



Juni 2022

# Bruksanvisning till QIASymphony® DSP DNA Kit (prestandaegenskaper)

Version 2



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIASymphony DSP DNA Mini Kit och QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Prestandaegenskaper finns tillgängliga elektroniskt under resursfliken på produktsidan på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Allmän introduktion

QIASymphony DSP DNA Kits är avsedda att endast användas i kombination med QIASymphony SP.

QIASymphony DSP DNA Mini Kits tillhandahåller reagenser för automatiserad rening av totalt DNA från humant helblod, buffy coat, vävnad och formalinfixerade, paraffininbäddade (FFPE) vävnadsprover, liksom viralt DNA från humant helblod. QIASymphony DSP DNA Midi Kits tillhandahåller reagenser för automatiserad rening av totalt DNA från humant helblod och buffy coat. Prestandaegenskaperna för varje blodprovtagningsrör eller vävnadstyp har emellertid inte fastställts, utan måste valideras av användaren.

Magnetisk partikelteknik möjliggör rening av högkvalitativa nukleinsyror som är fria från proteiner, nukleaser och andra orenheter. Renade nukleinsyror är redo för direkt användning i nerströmsapplikationer som amplifieringsreaktioner (PCR). QIASymphony SP utför alla steg av reningsproceduren. Upp till 96 prover, i batcher på upp till 24, bearbetas i en enda körning.

I följande visas utvalda prestandadata för de olika applikationerna.

# Prestandaegenskaper

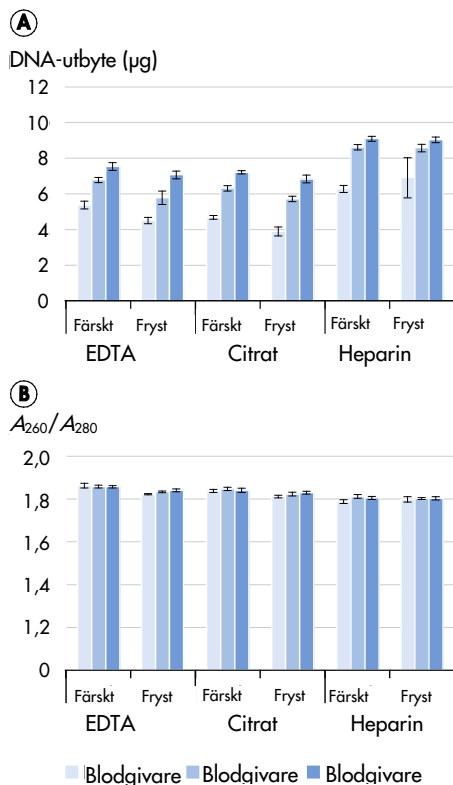
OBS! Prestandaegenskaper beror på olika faktorer och relaterar till den specifika nerströmsapplikationen. Det har etablerats för QIASymphony DSP DNA Mini och Midi Kits tillsammans med nerströmsapplikationer som exempel. Dock används metoder för att isolera nukleinsyror från biologiska prov som en ingång till multipla nerströmsapplikationer. Prestandaegenskaper som korskontaminering eller körningsprecision måste etableras för alla sådana arbetsflöden som en del av utvecklingen av nerströmsapplikationen. Därför är det användarens ansvar att validera hela arbetsflödet för att etablera lämpliga prestandaegenskaper.

## Grundläggande prestanda och kompatibilitet med olika nerströmsapplikationer

### DNA-blod och buffy coat

#### DNA-utbyte

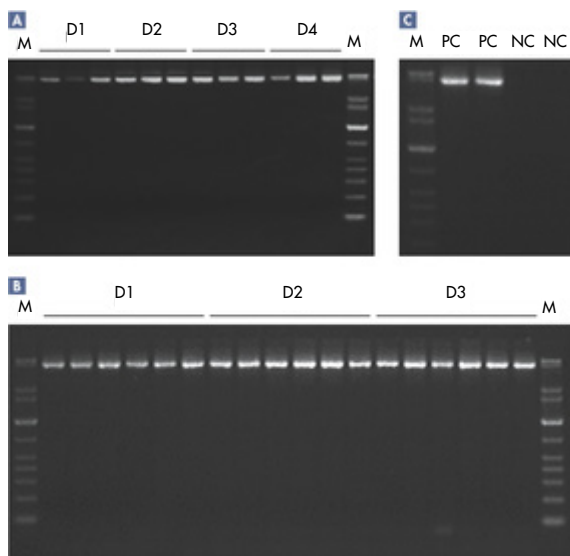
Grundläggande prestanda för QIASymphony DSP DNA Mini Kit utvärderades med användning av olika provtagningsrör och antikoagulanter, såväl som färskt och fruset humant helblod. Helblod samlades in från 3 friska donatorer (antal vita blodkroppar [WBC] 4,0 till 11,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml) i 3 olika rörtyper: 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 användes antingen färskt (förvarat vid 2-8 °C) eller fryst (förvarat vid -20 °C). Genomiskt DNA renades från prover om 200 µl, med 4 replikat per givare och rörtyp, med användning av protokollet för QIASymphony DSP DNA Mini Kit och 200 DSP-protokoll med en elueringsvolym på 200 µl. DNA-utbyte och -renhet fastställdes genom spektrotropisk analys (figur 1).



**Figur 1. DNA-utbyte och -renhet med användning av olika provtagningsrör och antikoagulanter med färskt och fruset humant helblod. A** DNA-utbyte, staplarna visar det absoluta DNA-utbytet med standardavvikelse. **B** DNA-renhet, staplarna visar DNA-renheten med standardavvikelse.

