

Brugsanvisning til QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit (ydelseskaraktistika)

Version 2



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug sammen med QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Du finder ydelseskaraktistikaene i elektronisk form på fanen Resource (Ressourcer) på produksiden på www.qiagen.com.

Generel introduktion

QIAamp DSP Circulating NA Kit er et system, der anvender silicamembran-teknologi (QIAamp-teknologi) til isolering og oprensning af cirkulerende cellefrit (ccf) DNA og RNA fra humane blodplasmaprøver.

Produktet er beregnet til brug af professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik.

QIAamp DSP Circulating NA Kit er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

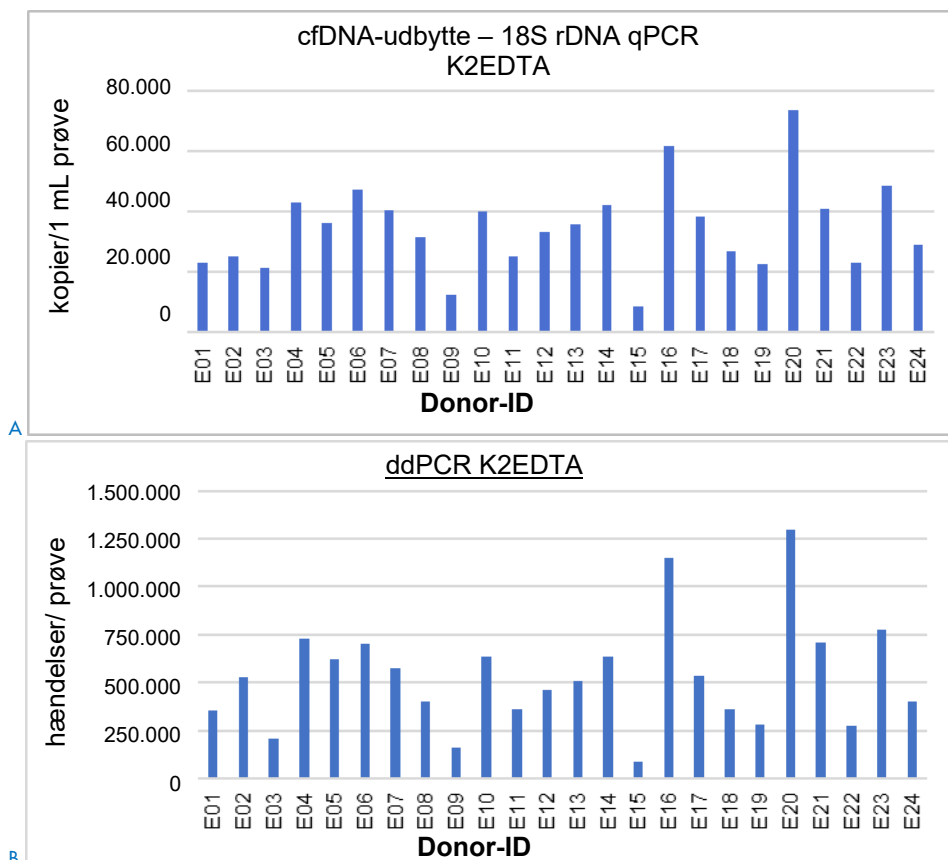
Udbytter af oprensede nukleinsyrer (Nucleic Acids, NA)

Plasmaprøver kan udvise en stor varians i udbyttet af oprensede nukleinsyrer. Brugere skal derfor optimere plasmainputtet og elueringsmængden for deres specifikke målanvendelse og efterfølgende anvendelse på deres laboratorie.

