

# Mode d'emploi du QIAamp<sup>®</sup> DSP Circulating NA Kit (caractéristiques de performances)

Version 2



Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro  
Pour une utilisation avec QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

Les caractéristiques de performances sont disponibles sous forme électronique et se trouvent sous l'onglet Resource (Ressources) de la page du produit, à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Introduction générale

QIAamp DSP Circulating NA Kit est un système qui utilise une technologie de membrane à base de silice (technologie QIAamp) pour isoler et purifier manuellement l'ADN et l'ARN libres circulants à partir d'échantillons de plasma sanguin humain.

Seuls des professionnels tels que des techniciens et des médecins dûment formés aux techniques de biologie moléculaire sont habilités à utiliser ce produit.

L'utilisation de QIAamp DSP Circulating NA Kit est réservée au diagnostic in vitro.

## Rendement des acides nucléiques (AN) purifiés

Le rendement des acides nucléiques purifiés des échantillons de plasma peut présenter d'importantes variances. Par conséquent, les utilisateurs doivent optimiser la valeur du plasma et le volume d'élution de leur cible spécifique ainsi que leurs applications en aval au sein du laboratoire.

Si la trousse est utilisée de pair avec une application en aval de QIAGEN®, reportez-vous au manuel correspondant pour connaître les instructions à suivre.

# Analyse des applications en aval

Les acides nucléiques isolés avec QIAamp DSP Circulating NA Kit sont prêts à l'emploi dans différentes applications en aval. Pour l'évaluation des performances, les acides nucléiques ont été isolés à partir de plasma sanguin humain provenant de donateurs uniques à l'aide de trois types de tubes de prélèvement sanguin différents (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH et Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck;  $n = 24$  donateurs chacun). Les éluats provenant de 1 ml de plasma ont fait l'objet d'un test de PCR quantitatif (qPCR, Figure 1A), de PCR par gouttelettes digitales (ddPCR, Figure 1B), ainsi que par qPCR par transcription inverse (RT-qPCR) pour l'ARN (uniquement le plasma du BD Vacutainer K2EDTA Tube, Figure 2).

