



Juni 2022

# Brugsanvisning til QIASymphony<sup>®</sup> DSP DNA Kit (ydelseskarakteristika)

Version 2



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug sammen med QIASymphony DSP DNA Mini Kit og QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Ydelseskarakteristika er tilgængelige i digital form og kan findes på fanen Resource på siden Product på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Generel introduktion

QIAasymphony DSP DNA Kits er kun beregnet til at blive anvendt i kombination med QIAasymphony SP.

QIAasymphony DSP DNA Mini Kits indeholder reagenser til automatiseret oprensning af totalt DNA fra humant helblod, buffy coat, væv og formalinfikserede, paraffinindstøbte (FFPE) vævsprøver samt viralt DNA fra humant helblod. QIAasymphony DSP DNA Midi Kits indeholder reagenser til automatiseret oprensning af totalt DNA fra humant helblod og buffy coat. Ydelseskarakteristika for hvert blodprøvetagningsrør eller hver vævstype er dog ikke blevet fastlagt og skal valideres af brugeren.

Magnetpartikelteknologi muliggør oprensning af nukleinsyrer af høj kvalitet, der er fri for proteiner, nukleaser og andre urenheder. De oprensede nukleinsyrer bruges direkte i efterfølgende anvendelser, såsom amplifikation og andre enzymreaktioner. (PCR). QIAasymphony SP udfører alle trin i oprensningsproceduren. Der behandles op til 96 prøver i batches af op til 24 i en enkelt kørsel.

I det følgende vises udvalgte ydelsesdata for de forskellige anvendelser.

# Ydelseskarakteristika

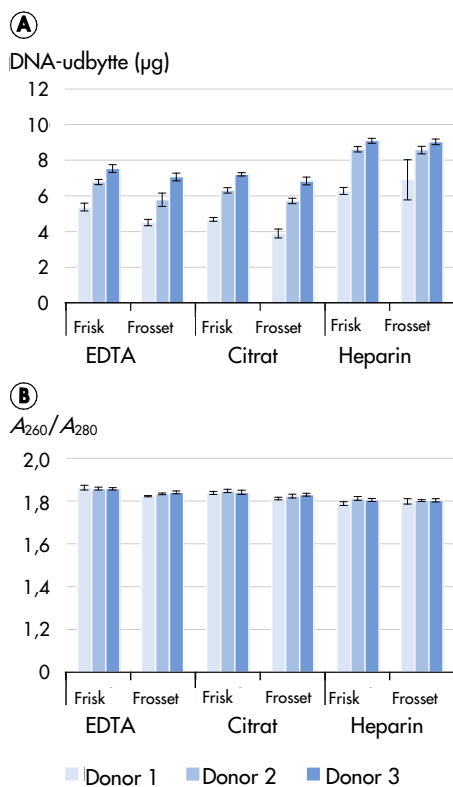
Bemærk: Ydelseskarakteristika afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. De er blevet fastlagt for QIASymphony DSP DNA Mini og Midi Kits i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Metoder til isolering af nukleinsyrer fra biologiske prøver bruges dog som front-end for flere efterfølgende anvendelser. Ydelsesparametre såsom krydskontaminering eller kørselspræcision skal etableres for enhver sådan arbejdsgang som en del af udviklingen af den efterfølgende anvendelse. Derfor er det brugerens ansvar at validere hele arbejdsgangen for at etablere passende ydelsesparametre.

## Grundlæggende ydelse og kompatibilitet med efterfølgende anvendelser

### DNA-blod og buffy coat

#### DNA-udbytte

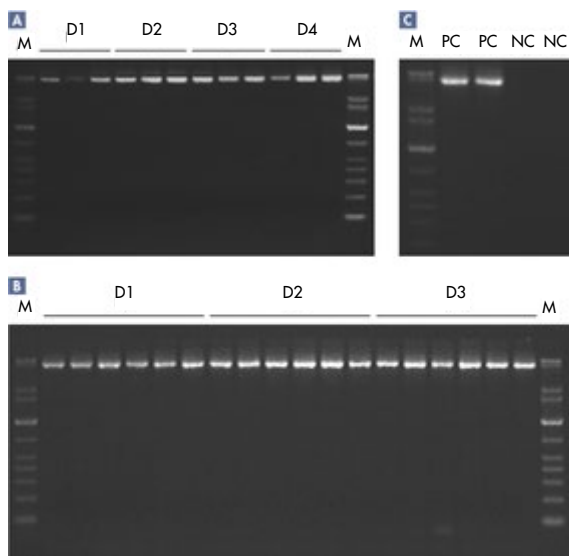
Grundydelsen for QIASymphony DSP DNA Mini Kit blev evalueret ved hjælp af forskellige prøvetagningsrør og antikoagulanter samt frisk og frosset humant helblod. Helblod blev indsamlet fra 3 raske donorer (leukocytælling  $4,0$  til  $11,0 \times 10^6$  celler/ml) i 3 forskellige typer rør. EDTA, 10 ml BD™ Vacutainer® 16 x 100 mm (K2-EDTA); citrat, 2,7 ml Sarstedt® S-Monovette® 9NC Tube 13 x 75 mm (citrat); heparin, 7,5 ml Sarstedt S-Monovette 15 x 92 mm (Li-heparin). Blod blev anvendt enten frisk (opbevaret ved 2-8 °C) eller frosset (opbevaret ved -20 °C). Genomisk DNA blev oprenset fra 200 µl-prøver med 4 replikater pr. donor og rørtype vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 200 µl. DNA-udbytte og -renhed blev bestemt vha. spektroskopisk analyse (figur 1).