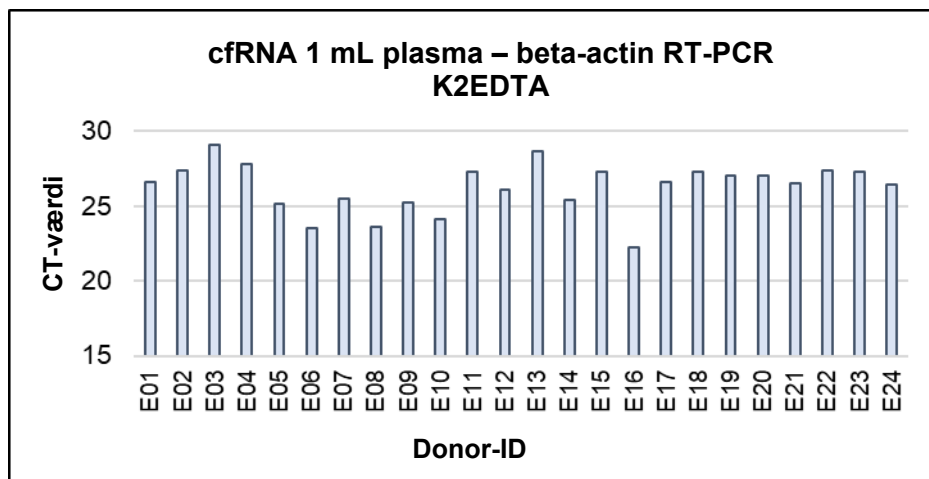
Hvis kittet bruges sammen med en efterfølgende QIAGEN®-anvendelse, skal du se den relevante håndbog for vejledning.

Analyse af efterfølgende anvendelser

Nukleinsyrer, der er isoleret med QIAamp DSP Circulating NA Kit, er klar til brug i forskellige efterfølgende anvendelser. For at evaluere ydelsen blev nukleinsyrer fra humant blodplasma fra enkeltdonor isoleret ved hjælp af tre forskellige prøvetagningsrør (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH og Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; $n = 24$ donorer hver). Eluater fra 1 mL plasmainput blev testet ved hjælp af kvantitativ PCR (qPCR, figur 1A), digital dråbepartikel-PCR (ddPCR, figur 1B) samt revers transskription-qPCR (RT-qPCR) for RNA (kun BD Vacutainer K2EDTA Tube-plasma, figur 2).



Figur 1. Sammenligning af enkeltdonorplasma (1 mL input) mellem qPCR og ddPCR (Bio-Rad®)



Figur 2. Detektion af cellefri RNA i enkeltdonorplasma (1 mL input) ved brug af RT-qPCR-analyse for human beta-actin-genet (fragmentlængde på 293 bp).

I forbindelse med Next Generation Sequencing (NGS)-analyse blev der genereret eluater fra 5 mL plasmainputvolumen (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube og Streck Cell-Free DNA BCT; $n = 8$ donorer hver). Det samlede DNA-udbytte for 5 mL plasma lå fra 50-150 ng DNA detekteret med Qubit® HS dsDNA-analysen. NGS-analysen blev udført med GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel og GeneReader®-systemet. Alle prøver blev beriget, og der blev genereret biblioteker. Mere end 98 % af de genererede målinger blev mappet til det humane genom, og >99,8 % af positionerne i interesseområderne havde en basisdækning på $\geq 500x$.

For begge nukleinsyrer (DNA og RNA) blev der påvist succesfuld anvendelse af efterfølgende teknologier (figur 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	ikke testet	✓
Streck	✓	✓	ikke testet	✓

Figur 3. Succesfuld brug af isolerede nukleinsyrer med forskellige efterfølgende anvendelser.

Brugerne skal optimere plasmainputtet og elueringsmængden for deres målmolekyle og eventuelle efterfølgende fremgangsmåder, der anvendes på deres laboratorie, eller henvise til den specifikke ydelse af den relevante efterfølgende anvendelse.

Eluatstabilitet

Eluatstabiliteten afhænger af indholdet og typen af de isolerede nukleinsyrer, elueringsmængden og opbevaringsbetingelserne. Vi anbefaler, at brugerne etablerer den eluatstabilitet, der er påkrævet til deres situation.

Eluatstabiliteten blev testet for DNA og eluater udledt af humant plasma genereret fra BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) og stabiliserende prøvetagningsrør (PAXgene Blood ccfDNA Tube og Streck Cell-Free DNA BCT). Eluater blev opbevaret ved -30°C til -15°C og -90°C til -65°C. Der blev ikke observeret nogen nedbrydning i op til 12 måneder. Eluater opbevaret ved 2-8°C og ved stuetemperatur (15-25°C) var stabile i op til 48 timer. Alle betingelser blev vurderet ved hjælp qPCR målrettet mod det humane 18S rDNA-gen.