## DNA-integritet

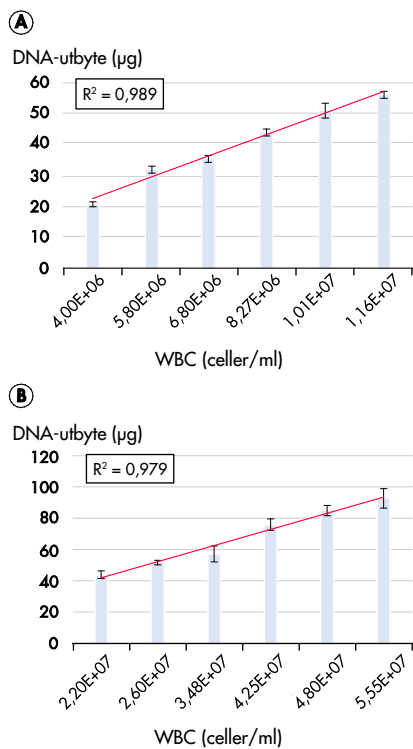
Long-range PCR-produkter (5 kb) amplifierades med användning av LongRange PCR-analys (figur 2).



**Figur 2. DNA-integritet testad med long-range PCR.** M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder. **A** Helblod tappades från 4 friska blodgivare (D, donor) i BD K2E-rör. Genomiskt DNA för långsiktigt PCR renades från 200  $\mu$ l alikvoter i tripplikat med QIASymphony DSP DNA Mini Kit och blod 200 DSP-protokoll med en elueringsvolym på 200  $\mu$ l. D1, givare 1; D2, givare 2; D3, givare 3; och D4, givare 4. **B** Helblod tappades från 3 friska givare i BD K2E-rör och buffy coat förbereddes. Genomiskt DNA renades från 200  $\mu$ l alikvoter i 6 replikat med QIASymphony DSP DNA Mini Kit och buffy coat 200 DSP-protokoll med en elueringsvolym på 200  $\mu$ l. D1, givare 1; D2, givare 2; och D3, givare 3. **C** Kontroller: PC, positiv kontroll; och NC, negativ kontroll.

## Korrelation mellan DNA-utbyte till WBC-antal

Prestationen för QIASymphony DSP DNA Blood- och Buffy Coat-applicingarna utvärderades med användning av blod- och buffy coat-prover med 6 olika WBC-antal för varje provtyp. För helblod varierade WBC-talen från  $4 \times 10^6$  celler/ml till  $11,6 \times 10^6$  celler/ml, och för buffy coat varierade talen från  $2,2 \times 10^7$  celler/ml till  $5,6 \times 10^7$  celler/ml. DNA-utbyten fastställdes med spektroskopisk analys och ritades upp som en kurva mot WBC-talet (figur 3).



**Figur 3. Korrelation mellan DNA-utbyte till WBC-antal.** **A** Genomiskt DNA renades från 1 ml humant helblod med användning av protokollet för QIAasympy DSP DNA Midi Kit och DSP DNA Blood 1000 med en elueringsvolym på 500 µl. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet med standardavvikelse. **B** Genomiskt DNA renades från 400 ml buffy coat med användning av protokollet för QIAasympy DSP DNA Midi Kit och DSP DNA Buffy Coat 400 med en elueringsvolym på 400 µl. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet med standardavvikelse.

## Virusblod

Studier av träffkvot (hit-rate) utfördes genom spädning av i förväg kvantifierat CMV WHO-standardmaterial i CMV-negativt humant helblod. En detekteringskvot på 100 % sågs för prover med virusbelastningar på 90 IE av CMV per milliliter (tabell 1).

Tabell 1. Känslighet för QIAasympy DSP Virus Blood-applisering

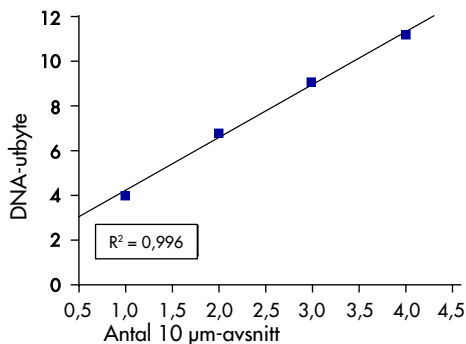
CMV (IE/ml)	Replikat	Träffar	Träff (%)
350	18	18	100,00
230	32	32	100,00
115	31	31	100,00
90	32	32	100,00
60	30	24	80,00
30	30	15	50,00
15	30	10	33,33
6	21	5	23,81
2	21	2	9,52
0	15	0	0,00

Humant helblod tappades från 1 frisk CMV-negativ givare i BD K2E-rör och fick en tillsats av CMV WHO-standardmaterial med användning av olika titrar. Viralt DNA renades med användning av protokollet för QIAasympy DSP DNA Mini Kit och virusblod 200 DSP-protokoll med en elueringsvolym på 60 µl. Eluat analyserades med en CMV real-time PCR-analys.

## Vävnad och FFPE-vävnad

### DNA-utbyte

Prestandan för QIASymphony DSP DNA FFPE-vävnadsapplicering utvärderades genom att man använde 6 kopior av 1-4, 10 µm FFPE-snitt av färskt skuren mjälte från människa. DNA-extraktionen utfördes genom att QIASymphony DSP DNA Mini Kit användes i kombination med protokollet för lågt vävnadsinnehåll DSP-protokoll. Deparaffinisering och lysning utfördes med xylene-/etanol-förbehandlingsmetoden. DNA eluerades i 50 µl elueringsbuffert och DNA-utbytet fastställdes med spektroskopisk analys (figur 4).