**Figur 1. DNA-udbytte og -renhed vha. forskellige prøvetagningsrør og antikoagulanter med frisk og frosset humant helblod. A** DNA-udbytte. Bjælker viser det absolutte DNA-udbytte med standardafvigelse. **B** DNA-renhed. Bjælker viser den absolutte DNA-renhed med standardafvigelse.

## DNA-integritet

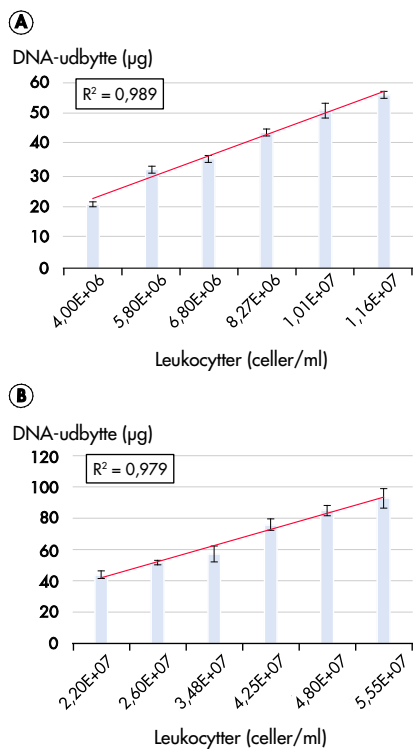
Langtrækkende PCR-produkter (5 kb) blev forstærket med en LongRange PCR-analyse (figur 2).



**Figur 2. DNA-integritet testet med langtrækkende PCR.** M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder. **A** Helblod blev indsamlet fra 4 raske donorer (D) i BD K2E-rør. Genomisk DNA til langtrækkende PCR blev oprenset fra 200- $\mu$ l alikvoter tre gange vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 200  $\mu$ l. D1, donor 1; D2, donor 2; D3, donor 3; og D4, donor 4. **B** Helblod blev indsamlet fra 3 raske donorer i BD K2E-rør, og buffy coat blev klargjort. Genomisk DNA blev oprenset fra 200- $\mu$ l alikvoter med 6 replikater vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit og buffy coat 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 200  $\mu$ l. D1, donor 1; D2, donor 2; og D3, donor 3. **C** Kontroller: PC, positiv kontrol; og NC, negativ kontrol.

## Korrelation mellem DNA-udbytte og leukocytælling

Ydelsen for QIASymphony DSP DNA Blood- og buffy coat-anvendelserne blev evalueret vha. blod- og buffy coat-prøver med 6 forskellige leukocytællinger for hver prøvetype. For helblod gik leukocytællingerne fra  $4 \times 10^6$  celler/ml til  $11,6 \times 10^6$  celler/ml, og for buffy coat gik tællingerne fra  $2,2 \times 10^7$  celler/ml til  $5,6 \times 10^7$  celler/ml. DNA-udbytter blev bestemt vha. spektroskopisk analyse og plottet i forhold til leukocytællingen (figur 3).



**Figur 3. Korrelation mellem DNA-udbytte og leukocytælling.** A Genomisk DNA blev oprenset fra 1 ml humant helblod vha. QIAsymphony DSP DNA Midi Kit og blood 1000 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 500 µl. Bjælker viser det absolutte DNA-udbytte med standardafvigelse. B Genomisk DNA blev oprenset fra 400 µl buffy coat vha. QIAsymphony DSP DNA Midi Kit og buffy coat 400 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 400 µl. Bjælker viser det absolutte DNA-udbytte med standardafvigelse.

## Virusblod

Studier af træfprocenter blev udført ved at fortynde prækvantificeret CMV WHO-standardmateriale i CMV-negativt humant helblod. En detektionsrate på 100 % blev iagttaget for prøver med virale belastninger på 90 IE CMV pr. milliliter (tabel 1).

Tabel 1. Sensitivitet af QIAsymphony DSP Virus Blood-anvendelse

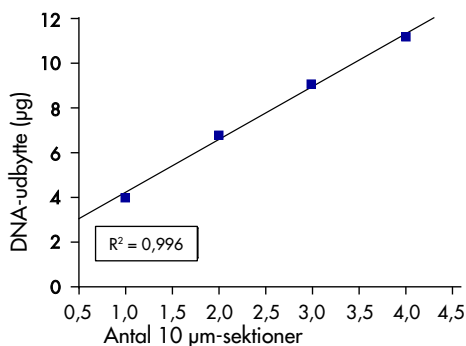
CMV (IU/ml)	Replikater	Træf	Træf (%)
350	18	18	100,00
230	32	32	100,00
115	31	31	100,00
90	32	32	100,00
60	30	24	80,00
30	30	15	50,00
15	30	10	33,33
6	21	5	23,81
2	21	2	9,52
0	15	0	0,00

Humant helblod blev indsamlet fra 1 rask CMV-negativ donor i BD K2E-rør og tilsat CMV WHO-standardmateriale vha. forskellige titre. Viralt DNA blev oprenset vha. QIAsymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 60 µl. Eluaterne blev analyseret med en CMV real-time PCR-analyse.

## Væv og FFPE-væv

### DNA-udbytte

Ydelsen for QIASymphony DSP DNA FFPE-vævsapplikationen blev evalueret vha. seks replikates af 1-4, 10 µm FFPE-sektioner af frisk skåret human milt. DNA-ekstraktion blev udført vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit i kombination med Tissue Low Content DSP-protokollen. Deparaffinerings og lysis blev udført vha. xylene/ethanol-forbehandlingsmetoden. DNA blev elueret i 50 µl elueringsbuffer, og udbyttet af DNA blev bestemt vha. spektroskopisk analyse (figur 4).



