

Gebruiksaanwijzing (Prestatiekenmerken) QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit

Versie 2



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik
Voor gebruik met QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R1

De prestatiekenmerken zijn in elektronische vorm beschikbaar. U kunt deze vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Algemene inleiding

De QIAamp DSP Circulating NA Kit is een systeem voor handmatige isolatie en zuivering van circulerend celvrij (ccf) DNA en RNA uit menselijke bloedplasmamonsters met behulp van silicamembraantechnologie (QIAamp-technologie).

Het product is bedoeld voor toepassing door beroepsmatige gebruikers, bijvoorbeeld analisten en artsen die zijn opgeleid in moleculair-biologische technieken.

De QIAamp DSP Circulating NA Kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

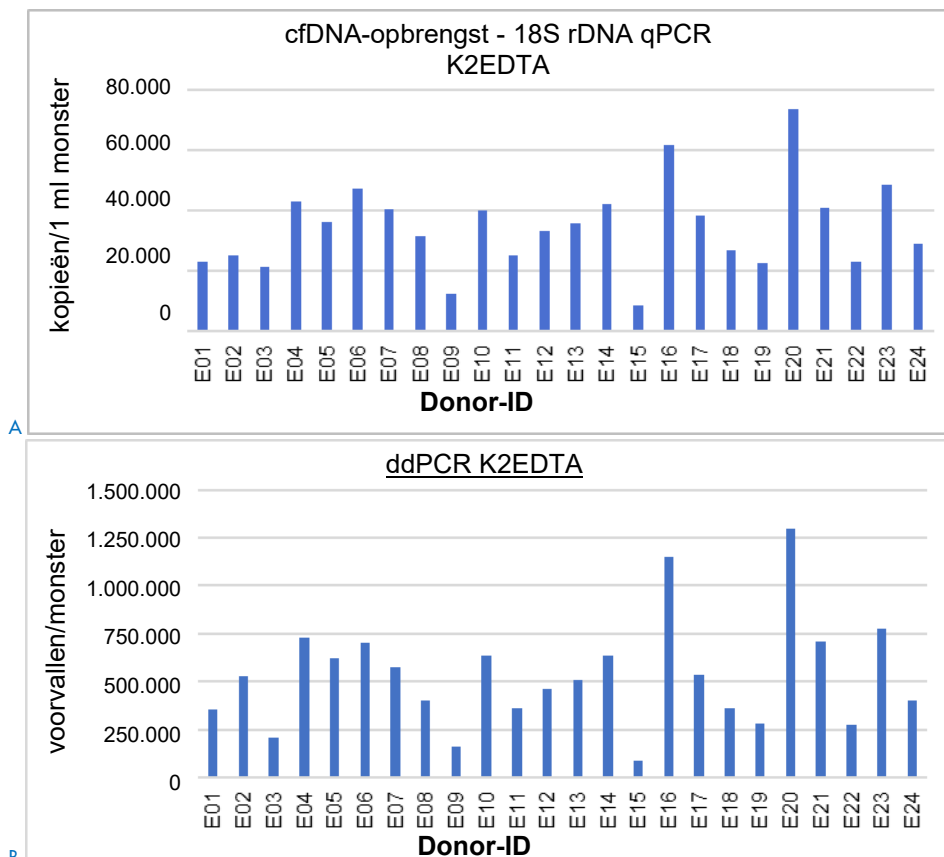
Opbrengst van gezuiverde nucleïnezuren (NZ)

Plasmamonsters kunnen een hoge variantie vertonen wat betreft de opbrengst van gezuiverde nucleïnezuren. Daarom dienen de gebruikers het invoer- en elutievolumen van het plasma te optimaliseren voor de specifieke beoogde toepassing en vervolgpcedures in hun laboratorium.

