

QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit lietošanas instrukcijas (Veiktspējas raksturojums)

Versija 2



Lietošanai in vitro diagnostikā
Izmantošanai ar QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vācija

R1

Veiktspējas raksturojums ir pieejams elektroniski, un tas ir atrodams izstrādājumu lapas resursu cilnē, vietnē www.qiagen.com.

Vispārīgs ievads

QIAamp DSP Circulating NA Kit ir sistēma, kurā izmantota silīcija dioksīda membrānas tehnoloģija (QIAamp tehnoloģija) cirkulējošās starpšūnu (ccf, circulating, cell-free) DNS un RNS manuālai izolēšanai un izdalīšanai no cilvēka asins plazmas paraugiem.

Šo produktu ir paredzēts lietot tikai profesionāliem lietotājiem, piemēram, tehniķiem un ārstiem, kuri ir apmācīti molekulāri bioloģisko metožu izmantošanā.

QIAamp DSP Circulating NA Kit ir paredzēts lietošanai in vitro diagnostikā.

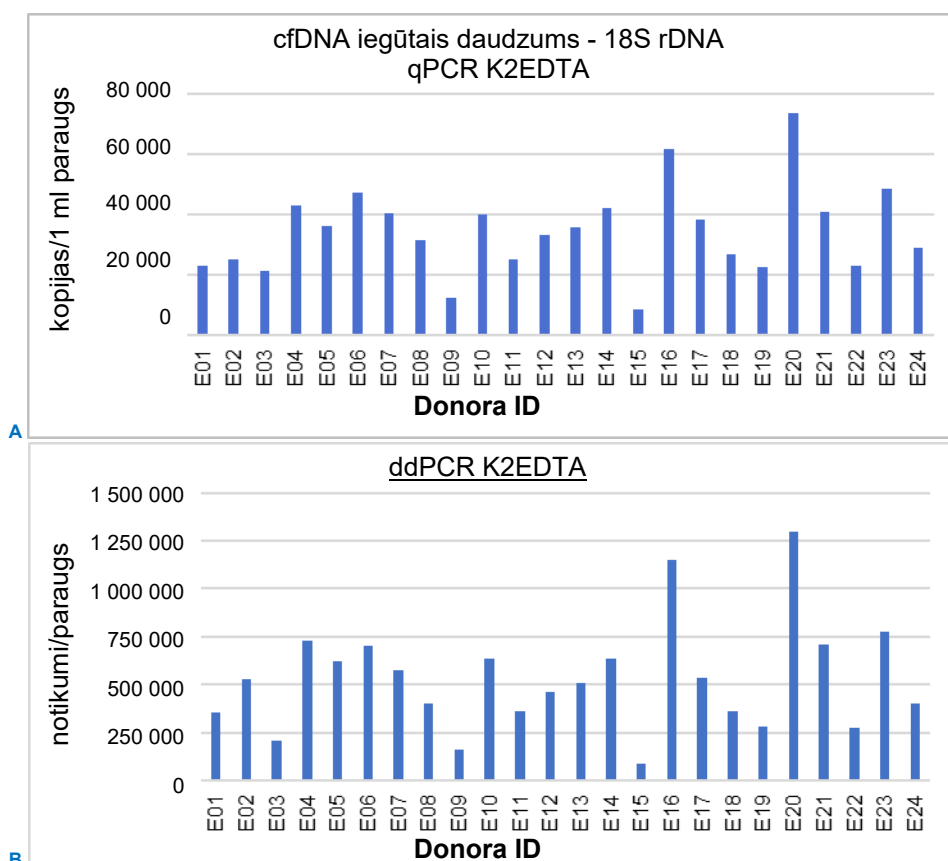
Izdalītu nukleīnskābju (Nucleic Acid, NA) iegūtais daudzums

Plazmas paraugi var uzrādīt izteiktu dispersiju attiecībā uz attīrītu nukleīnskābju iegūto daudzumu. Tādēļ lietotājiem specifiskā mērķa sasniegšanai konkrētajā laboratorijā ir jāveic plazmas ievades un eluāta tilpuma, kā arī pakārtotā lietojuma optimizācija.