**Figur 4. Korrelation af DNA-udbytte med antallet af FFPE-vævssnit.** Seks replikater af 1-4, 10 µm FFPE-vævssektioner af human milt blev deparaffineret vha. xylene/ethanol-forbehandling. DNA-ekstraktion blev udført på QIASymphony SP vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit i kombination med Tissue Low Content DSP-protokollen og en elueringsmængde på 50 µl.

### Analyse af mutationsstatus af biomarkører efter real-time PCR

Analyse af mutationsstatus af biomarkører blev udført vha. DNA ekstraheret fra FFPE-sektioner af human colon og DNA-ekstraheret fra prøver af humant lungevæv.

Til DNA-ekstraktion fra FFPE-vævsprøver blev 3 x 10 µm sektioner af human colon anvendt til prøveforberedelse. DNA-ekstraktion blev udført vha. Deparaffinization Solution til forbehandling og Tissue Low Content DSP-protokollen i kombination med 100 µl elueringsmængde. Mutationsanalyse af biomarkør KRAS blev udført vha. en real-time PCR-analyse for KRAS-detektion i henhold til analysens håndbog. C<sub>T</sub>-værdier af kontrolanalysen lå inden for det definerede område, og mutationsdetektionsanalysen afslørede en aminosyresubstitution i codon 12 demonstreret ved en ΔC<sub>T</sub>-værdi på 4,17, som er under den definerede cut-off-værdi på 8 for detektion af en 12SER-mutation (tabel 2).

Tabel 2. Resultaterne af mutationsanalyse for FFPE-vævs KRAS-biomarkør

Prøve	Reaktion	Mål-C <sub>T</sub>	Intern kontrol-C <sub>T</sub>	ΔC <sub>T</sub> *
Kontrol uden skabelon	Kontrol	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	Kontrol	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-væv (human colon)	Kontrol	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	-

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , hvor M betyder mutation, og C betyder kontrol; n.d., ikke detekteret.

Til DNA-ekstraktion fra frosne vævsprøver blev 25 mg human lunge anvendt til prøveforberedelse vha. Tissue High Content DSP-protokollen og en elueringsmængde på 200 µl. Mutationsanalyse af EGFR-biomarkøren blev udført under anvendelse af en real-time PCR-analyse for EGFR. Analyse af kontrol og mutationsdetektion blev udført som beskrevet i analysens håndbog. Resultaterne afslørede en deletion i EGFR-genet, som påvist vha. en  $\Delta C_T$ -værdi på 2,47, som er under den definerede cut-off-værdi på 12 for detektion af en mutation (tabel 3).

Tabel 3. Resultaterne af mutationsanalyse for frossent vævs EGFR-biomarkør

Prøve	Reaktion	Mål-C <sub>T</sub>	Intern kontrol-C <sub>T</sub>	ΔC <sub>T</sub> *
Kontrol uden skabelon	Kontrol	0,00	31,71	-
	T790M	0,00	32,36	-
	Deletioner	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	Kontrol	28,78	31,05	-
	T790M	30,08	31,13	1,30
	Deletioner	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
Væv (human lunge)	Kontrol	25,76	31,23	-
	T790M	n.d.	31,99	-
	Deletioner	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	-

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , hvor M betyder mutation, og C betyder kontrol; n.d., ikke detekteret.

## Repeterbarhed og reproducerbarhed

### DNA-blod

DNA-ekstraktion blev udført vha. Blood 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 200 µl. Repeterbarhed blev evalueret af en enkelt bruger, der udførte 3 uafhængige kørsler (96 prøver hver) på 3 forskellige dage, hvor hver kørsel bestod af 4 batches med 24 prøver (tabel 4 og tabel 5).

Reproducerbarhed blev evalueret ved at udføre 3 uafhængige kørsler (96 prøver hver) på 3 forskellige dage af 3 forskellige brugere med forskellige QIASymphony SP-instrumenter, hvor hver kørsel bestod af 4 batches med 24 prøver (tabel 6 og tabel 7).



Tabel 4. Resultater af repeterbarhedsevaluering

Kørsel	Batch	n	Middelt DNA-udbytte (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
I alt	–	288	4,96	–	–

n, Antal replikater; SD, standardafvigelse; CV, variationskoefficient.

Tabel 5. Præcisionsdata for repeterbarhedsevaluering

	SD	CV
Batch til batch i samme kørsel	0,25	4,95
Generel repetitionsnøjagtighed	0,26	5,18

SD, standardafvigelse; CV, variationskoefficient.

Tabel 6. Resultater af reproducerbarhedsevaluering

Kørsel	Batch	n	Middelt DNA-udbytte (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
I alt	–	288	5,38	–	–

n, Antal replikater; SD, standardafvigelse; CV, variationskoefficient.

Tabel 7. Præcisionsdata for reproducerbarhedsevaluering

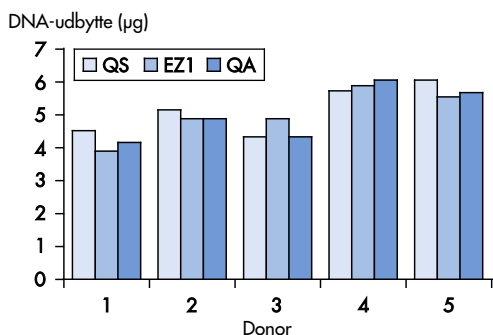
	SD	CV
Batch til batch i samme kørsel	0,25	4,73
Generel repetitionsnøjagtighed	0,38	7,03

SD, standardafvigelse; CV, variationskoefficient.

