-analyse.

Ingen av stoffene i tabell 9 er interfererende. Blodprøver med høye konsentrasjoner av triglyserider (> 30 g/l) kan imidlertid føre til en redusert rensing av viralt DNA.



Figur 14. Test av hemmende stoffer. Fullblod ble samlet inn fra 1 frisk donor i BD K2E-rør og tilsatt CMV-standardmateriale (titer 4,0 loggkopier/ml). Fem prøver ble testet ved å tilsette potensielle hemmere, og viralt DNA ble rensert fra 4 replikater av hver prøve ved bruk av QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med et elusjonsvolum på 165 µl. Eluater ble analysert med en CMV real-time PCR-analyse. Den røde streken representerer den fastslåtte titeren for referanseprøver, som ikke ble tilsatt hemmende stoffer, og søylene viser gjennomsnittlige loggkopier per milliliter med standardavvik.

Vev

For DNA-vev (fersk og fryst) ble testing utført ved hjelp av DSP DNA HC-protokollen ved hjelp av 200 µl elusjonsvolum.

Eluater ble analysert ved spektroskopisk analyse for DNA-utbytte og -renhet. PCR-kompatibilitet ble testet ved hjelp av en real-time PCR-analyse.

Ingen av stoffene i tabell 9 ble påvist å ha en negativ påvirkning på prøveklargjøringen.

FFPE-vev

For FFPE-vev ble testing utført ved hjelp av DSP DNA LC-protokollen ved hjelp av 50 µl elusjonsvolum.

Stoffene (se tabell 9) ble lagt til direkte i lysatet.

Tabell 9. Potensielle interfererende stoffer som testes for de forskjellige bruksområdene

Interfererende stoffer	Konsentrasjon i lysat
Xylen	Opptil 11 %
Etanol	Opptil 11 %
Deparaffinization Solution	Opptil 11 %
Parafin	0,1 µm snitt

Eluater ble analysert ved spektroskopisk analyse for DNA-utbytte og -renhet. PCR-kompatibilitet ble testet ved hjelp av en real-time PCR- samt en intern human 8-plekset PCR-analyse.

Ingen av stoffene i tabell 9 ble påvist å ha en negativ påvirkning på prøveklargjøringen.

Krysskontaminering





DNA-blod

Risikoen for krysskontaminering av QIASymphony DNA-blodapplikasjonen ble analysert ved å utføre fire 96-prøvekjøringer på QIASymphony SP-instrumentet med vekslende sjakkbrettpartier (vekselvis positive og negative prøver), avbrutt av helt negative partier. Blod fra menn (som inneholder en WBC-telling på $\geq 1,0 \times 10^7$ celler/ml, og blod fra kvinner som inneholder en WBC-telling mellom $4,0 \times 10^6$ og 9×10^6 celler/ml), ble brukt som modellsystem. Prøveklargjøring ble utført ved hjelp av Blood 1000 µl-protokollen, som dekker det høyeste prøvevolumet. En potensiell kontaminering av negative prøver fra kvinner under ekstraksjonskjøringene ble evaluert ved etterfølgende analyse av eluatene ved hjelp av en real-time PCR for Y-kromosomet.

Ingen krysskontaminering ble oppdaget for carryover fra prøve til prøve, eller parti til parti eller kjøring til kjøring.

Symboler

Følgende symboler vises i dette dokumentet. En fullstendig liste over benyttede symboler i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen finnes i håndboken.

Symbol	Symboldefinisjon
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Produsent

Endringshistorikk

Revisjon	Beskrivelse
R1, juni 2022	Versjon 2, revisjon 1 <ul style="list-style-type: none">• Oppdatering til versjon 2 for samsvar med IVDR• Avsnitt for Interfererende stoffer, Krysskontaminering, Eluatstabilitet og Kompatibilitet med nedstrømsapplikasjoner satt inn

Oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser finnes i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-sett. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAamp®, EZ1®, UltraRun® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet av lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

06/2022 HB-3029-D01-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.

