

Petunjuk Penggunaan QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit (Karakteristik Kinerja)

Versi 2



Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro
Untuk digunakan dengan QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Jerman

R1

Karakteristik Kinerja tersedia secara elektronik dan dapat ditemukan pada tab sumber daya dari halaman produk di www.qiagen.com.

Pengenalan Umum

QIAamp DSP Circulating NA Kit adalah sistem yang menggunakan teknologi membran silika (teknologi QIAamp) mengisolasi dan memurnikan secara manual RNA dan DNA bebas-sel yang beredar (circulating, cell-free, ccf) dari sampel plasma darah manusia.

Produk ini ditujukan untuk digunakan oleh pengguna profesional, seperti teknisi dan dokter, yang terlatih dalam teknik biologis molekuler.

QIAamp DSP Circulating NA Kit ditujukan untuk penggunaan diagnostik in vitro.

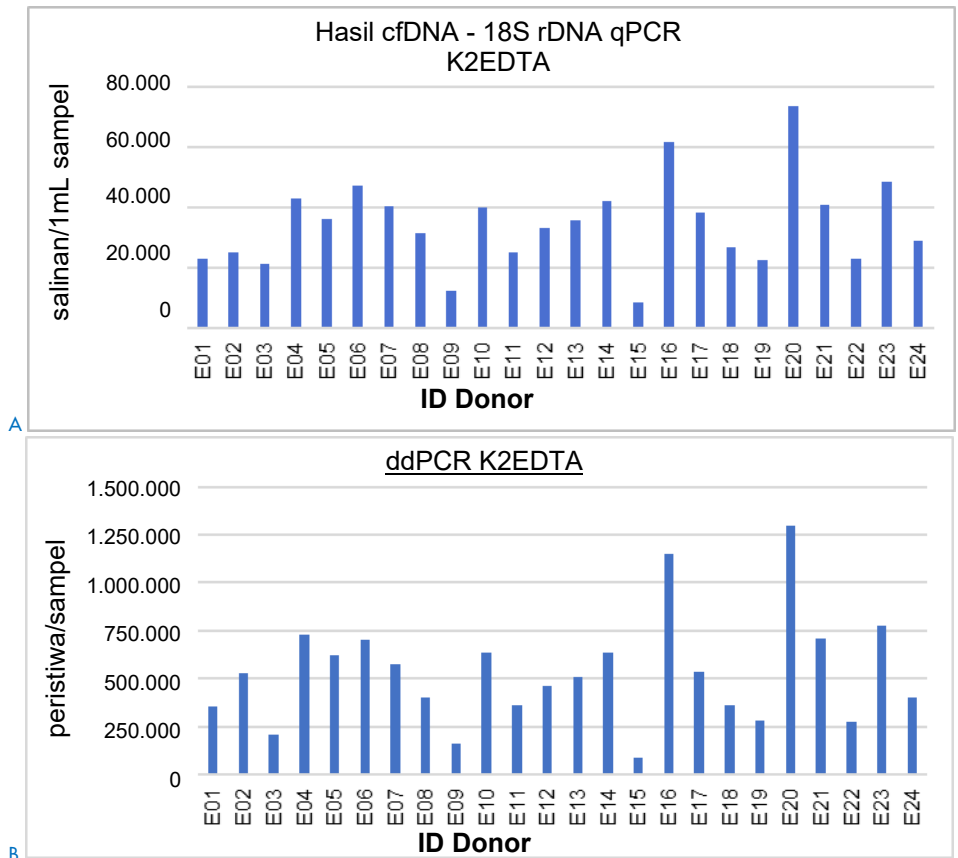
Hasil Asam Nukleat (Nucleic Acid, NA) yang Dimurnikan

Sampel plasma dapat menunjukkan tingginya variasi hasil asam nukleat yang dimurnikan. Dengan demikian, pengguna harus mengoptimalkan input plasma dan volume elusi untuk aplikasi hilir dan target spesifiknya di laboratoriumnya.