## Sammenlignelig ydelse

### DNA-blod

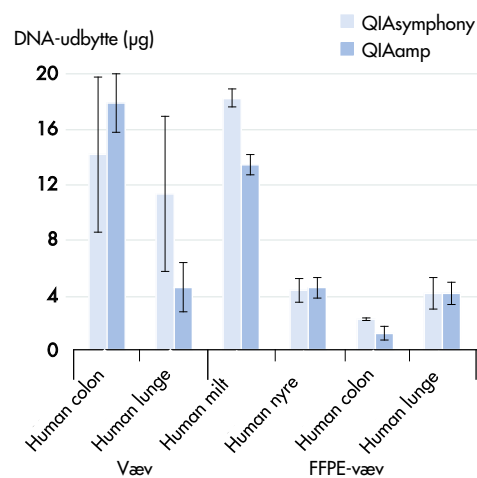
Ydelsen blev analyseret for QIAasymphony DSP DNA-blodsystemet og sammenlignet med den manuelle forberedelsesprocedure for EZ1® DSP DNA-blodsystemet og QIAamp® DNA Blood Mini Kit. DNA blev oprenset fra forskellige blodprøver, analyseret for DNA-udbytte (figur 5).



**Figur 5. Sammenligning af DNA-udbytter mellem forskellige blod-DNA-oprensningssystemer.** Helblod blev indsamlet fra 5 raske donorer i BD K2E-rør. 200 µl prøvemængder og 200 µl elueringsmængder blev anvendt til alle metoder. QS, QIAasymphony DSP DNA Mini Kit og Blood 200 DSP-protokol, EZ1, EZ1 Advanced XL vha. EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA, QIAamp DNA Blood Mini Kit. Bjælkerne viser det absolutte DNA-udbytte for hver prøve.

### Væv og FFPE-væv

Ydelsen af QIAasymphony DSP DNA Mini Kit blev sammenlignet med ydelsen af det manuelle QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit og QIAamp DSP DNA Mini Kit vha. henholdsvis FFPE-væv og friske og frosne væv som prøvemateriale. Manuelle og automatiserede prøveforberedelser samt kvantificering af DNA-udbytte blev udført samtidigt. DNA-udbyttet efter ekstraktion fra frisk/frosne og FFPE-vævsprøver vha. QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit (væv) og QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (FFPE-væv) er vist i figur 6.



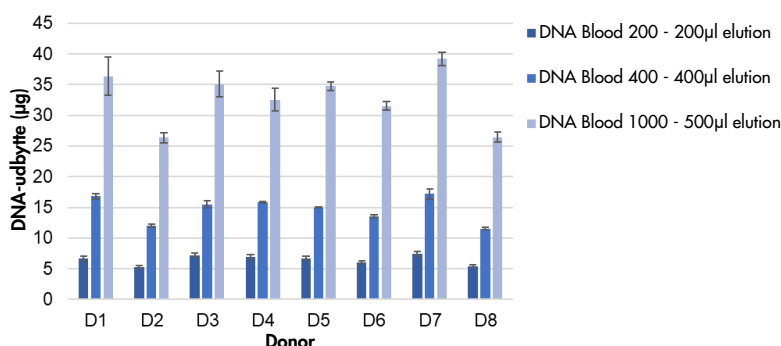
**Figur 6. DNA-ekstraktion fra væv og FFPE-vævsprøver.** For frisk/frosset væv blev prøver af human lunge og colon skåret i 6 x 25 mg stykker. Tre stykker af hver vævstype blev anvendt til klargøring af prøve vha. QIAasymphony SP i kombination med Tissue High Content DSP-protokollen. DNA-ekstraktion fra tilbageblevne prøver blev udført vha. QIAamp DSP DNA Mini Kit. DNA blev elueret i 200 µl, og DNA-udbyttet blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. For DNA-ekstraktion fra FFPE-væv blev 12 replikater med 3 x 10 µm FFPE-vævssektioner fra forskellige humane organer klargjort. Seks prøver blev anvendt til prøveforberedelse vha. QIAasymphony SP i kombination med forbehandlingen med Deparaffinization Solution og Tissue High Content DSP-protokollen. DNA-ekstraktion fra tilbageblevne prøver blev udført vha. QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. DNA blev elueret i 50 µl, og DNA-udbyttet blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. Bjælker viser det absolutte DNA-udbytte med standardafvigelse.

## Område for prøveinput/eluat-output

### DNA-blod

Forskellige områder for prøveinput og eluat-output for DNA-blodanvendelsen blev sammenlignet under anvendelse af prøver fra bloddonorer med et leukocytantalområde fra  $5,0$  til  $8,0 \times 10^6$  celler/ml.

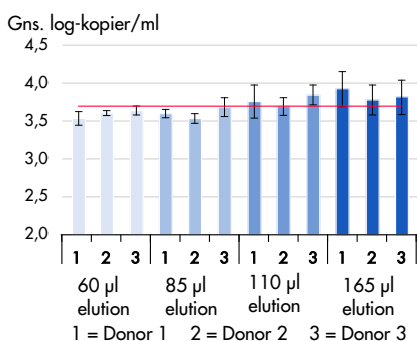
Helblod blev indsamlet fra 8 raske donorer i BD K2E-rør. DNA blev oprenset fra 6 replikater, hvert vha. QIASymphony DSP DNA Mini/Midi Kit og DNA Blood 200 DSP-protokollen med 200  $\mu$ l elueringsmængde, DNA Blood 400 DSP-protokollen med 400  $\mu$ l elueringsmængde og DNA Blood 1000 DSP-protokollen med 500  $\mu$ l elueringsmængde (figur 7).