**Figur 4. Korrelation mellan DNA-utbyte till FFPE-vävnadsavsnitt.** Sex replikat av 1-4, 10 µm FFPE-vävnadsnitt av mjälte från människa avparaffinerades med xylene-/etanolförbehandling. DNA-extraktionen utfördes på QIASymphony SP med QIASymphony DSP DNA Mini Kit i kombination med protokollet för lågt vävnadsinnehåll DSP-protokoll och en elueringsvolym på 50 µl.

### Analys av biomarkörers mutationsstatus med real-time PCR

Analys av biomarkörers mutationsstatus utfördes med användning av DNA som extraherats från FFPE-snitt av kolon från människa och DNA som extraherats från lungvävnadsprover från människa.

För DNA-extraktion från FFPE-vävnadsprover användes 3 x 10 µm kolonsnitt från människa för provberedning. DNA-extraktionen utfördes med Deparaffinization Solution för förbehandling och DSP-protokoll för lågt vävnadsinnehåll i kombination med 100 µl elueringsvolym. Mutationsanalysen av biomarkör KRAS utfördes med real-time PCR-analys för KRAS-detektion enligt analys-handboken. C<sub>T</sub>-värden av kontrollanalysen var inom det definierade området och mutationsdetektionsanalysen avslöjade en aminosyra-substitution i kodon 12 demonstrerat av ett ΔC<sub>T</sub>-värde på 4,17, vilket är under definierat cut-off-värde på 8 för upptäckt av en 12SER-mutation (tabell 2).

Tabell2. Resultat av mutationsanalysen av KRAS-biomarkören från FFPE-vävnad

Prov	Reaktion	Mål C <sub>T</sub>	Intern kontroll C <sub>T</sub>	ΔC <sub>T</sub> *
Kontroll utan mall	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-vävnad (kolon från människa)	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	-

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , där M betyder mutation och C betyder kontroll; n.d., ej upptäckt.

För DNA-extraktion från frusna vävnadsprover användes 25 mg lunga från människa för provberedning med DSP-protokollet för högt vävnadsinnehåll och en elueringsvolym på 200 µl. Mutationsanalys av EGFR-biomarkören utfördes med en real-time PCR-analys för EGFR. Analys av kontroll- och mutationsdetektion utfördes som beskrivet i analyshandboken. Resultaten visade en deletion inom EGFR-genen som demonstreras av ett ΔC<sub>T</sub>-värde på 2,47, vilket är under det definierade gränsvärdet på 12 för mutationsupptäckt (tabell 3).

Tabell 3. Resultat av mutationsanalysen av EGFR-biomarkören från frusen vävnad

Prov	Reaktion	Mål C <sub>T</sub>	Intern kontroll C <sub>T</sub>	ΔC <sub>T</sub> *
Kontroll utan mall	Kontroll	0,00	31,71	-
	T790M	0,00	32,36	-
	Borttagningar	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
	Borttagningar	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
Vävnad (lunga från människa)	Kontroll	25,76	31,23	-
	T790M	n.d.	31,99	-
	Borttagningar	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	-

\*  $\Delta C_T = M C_T - C C_T$ , där M betyder mutation och C betyder kontroll; n.d., ej upptäckt.

## Repeterbarhet och repeterbarhet

### DNA-blod

DNA-extraktion utfördes med blood 200 DSP-protokollet med en elueringsvolym på 200 µl. Repeterbarhet utvärderades av en enskild operatör som utförde 3 oberoende körningar (96 prover var) på 3 olika dagar, där varje körning bestod av 4 satser med respektive 24 prover (tabell 4 och tabell 5).

Reproducerbarhet utvärderades genom att 3 oberoende körningar (96 prover var) utfördes på 3 olika dagar, av tre olika operatörer på olika QIASymphony SP-instrument, där varje körning bestod av 4 satser med respektive 24 prover (tabell 6 och tabell 7).



Tabell 4. Resultat av utvärdering av repeterbarhet

Körning	Sats	n	Medelvärde för DNA-utbyte (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, = Antal replikat (Number of replicates); SD = Standardavvikelse (Standard deviation); CV = Variationskoefficient (Coefficient of variation).

Tabell 5. Precisionsdata för utvärdering av repeterbarhet

	SD	CV
Sats till sats inom samma körning	0,25	4,95
Generell repetitionsprecision	0,26	5,18

SD = Standardavvikelse; CV = Variationskoefficient.

Tabell 6. Resultat av utvärdering av reproducerbarhet

Körning	Sats	n	Medelvärde för DNA-utbyte (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, = Antal replikat (Number of replicates); SD = Standardavvikelse (Standard deviation); CV = Variationskoefficient (Coefficient of variation).

Tabell 7. Precisionsdata för utvärdering av reproducerbarhet

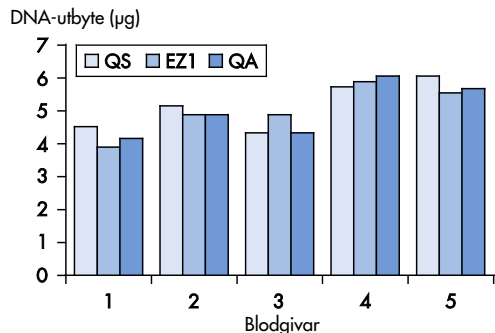
	SD	CV
Sats till sats inom samma körning	0,25	4,73
Generell repetitionsprecision	0,38	7,03

SD = Standardavvikelse; CV = Variationskoefficient.

