

QIAamp® DSP Circulating NA Kit Kullanım Talimatları (Performans Özellikleri)

Sürüm 2

IVD

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir
QIAamp DSP Circulating NA Kit ile kullanım içindir

CE

REF

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya

R1

Performans özellikleri elektronik olarak mevcuttur ve www.qiagen.com adresindeki ürün sayfasının kaynaklar sekmesi altında bulunabilir.

Genel Giriş

The QIAamp DSP Circulating NA Kit, dolaşan hücresiz (ccf) DNA ve RNA'nın insan kan plazması örneklerinden manuel olarak izolasyonu ve saflaştırılması amacıyla silika-membran teknolojisini (QIAamp teknolojisi) kullanan bir sistemdir.

Ürünün moleküler biyoloji teknikleri konusunda eğitilmiş teknisyenler ve doktorlar gibi profesyonel kullanıcılar tarafından kullanılması amaçlanmıştır.

QIAamp DSP Circulating NA Kit in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

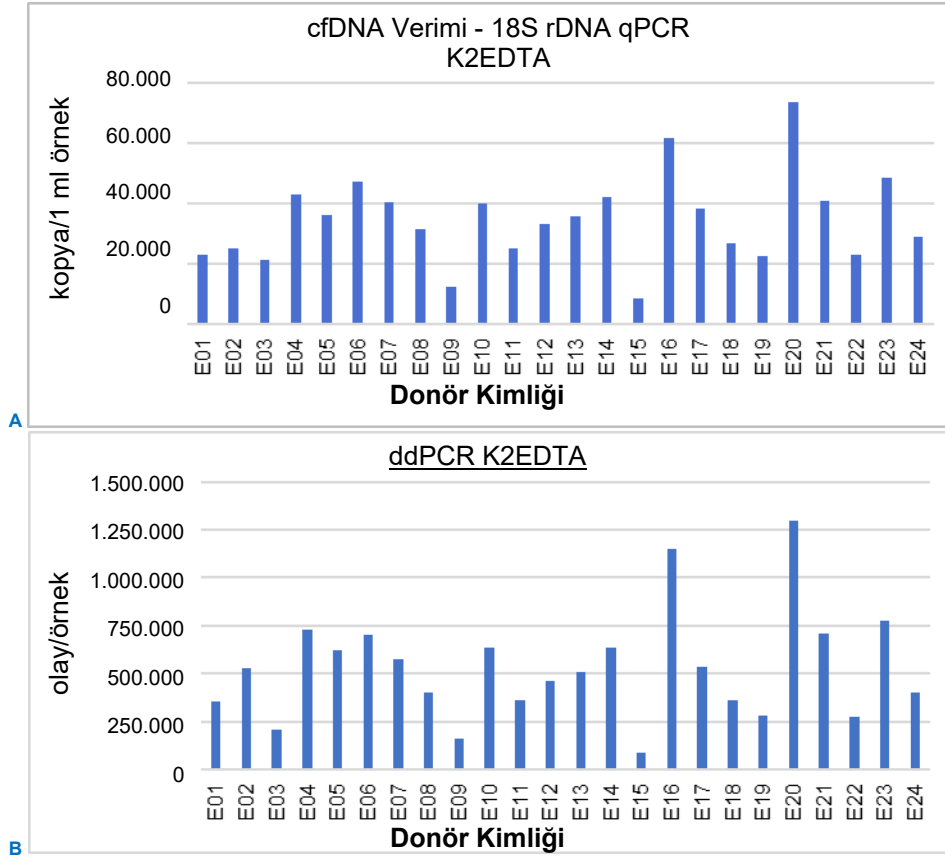
Saflaştırılmış Nükleik Asitlerin (NA, Nucleic Acids) Verimi

Plazma örnekleri, saflaştırılmış nükleik asitlerin veriminde yüksek bir varyans sergileyebilir. Bu nedenle kullanıcılar, plazma girişini ve elüsyon hacmini spesifik hedef ve laboratuvarlarındaki aşağı akışlı uygulama için optimize etmelidir.