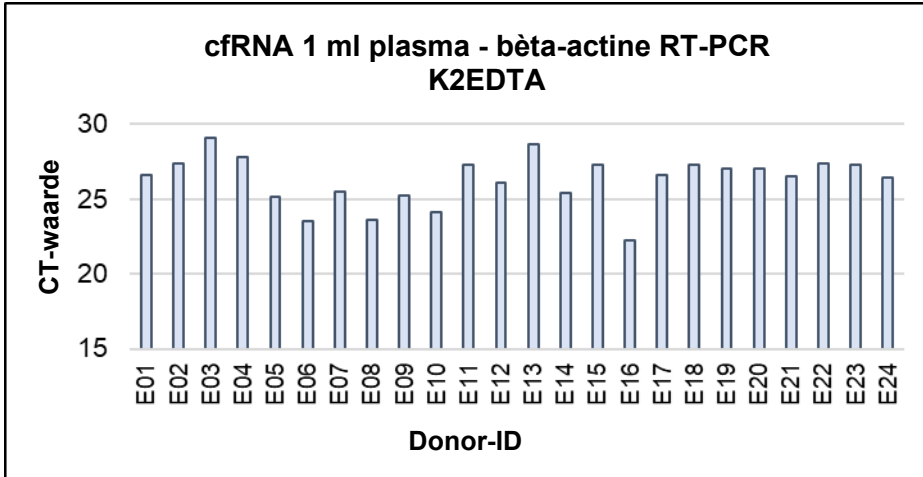
Als de kit wordt gebruikt in combinatie met een kit of ander hulpmiddel van QIAGEN® voor verdere verwerking of analyse, raadpleeg dan de instructies in de betreffende handleiding.

Analyse van vervolgpcedures

Nucleïezuren die zijn geïsoleerd met behulp van de QIAamp DSP Circulating NA Kit zijn gereed voor gebruik in verschillende vervolgpcedures. Voor een prestatiebeoordeling zijn de nucleïezuren uit single-donor menselijk bloedplasma geïsoleerd met gebruik van drie verschillende bloedafnamebuisjes (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; and Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; met elk $n=24$ donoren). Eluaten uit 1 ml plasma-invoer zijn getest aan de hand van kwantitatieve PCR (quantitative PCR, qPCR, Afbeelding 1A), digitale druppel-PCR (digital droplet PCR, ddPCR, Afbeelding 1B) en omgekeerde transcriptie-qPCR (reverse transcription qPCR, RT-qPCR) voor RNA (alleen plasma in BD Vacutainer K2EDTA Tube, Afbeelding 2).



Afbeelding 1. Vergelijking van single-donor plasma (1 ml invoer) tussen qPCR en ddPCR (Bio-Rad®)



Afbeelding 2. Detectie van celvrij RNA in single-donor plasma (1 ml invoer) aan de hand van een RT-qPCR-assay voor het menselijk gen voor bèta-actine (fragmentlengte van 293 bp).

Voor een NGS-analyse (next-generation sequencing) zijn eluaten gegenereerd uit een invoervolume van 5 ml plasma (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube en Streck Cell-Free DNA BCT; elk n=8 donoren). De totale DNA-opbrengst voor 5 ml plasma varieerde tussen 50 en 150 ng DNA, gedetecteerd met de Qubit® HS dsDNA-assay. De NGS-analyse is uitgevoerd aan de hand van de GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel en het GeneReader®-systeem. Alle monsters werden met succes verrijkt en er werden bibliotheken aangelegd. Meer dan 98% van de gegenereerde resultaten zijn in kaart gebracht op het menselijk genoom en >99,8% van de posities in de interessegebieden hadden een basisdekking van $\geq 500x$.

Voor beide soorten nucleïnezuur (DNA en RNA) werd geslaagde toepassing van vervolgtechnologieën aangetoond (Afbeelding 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	niet getest	✓
Streck	✓	✓	niet getest	✓

Afbeelding 3. Geslaagd gebruik van geïsoleerde nucleïnezuren met verschillende vervolgtechnologieën.

De gebruiker dient het invoer- en elutievolume van het plasma voor de doelmolecuul en eventuele daaropvolgende procedures in hun laboratorium te optimaliseren. Of raadpleeg de specifieke prestaties van de betreffende vervolgtechnologie.

Stabiliteit van het eluaat

De stabiliteit van het eluaat is afhankelijk van de samenstelling en het soort geïsoleerde nucleïnezuren, het elutievolume en de opslagomstandigheden. Wij raden gebruikers aan de stabiliteit van het eluaat te bepalen volgens hun specifieke vereisten.