## Jämförbar prestanda

### DNA-blod

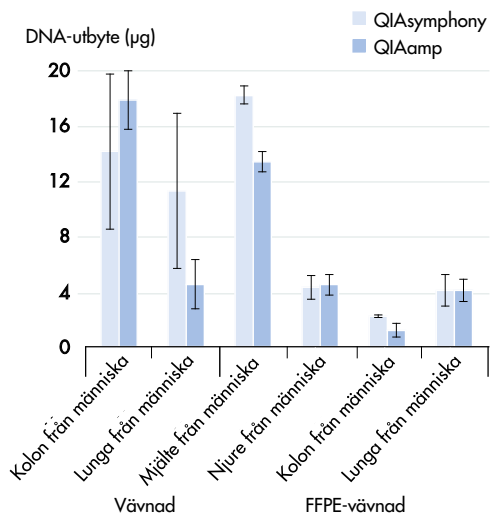
Prestanda analyserades för QIAAsymphony DSP DNA Blood-systemet jämfört med EZ1® DSP DNA Blood-systemet och den manuella förberedelseproceduren för QIAamp® DNA Blood Mini Kit. DNA renades ur olika blodprov, analyserades för DNA-utbyte (figur 5).



**Figur 5. Jämförelse av DNA-utbyten mellan olika system för blod-DNA-rening.** Helblod tappades från 5 friska givare i BD K2E-rör. För samtliga metoder användes provtillförselvolymerna på 200 µl och elueringsvolymerna på 200 µl. QS, protokollet för QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit och Blood 200 DSP-protokoll; EZ1, EZ1 Advanced XL med användning av EZ1 DSP DNA Blood Kit; QA, QIAamp DNA Blood Mini Kit. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet för varje prov.

### Vävnad och FFPE-vävnad

Prestandan för QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit jämfördes med prestandan för det manuella QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit och QIAamp DSP DNA Mini Kit med användning av FFPE-vävnad och färsk respektive frusen vävnad som provmaterial. Manuella och automatiserade provberedningar samt kvantifiering av DNA-utbytena utfördes samtidigt. DNA-utbyten efter extraktion från färsk/frusen vävnadsprov och FFPE-vävnadsprov där man använde QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit, QIAamp DSP DNA Mini Kit (vävnad) och QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (FFPE-vävnad) visas i figur 6.



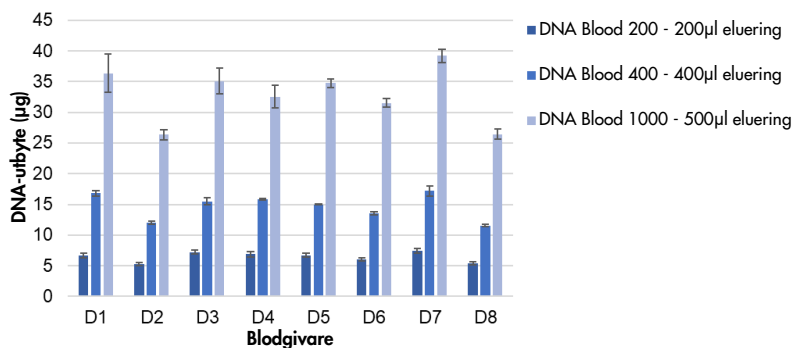
**Figur 6. DNA-extraktion från vävnadsprover och FFPE-vävnadsprover.** För färsk/frusen vävnad skars lunga och kolon från människa i 6 x 25 mg bitar. Tre delar av varje vävnadstyp användes för provberedning med QIAAsymphony SP i kombination med DSP-protokollet för högt vävnadsinnehåll. DNA-extraktionen från resterande prover utfördes med QIAamp DSP DNA Mini Kit. DNA eluerades i 200 µl och DNA-utbytet fastställdes med spektroskopisk analys. För DNA-extraktion från FFPE-vävnad förbereddes 12 replikat innehållande 3 x 10 µm FFPE-vävnadsnitt från olika organ från människa. Sex prover användes för provberedning med QIAAsymphony SP i kombination med Deparaffinization Solution för förbehandling och DSP-protokollet för lågt vävnadsinnehåll. DNA-extraktionen från resterande prover utfördes med QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. DNA eluerades i 50 µl och DNA-utbytet fastställdes med spektroskopisk analys. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet med standardavvikelse.

## Provinmatning/elututmatning omfång

### DNA-blod

Olika provinmatning- och elututmatningsomfång för DNA-blodapplikationen jämfördes med prov från blodgivare med en WBC-tal från 5,0 till 8,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml.

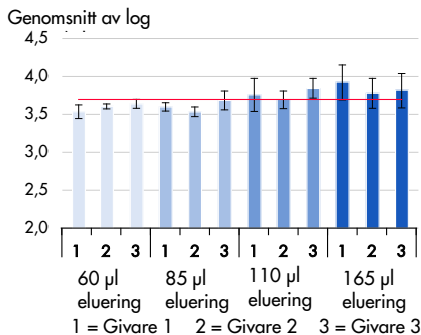
Helblod tappades från 8 friska givare i BD K2E-rör. DNA renades från 6 replikat som alla använde QIASymphony DSP DNA Mini/Midi Kit och DNA blood 200 DSP-protokollet med 200 µl-elueringsvolym, DNA blood 400 DSP-protokoll med 400 µl elueringsvolym och DNA blood 1000 DSP-protokoll med 500 µl elueringsvolym (figur 7).