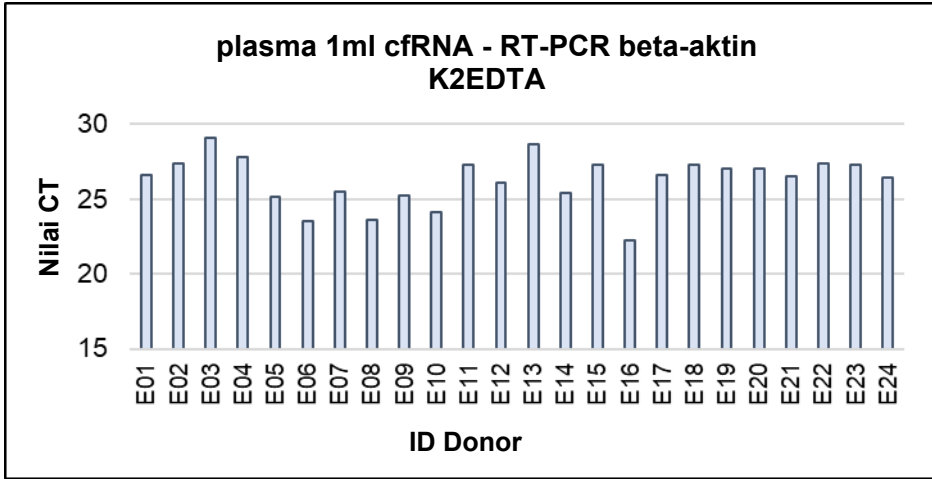
Jika kit digunakan sehubungan dengan aplikasi hilir QIAGEN®, lihat buku pegangan terkait untuk petunjuk.

Analisis Aplikasi Hilir

Asam nukleat yang diisolasi dengan QIAamp DSP Circulating NA Kit siap digunakan dalam berbagai aplikasi hilir. Untuk mengevaluasi kinerja, asam nukleat dari plasma darah manusia donor tunggal diisolasi menggunakan tiga tabung penampung darah yang berbeda (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; dan Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; $n = 24$ donor, masing-masing). Eluat dari input plasma 1 ml diuji menggunakan PCR kuantitatif (quantitative PCR, qPCR), (Gambar 1A), PCR tetes digital (digital droplet PCR, ddPCR), (Gambar 1B), serta qPCR transkripsi balik (reverse transcription qPCR, RT-qPCR) untuk RNA (hanya plasma BD Vacutainer K2EDTA Tube, Gambar 2).



Gambar 1. Perbandingan plasma donor tunggal (1 ml input) antara qPCR dan ddPCR (Bio-Rad®)



Gambar 2. Deteksi RNA bebas sel dalam plasma donor tunggal (1 ml input) menggunakan uji kadar RT-qPCR untuk gen beta-aktin manusia (panjang fragmen 293 bp).

Untuk analisis pembentukan sekuens generasi berikutnya (Next-Generation Sequencing, NGS), eluat dari volume input plasma 5 ml (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube, dan Streck Cell-Free DNA BCT; n = 8 donor, masing-masing) telah dihasilkan. Total hasil DNA untuk 5 ml plasma yang berkisar antara 50 dan 150 ng DNA dideteksi dengan uji kadar Qubit® HS dsDNA. Analisis NGS dilakukan menggunakan GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel dan sistem GeneReader®. Semua sampel berhasil diperkaya, dan pustaka dihasilkan. Lebih dari 98% pembacaan yang dihasilkan dipetakan pada genom manusia, dan >99,8% posisi dalam wilayah minat memiliki cakupan dasar sebesar ≥500x.

Untuk kedua spesies asam nukleat (DNA dan RNA), ditunjukkan keberhasilan penerapan teknologi hilir (Gambar 3).

| | qPCR | ddPCR | RT-qPCR | NGS |
|---------|------|-------|-------------|-----|
| K2EDTA | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| PAXgene | ✓ | ✓ | tidak diuji | ✓ |
| Streck | ✓ | ✓ | tidak diuji | ✓ |

Gambar 3. Keberhasilan penggunaan asam nukleat yang diisolasi dengan berbagai aplikasi hilir.

Pengguna harus mengoptimalkan input plasma dan volume elusi untuk molekul targetnya dan setiap prosedur berikutnya yang digunakan di laboratoriumnya atau lihat kinerja spesifik aplikasi hilir terkait.

Stabilitas Eluat

Stabilitas eluat akan bergantung pada kandungan dan tipe asam nukleat yang diisolasi, volume elusi, dan kondisi penyimpanan. Kami merekomendasikan agar pengguna menetapkan stabilitas eluat sesuai dengan kebutuhan untuk persyaratan tertentu.

