



Juni 2022

# Bruksanvisning (ytelsesegenskaper) for QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit

Versjon 3

**IVD**

Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk sammen med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



**REF**

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Ytelsesegenskaper er tilgjengelig elektronisk og ligger under fanen for ressurser på produktsiden til [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Generell innledning

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit bruker en silikamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til isolasjon og rensing av genomisk DNA fra biologiske prøver.

QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene, som er designet for simultan behandling av flere blodprøver, gir rent DNA som er klart til bruk. Prosedyrene egner seg for bruk med ferskt eller frossent fullblod og blod som har blitt behandlet med citrat eller EDTA.

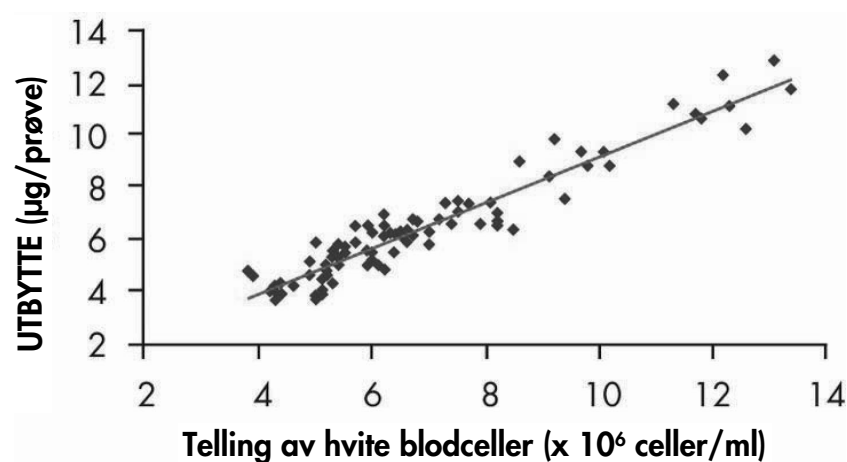
De enkle spinn- og vakuumprosedyrene til QIAamp DSP egner seg for simultan behandling av flere prøver. Noen av spinnprosedyrene til QIAamp kan helautomatiseres på QIAcube® Connect MDx for økt standardisering og brukervennlighet. QIAcube Connect MDx utfører automatisert isolering og rensing av nukleinsyrer. Det kan behandle opptil 12 prøver per enkeltkjøring.

## Ytelseegenskaper

**Merk:** Ytelseegenskaper avhenger sterkt av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Ytelseegenskaper er fastsatt for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Imidlertid brukes metoder for å isolere nukleinsyrer fra biologiske prøver som en "front-end" for flere nedstrømsapplikasjoner, og ytelsesparametere som krysskontaminering eller kjøringspresisjon må etableres for en slik arbeidsflyt som en del av utviklingen av nedstrømsapplikasjonen. Derfor er det brukerens ansvar å godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede ytelsesparametere.

### Grunnleggende ytelse og kompatibilitet til ulike nedstrømsapplikasjoner

Den grunnleggende ytelsen til QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumprosedyren har blitt fastslått for blod fra friske givere med tellinger av hvite blodceller på  $3,8 \times 10^6$  til  $1,34 \times 10^7$  celler/ml (se figur 1).



**Figur 1. Observert utbytte ved bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumprosedyren med elusjonsvolum på 200 µl.** Tellinger av hvite blodceller fra friske givere ble fastslått og lå innenfor området  $3,8 \times 10^6$  til  $1,34 \times 10^7$  celler/ml. DNA ble renset fra blodprøver ved bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini-vakuumprosedyren med et elusjonsvolum på 200 µl. 87 triplikatprøver ble behandlet.

Mengden DNA som renses i QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene, avhenger av innholdet av hvite blodceller i hver blodprøve. Ved bruk av spinn- eller vakuumprosedyren renses genomisk DNA fra 200 µl blodprøver fra friske givere. Flere ulike primærrør og antikoagulanter kan brukes til å ta blodprøver for QIAamp DSP DNA Blood Mini-prosedyrene (tabell 1).

Tabell 1. Gjennomsnittlige relative DNA-resultater fra blodprøver innhentet ved bruk av ulike primærrør og antikoagulanter

Primærrør	Produsent	Kat.nr.	Nominelt volum	Gj.snitt. resultat*
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

Genomisk DNA ble rensset fra 200 µl blodprøver fra friske givere (4,0 til 9,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml).