De stabiliteit van het eluaat is getest voor DNA en eluaten afkomstig uit menselijk plasma gegenereerd uit BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) en stabiliserende bloedafnamebuisjes (PAXgene Blood ccfDNA Tube en Streck Cell-Free DNA BCT). De eluaten werden bewaard bij $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ tot $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ en $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ tot $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Er werd gedurende 12 maanden geen achteruitgang waargenomen. Eluaten die werden bewaard bij $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ en bij kamertemperatuur ($15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) waren stabiel gedurende 48 uur. Alle omstandigheden werden beoordeeld aan de hand van qPCR gericht op het menselijke 18S rDNA-gen.

De stabiliteit van het eluaat is getest voor RNA en eluaten afkomstig uit menselijk plasma gegenereerd uit BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company). De eluaten werden bewaard bij $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ tot $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ en $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ tot $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Er werd gedurende 6 maanden geen achteruitgang waargenomen. Eluaten die werden bewaard bij $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ waren stabiel gedurende 48 uur. Alle omstandigheden werden beoordeeld aan de hand van RT-qPCR gericht op het menselijke gen voor bèta-actine.

Als de kit wordt gebruikt in combinatie met een kit of ander hulpmiddel van QIAGEN voor verdere verwerking of analyse, raadpleeg dan de instructies in de handleiding van de betreffende kit.

Precisie van NZ-isolatie

De precisie is beoordeeld met gebruik van menselijk plasma en de omstandigheden zijn geëvalueerd aan de hand van qPCR gericht op het menselijke 18S rDNA-gen.

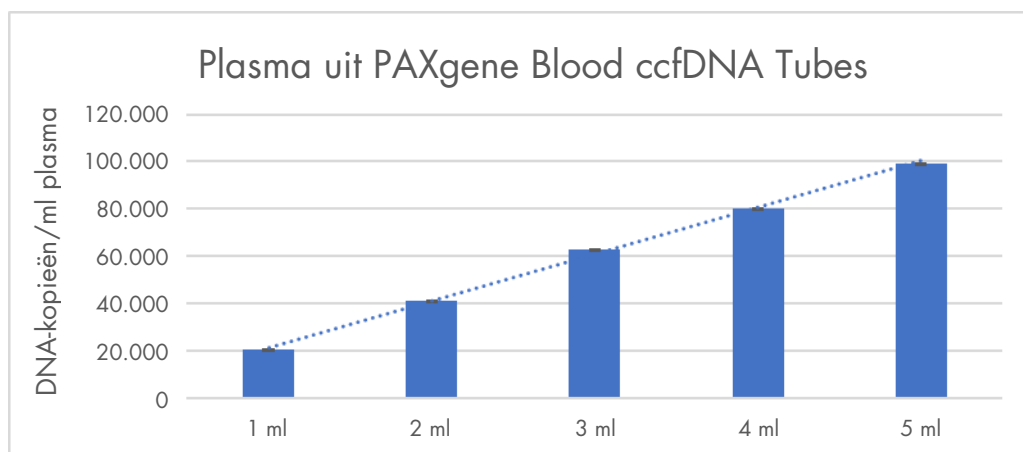
De opstelling van de proef bestond uit 12 zuiveringsruns met elk 12 herhalingen (totaal 144 zuiveringen). De zuiveringsruns werden uitgevoerd door drie verschillende gebruikers op drie verschillende dagen met drie verschillende instrumenten en drie verschillende partijen van de QIAamp DSP Circulating NA Kit. De standaarddeviatie (Standard Deviation, SD) en variatiecoëfficiënt (Coefficient of Variation, CV) werden vastgesteld voor elke parameter en voor de totale variabiliteit van de QIAamp DSP Circulating NA Kit (Tabel 1).

Tabel 1. Resultaten van precisieonderzoek

Parameter	Precisie		
	Gemiddeld aantal kopieën/ml	SD	CV (%)
Per run		461	1,78
Per gebruiker		1392	5,38
Per instrument	25.894	228	0,88
Per dag		2096	8,09
Per partij		969	3,74
Totaal		3120	12,05

Lineariteit

Er zijn gegevens gegenereerd voor een plasma-invoervolume van 1–5 ml uit bloed dat werd bewaard in BD Vacutainer K2EDTA Tubes, PAXgene Blood ccfDNA Tubes en Streck Cell-Free DNA BCT's. Voor alle BCT's werd een lineaire toename van de DNA-opbrengst waargenomen (zie Afbeelding 4); voor BD Vacutainer K2EDTA Tubes was dit ook het geval voor RNA.