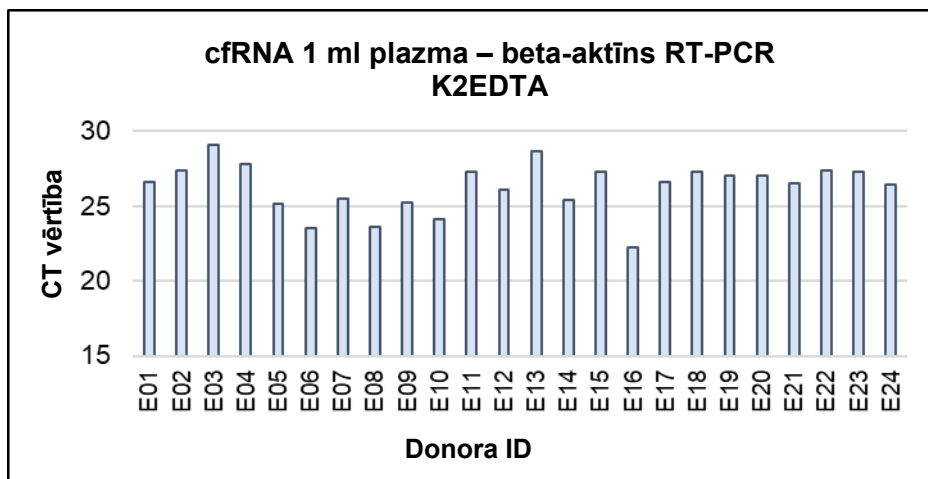
Ja komplektu izmanto kopā ar QIAGEN® pakārtoto lietojumu, instrukcijas skatiet attiecīgajā rokasgrāmatā.

Pakārtoto lietojumu analīze

Nukleīnskābes, kas izolētas ar QIAamp DSP Circulating NA Kit, ir gatavas izmantošanai dažādos pakārtotajos lietojumos. Lai izvērtētu veikspēju, nukleīnskābes no individuāla donora cilvēka asins plazmas tika izolētas, izmantojot trīs dažādus asins paraugu savākšanas stobriņus (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; un Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; donoru skaits katrā $n = 24$). Eluāti no 1 ml plazmas ievades tika testēti, izmantojot kvantitatīvo PCR metodi (qPCR, quantitative PCR) (Attēls 1A), digitālo pilienu PCR metodi (ddPCR, digital droplet PCR) (Attēls 1B), kā arī atgriezenisko transkripciju qPCR (RT-qPCR, reverse transcription qPCR) darbam ar RNS (tikai BD Vacutainer K2EDTA Tube plazma, Attēls 2).



Attēls 1. Individuāla donora plazmas (1 ml ievade) salīdzinājums starp qPCR un ddPCR (Bio-Rad®)



Attēls 2. Bezšūnu RNS noteikšana individuāla donora plazmā (1 ml ievade), izmantojot RT-qPCR analīzi cilvēka beta-aktīna gēnam (fragmenta garums 293 bp).

Nākamās paaudzes sekvencēšanas (Next Generation Sequencing, NGS) analīzei eluāti tika ģenerēti no 5 ml plazmas ievades tilpuma (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube un Streck Cell-Free DNA BCT; donoru skaits katrā $n = 8$). Kopējais DNS iegūtais daudzums 5 ml plazmai bija diapazonā no 50 līdz 150 ng DNS, nosakot ar Qubit® HS dsDNA analīzi. NGS analīzes tika veiktas, izmantojot GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel and the GeneReader® sistēmu. Visi paraugi tika sekmīgi bagātināti, un tika ģenerētas bibliotēkas. Vairāk par 98% ģenerēto nolasījumu tika kartēti uz cilvēka genomu, un >99,8% pozīciju interesējošajos reģionos to bāzes segums bija $\geq 500x$.

Abiem nukleīnskābju veidiem (DNS un RNS) tika demonstrēts sekmīgs pakārtoto tehnoloģiju lietojums (Attēls 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
PAXgene	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	nav testēts	<input checked="" type="checkbox"/>
Streck	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	nav testēts	<input checked="" type="checkbox"/>

Attēls 3. Sekmīga izolēto nukleīnskābju izmantošana dažādos pakārtotajos lietojumos.

Lietotājam ir jāoptimizē plazmas ievade un eluēšanas tilpums saistībā ar konkrēto mērķa molekulu un visām turpmākajām procedūrām, ko izmanto konkrētajā laboratorijā vai kas attiecas uz pakārtotā lietojuma specifisko veiktspēju.

Eluātu stabilitāte

Eluātu stabilitāte ir atkarīga no izolēto nukleīnskābju sastāva un veida, eluēšanas tilpuma un glabāšanas apstākļiem. Lietotājiem ieteicams noskaidrot eluātu stabilitāti atbilstoši viņu konkrētajām vajadzībām.

Eluātu stabilitāte tika testēta attiecībā uz DNS un no cilvēka asins plazmas ģenerētajiem eluātiem, no BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company), un no stabilizēšanas asins parauga savākšanas stobriņiem (PAXgene Blood ccfDNA Tube un Streck Cell-Free DNA BCT). Eluāti tika glabāti temperatūrā no $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ un no $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Glabājot līdz 12 mēnešiem, bojāšanās netika novērota. Eluātus glabājot $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā un istabas temperatūrā ($15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$), šie eluāti bija stabili maksimāli 48 stundas. Visi nosacījumi tika novērtēti, kā qPCR mērķa gēnu izmantojot cilvēka 18S rDNA gēnu.