**Figur 7. Jämförelse av olika provinmatning och elueringsvolym för blod DNA-reningsystemet.** Helblod tappades från 8 friska givare i BD K2E-rör. DNA-extrahering utfördes med DNA blood 200-protokoll med 200 µl elueringsvolym, DNA blood 400-protokollet med 400 µl elueringsvolym och DNA blood 1000-protokoll med 500 µl elueringsvolym. DNA-utbyte fastställdes genom spektroskopisk analys. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet (genomsnittsvärde med standardavvikelse) för varje givare.

### Virusblod

Helblod tappades från 3 friska blodgivare, med ett WBC-antal från 4,0 till 11,0 x 10<sup>6</sup> celler/ml, i BD K2E-rör och fick en tillsats av CMV-standardmaterial (titer 3,7 log copies/ml). Viralt DNA renades från 7 replikat, vart och ett med användning av protokollet för QIASymphony DSP DNA Mini Kit och DSP Virus Blood 200 med 4 olika elueringsvolym (figur 8).



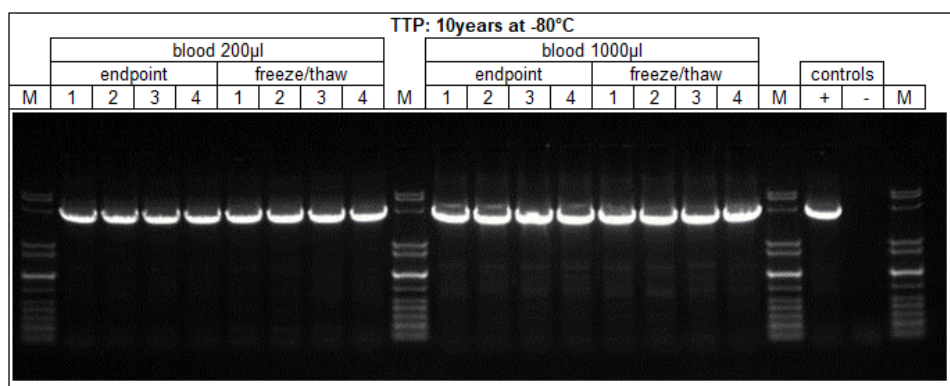
**Figur 8. Jämförelse av kvantifiering av viralt DNA för olika elueringsvolym.** Eluat från varje givares prov och elueringsvolym (60, 85, 110 och 165 µl) analyserades med en CMV real-time PCR-analys. Den röda linjen representerar måltitern och staplarna visar genomsnitt av log copies per milliliter med standardavvikelse.

## Eluatstabilitet

OBS! Eluatstabilitet beror på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsappliceringen. Det har etablerats för QIASymphony DSP Mini och Midi Kit tillsammans med nerströmsapplikationer som exempel. Det är användarens ansvar att konsultera bruksanvisningen för specifika nerströmsapplikationer som används i deras laboratorier och/eller validera hela arbetsflödet för att etablera tillämpliga för.

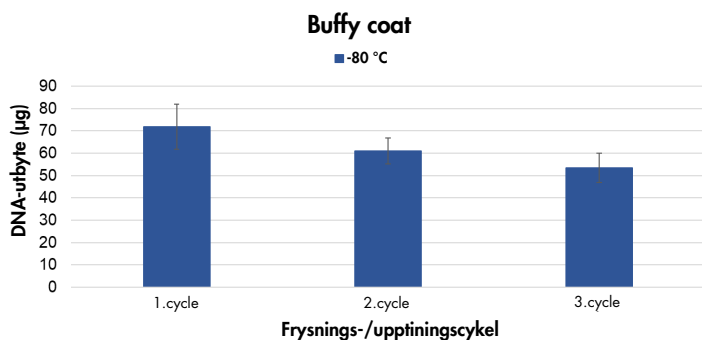
### DNA-blod och buffy coat

Eluatstabilitet för DNA-blodapplikationen testades med eluat från QS-körningar med DNA Blood 200-protokollet med 200 µl elueringsvolym och med DNA Blood 1000-protokoll med 500 µl elueringsvolym. Eluat förvarade i 2 ml Sarstedt-rör i rumstemperatur, 2-8°C, -20°C och -80°C. DNA-utbyte och -renhet fastställdes genom spektroskopisk analys. DNA-integritet analyserades genom gelelektrofores och LongRange PCR-analys (figur 9).



**Figur 9. Eluatstabilitet för DNA-blod.** DNA renades med DNA Blood 200 µl- och 1000 µl-protokoll. Eluat har förvarats vid -80°C i 2 ml Sarstedt-rör. Fyra replikat analyserades. DNA-integritet testades med long-range PCR. Figureerna visar resultaten efter förvaring i 10 år. M, QIAGEN GelPilot 1 kb Plus Ladder.

