



Юни 2022 г.

# Инструкции за употреба (Работни характеристики) на QIAamp<sup>®</sup> DSP Circulating NA Kit

Версия 2

**IVD**

За инвитро диагностика  
За употреба с QIAamp DSP Circulating NA Kit



**REF**

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Германия

R1

Работните характеристики са достъпни в електронен формат и могат да бъдат намерени в раздела Resource (Ресурси) на продуктова страница на [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Общо въведение

QIAamp DSP Circulating NA Kit е система, която използва технология със силициева мембрана (технология QIAamp) за ръчно изолиране и пречистване на циркулираща безклетъчна (cell-free, ccf) ДНК и РНК от проби от човешка кръвна плазма.

Продуктът е предвиден за употреба от професионални потребители – например лаборанти и лекари, обучени в техниките на молекулярната биология.

QIAamp DSP Circulating NA Kit е предназначен за инвитро диагностика.

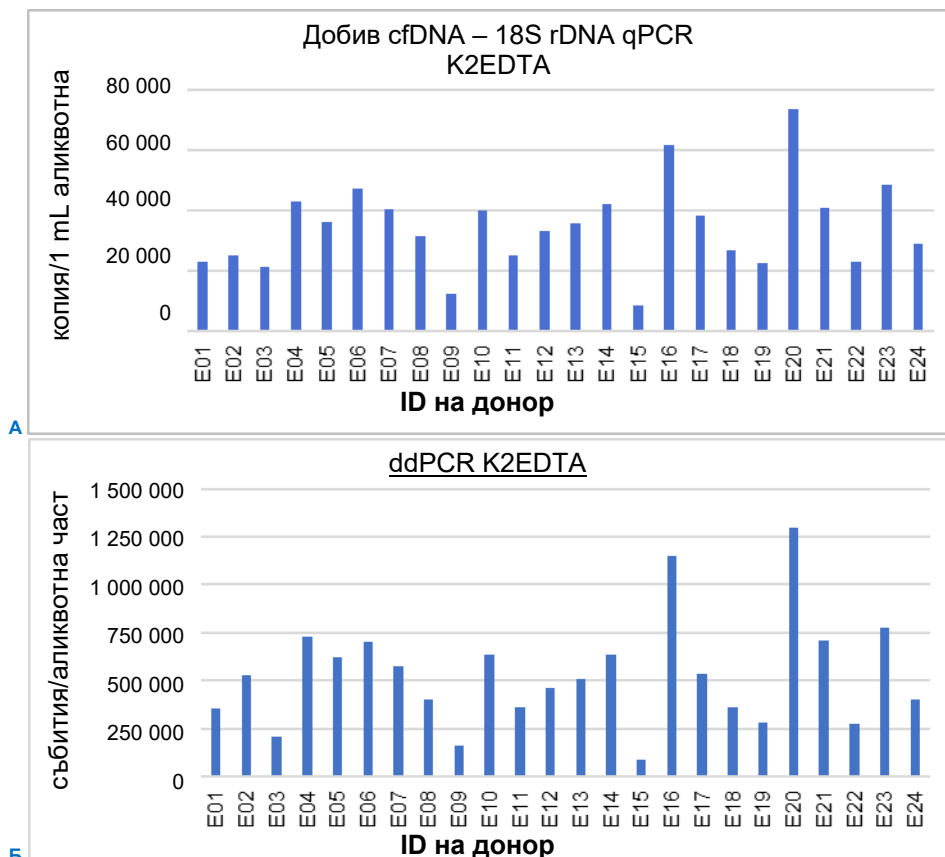
## Добив на пречистени нуклеинови киселини (Nucleic Acid, NA)

Плазмените проби могат да покажат голяма вариабилност в добива на пречистени нуклеинови киселини. Следователно потребителите трябва да оптимизират началния обем на плазмата и обема на елуиране според тяхната специфична цел и приложение надолу по веригата в дадената лаборатория.