Afbeelding 4. Lineaire toename van totale DNA-opbrengst (DNA-kopieën/ml plasma-invoer) voor verschillende plasma-invoervolumes. De gegevens voor plasma gegenereerd uit PAXgene Blood ccfDNA Tube afgebeeld, equivalente resultaten voor plasma afkomstig uit BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) en Streck Cell-Free DNA BCT.

Equivalentie van protocol (Breeze/Classic-protocollen)

De prestatie-equivalentie tussen het Breeze-protocol en het Classic-protocol is vastgesteld door aan te tonen dat de bijbehorende 95%-betrouwbaarheids grens van het verschil in gemiddelde Ct-waarde (RNA) of gemiddeld aantal kopieën/ml (DNA) binnen $\pm 2 \times SD$ viel. Daarbij is SD de waargenomen precisie van het Classic-protocol (referentieconditie). Er werden drie kitpartijen gebruikt en de proeven werden door drie gebruikers uitgevoerd.

De totale precisie (SD) van de gegenereerde Ct-waarden voor het Breeze-protocol was minder dan de bovengrens van het tweezijdige voorspellingsinterval van 95% voor de totale precisie (SD) van het Classic-protocol. Hierbij is het voorspellingsinterval in het onderzoek berekend met behulp van de gegevens uit het Classic-protocol ($n=143$) en met behulp van het aantal gegevenspunten voor het Breeze-protocol ($n=144$) in het onderzoek.

Stoffen met een interfererende werking

Uit verschillende bronnen kunnen mogelijk interfererende stoffen afkomstig zijn. Voorbeelden hiervan zijn natuurlijke omzettingsproducten, stoffen die tijdens de behandeling van de patiënt worden geïntroduceerd of stoffen die door de patiënt zijn ingeslikt. Voor de QIAamp DSP Circulating NA Kit zijn hemoglobine, triglyceriden, EDTA, cafeïne, albumine, geconjugeerde bilirubine en ongeconjugeerde bilirubine getest als endogene samenstellingen. Er is geen interferentie waargenomen bij gebruik van qPCR als vervolgproucedure. Bovendien is er geen interferentie geobserveerd door componenten van de QIAamp DSP Circulating NA Kit (proteïnase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 en ethanol) tijdens de monsterverwerking en de nucleïnezuurextractie.

Vanwege de complexiteit van mogelijk interfererende stoffen en verschillen in de gevoeligheid van specifieke vervolgproucessen en -proucedures, raden wij gebruikers aan het specifieke effect van interfererende stoffen voor hun eigen workflow te bepalen en een methode om verstoring tegen te gaan in hun specifieke diagnostische vervolgproucedure te valideren.

Raadpleeg de relevante handleidingen van de betreffende QIAGEN-kits voor specifieke vervolgproucedures voor meer informatie over interfererende stoffen.

Kruisbesmetting

Voor het bepalen van de mate van kruisbesmetting zijn 105 kopieën van het HBV-virus toegevoegd aan 5 of 2 ml menselijk bloedplasma (positieve monsters) en geïsoleerd naast monsters zonder virus (negatieve monsters) in een schaakbordpatroon, en afgewisseld met extractieruns met alleen negatieve monsters (voor bepaling van de kruisbesmetting in en tussen extractieruns). In dit onderzoek werd geprobeerd een situatie na te bootsen waarin monsters met veel nucleïnezuurmoleculen via kruisbesmetting andere monsters in dezelfde extractieprocedure kunnen verontreinigen. Met één partij reagentia werd NZ-zuivering uitgevoerd. De mate van kruisbesmetting werd bepaald met behulp van de *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Uit de resultaten bleek dat er binnen het gehele systeem geen kruisbesmetting was opgetreden.

Symbolen



Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.



Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek



Catalogusnummer



Fabrikant

Rn

'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing (prestatiekenmerken); 'n' is het revisienummer

Geschiedenis van herziening document

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	Bijgewerkt voor IVDR-naleving van QIAamp DSP Circulating Kit V2 "Gebruiksaanwijzing" geïsoleerd toegevoegd in beoogd gebruik. Geen wijziging in prestatiegegevens ten opzichte van kitversie 1.

Raadpleeg de handleiding of gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, artus®, GeneRead®, GeneReader® (QIAGEN Group); BD 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 of haar dochterondernemingen). Gedeponeerde namen, handelsmerken enz. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