**Figur 7. Sammenligning af forskellige prøveinput og elueringsmængder for blod-DNA-oprensningssystemerne.** Helblod blev indsamlet fra 8 raske donorer i BD K2E-rør. DNA-ekstraktion blev udført under anvendelse af DNA Blood 200-protokollen med 200  $\mu$ l elueringsmængde, DNA Blood 400-protokollen med 400  $\mu$ l elueringsmængde og DNA Blood 1000-protokollen med 500  $\mu$ l elueringsmængde. DNA-udbyttet blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. Bjælkerne viser det absolutte DNA-udbytte (middelværdi med standardafvigelse) for hver donor.

### Virusblod

Helblod blev indsamlet fra 3 raske donorer, med en leukocytælling fra  $4,0$  til  $11,0 \times 10^6$  celler/ml, i BD K2E-rør og tilsat CMV-standardmateriale (titer  $3,7$  log-kopier/ml). Viralt DNA blev oprenset fra 7 replikater, hvert vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med 4 forskellige elueringsmængder (figur 8).



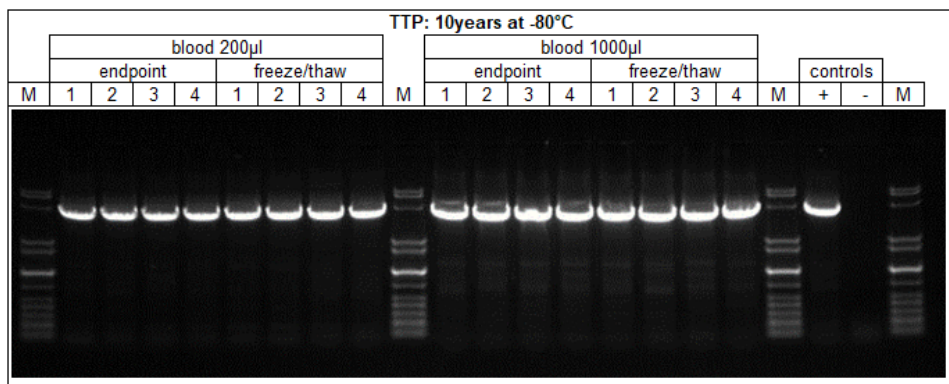
**Figur 8. Sammenligning af kvantificering af viralt DNA til forskellige elueringsmængder.** Eluater fra hver donorprøve og elueringsmængde (60, 85, 110 og 165  $\mu$ l) blev analyseret med en CMV real-time PCR-analyse. Den røde streg repræsenterer måltiteren, og bjælker viser gns. logkopier pr. milliliter med standardafvigelse.

## Eluatstabilitet

Bemærk: Eluatets stabilitet afhænger i høj grad af forskellige faktorer og relaterer sig til den specifikke efterfølgende anvendelse. Den er blevet fastlagt for QIASymphony DSP Mini og Midi Kit i forbindelse med typiske efterfølgende anvendelser. Det er brugerens ansvar at konsultere brugsanvisningen til den specifikke efterfølgende anvendelse, der anvendes i laboratoriet, og/eller validere hele arbejdsgangen for at etablere passende opbevaringsbetingelser.

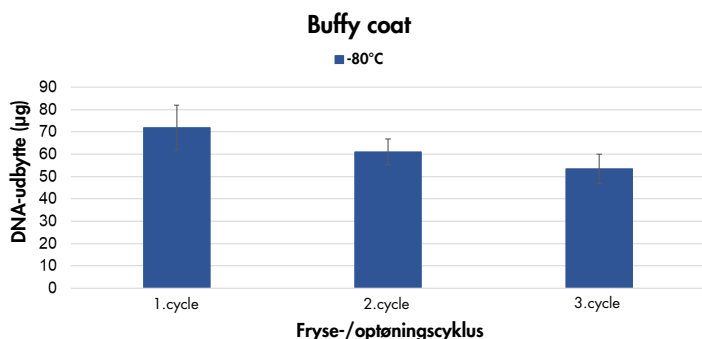
### DNA-blod og buffy coat

Eluatstabilitet for DNA-blod anvendelsen blev testet vha. eluater fra QS-kørsler, der blev foretaget med DNA Blood 200-protokollen med 200 µl elueringsmængde og DNA Blood 1000-protokollen med 500 µl elueringsmængde. Eluaterne blev opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør ved stuetemperatur, 2-8 °C, -20 °C og -80 °C. DNA-udbytte og -renhed blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. DNA-integritet blev analyseret ved gel-elektroforese og en LongRange PCR-analyse (figur 9).



**Figur 9. Eluatstabilitet for DNA-blod.** DNA'et blev oprenset ved hjælp af DNA Blood 200 µl- og 1000 µl-protokollerne. Eluaterne har været opbevaret ved -80 °C i 2 ml Sarstedt-rør. Der blev analyseret fire replikater. DNA-integritet blev testet med langtrækkende PCR. I figurene vises resultaterne efter opbevaring i 10 år. M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder.