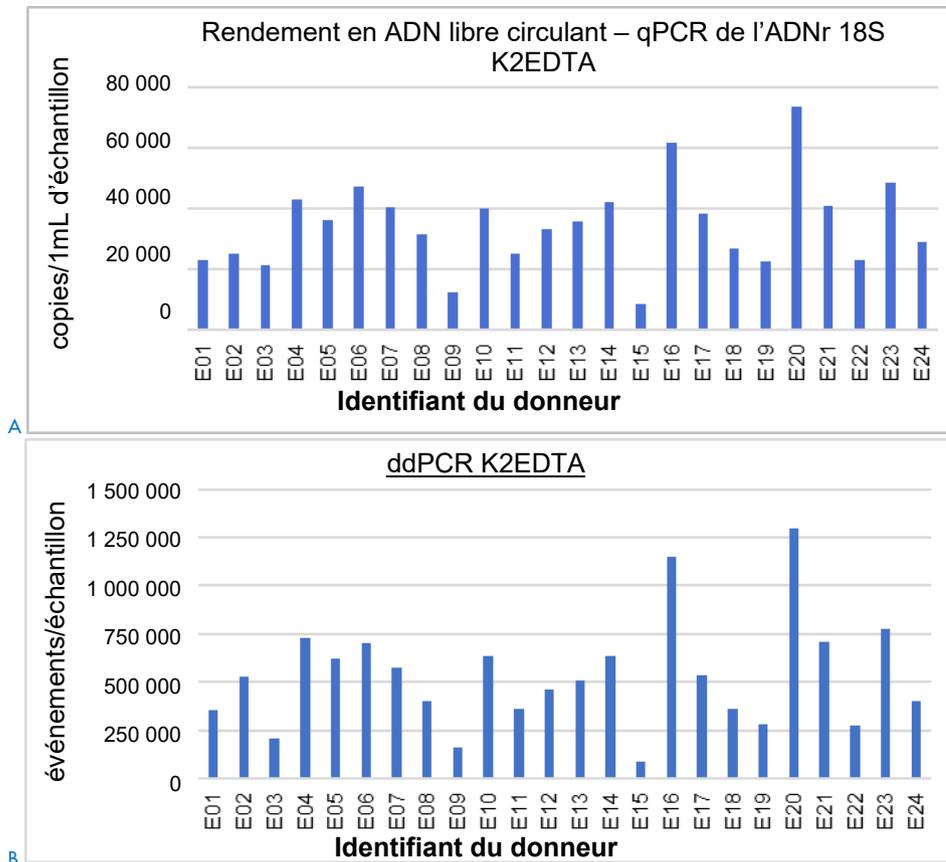


Figure 1. Comparaison du plasma d'un seul donneur (1 mL d'entrée) entre les tests qPCR et ddPCR (Bio-Rad®)

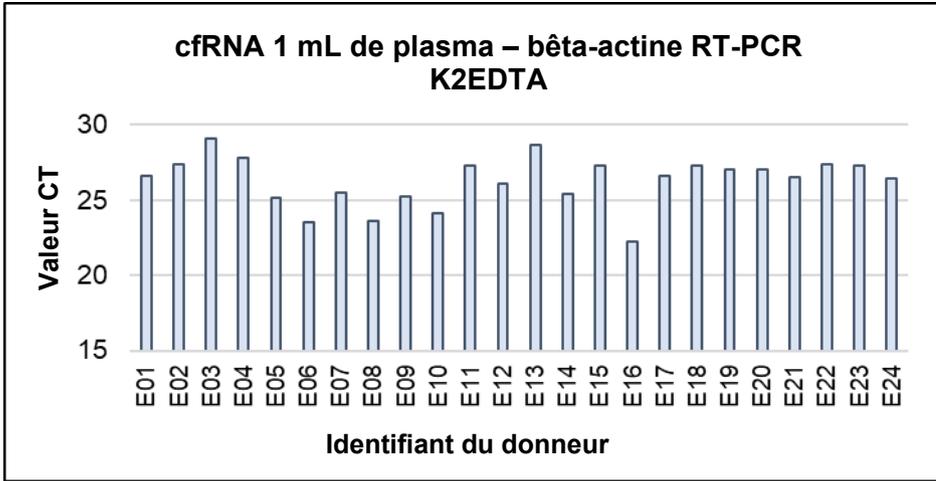


Figure 2. Détection d'ARN acellulaire dans le plasma d'un seul donneur (1 mL de valeur) à l'aide d'un dosage de RT-qPCR pour le gène humain de la bêta-actine (longueur de fragment de 293 pb).

Des éluats de 5 mL de volume d'entrée de plasma (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube, et Streck Cell-Free DNA BCT;  $n = 8$  donneurs chacun) ont été générés dans le cadre de l'analyse de séquençage de nouvelle génération (SNG). Le rendement total en ADN pour 5 mL de plasma détecté avec le dosage Qubit® HS dsDNA était compris entre 50 et 150 ng d'ADN. L'analyse SNG a été effectuée à l'aide du dispositif GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel et du système GeneReader®. Tous les échantillons ont été enrichis avec succès et des bibliothèques ont été générées. Plus de 98 % des lectures générées ont été cartographiées d'après le génome humain, et > 99,8 % des localisations dans les régions d'intérêt avaient une couverture de base de  $\geq 500$  x.

L'application réussie des technologies en aval a été démontrée pour les deux types d'acides nucléiques (ADN et ARN) (Figure 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	non testé	✓
Streck	✓	✓	non testé	✓

Figure 3. Utilisation réussie d'acides nucléiques isolés avec différentes applications en aval.

L'utilisateur doit optimiser la valeur du plasma et le volume d'éluat pour sa molécule cible ainsi que toute procédure ultérieure utilisée dans son laboratoire ou se référer aux performances relatives à l'application en aval concernée.

## Stabilité de l'éluat

La stabilité de l'éluat dépend du contenu et du type d'acides nucléiques isolés, du volume d'éluat et des conditions de stockage. Nous recommandons aux utilisateurs de déterminer la stabilité de l'éluat en fonction de leurs besoins.