Eluatstabiliteten blev testet for RNA, og eluater udledt af human plasma blev genereret fra BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company). Eluater blev opbevaret ved -30°C til -15°C og -90°C til -65°C. Der blev ikke observeret nogen nedbrydning i op til 6 måneder. Eluater opbevaret ved 2-8°C var stabile i op til 48 timer. Alle betingelser blev vurderet ved hjælp RT-qPCR målrettet mod det humane beta-actin-gen.

Hvis kittet bruges sammen med efterfølgende QIAGEN-anvendelser, skal du se den relevante håndbog for vejledning.

Præcision af NA-isolering

Præcision blev evalueret ved hjælp af human plasma, og betingelserne blev vurderet ved hjælp af qPCR målrettet mod det humane 18S rDNA-gen.

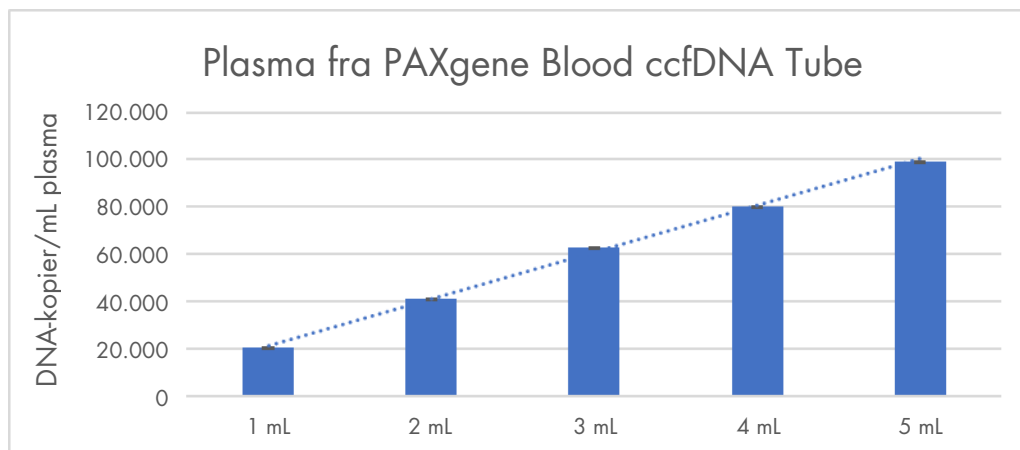
Prøveopsætningen bestod af 12 oprensingskørsler med 12 gentagelser hver (i alt 144 oprensninger). Der blev arrangeret oprensingskørsler med tre forskellige operatører på tre forskellige dage med tre forskellige instrumenter, som brugte tre forskellige lots af QIAamp DSP Circulating NA Kit. Standardafvigelsen (Standard Deviation, SD) og variationskoefficienten (Coefficient of Variation, CV) blev fastslået for hver enkelt parameter og for den samlede variabilitet for QIAamp DSP Circulating NA Kit (tabel 1).

Tabel 1. Præcisionsresultater

Præcision			
Parameter	Gns. antal kopier/ml	SD	CV (%)
Kørsel til kørsel		461	1,78
Operatør til operatør		1392	5,38
Instrument til instrument		228	0,88
Dag til dag	25.894	2096	8,09
Lot til lot		969	3,74
I alt		3120	12,05

Linearitet

Data er blevet genereret for 1-5 mL plasmainputvolumen fra blod opbevaret i BD Vacutainer K2EDTA Tubes, PAXgene Blood ccfDNA Tubes og Streck Cell-Free DNA BCT'er. Der blev for alle BCT'er observeret en lineær stigning i DNA-udbyttet (se figur 4), og for BD Vacutainer K2EDTA Tubes var dette også tilfældet for RNA.