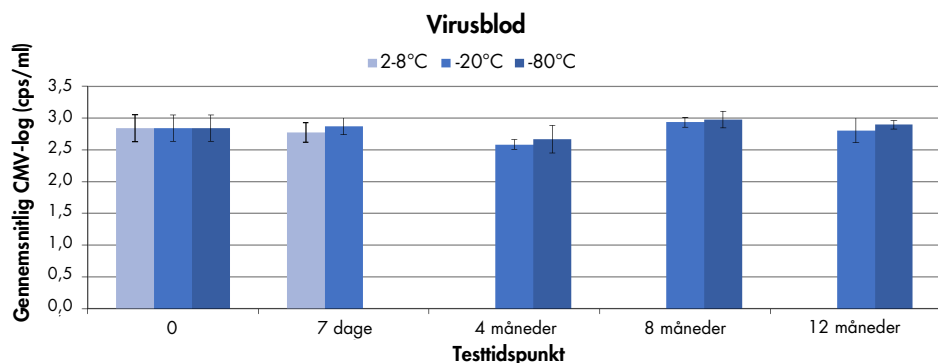
Eluatstabilitet for buffy coat-anvendelsen blev testet vha. QS-kørsler, der blev foretaget med BC 400 µl-protokollen og 200 µl elueringsmængde. Eluaterne blev opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør og Elution Micro Tube Racks ved stuetemperatur, 2-8 °C, -20 °C og -80 °C. Desuden gennemgik eluaterne fryse-/optøningstestning i op til 3 cyklusser (figur 10). DNA-udbytte og -renhed blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. DNA-integritet blev analyseret ved gel-elektroforese og en LongRange PCR-analyse (50 µl reaktion).



**Figur 10. Eluat-fryse-/optøningscyklusser for buffy coat.** DNA'et blev oprenset ved hjælp af -DNA BC 400 µl-protokollen. Buffy coat blev genereret fra EDTA-blod. Eluaterne har været opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør. DNA-udbyttet blev bestemt ved testtidspunkterne ved hjælp af samme eluat ved tre fryse-/optøningscyklusser. DNA-udbyttet blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. Bjælkerne viser det absolutte DNA-udbytte (middelværdi med standardafvigelse).

## Virusblod

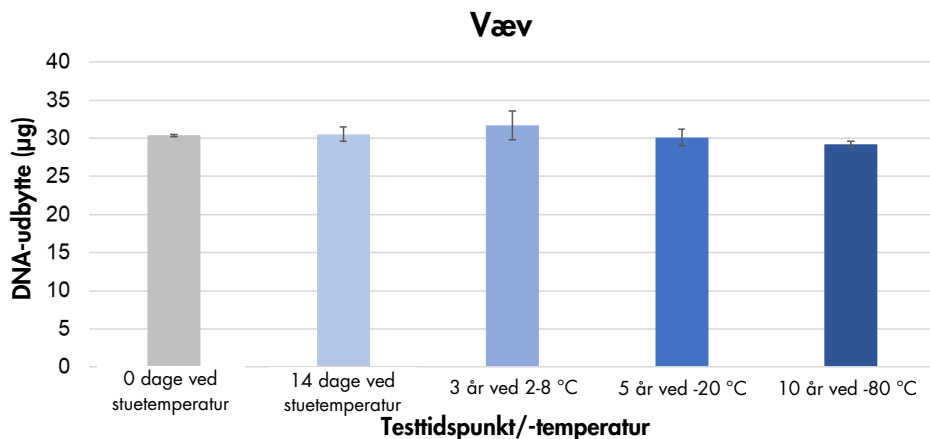
Eluatstabilitet for virusblod-anvendelsen blev testet vha. QS-kørsler, der blev foretaget med Virus Blood 200-protokollen med 60 µl elueringsmængde. K<sub>2</sub> EDTA-blod tilsat kommerciel CMV-standard (titer 2,7 log kopier/ml) blev anvendt som prøvemateriale. Eluaterne blev opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør ved 2-8 °C, -20 °C og -80 °C. Eluaterne blev analyseret med en CMV real-time-analyse (figur 11). I det følgende vises resultaterne af flere testtidspunkter.



**Figur 11. Eluatstabilitet for virusblodanvendelse.** EDTA-blodprøver tilsat kommerciel CMV-standard blev oprenset med Virus Blood 200-protokollen. Eluaterne har været opbevaret ved flere temperaturer i Elution Micro-rørstativer og 2 ml Sarstedt-rør. Pr. testtidspunkt blev 4 replikater analyseret. Bjælkerne viser CMV-titeren (gennemsnitlig logværdi med standardafvigelse).

## Væv

Eluatstabilitet for vævsanvendelsen blev testet vha. Tissue HC 200 µl-protokollen og 200 µl elueringsmængde. Nye prøver af bovin lever blev brugt som prøvemateriale. Eluaterne blev opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør og Elution Micro Tube Racks ved stuetemperatur, 2-8 °C, -20 °C og -80 °C. DNA-udbytte og -renhed blev bestemt vha. spektroskopisk analyse (figur 12). DNA-integritet blev analyseret ved gel-elektroforese.

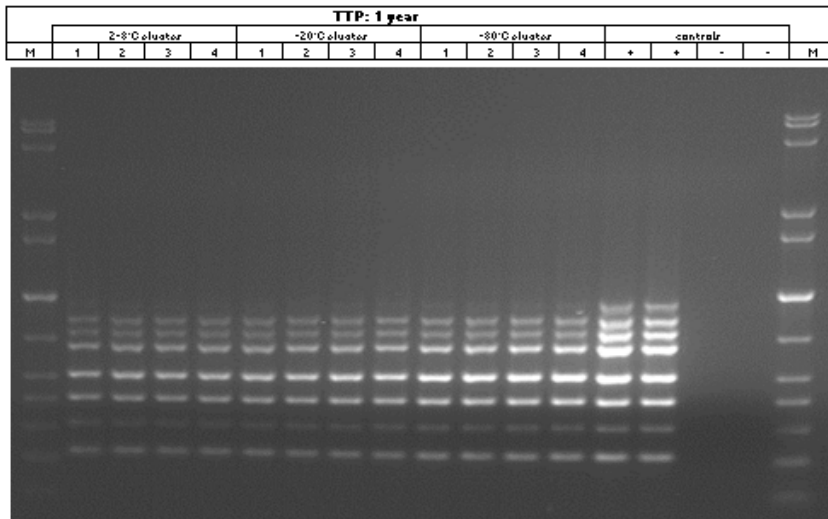


**Figur 12. Eluatstabilitet for væv.** DNA'et blev oprenset ved hjælp af DNA Tissue HC-protokollen med 200 µl elueringsmængde. Nye prøver af bovin lever blev brugt som prøvemateriale. Eluaterne har været opbevaret ved flere temperaturer i Elution Micro-rørstativer og 2 ml Sarstedt-rør. Pr. testtidspunkt blev 4 replikater analyseret. DNA-udbyttet blev bestemt vha. spektroskopisk analyse. Bjælkerne viser det absolutte DNA-udbytte (middelværdi med standardafvigelse).