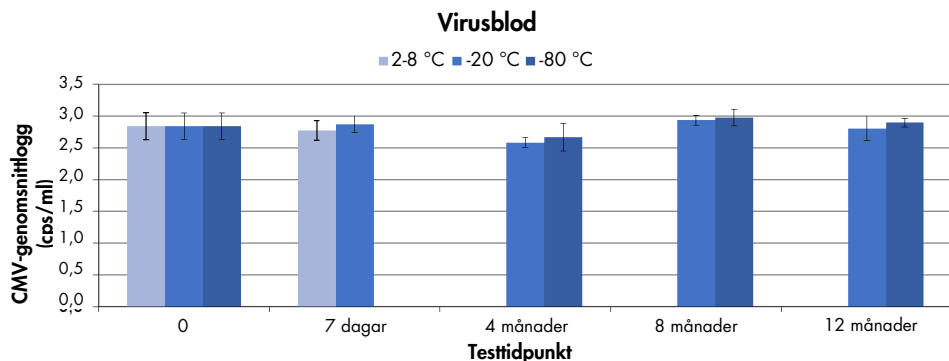
Eluatstabilitet för buffy coat-applikationen testades med eluat från QS-körningar utförda med BC 400 µl-protokoll och 200 µl-elueringsvolym. Eluat förvarades i 2 ml Sarstedt-rör och elueringsmikrorörställ i rumstemperatur, 2-8°C, -20°C och -80°C. Dessutom utsattes eluaten för frys-/upptiningstestning i upp till 3 cykler (figur 10). DNA-utbyte och -renhet fastställdes genom spektroskopisk analys. DNA-integritet analyserades genom gelelektrofores och LongRange PCR-analys (50 µl-reaktion).



**Figur 10. Frysning-/upptiningscykel av eluat för buffy coat.** DNA renades med DNA BC 400 µl-protokoll. Buffy coat genererades från EDTA-blod. Eluat har förvarats i 2 ml Sarstedt-rör. DNA-utbytet fastställdes vid testtidpunkterna genom att använda samma eluat vid 3 frysning-/upptiningscykler. DNA-utbyte fastställdes genom spektroskopisk analys. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet (genomsnittsvärde med standardavvikelse).

## Virusblod

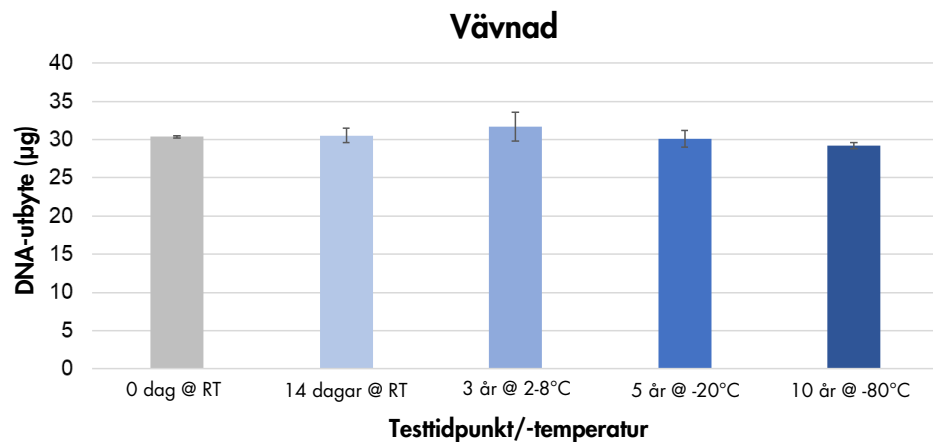
Eluatstabilitet för virusblod-applikationen testades med eluat från QS-körningar utförda med Virus Blood 200-protokoll med 60 µl elueringsvolym. K<sub>2</sub> EDTA-blod tillsatt med kommersiell CMV-standard (titer 2,7 log copies/ml) användes som provmaterial. Eluat förvarades i 2 ml Sarstedt-rör i 2-8°C, -20°C och -80°C. Eluat analyserades med en CMV real-time-analys (figur 11). I följande visas resultaten av flera testtidpunkter.



**Figur 11. Eluatstabilitet för virusblodapplikation.** EDTA-blodprov tillsatta med kommersiell CMV-standard renades med Virus Blood 200-protokoll. Eluat har förvarats vid olika temperaturer i elueringsmikrorörställ och 2 ml Sarstedt-rör. Per testtidpunkt analyserades 4 replikat. Staplarna visar CMV-titer (genomsnittstiter med standardavvikelse).

## Vävnad

Eluatstabilitet för vävnadsapplikationen testades med protokollet Tissue HC 200 µl och 200 µl-elueringsvolym. Färsk lever från nötkreatur användes som provmaterial. Eluat förvarades i 2 ml Sarstedt-rör och elueringsmikrorörställ i rumstemperatur, 2-8 °C, -20 °C och -80 °C. DNA-utbyte och -renhet fastställdes genom spektroskopisk analys (figur 12). DNA-integritet analyserades med gelelektrofores.