Figur 4. Lineær stigning i det samlede DNA udbytte (DNA-kopier/ml plasmainput) for forskellige plasmainputvolumener. Dataene for plasma genereret fra PAXgene Blood ccfDNA Tube er vist, men der er ækvivalente resultater for plasma udledt af BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) og Streck Cell-Free DNA BCT.

Protokolækvivalens (breeze-protokol/klassisk protokol)

Der blev fastslået ækvivalens i ydelsen mellem breeze-protokollen og den klassiske protokol ved at påvise, at konfidensgrænsen på 95 % med hensyn til forskellen på den gennemsnitlige Ct-værdi (RNA) eller det gennemsnitlige antal kopier/ml (DNA) lå inden for $\pm 2 \times SD$ hvor SD er den registrerede præcision for den klassiske protokol (referencebetingelse). Der blev brugt tre kits, og tre operatører udførte eksperimenterne.

Den samlede præcision (SD) for Ct-værdierne genereret for breeze-protokollen var mindre end den øverste grænse for det tosidede 95 % prognoseinterval for den samlede præcision (SD) for den klassiske protokol. Prognoseintervallet i undersøgelsen blev beregnet ud fra dataene fra den klassiske protokol ($n = 143$) og ud fra antallet af datapunkter for breeze-protokollen ($n = 144$) i undersøgelsen.

Interfererende stoffer

Potentielt interfererende stoffer kan stamme fra forskellige kilder, f.eks. naturlige metabolitter, stoffer, der er blevet indført i forbindelse med patientbehandling, eller stoffer, patienten har indtaget. For QIAamp DSP Circulating NA Kit blev hæmoglobin, triglycerider, EDTA, koffein, albumin, konjugeret bilirubin og ukonjugeret bilirubin testet som endogene komponenter. Der blev ikke konstateret interferens ved efterfølgende anvendelse af qPCR. Der blev heller ikke konstateret interferens fra komponenter af QIAamp DSP Circulating NA Kit (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 og etanol) under prøvebehandling og nukleinsyreekstraktion.





På grund af kompleksiteten af potentielt interfererende stoffer og forskelle med hensyn til sensitivitet for specifikke efterfølgende anvendelser anbefaler vi, at brugerne vurderer virkningen af interfererende stoffer, der er specifikke for deres egen arbejdsgang, og validerer en metode til kontrol af interferens i deres specifikke efterfølgende diagnostiske anvendelser.

Du kan få flere oplysninger om interfererende stoffer i specifikke efterfølgende QIAGEN-anvendelser i de relevante kithåndbøger.

Krydskontaminering

For at vurdere krydskontamineringsniveauet blev 105 kopier af HBV-virus tilsat i 5 mL eller 2 mL humant blodplasma (positive prøver) og isoleret ved siden af virusfri prøver (negative prøver) i et ternet mønster med henholdsvis positive prøver og ekstraktionskørsler, som kun indeholdt negative prøver (for at vurdere krydskontaminering inden for og på tværs af ekstraktionskørsler). Målet med studiet var at efterligne en situation, hvor prøver, som indeholder et højt niveau af nukleinsyreålmolekyler, kan krydskontaminere andre prøver under ekstraktionsproceduren. NA-oprensning blev udført ved brug af ét lot reagenser. Krydskontaminering blev vurderet ved brug af *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Resultaterne viste ingen krydskontaminering noget sted i systemet.

Symboler

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

Revisionshistorik for dokumentet

Revision	Beskrivelse
R1, juni 2022	Opdatering for version 2 af QIAamp DSP Circulating Kit, der overholder IVDR "Manuel" isolering tilføjet under Tilsigtet brug. Ingen ændringer af ydeevnedata i forhold til Kit-version 1.

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser findes i håndbogen eller brugsvejledningen til det pågældende QIAGEN-kit. Håndbøger og brugsvejledninger til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, artus®, GeneRead®, GeneReader® (QIAGEN Group); Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Bio-Rad® (Bio-Rad Laboratories, Inc.); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); Streck®, Cell-Free DNA BCT® (Streck Inc.); Qubit® (Thermo Fisher Scientific eller dets datterselskaber). 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-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