La stabilité de l'éluat a été testée au regard de l'ADN et les éluats dérivés du plasma humain ont été générés par le BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) ainsi que par les tubes de prélèvement sanguin stabilisants (PAXgene Blood ccfDNA Tube et Streck Cell-Free DNA BCT). Les éluats ont été conservés entre -30 °C et -15 °C et entre -90 °C et -65 °C. Aucune détérioration n'a été observée jusqu'à 12 mois. Les éluats stockés entre 2 et 8 °C et à température ambiante (15 à 25 °C) ont été stables jusqu'à 48 heures. Toutes les conditions ont été évaluées par test qPCR ciblant le gène de l'ADNr 18S humain.

La stabilité des éluats a été testée au regard de l'ARN et les éluats dérivés du plasma humain ont été générés à partir de tubes BD Vacutainer K2EDTA (Becton Dickinson and Company). Les éluats ont été conservés entre -30 °C et -15 °C et entre -90 °C et -65 °C. Aucune détérioration n'a été observée jusqu'à 6 mois. Les éluats stockés entre 2 et 8 °C ont été stables jusqu'à 48 heures. Toutes les conditions ont été évaluées au moyen de tests RT-qPCR ciblant le gène de la bêta-actine humaine.

Si la trousse est utilisée de pair avec des applications en aval de QIAGEN, référez-vous au manuel de la trousse correspondante pour connaître les instructions à suivre.

## Précision de l'isolement de l'AN

La précision de l'isolement a été évaluée à l'aide de plasma humain, et les conditions ont été évaluées au moyen de tests qPCR ciblant le gène de l'ADNr 18S humain.

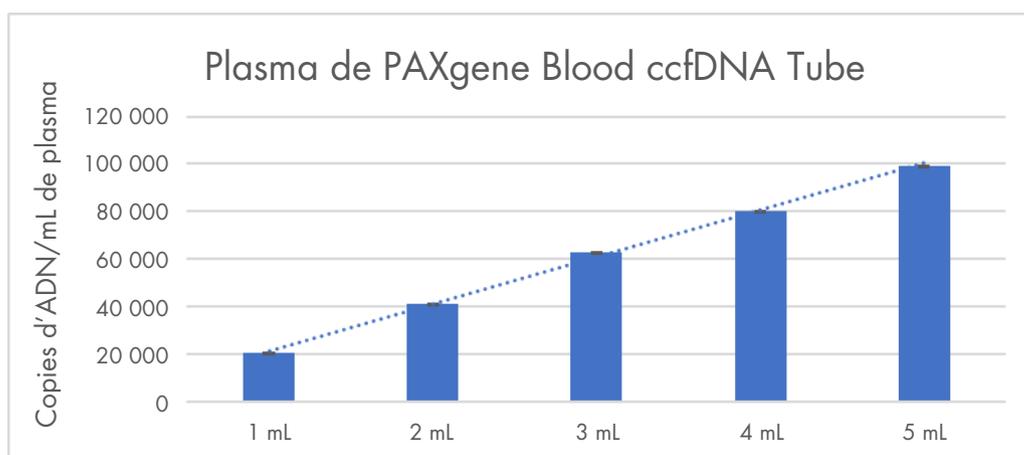
Le dispositif expérimental était constitué de 12 cycles de purification comprenant 12 répétitions chacun (144 purifications au total). Les purifications ont été réalisées par trois opérateurs différents, sur trois jours différents, avec trois instruments différents et trois lots différents de QIAamp DSP Circulating NA Kit. L'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été déterminés pour chaque paramètre et pour la variabilité globale de QIAamp DSP Circulating NA Kit (Tableau 1).

Tableau 1. Résultats de précision

Précision			
Paramètre	Nombre moyen de copies/mL	ET	CV (%)
Exécution à exécution		461	1,78
Opérateur à opérateur		1392	5,38
Instrument à instrument	25 894	228	0,88
Jour à jour		2096	8,09
Lot à lot		969	3,74
Total		3120	12,05

## Linéarité

Des données ont été générées pour un volume d'entrée de plasma de 1 à 5 mL à partir de sang conservé dans des tubes BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube et Streck Cell-Free DNA BCT. Une augmentation linéaire du rendement en ADN a été observée pour l'ensemble des tubes de prélèvement sanguin (voir Figure 4) ainsi que pour les tubes BD Vacutainer K2EDTA au niveau du rendement en ARN.