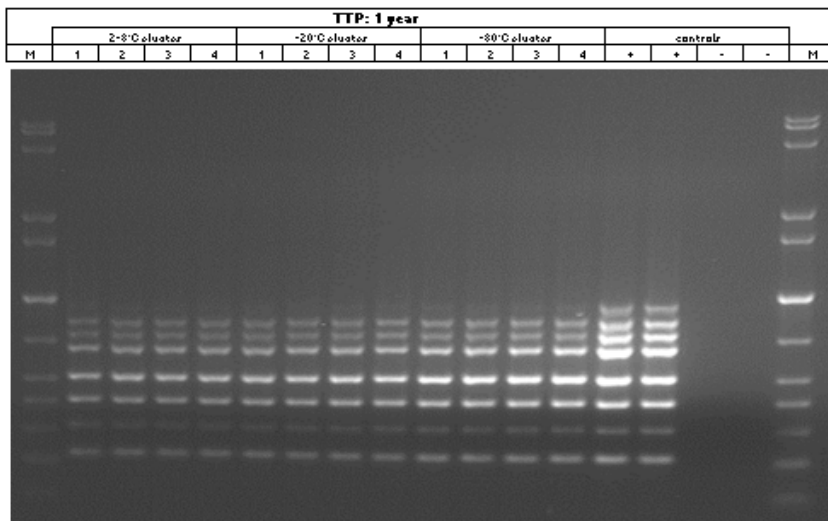


**Figur 12. Eluatstabilitet för vävnad.** DNA renades med DNA vävnad HC protokoll 200 µl-elueringsvolym. Färsk lever från nötkreatur användes som provmaterial. Eluat har förvarats vid olika temperaturer i elueringsmikrorörställ och 2 ml Sarstedt-rör. Per testtidpunkt analyserades 4 replikat. DNA-utbyte fastställdes genom spektroskopisk analys. Staplarna visar det absoluta DNA-utbytet (genomsnittsvärde med standardavvikelse).

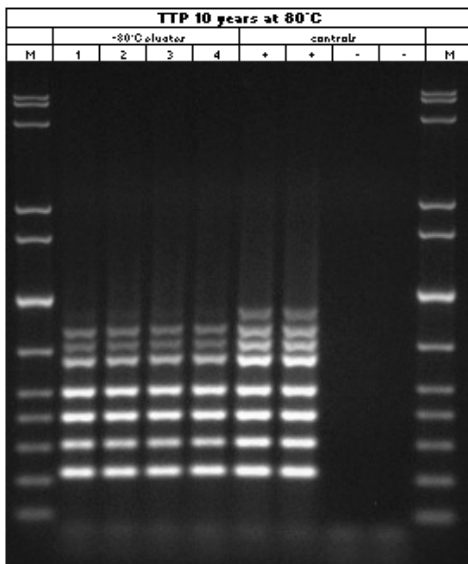
## FFPE-vävnad

Eluatstabilitet för FFPE-vävnadsapplikationen testades med Tissue LC 200 µl-protokoll och 100 µl-elueringsvolym. Kommersiell mänsklig FFPE-vävnad användes som provmaterial. Eluat förvarades i 2 ml Sarstedt-rör och elueringsmikrorörställ i rumstemperatur 2-8°C, -20°C och -80°C. Eluaten analyserades med en intern mänsklig 8-plex PCR-analys (figur 13). I följande visas resultaten för två testtidpunkter.

**A:**



**B:**



**Figur 13. Eluatstabilitet för FFPE-vävnad.** DNA renades med DNA Tissue LC-protokoll. Kommerciell FFPE-vävnad användes som provmaterial. Eluat har förvarats vid olika temperaturer i elueringsmikrorörställ och 2 ml Sarstedt-rör. Per testtidpunkt analyserades 4 replikat. Eluat analyserades med intern mänsklig 8-plex PCR-analys.

## Interfererande ämnen

Påverkan av hämmande substanser, vilka kan finnas i helblod, på prestandan för DNA-blodapplikation, virusblodapplikation och vävnadsapplikation testades genom tillsats av följande substanser:

**Tabell 8. Potentiellt interfererande ämnen testade för olika applikationer**

Interfererande ämnen	Koncentration	Blod	Virusblod	Vävnad
Bilirubin	200 mg/L	√	√	√
Hemoglobin	200 g/L	√	√	
Triglycerider	30 g/L	√	√	√
Protein	120 g/L	√	√	√

OBS! "√" indikerar vilka provmaterial som testades för respektive potentiellt interfererande ämne.

För hemoglobin (200 g/l) och protein (120 g/l) fastställdes befintliga nivåer i blodprovet och ytterligare hemoglobin eller protein tillsattes för att uppnå de indikerade koncentrationerna, 200 g/l respektive 120 g/l. För bilirubin (200 mg/l) och triglycerider (30 g/l) tillsattes den totala mängden av varje substans till proven för att uppnå de indikerade koncentrationerna.

För vävnad tillsattes den totala mängden av varje ämne direkt till lysatet, ingen bestämmelse för bilirubin, triglycerid eller proteinkoncentration av använt vävnadsprov utfördes.

Alla potentiellt interfererande ämnen (t.ex. droger) och motsvarande koncentration är mycket specifik för nerströmsapplikationen och möjliga tidigare medicinska behandlingar av patienten och måste undersökas under verifieringen av sådana nerströmsapplikationer med QIASymphony DSP DNA Mini och Midi Kits.

OBS! Tester utfördes med nerströmsapplikationer som exempel för en bedömning av kvaliteten av extraherade nukleinsyror. Dock kan olika nerströmsapplikationer ha olika krav avseende renhet (dvs. frånvaro eller koncentration av potentiellt interfererande ämnen), så att identifieringen och testningen av relevanta ämnen och respektive koncentrationer också måste etableras som en del av utvecklingen av nerströmsapplikationen för alla arbetsflöden som involverar QIASymphony DSP Mini och Midi Kits.

OBS! Observera att det under utvecklingen av QIASymphony DSP DNA Midi Kit inte observerades några indikationer att heparin har en negativ effekt på prestandan. Enligt ISO 20186-2:2019(E) kan dock heparin från blodprovtagningrör påverka renheten av isolerade nukleinsyror och möjlig överföring (carryover) till eluat vilket kan orsaka störningar i vissa nerströmsapplikationer. Därför är det användarens ansvar att validera om heparin har en negativ påverkan på deras arbetsflöde.