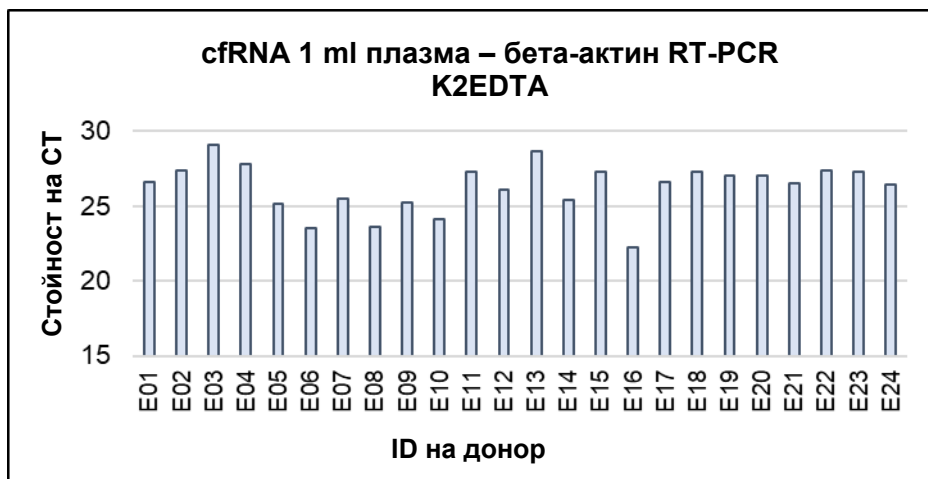
Ако наборът се използва във връзка с приложение на QIAGEN® надолу по веригата, вижте инструкциите в съответния наръчник.

## Анализ на приложения надолу по веригата

Нуклеиновите киселини, изолирани с QIAamp DSP Circulating NA Kit, са готови за употреба в различни приложения надолу по веригата. За да се оценят работните характеристики, нуклеинови киселини от човешка кръвна плазма на един донор са изолирани с помощта на три различни епруветки за събиране на кръв (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; и Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; n = 24 донора за всяка). Елуатите от 1 ml обем на плазмата са тествани с помощта на количествена PCR (qPCR, фигура 1A), капкова цифрова PCR (ddPCR, фигура 1B), както и qPCR с обратна транскрипция (RT-qPCR) за РНК (само за плазма в BD Vacutainer K2EDTA Tube, фигура 2).



Фигура 1. Сравнение на плазмата от един донор (обем от 1 ml) между qPCR и ddPCR (Bio-Rad®)



Фигура 2. Откриване на безклетъчна РНК в плазма от един донор (обем от 1 ml) с помощта на RT-qPCR анализ за човешки бета-актин ген (293 bp дължина на фрагмента).

За анализ на секвениране на следващото поколение (Next Generation Sequencing, NGS) са генерирани елуати от 5 ml входен обем на плазмата (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube и Streck Cell-Free DNA BCT;  $n = 8$  донора за всяка). Общият добив на ДНК за 5 ml плазма варира между 50 и 150 ng ДНК, открита с анализа Qubit® HS dsDNA. NGS анализът е направен с помощта на GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel и системата GeneReader®. Всички алиquotни части са успешно обогатени и библиотеките са генерирани. Повече от 98% от генерираните показания са картографиращи към човешкия геном и >99,8% от позициите в областите на интерес имат основно покритие от  $\geq 500x$ .

И за двата вида нуклеинови киселини (ДНК и РНК) е показано успешно прилагане на технологии надолу по веригата (фигура 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	не е тествано	✓
Streck	✓	✓	не е тествано	✓

Фигура 3. Успешно използване на изолирани нуклеинови киселини с различни приложения надолу по веригата.

Потребителят трябва да оптимизира обема на плазмата и обема на елуиране за тяхната целева молекула и всички последващи процедури, използвани в дадената лаборатория, или да направи справка с конкретното представяне на съответното приложение надолу по веригата.

## Стабилност на елуата

Стабилността на елуата ще зависи от съдържанието и вида на изолираните нуклеинови киселини, обема на елуиране и условията на съхранение. Препоръчваме на потребителите да установят стабилността на елуата, както е необходимо за техните специфични изисквания.