Stabilitas eluat diuji untuk DNA dan eluat berasal dari plasma manusia yang dihasilkan dari BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) dan tabung penampung darah penstabil (PAXgene Blood ccfDNA Tube dan Streck Cell-Free DNA BCT). Eluat disimpan pada suhu -30 °C hingga -15 °C dan -90 °C hingga -65 °C. Tidak diamati adanya penurunan mutu selama hingga 12 bulan. Eluat yang disimpan pada suhu 2–8 °C dan pada suhu ruang (15–25 °C) stabil selama hingga 48 jam. Semua kondisi dinilai menggunakan qPCR yang menargetkan gen 18S rDNA manusia.

Stabilitas eluat diuji untuk RNA, dan eluat yang berasal dari plasma manusia dihasilkan dari BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company). Eluat disimpan pada suhu -30 °C hingga -15 °C dan -90 °C hingga -65 °C. Tidak diamati adanya penurunan mutu selama hingga 6 bulan. Eluat yang disimpan pada suhu 2–8 °C stabil selama hingga 48 jam. Semua kondisi dinilai menggunakan RT- qPCR yang menargetkan gen beta-aktin manusia.

Jika kit digunakan sehubungan dengan aplikasi hilir QIAGEN, lihat buku pegangan terkait untuk petunjuk.

Presisi Isolasi NA

Presisi dievaluasi menggunakan plasma manusia, dan kondisi dinilai menggunakan qPCR yang menargetkan gen 18S rDNA manusia.

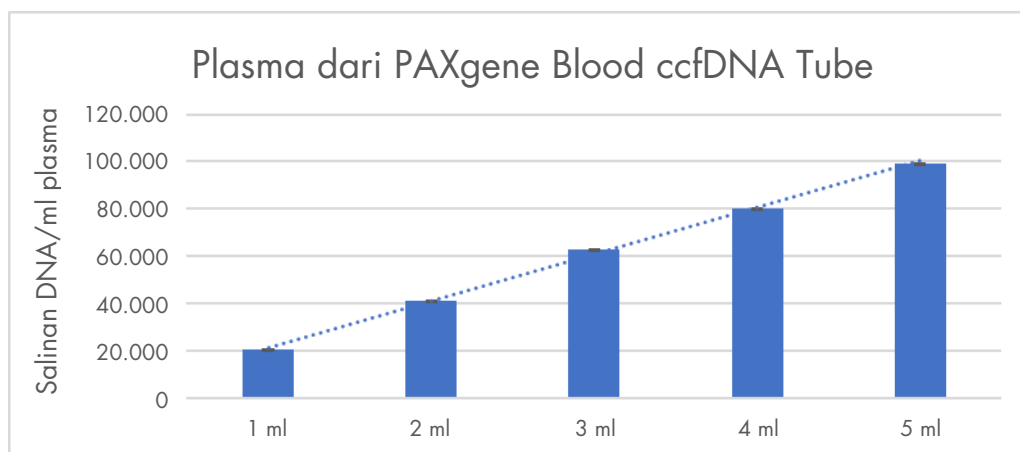
Pengaturan eksperimen terdiri dari 12 proses pemurnian dengan masing-masing 12 replikat (total 144 pemurnian). Proses pemurnian diatur dengan tiga operator yang berbeda pada tiga hari yang berbeda dengan tiga instrumen yang berbeda menggunakan tiga lot yang berbeda dari QIAamp DSP Circulating NA Kit. Simpangan baku (Standard Deviation, SD) dan koefisien variasi (Coefficient of Variation, CV) ditentukan untuk masing-masing parameter tunggal dan untuk keseluruhan keragaman (total) QIAamp DSP Circulating NA Kit (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil presisi

| Parameter | Presisi | | |
|------------------------|----------------------|------|--------|
| | Rata-Rata Salinan/ml | SD | CV (%) |
| Proses ke proses | 25.894 | 461 | 1,78 |
| Operator ke Operator | | 1392 | 5,38 |
| Instrumen ke Instrumen | | 228 | 0,88 |
| Hari ke Hari | | 2096 | 8,09 |
| Lot ke Lot | | 969 | 3,74 |
| Total | | 3120 | 12,05 |

Linearitas

Data telah dihasilkan untuk 1–5 ml volume input plasma dari darah yang disimpan dalam BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube, dan Streck Cell-Free DNA BCT. Untuk semua BCT, diamati adanya peningkatan linear hasil DNA (lihat Gambar 4); untuk BD Vacutainer K2EDTA Tube, ini juga terjadi pada RNA.



Gambar 4. Peningkatan linear total hasil DNA (salinan DNA/ml input plasma) untuk berbagai volume input plasma. Data untuk plasma yang dihasilkan dari PAXgene Blood ccfDNA Tube yang ditunjukkan, hasil ekuivalen untuk plasma yang berasal dari BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) dan Streck Cell-Free DNA BCT.