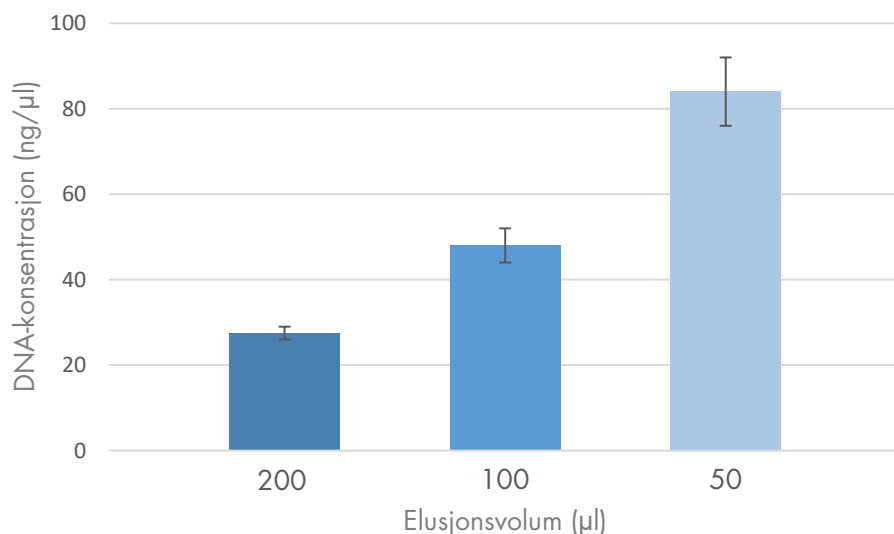
\* For hvert primærrør bestemmes gjennomsnittresultatet fra 11 triplikatprøver.

Eluert genomisk DNA er klart til bruk i ulike nedstrømsanalyser.

## Prøvetilførsel-/eluatutmatingsområde og DNA-renhet

Ulike elusjonsvolum kan velges for genomisk DNA-isolering fra 200 µl fullblod. Når det gjelder den manuelle prosedyren, varierer elusjonsvolumene fra 50 til 200 µl. Når det gjelder den helautomatiske spinnarbeidsflyten, er 100 og 200 µl mulig elusjonsvolum, og for den delvis automatiske spinnarbeidsflyten (etter manuell lysing) er 100–200 µl (i trinn på 10 µl) mulige elusjonsvolum. Lavere elusjonsvolum øker den endelige DNA-konsentrasjonen i eluatet, men reduserer DNA-utbyttet noe. Vi anbefaler å bruke et elusjonsvolum egnet for den tiltenkte nedstrømsapplikasjonen.

Effekten av ulike elusjonsvolum på den totale DNA-konsentrasjonen er vurdert. Figur 2 viser en økning i DNA-konsentrasjon i eluatene ved reduksjon av elusjonsvolumet.



Figur 2. DNA-konsentrasjon oppnådd etter DNA-isolering fra fullblod ved bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit med ulike elusjonsvolum. Hver søyle på grafen representerer resultatene fra 32 replikater (gjennomsnitt ± standard avvik).

I tillegg, som en indikator for DNA-renhet, ble forholdet mellom absorbans ved 260 og 280 nm målt for de ulike testede elusjonsvolumene. Det ble ikke observert noen forskjell mellom ulike elusjonsvolum, og totalt sett indikerte gjennomsnittsforskjell en lav proteinkontaminering.

## Presisjon

Variasjonskoeffisienter (Coefficients of Variations, CV) ble bestemt for automatisert ekstraksjon av humant genomisk DNA fra fullblod ved hjelp av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit på QIAcube Connect MDx. Totalt DNA-utbytte ble bestemt med OD-måling.

Repeterbarhet (variasjon i kjøring for én rensingsprosedyre) og presisjon (variasjon mellom ulike kjøring med rensingsprosedyre med ulike operatører, på ulike instrumenter og på ulike dager) ble bestemt. Presisjonsdataene er vist i tabell 2.

Tabell 2. Analyse av presisjonsestimater

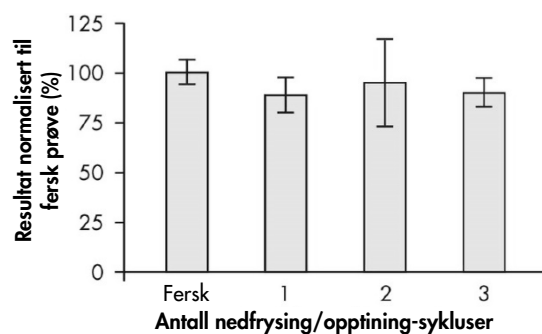
Presisjon	VK (%)
Intermediær presisjon	1,65
Repeterbarhet	6,09
Total presisjon	6,24

For den manuelle vakuumprosedyren ble gjennomsnittlig utbytte og variasjonskoeffisienter bestemt og evaluert for å vurdere presisjon, repeterbarhet og reproducerbarhet mellom kjøring. I tillegg ble DNA-integritet og ytelse i en intern real-time PCR-analyse analysert.

## Prøvestabilitet

Merk: Prøvestabilitet avhenger sterkt av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Den har blitt evaluert med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen som brukes på det aktuelle laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsbetingelser.

Virkningene av nedfrysing og tining av EDTA-behandlede blodprøver på DNA-rensingen ved bruk av QIAamp DSP DNA EDTA Blood Mini Kit har blitt fastsatt. Ingen signifikant reduksjon av utbytte (se figur 3) eller ytelse i nedstrømsanalyser ble observert.