Стабилността на елуата е тествана за ДНК и елуати, извлечени от човешка плазма, генерирана от BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) и стабилизирани епруветки за вземане на кръв (PAXgene Blood ccfDNA Tube и Streck Cell-Free DNA BCT). Елуатите са съхранявани при -30 °C до -15 °C и -90 °C до -65 °C. Не се наблюдава влошаване до 12 месеца. Елуатите, съхранявани при 2 – 8 °C и при стайна температура (15 – 25 °C), остават стабилни до 48 часа. Всички условия са оценени с помощта на qPCR, насочен към човешкия 18S rDNA ген.

Стабилността на елуата е тествана за РНК и елуати, извлечени от човешка плазма, генерирана от BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company). Елуатите са съхранявани при -30 °C до -15 °C и -90 °C до -65 °C. Не се наблюдава влошаване до 6 месеца. Елуатите, съхранявани при 2 – 8 °C, остават стабилни до 48 часа. Всички условия са оценени с помощта на RT-qPCR, насочен към човешкия бета-актин ген.

Ако наборът се използва във връзка с приложения на QIAGEN надолу по веригата, вижте инструкциите в съответния наръчник на набора.

## Прецизност на изолирането на NA

Прецизността е оценена с помощта на човешка плазма, а условията – с помощта на qPCR, насочен към човешкия 18S rDNA ген.

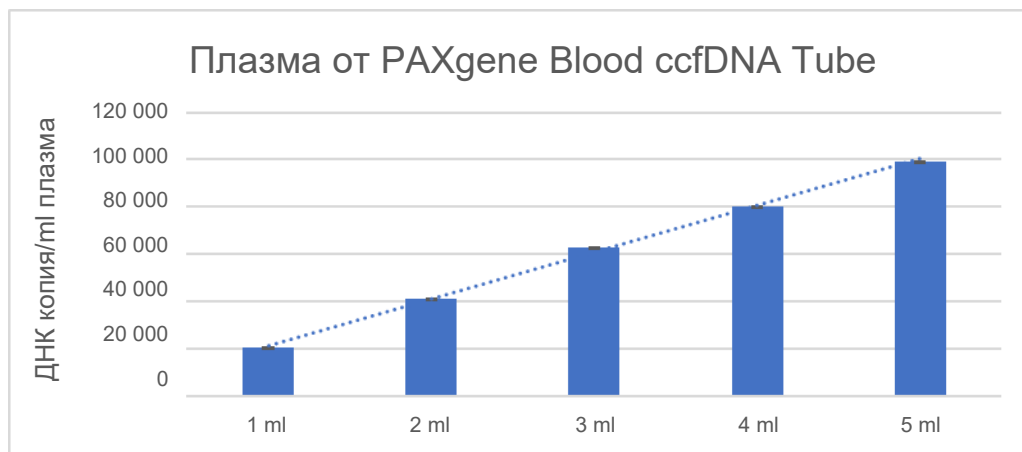
Експерименталната настройка включва 12 цикъла на пречистване с 12 репликата за всеки (общо 144 пречиствания). Циклите на пречистване са организирани с трима различни оператори в три различни дни с три различни апарата с помощта на три различни партии на QIAamp DSP Circulating NA Kit. Стандартното отклонение (Standard Deviation, SD) и коефициентът на вариация (Coefficient of Variation, CV) са определени за всеки отделен параметър и за цялостната променливост (общо) на QIAamp DSP Circulating NA Kit (таблица 1).

Таблица 1. Резултати за прецизност

Параметър	Прецизност		
	Средно копия/ml	SD	CV (%)
Между циклите	25 894	461	1,78
Между операторите		1392	5,38
Между апаратите		228	0,88
Между дните		2096	8,09
Между партидите		969	3,74
Общо		3120	12,05

## Линейност

Генерирани са данни за 1 – 5 ml входен обем плазма от кръв, съхранявана в BD Vacutainer K2EDTA Tubes, PAXgene Blood ccfDNA Tubes и Streck Cell-Free DNA BCT. При всички епруветки за вземане на кръв (Blood Collection Tube, BCT) се наблюдава линейно увеличение на добива на ДНК (виж фигура 4); за BD Vacutainer K2EDTA Tube е такъв случаят и с РНК.