Ekuivalensi Protokol (Protokol Breeze/Klasik)

Ekuivalensi dalam kinerja antara protokol breeze dan protokol klasik ditentukan dengan menunjukkan bahwa 95% batas kepercayaan dari selisih dalam nilai Ct rata-rata (RNA) atau rata-rata salinan/ml (DNA) berada dalam $\pm 2 \times$ STD, dengan STD sebagai presisi yang diamati dari protokol klasik (kondisi referensi). Tiga lot kit digunakan, dan tiga operator melakukan eksperimen.

Total presisi (STD) nilai Ct yang dihasilkan untuk protokol breeze kurang dari batas atas 95% rentang prediksi dua-sisi untuk total presisi (STD) protokol klasik, di mana rentang prediksinya dihitung dalam studi yang menggunakan data dari protokol klasik ($n = 143$) dan menggunakan jumlah poin data untuk protokol breeze ($n = 144$) dalam studi tersebut.

Zat yang Mengganggu

Potensi zat yang mengganggu dapat berasal dari berbagai sumber, misalnya, metabolit alami, zat yang dimasukkan selama perawatan pasien, atau zat yang ditelan oleh pasien. Untuk QIAamp DSP Circulating NA Kit, hemoglobin, trigliserida, EDTA, kafein, albumin, bilirubin terkonjugasi, dan bilirubin tak terkonjugasi diuji sebagai komponen endogen. Tidak ditemukan adanya gangguan saat menerapkan qPCR sebagai aplikasi hilir. Selain itu, tidak diamati adanya gangguan yang berasal dari komponen QIAamp DSP Circulating NA Kit (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2, dan etanol) selama pemrosesan sampel dan ekstraksi asam nukleat.





Dikarenakan kompleksitas potensi zat yang mengganggu dan perbedaan sensitivitas aplikasi hilir tertentu, kami menyarankan agar pengguna menilai pengaruh zat yang mengganggu spesifik untuk alur kerjanya sendiri dan memvalidasi metode untuk mengendalikan gangguan dalam aplikasi hilir diagnostik spesifiknya.

Untuk informasi lebih lanjut tentang zat yang mengganggu dalam aplikasi hilir QIAGEN tertentu, lihat buku pegangan kit terkait.

Kontaminasi silang

Untuk menilai tingkat kontaminasi silang, 105 salinan virus HBV dibubuhkan ke dalam 5 atau 2 ml plasma darah manusia (sampel positif) dan diisolasi berdekatan dengan sampel bebas virus (sampel negatif) dalam pengaturan papan pemeriksa bergantian dengan proses ekstraksi yang hanya terdiri dari sampel negatif saja (untuk menilai kontaminasi silang proses intra- dan inter-ekstraksi). Studi ini bertujuan untuk meniru situasi di mana sampel yang mengandung level tinggi molekul target asam nukleat dapat mengontaminasi silang sampel lain selama prosedur ekstraksi. Pemurnian NA dilakukan menggunakan satu lot reagen. Kontaminasi silang dinilai menggunakan *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Hasil menunjukkan tidak ada kontaminasi silang dalam seluruh sistem.

Simbol

| | |
|---|---|
|  | Produk ini memenuhi persyaratan Peraturan Eropa 2017/746 untuk perangkat medis diagnostik in vitro. |
|  | Perangkat medis diagnostik in vitro |
|  | Nomor katalog |
|  | Produsen |
| Rn | R adalah untuk revisi Petunjuk Penggunaan (Karakteristik Kinerja) dan n adalah nomor revisi |

Riwayat Revisi Dokumen

| Revisi | Deskripsi |
|---------------|--|
| R1, Juni 2022 | Pembaruan untuk kepatuhan IVDR QIAamp DSP Circulating Kit V2 Penambahan isolasi “manual” dalam tujuan penggunaan. Tidak ada perubahan dalam data Kinerja dibandingkan dengan Kit Versi 1. |

Untuk informasi pelisensian terbaru dan penafian spesifik produk, lihat buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN. Buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN tersedia di www.qiagen.com atau dapat dipesan dari Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda.

Merek Dagang: 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 atau anak perusahaannya). Nama, merek dagang terdaftar, dll. yang digunakan di dalam dokumen ini, meski tidak secara khusus ditandai sebagaimana demikian, tidak akan dianggap tidak dilindungi oleh undang-undang.

06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