## DNA-blod och buffy coat

För DNA-blodapplikationer utfördes testning med DSP DNA 1000-protokoll som täcker den högsta provinmatningsvolymen med 200 och 500 µl elueringsvolym.

Eluat analyserades med spektroskopisk analys för DNA-utbyte och -renhet. PCR-kompatibilitet testades med real-time PCR såväl som slutpunkt PCR-analys.

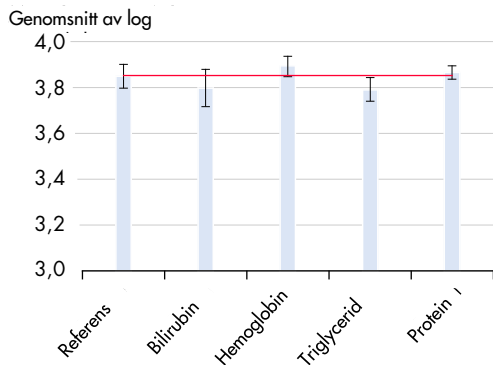
Ingen av ämnen som listas i tabell 9 stör; dock kan blodprov med höga koncentrationer av triglycerider (>30 g/l) kan leda till reducerad gDNA-samling.

## Virusblod

För virusblodapplikationen utfördes testningen med DSP Virus Blood 200-protokoll med 60 µl elueringsvolym. CMV-negativa blodprov tillsattes med 500 kopior/ml (låg koncentration) och  $1 \times 10^4$  kopior/ml (hög koncentration, figur 14) av en kommersiell CMV-standard.

Eluat analyserades med en CMV real-time PCR-analys.

Ingen av ämnen som listas i tabell 9 stör; dock kan blodprov med höga koncentrationer av triglycerider (>30 g/l) kan leda till reducerad rening av viralt DNA.



**Figur 14. Test av hämmande substanser.** Helblod tappades från 1 friska givare i BD K2E-rör och fick en tillsats av CMV-standardmaterial (titer 4,0 log copies/ml). Fem prover testades genom tillsats av möjliga hämmare och viralt DNA renades från 4 replikat av varje prov med användning av protokollet för QIA Symphony DSP DNA Mini Kit och virusblod 200 DSP-protokoll med en elueringsvolym på 165 µl. Eluat analyserades med en CMV real-time PCR-analys. Den röda linjen representerar den fastställda titern för referensprover, vilka inte hade fått någon tillsats av hämmande ämnen och staplarna visar genomsnitt för log copies per milliliter med standardavvikelse.

## Vävnad

För DNA-vävnad (färsk och frusen) utfördes testning med DSP DNA HC-protokoll med 200 µl elueringsvolym.

Eluat analyserades med spektroskopisk analys för DNA-utbyte och -renhet. PCR-kompatibilitet testades med real-time PCR-analys.

Ingen av ämnen som listas i tabell 9 identifierades att ha en negativ effekt på provberedningen.

## FFPE-vävnad

För FFPE-vävnad utfördes testningen med DSP DNA LC-protokoll med 50 µl elueringsvolym.

Ämnen (se tabell 9) tillsattes direkt till lysatet.



Tabell 9. Potentiellt interfererande ämnen testade för olika applikationer

Interfererande ämnen	Koncentration i lysat
Xylen	Upp till 11 %
Etanol	Upp till 11 %
Avparaffineringslösning	Upp till 11 %
Paraffin	0,1 µM avsnitt

Eluat analyserades med spektroskopisk analys för DNA-utbyte och -renhet. PCR-kompatibilitet testades med real-time PCR såväl som intern mänsklig 8-plex PCR-analys.

Ingen av ämnen som listas i tabell 9 identifierades att ha en negativ effekt på provberedningen.

## Korskontaminering





### DNA-blod

Risken för korskontaminering av QIASymphony DNA Blood-applikationen analyserades genom att utföra fyra 96 provkörningar på QIASymphony SP-instrumentet med alternerande checkerboard-satser (alternerande positiva och negativa prover), avbrutet av komplett negativa satser. Manligt blod (med ett WBC-antal på  $\geq 1,0 \times 10^7$  celler/ml och kvinnligt blod med ett WBC-antal mellan  $4,0 \times 10^6$  och  $9 \times 10^6$  celler/ml) användes som ett modellsystem. Provberedning utfördes med blod 1000 µl-protokollet som täcker den högsta provvolymen. En potentiell kontaminering av negativa kvinnliga prov under extraheringskörningar utvärderades genom efterföljande analys av eluaten med en real-time PCR för y-kromosomen.

Ingen korskontaminering upptäcktes mellan prov eller mellan batcher eller mellan körningar.

## Symboler

Följande symboler förekommer i detta dokument. För en komplett lista med symboler som används i bruksanvisningen eller på förpackningen eller etiketterna, se handboken.

Symbol	Symbolförklaring
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
<b>Rn</b>	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Tillverkare

## Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 2, revision 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Uppdatera till version 2 för efterlevnad med IVDR</li><li>• Avsnitt om Interfererande ämnen, Korskontaminering, Eluatstabilitet och Kompatibilitet till nerströmsapplikationer tillagda.</li></ul>

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller användarmanual för QIAGEN-satsen. Handböcker och användarmanualer till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAamp®, EZ1®, UltraRun® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

06/2022 HB-3029-D01-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