**Фигура 4. Линейно увеличение на общия добив на ДНК (ДНК копия/ml входен обем плазма) за различни входни обеми плазма.** Данните за плазмата, генерирана от PAXgene Blood ccfDNA Tube, показват еквивалентни резултати за плазма, извлечена от BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) и Streck Cell-Free DNA BCT.

## Еквивалентност на протокола (протоколи Breeze/Classic)

Еквивалентността на работните характеристики между протокола Breeze и протокола Classic е определена, като се установи, че съответната 95% доверителна граница на разликата в средната стойност на Ct (РНК) или средните копия/ml (ДНК) е в рамките на  $\pm 2 \times \text{STD}$ , като STD е наблюдаваната прецизност на протокола Classic (референтно условие). Използвани са три партии от набора и трима оператори са извършили експериментите.

Общата прецизност (STD) на стойностите на Ct, генерирани за протокола Breeze, е по-малка от горната граница на двустранния 95% интервал на предвиждане за общата прецизност (STD) на протокола Classic, където интервалът на предвиждане е изчислен в рамките на проучването с помощта на данните от протокола Classic ( $n = 143$ ) и на броя точки от данните за протокола Breeze ( $n = 144$ ) в проучването.

## Интерфериращи вещества

Потенциално интерфериращите вещества могат да произхождат от различни източници, например естествени метаболити, вещества, въведени по време на лечението на пациента, или вещества, погълнати от пациента. За QIAamp DSP Circulating NA Kit са тествани хемоглобин, триглицериди, EDTA, кофеин, албумин, конюгиран билирубин и неконюгиран билирубин като ендогенни компоненти. Не е открита интерференция при прилагането на qPCR като приложение надолу по веригата. Освен това по време на обработката на аликвотните части и екстракцията на нуклеинова киселина не е наблюдавана интерференция, получена от компонентите на QIAamp DSP Circulating NA Kit (протеиназа K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2, и етанол).

Поради сложността на потенциално интерфериращите вещества и различната чувствителност на конкретни приложения надолу по веригата, препоръчваме на потребителите да направят оценка на ефекта на интерфериращите вещества, специфични за техния собствен работен процес, и да валидират метод за управление на интерференцията в тяхното конкретно диагностично приложение надолу по веригата.

За повече информация относно интерфериращите вещества в конкретни приложения на QIAGEN надолу по веригата вижте наръчниците на съответните набори.

## Кръстосано замърсяване

За да се оцени нивото на кръстосано замърсяване, 105 копия на вируса на HBV са добавени в 5 или 2 ml човешка кръвна плазма (положителни аликвотни части) и са изолирани в близост до аликвотни части без вируси (отрицателни аликвотни части) в шахматна схема, като се редуват с екстракционни цикли, съдържащи само отрицателни аликвотни части (за оценка на кръстосаното замърсяване в рамките на екстракцията и между отделните екстракции). Проучването има за цел да имитира ситуация, при която аликвотни части, съдържащи високо ниво на молекули от прицелната нуклеинова киселина, могат да кръстосано замърсят други аликвотни части по време на процедурата за екстракция. Пречишването на NA е проведено с помощта на една партида реактиви. Кръстосаното замърсяване е оценено с помощта на *artus*<sup>®</sup> HBV RG CE PCR Kit. Резултатите не показват кръстосано замърсяване в цялата система.

## Символи



Този продукт отговаря на изискванията на Европейски регламент 2017/746 за медицински изделия за инвитро диагностика.



Медицинско изделие за инвитро диагностика



Каталожен номер



Производител

Rn

„R“ означава редакция на Инструкциите за употреба (Работни характеристики), а „n“ е номерът на редакцията



# История на редакциите на документа

Редакция	Описание
R1, юни 2022 г.	Актуализация за QIAamp DSP Circulating Kit V2, съвместим с IVDR Добавяне на „ръчно“ изолиране в раздела „Предназначение“. Няма промяна в данните за работните характеристики в сравнение с версия 1 на набора.

За актуална информация относно лицензирането и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчниците и ръководствата за потребителя на набори QIAGEN са достъпни на адрес [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) или могат да бъдат заявени от отдела за техническо обслужване на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Търговски марки: 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 или неговите дъщерни дружества). Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона.

06/2022 NB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