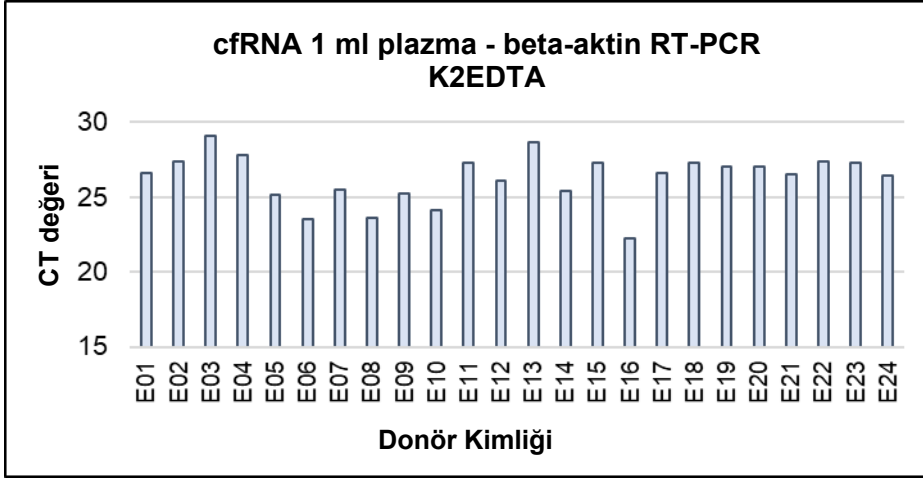
Kit, bir QIAGEN® aşağı akışlı uygulama ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili el kitabına başvurun.

Aşağı Akışlı Uygulamaların Analizi

QIAamp DSP Circulating NA Kit ile izole edilmiş nükleik asitler, farklı aşağı akışlı uygulamalarda kullanıma hazırdır. Performansı değerlendirmek için, tek donörlü insan kan plazmasından nükleik asitler üç farklı kan toplama tüpü kullanılarak izole edilmiştir (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH ve Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; $n =$ her biri 24 donör). 1 ml plazma girişinden elüatlar, kantitatif PCR (qPCR, Şekil 1A), dijital damlacıklı PCR (ddPCR, Şekil 1B), ayrıca RNA için ters transkripsiyon qPCR (RT-qPCR) (sadece BD Vacutainer K2EDTA Tube plazması, Şekil 2) kullanılarak test edilmiştir.



Şekil 1. qPCR ve ddPCR arasında tek donörlü plazma (1 ml giriş) karşılaştırması (Bio-Rad®)



Şekil 2. Tek donörlü plazmada (1 ml giriş) insan beta-aktin geni (293 bp fragman uzunluğu) için bir RT-qPCR tahlili kullanarak hücresiz RNA'nın saptanması.

Yeni nesil sekanslama (NGS, next-generation sequencing) analizi için, 5 ml plazma girişi hacminden (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube ve Streck Cell-Free DNA BCT; $n =$ her biri 8 donör) elüatlar üretilmiştir. 5 ml plazma için toplam DNA verimi, Qubit® HS dsDNA tahlili ile saptanarak 50 ve 150 ng DNA arasında farklılık göstermiştir. NGS analizi, GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel ve GeneReader® sistemi kullanılarak yapılmıştır. Tüm örnekler başarılı bir şekilde zenginleştirilmiş ve kütüphaneler üretilmiştir. Üretilen okumaların %98'inden fazlası, insan genomuna eşleştirilmiştir ve ilgilenilen bölgelerdeki konumların >%99,8'i $\geq 500x$ baz kapsamına sahiptir.

Her iki nükleik asit türü (DNA ve RNA) için, aşağı akışlı teknolojilerin başarılı uygulaması gösterilmiştir (Şekil 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	test edilmedi	✓
Streck	✓	✓	test edilmedi	✓

Şekil 3. İzole edilmiş nükleik asitlerin farklı aşağı akışlı uygulamalarla başarılı kullanımı.

Kullanıcı, hedef molekülleri için plazma girişi ve elüsyon hacmini ve laboratuvarlarında kullanılan herhangi bir takip eden prosedürü optimize etmeli veya ilgili aşağı akış uygulamasının spesifik performansına bakmalıdır.

Elüat Stabilitesi

Elüat stabilitesi, izole edilmiş nükleik asitlerin içeriği ve tipi, elüsyon hacmi ve saklama koşullarına bağlı olacaktır. Kullanıcıların elüat stabilitesini belirli gerekliliklerine göre ihtiyaç duyulduğu şekilde belirlemelerini tavsiye ederiz.