**Figure 4. Augmentation linéaire du rendement total en ADN (copies d'ADN/mL de plasma entrant) pour différents volumes de plasma entrant.** Données pour le plasma généré à partir du PAXgene Blood ccfDNA Tube, résultats équivalents pour le plasma dérivé du BD Vacutainer K2EDTA Tube (ADN/ARN) et du Streck Cell-Free DNA BCT.

## Équivalence des protocoles (protocoles Breeze/classique)

L'équivalence des performances entre le protocole Breeze et le protocole classique a été déterminée en montrant que la limite de confiance à 95 % correspondante de la différence de la valeur Ct moyenne (ARN) ou des copies/mL moyennes (ADN) se situait à  $\pm 2 \times SD$ , SD étant la précision observée du protocole classique (condition de référence). Trois lots de trousse ont été utilisés, et trois opérateurs ont réalisé les expériences.

La précision totale (SD) des valeurs Ct générées pour le protocole Breeze était inférieure à la limite supérieure de l'intervalle de prédiction bilatéral à 95 % pour la précision totale (SD) du protocole classique, l'intervalle de prédiction ayant été calculé dans le cadre de l'étude à l'aide des données du protocole classique ( $n = 143$ ) et du nombre de points de données pour le protocole Breeze ( $n = 144$ ) dans l'étude.

## Substances interférentes

Les substances potentiellement interférentes peuvent provenir de différentes sources, par exemple des métabolites naturels, des substances introduites pendant le traitement du patient ou des substances ingérées par le patient. Dans le cas de QIAamp DSP Circulating NA Kit, l'hémoglobine, les triglycérides, l'EDTA, la caféine, l'albumine, la bilirubine conjuguée et la bilirubine non conjuguée ont été testés comme composants endogènes. Aucune interférence n'a été constatée lors de l'application du test qPCR en aval. En outre, aucune interférence dérivée des composants de QIAamp DSP Circulating NA Kit (protéinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 et éthanol) pendant le traitement des échantillons et l'extraction des acides nucléiques n'a été observée.

En raison de la complexité des substances interférentes potentielles et des différentes sensibilités des applications spécifiques en aval, nous recommandons aux utilisateurs d'évaluer l'effet des substances interférentes spécifiques à leur propre flux de travail et de valider une méthode de contrôle des interférences dans le cadre de leur application diagnostique en aval.

Pour en savoir plus sur les substances interférentes dans les applications en aval de QIAGEN, reportez-vous aux manuels des troussees correspondants.

## Contamination croisée

Pour évaluer le niveau de contamination croisée, 105 copies du virus VHB ont été introduites dans 5 ou 2 mL de plasma sanguin humain (échantillons positifs) et ont été isolées à côté d'échantillons exempts de virus (échantillons négatifs) dans une configuration en damier alternant avec des séries d'extraction contenant uniquement des échantillons négatifs (pour évaluer la contamination croisée intra et inter séries d'extraction). L'étude visait à imiter la situation dans laquelle des échantillons contenant un niveau élevé de molécules cibles d'acide nucléique peuvent contaminer d'autres échantillons pendant la procédure d'extraction. La purification d'acide nucléique a été réalisée au moyen d'un lot de réactifs. La contamination croisée a été évaluée à l'aide de la trousse *artus*<sup>®</sup> HBV RG CE PCR Kit. Les résultats ont montré l'absence de contamination croisée dans l'ensemble du système.

# Symboles



Ce produit répond aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 pour les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Numéro de référence



Fabricant

Rn

R désigne une révision du mode d'emploi (caractéristiques de performances) et n représente le numéro de révision

# Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, Juin 2022	Mise à jour pour QIAamp DSP Circulating Kit V2 conforme IVDR Ajout de l'isolation « manuelle » dans l'utilisation prévue. Aucune modification des Données de performance par rapport à la version 1 de la trousse.

Pour obtenir des renseignements actualisés et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des trousse et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés aux services techniques QIAGEN ou au distributeur local.

Marques de commerce : 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 ou ses filiales). Les marques déposées, marques de commerce et autres marques citées dans ce document doivent être considérées comme protégées par la loi, même si elles ne sont pas spécifiquement signalées comme telles.

06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