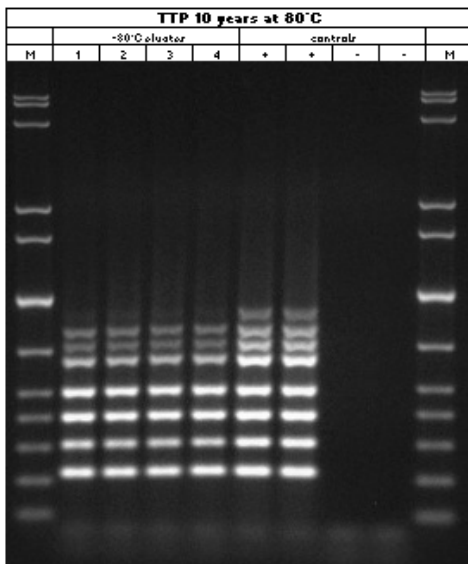
## FFPE-væv

Eluatstabilitet for FFPE-vævsanvendelsen blev testet vha. Tissue LC 200 µl-protokollen og 100 µl elueringsmængde. Kommercielt humant FFPE-væv blev brugt som prøvemateriale. Eluaterne blev opbevaret i 2 ml Sarstedt-rør og Elution Micro Tube Racks ved stuetemperatur, 2-8 °C, -20 °C og -80 °C. Eluaterne blev analyseret med en intern human 8-plex PCR-analyse (figur 13). I det følgende vises resultaterne af to testtidspunkter.

**A:**



**B:**



**Figur 13. Eluatstabilitet for FFPE-væv.** DNA'et blev oprenset ved hjælp af DNA Tissue LC-protokollen. Kommercielt FFPE-væv blev brugt som prøvemateriale. Eluaterne har været opbevaret ved flere temperaturer i Elution Micro-rørstativer og 2 ml Sarstedt-rør. Pr. testtidspunkt blev 4 replikater analyseret. Eluaterne blev analyseret med intern human 8-plex PCR-analyse.

## Interfererende stoffer

Påvirkningen af hæmmende stoffer, der kan findes i helblod, på ydelsen af DNA blodanvendelsen, virusblodanvendelsen og vævsanvendelsen blev testet ved tilsætning af følgende stoffer:

**Tabel 8. Potentielle interfererende stoffer testet for de forskellige anvendelser**

Interfererende stoffer	Koncentration	Blod	Virusblod	Væv
Bilirubin	200 mg/l	√	√	√
Hæmoglobin	200 g/l	√	√	
Triglycerider	30 g/l	√	√	√
Protein	120 g/l	√	√	√

Bemærk: "√" angiver, hvilke prøvematerialer der blev testet for det respektive potentielt interfererende stof).

For hæmoglobin (200 g/l) og protein (120 g/l) blev blodprøvens eksisterende niveauer bestemt, og yderligere hæmoglobin eller protein blev tilsat for at opnå de angivne koncentrationer, hhv. 200 eller 120 g/l. For bilirubin (200 mg/l) og triglycerider (30 g/l) blev den samlede mængde af hvert stof tilsat prøven for at opnå de angivne koncentrationer.

For væv blev den samlede mængde af hvert stof tilsat direkte i lysaterne, og der blev ikke foretaget nogen bestemmelse af bilirubin-, triglycerid- eller proteinkoncentrationen i den anvendte vævsprøve.

Eventuelle potentielt interfererende stoffer (f.eks. lægemidler) og tilsvarende koncentration er meget specifik for den efterfølgende anvendelse og mulige tidligere medicinske behandlinger af en patient og skal undersøges under verifikation af sådan efterfølgende anvendelse ved hjælp af QIASymphony DSP DNA Mini og Midi Kits.

Bemærk: Testning blev udført under anvendelse af typiske efterfølgende anvendelser med henblik på en vurdering af kvaliteten af de ekstraherede nukleinsyrer. Forskellige efterfølgende anvendelser kan dog have forskellige krav med hensyn til renhed (dvs. fravær eller koncentration af potentielle interfererende stoffer), så identifikation og testning af relevante stoffer og deres respektive koncentrationer skal også etableres som en del af udviklingen af den efterfølgende anvendelse for enhver arbejdsgang, der involverer QIASymphony DSP Mini og Midi Kits.

Bemærk: Bemærk, at der under udviklingen af QIASymphony DSP DNA Midi Kit ikke blev observeret nogen indikationer på, at heparin har en negativ indvirkning på ydelsen. ISO 20186-2:2019(E) angiver dog, at heparin fra blodprøvetagningsrør kan påvirke renheden af de isolerede nukleinsyrer, og eventuel overførsel til eluater kan forårsage hæmninger i nogle efterfølgende anvendelser. Derfor er det brugerens ansvar at validere, om heparin har en negativ indflydelse på deres arbejdsgang.

## DNA-blod og buffy coat

Til DNA-blodanvendelsen blev testning udført ved hjælp af DSP DNA 1000-protokollen, som dækker det højeste prøveinputvolumen, ved brug af elueringsmængder på 200 og 500 µl.