**Figur 3. Virkninger av nedfrysing og optining av blodprøver.** EDTA-behandlet blod ble nedfrost og opptint inntil 3 ganger og deretter utsatt for DNA-rensing ved bruk av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. De beregnede DNA-resultatene er normalisert til resultatet fra fersk prøve (100 %). Hver søyle på grafen representerer resultatene fra 32 replikater (gjennomsnitt ± standard avvik).

## Eluatstabilitet

**Merk:** Eluatstabilitet avhenger sterkt av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er vurdert for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke bruksanvisningen for den spesifikke nedstrømsapplikasjonen som brukes på det aktuelle laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsbetingelser.

Eluatstabilitet for QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit ble evaluert etter ekstraksjon av nukleinsyre fra humant blod med spektrofotometri og en intern real-time PCR-analyse. Tint DNA kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 4 uker. Ved langtidsoppbevaring anbefaler vi oppbevaring ved –20 °C.

## Interfererende stoffer

Ulike potensielle eksogene og endogene interfererende stoffer som finnes i pasientens fullblod, ble tilsatt blodprøver for å teste påvirkningen på eksempler på nedstrømsanalyser etter gDNA-isolering med QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Vanlige relevante potensielt interfererende stoffer for hemolyse (humant hemoglobin), lipemi (triglyserider) og gulsott (ukonjugert bilirubin) ble evaluert. Den interfererende effekten av tre ganger høyere K2-EDTA-, K3-EDTA- og Na2-EDTA-konsentrasjoner som antikoagulant enn det som allerede var til stede i prøvetakingsrøret, ble også vurdert. Ingen signifikant negativ påvirkning ble observert for disse potensielle interferentene og for omtrent 20 andre potensielle interferenser, f.eks. vanlige legemidler som brukes, til for eksempel kreftbehandling, og er derfor sannsynlig at vil bli funnet i pasientprøver.

**Merk:** Testing ble utført sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner for å vurdere kvaliteten på de ekstraherte nukleinsyrene. Ulike nedstrømsapplikasjoner kan imidlertid ha forskjellige krav med hensyn til renhet (dvs. fravær av eller konsentrasjon av potensielt interfererende stoffer), slik at identifisering og testing av relevante stoffer og aktuell konsentrasjon også må etableres som en del av nedstrømsapplikasjonsutviklingen for enhver arbeidsflyt som omfatter QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Eventuelle potensielt interfererende stoffer (f.eks. legemidler) og tilsvarende konsentrasjon er svært spesifikke for nedstrømsapplikasjonen og mulig tidligere medisinsk behandling av en pasient, og dette må undersøkes under verifisering av en slik nedstrømsapplikasjon ved hjelp av QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Merk: I henhold til ISO 20186-2:2019(E) kan heparin fra blodprøvetakingsrør påvirke renheten til de isolerte nukleinsyrene, og mulig medrivning over i eluater kan forårsake hemming i enkelte nedstrømsapplikasjoner. Derfor anbefaler vi bruk av blodprøver behandlet med EDTA eller sitrat som antikoagulant for plasmaklargjøring.

## Krysskontaminering

Risikoen for krysskontaminering for automatisert rensing av nukleinsyre på QIAcube Connect MDx ble analysert ved å utføre fem kjøringene av 12 prøver med vekslende partier med sjakkbrettmønster (veksling av positive og negative prøver). Et eksempel på QIAamp-arbeidsflyt (QIAamp DSP Virus Spin sammen med plasma- og serumprøver på 1,00E+07 kopier/ml av et DNA-virus). En potensiell kontaminering av de negative prøvene under ekstraksjonskjøringene ble vurdert ved påfølgende analyse av eluatene ved bruk av en intern real-time PCR-analyse. Ingen krysskontaminering ble påvist for medrivning fra prøve til prøve eller kjøring til kjøring.

## Symboler

Følgende symboler vises i dette dokumentet. I håndboken finner du en fullstendig liste over symboler som er brukt i bruksanvisningen, på emballasjen eller merkingen.

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	<p>Versjon 3, revisjon 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Oppdatering til versjon 3 for samsvar med IVDR</li><li>• Overføring og oppdatering av ytelsesegenskaper fra settets håndbok til dette dokumentet:<ul style="list-style-type: none"><li>○ Overføring av avsnittene Utbytte av rensed DNA og Ytelse i nedstrømsanalyse under Grunnleggende ytelse og kompatibilitet til avsnittet om ulike nedstrømsapplikasjoner</li><li>○ Innsetting av avsnittet Prøvetilførsel-/eluatutmatingsområde og DNA-renhet</li><li>○ Innsetting av avsnittet Presisjon</li><li>○ Oppdatering av avsnittet Eluatstabilitet</li><li>○ Innsetting av avsnittet Prøvestabilitet</li><li>○ Innsetting av avsnittet Interfererende stoffer</li><li>○ Innsetting av avsnittet Krysskontaminering</li><li>○ Innsetting av avsnittet Symboler</li><li>○ Innsetting av avsnittet Revisjonshistorikk</li></ul></li></ul>

Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan fås på forespørsel fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: 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);. Registrerte navn, varemerker, osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.  
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.