Elüat stabilitesi, BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) ve stabilize edici kan toplama tüplerinden (PAXgene Blood ccfDNA Tube ve Streck Cell-Free DNA BCT) elde edilen insan plazmasından türetilen DNA ve elüatlar için test edilmiştir. Elüatlar, -30°C ila -15°C ve -90°C ila -65°C'de saklanmıştır. 12 aya kadar herhangi bir bozulma gözlemlenmemiştir. 2-8°C'de ve oda sıcaklığında (15-25°C) saklanan elüatlar 48 saat kadar stabil kalmıştır. Tüm koşullar, insan 18S rDNA genini hedefleyen qPCR kullanılarak değerlendirilmiştir.

Elüat stabilitesi, RNA ve BD Vacutainer K2EDTA Tube'lar (Becton Dickinson and Company) ürününden üretilmiş insan plazmasından türetilen elüatlar için test edilmiştir. Elüatlar, -30°C ila -15°C ve -90°C ila -65°C'de saklanmıştır. 6 aya kadar herhangi bir bozulma gözlemlenmemiştir. 2-8°C'de saklanan elüatlar 48 saat kadar stabil kalmıştır. Tüm koşullar, insan beta-aktin genini hedefleyen RT-qPCR kullanılarak değerlendirilmiştir.

Kit QIAGEN aşağı akışlı uygulamalar ile birlikte kullanılıyorsa talimatlar için ilgili kit el kitabına başvurun.

NA İzolasyonunun Kesinliği

Kesinlik, insan plazması kullanılarak incelenmiştir ve koşullar insan 18S rDNA genini hedefleyen qPCR kullanılarak değerlendirilmiştir.

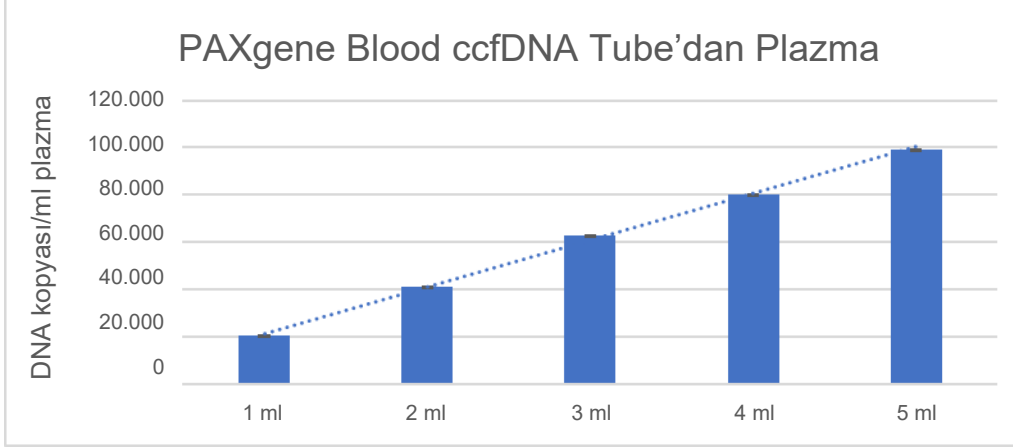
Deney düzeneğinde, her birinde 12 kopya olmak üzere 12 saflaştırma çalışması (toplam 144 saflaştırma) yer almıştır. Saflaştırma çalışmaları, QIAamp DSP Circulating NA Kit ürününün üç farklı lotu kullanılarak üç farklı cihaz ile üç farklı günde üç farklı operatör ile düzenlenmiştir. Standart sapma (Standard Deviation, SD) ve varyasyon katsayısı (Coefficient of Variation, CV), QIAamp DSP Circulating NA Kit ürününün her bir tek parametresi için ve toplam değişkenliği (toplam) için belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Kesinlik sonuçları

Parametre	Kesinlik		
	Ortalama Kopya/ml	SD	CV (%)
Çalışmalar arası		461	1,78
Operatörler Arası		1392	5,38
Cihazlar Arası	25.894	228	0,88
Günler Arası		2096	8,09
Lotlar Arası		969	3,74
Toplam		3120	12,05

Doğrusallık

BD Vacutainer K2EDTA Tube'lar, PAXgene Blood ccfDNA Tube'lar ve Streck Cell-Free DNA BCT'ler içinde saklanan kandan 1-5 ml plazma giriş hacmi için veriler üretilmiştir. Tüm BCT'ler için, DNA veriminde doğrusal bir artış gözlemlenmiştir (bkz. Şekil 4); BD Vacutainer K2EDTA Tube'lar için, bu, RNA için de geçerlidir.