Eluaterne blev analyseret ved spektroskopisk analyse for DNA-udbytte og -renhed. PCR-kompatibilitet blev testet ved at bruge en real-time PCR- samt en endepunkts-PCR-analyse.

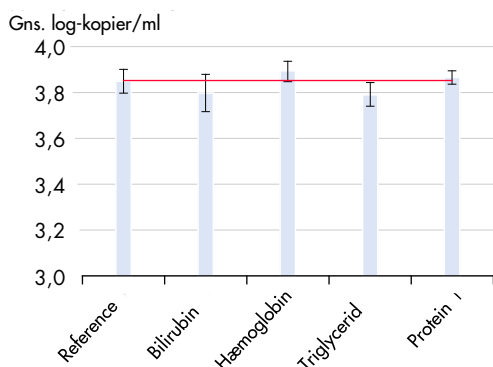
Ingen af de stoffer, der er anført i tabel 9 interfererer, dog kan blodprøver med høje koncentrationer af triglycerider (>30 g/l) føre til reduceret gDNA-udbytte.

## Virusblod

For virusblodanvendelsen blev testning udført ved hjælp af DSP Virus Blood 200-protokollen med 60 µl elueringsmængde. CMV-negative blodprøver fik tilsat 500 kopier/ml (lav koncentration) og  $1 \times 10^4$  kopier/ml (høj koncentration, figur 14) af en kommerciel CMV-standard.

Eluaterne blev analyseret med en CMV real-time PCR-analyse.

Ingen af de stoffer, der er anført i tabel 9 interfererer, dog kan blodprøver med høje koncentrationer af triglycerider (>30 g/l) føre til reduceret oprensning af viralt DNA.



**Figur 14. Test af hæmmende stoffer.** Helblod blev indsamlet fra 1 rask donor i BD K2E-rør og tilsat CMV-standardmateriale (titer 4,0 log-kopier/ml). Fem prøver blev testet ved tilsætning af potentielle hæmmere, og viralt DNA blev oprenset fra 4 replikater af hver prøve vha. QIASymphony DSP DNA Mini Kit og Virus Blood 200 DSP-protokollen med en elueringsmængde på 165 µl. Eluaterne blev analyseret med en CMV real-time PCR-analyse. Den røde streg repræsenterer den bestemte titer for referenceprøver, der ikke var tilsat hæmmende stoffer, og bjælker viser gns. logkopier pr. millimeter med standardafvigelse.

## Væv

For DNA-væv (frisk og frosset) blev testning udført under anvendelse af DSP DNA HC-protokollen ved anvendelse af 200 µl elueringsmængde.

Eluaterne blev analyseret ved spektroskopisk analyse for DNA-udbytte og -renhed. PCR-kompatibilitet blev testet ved at bruge en real-time PCR-analyse.

Ingen af de stoffer, der er anført i tabel 9, blev identificeret som havende en negativ indvirkning på klargøring af prøve.

## FFPE-væv

For FFPE-væv blev testning udført under anvendelse af DSP DNA LC-protokollen ved anvendelse af 50 µl elueringsmængde.

Stofferne (se tabel 9) blev tilsat direkte i lysatet.



**Tabel 9. Potentielle interfererende stoffer testet for de forskellige anvendelser**

Interfererende stoffer	Koncentration i lysat
Xylen	Op til 11 %
Ethanol	Op til 11 %
Deparaffineringsopløsning	Op til 11 %
Paraffin	0,1 µM sektion

Eluaterne blev analyseret ved spektroskopisk analyse for DNA-udbytte og -renhed. PCR-kompatibilitet blev testet ved at bruge en real-time PCR- samt en intern human 8-plex PCR-analyse.

Ingen af de stoffer, der er anført i tabel 9, blev identificeret som havende en negativ indvirkning på klargøring af prøve.

## Krydskontaminering





### DNA-blod

Risikoen for krydskontaminering af QIAAsymphony DNA Blood-anvendelsen blev analyseret ved at udføre fire 96-prøves kørsler på QIAAsymphony SP-instrumentet med skiftende batches i skakbrætmønster (skiftevis positive og negative prøver), afbrudt af helt negative batches. Blod fra mænd (med en leukocytælling på  $\geq 1,0 \times 10^7$  celler/ml og blod fra kvinder med en leukocytælling på mellem  $4,0 \times 10^6$  og  $9 \times 10^6$  celler/ml) blev anvendt som et modelsystem. Klargøring af prøve blev udført ved hjælp af blod 1000 µl-protokollen, som dækker det højeste prøvevolumen. En potentiel kontaminering af de negative prøver fra kvinder under ekstraktionskørslerne blev evalueret ved efterfølgende analyse af eluaterne ved anvendelse af en real-time PCR for Y-kromosomet.

Der blev ikke detekteret nogen krydskontaminering for overførsel fra prøve til prøve, batch til batch eller kørsel til kørsel.

## Symboler

De følgende symboler forekommer i dette dokument. For en komplet liste over symboler, der bruges i brugsanvisningen eller på emballagen og mærkningen, henvises til håndbogen.

Symbol	Symboldefinition
	Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik
	Katalognummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret
	Producent

## Revisionshistorik

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	Version 2, Revision 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Opdatering til version 2 for overholdelse af IVDR</li><li>• Tilføjet afsnit om interfererende stoffer, krydskontaminering eluatstabilitet og kompatibilitet med efterfølgende anvendelser</li></ul>

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugsvejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. QIAGEN kit-håndbøger og -brugermanualer kan fås via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAamp®, EZ1®, UltraRun® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

06/2022 HB-3029-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