Şekil 4. Farklı plazma giriş hacimleri için toplam DNA veriminin (DNA kopyası/ml plazma girişi) doğrusal artışı. PAXgene Blood ccfDNA Tube ürününden üretilmiş plazma için veriler gösterilmektedir, BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) ve Streck Cell-Free DNA BCT ürününden plazma için eşdeğer sonuçlar türetilmiştir.

Protokol Eşdeğerliği (Breeze/Klasik Protokoller)

Breeze protokolü ile klasik protokol arasındaki performans eşdeğerliği, Ct değeri (RNA) veya ortalama kopya/ml'deki (DNA) ilgili %95 farklılık güven limitinin $\pm 2 \times$ STD içinde olduğunun gösterilmesiyle belirlenmiştir, burada STD, klasik protokolün gözlemlenen kesinliğidir (referans koşulu). Üç kit lotu kullanılmıştır ve üç operatör deneyleri gerçekleştirmiştir.

Breeze protokolü için üretilmiş Ct değerlerinin toplam kesinliği (STD), klasik protokolün toplam kesinliği (STD) için iki taraflı %95 tahmin aralığının üst limitinden daha azdır, burada tahmin aralığı, klasik protokolden veriler kullanılarak ($n = 143$) ve çalışmadaki breeze protokolü için veri noktalarının sayısı ($n = 144$) kullanılarak çalışma içinde hesaplanmıştır.

Olumsuz Etkileyen Maddeler

Potansiyel olarak olumsuz etkileyen maddeler, farklı kaynaklardan, örneğin, doğal metabolitler, hasta tedavisi sırasında verilen maddeler veya hastanın yuttuğu maddelerden meydana gelebilir. QIAamp DSP Circulating NA Kit için hemoglobin, trigliseritler, EDTA, kafein, albümin, konjuge bilirubin ve konjuge olmayan bilirubin endojen bileşenler olarak test edilmiştir. qPCR'yi aşağı akışlı uygulama olarak uygularken hiçbir olumsuz etki bulunmamıştır. Ayrıca örnek işleme ve nükleik asit ekstraksiyonu esnasında QIAamp DSP Circulating NA Kit ürününün bileşenlerinden (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 ve etanol) türetilmiş herhangi bir olumsuz etki gözlemlenmemiştir.

Potansiyel olumsuz etkileyen maddelerin karmaşıklığı ve belirli aşağı akışlı uygulamaların farklı duyarlılığı nedeniyle kullanıcıların kendi iş akışları için spesifik olan olumsuz etkileyen maddelerin etkisini değerlendirmesini ve belirli tanı amaçlı aşağı akışlı uygulamalarında olumsuz etkiyi kontrol etmek için bir yöntem geliştirmelerini tavsiye ederiz.

Belirli QIAGEN aşağı akışlı uygulamalarda olumsuz etkileyen maddeler hakkında daha fazla bilgi için ilgili kit el kitaplarına başvurun.

Çapraz kontaminasyon

Çapraz kontaminasyon seviyesini değerlendirmek için, 5 veya 2 ml insan kan plazmasına (pozitif örnekler) 105 HBV virüsü kopyası eklenmiştir ve sadece negatif örnekleri içeren ekstraksiyon çalışmaları ile değişiklik gösteren bir dama tahtası düzeneğinde virüs içermeyen örnekler (negatif örnekler) bitişik şekilde izole edilmiştir (ekstraksiyon çalışmaları içinde ve arasında çapraz kontaminasyonu değerlendirmek için). Çalışmanın yüksek seviyede nükleik asit hedef moleküllerini içeren örneklerin ekstraksiyon süreci esnasında diğer örnekleri çapraz kontamine edebileceği durumu taklit etmesi amaçlanmıştır. NA saflaştırması bir reaktif lotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çapraz kontaminasyon, *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, tüm sistem içinde herhangi bir çapraz kontaminasyon göstermemiştir.

Semboller



Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.



In vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz



Katalog numarası



Üretici

Rn

R, Kullanım Talimatları (Performans Özellikleri) revizyonudur ve n, revizyon numarasıdır

Belge Revizyon Geçmiři

Revizyon

Açıklama

R1, Haziran 2022

IVDR uyumlu QIAamp DSP Circulating Kit V2 için güncelleme

Kullanım amacına “manuel” izolasyonun eklenmesi. Kit Sürüm 1’e kıyasla Performans verilerinde değişiklik olmamıştır.

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari Markalar: 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 veya iştirakleri). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.
06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