Eluātu stabilitāte tika testēta attiecībā uz RNS un eluātiem, kas iegūti no cilvēka plazmas, kura ģenerēta no BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company). Eluāti tika glabāti temperatūrā no $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ un no $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ līdz $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Glabājot līdz 6 mēnešiem, bojāšanās netika novērota. Glabājot $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrā, eluāti bija stabili maksimāli 48 stundas. Visi nosacījumi tika novērtēti, kā RT-qPCR mērķa gēnu izmantojot cilvēka beta-aktīna gēnu.

Ja komplektu izmantojat kopā ar QIAGEN pakārtotajiem lietojumiem, instrukcijas skatiet attiecīgajā komplekta rokasgrāmatā.

NA izolēšanas precizitāte

Precizitāte tika izvērtēta, izmantojot cilvēka plazmu, un nosacījumi tika novērtēti, kā qPCR mērķa gēnu izmantojot cilvēka 18S rDNA gēnu.

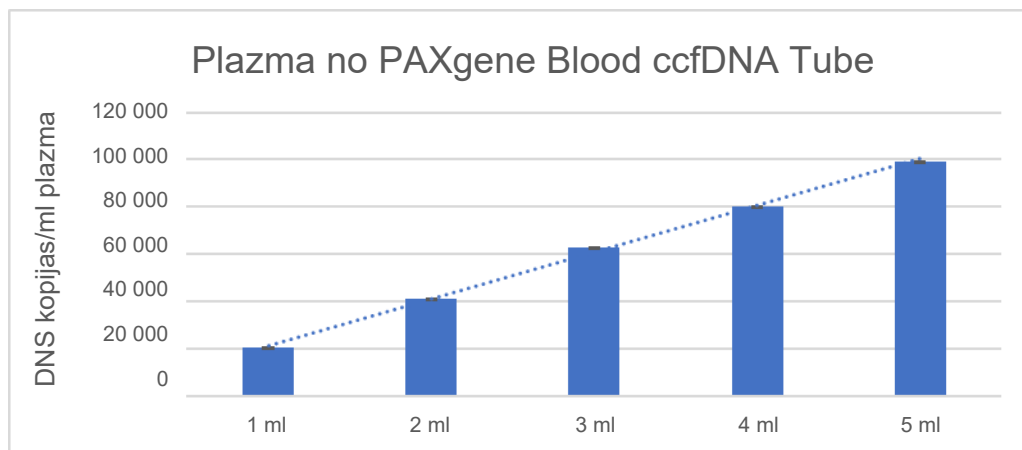
Eksperimentālā iestatīšana ietvēra 12 izdalīšanas ciklus ar 12 replikācijas variantiem katrā (kopā 144 izdalīšanas ciklus). Izdalīšanas ciklus sagatavoja trīs dažādi operatori trīs dažādās dienās ar trim dažādiem instrumentiem, izmantojot trīs dažādas QIAamp DSP Circulating NA Kit partijas. Standarnovirze (standard deviation, SD) un variācijas koeficients (coefficient of variation, CV) tika noteikti katram atsevišķajam parametram un vispārējam (kopējam) QIAamp DSP Circulating NA Kit komplekta mainīgumam (1. tabula).

1. tabula. Precizitātes rezultāti

Precizitāte			
Parametrs	Vidējais kopiju skaits/ml	SD	CV (%)
Dažādās izpildēs		461	1,78
Dažādiem operatoriem		1392	5,38
Dažādos instrumentos	25 894	228	0,88
Dažādās dienās		2096	8,09
Dažādām partijām		969	3,74
Kopā		3120	12,05

Linearitāte

Dati tika ģenerēti 1–5 ml plazmas ievades tilpumam no asinīm, kas uzglabātas BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube un Streck Cell-Free DNA BCT sistēmās. Visām BCT sistēmām tika novērots lineārs DNS iegūtā daudzuma pieaugums (skatiet Attēlu 4); BD Vacutainer K2EDTA Tubes sistēmām tā bija arī RNS gadījumā.



Attēls 4. Lineārais kopējā DNS iegūtā daudzuma pieaugums (DNS kopijas/ml plazmas ievades) dažādiem plazmas ievades tilpumiem. Dati plazmai, kas ģenerēta no PAXgene Blood ccfDNA Tube, uzrādīja ekvivalentus rezultātus plazmai, kas iegūta no BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) un Streck Cell-Free DNA BCT.

Protokolētā ekvivalence (Breeze/klasiskie protokoli)

Veiktspējas ekvivalence, kas norādīta Breeze protokolā un klasiskajā protokolā, tika noteikta, parādot, ka atbilstošā vidējās Ct vērtības (RNS) vai vidējā kopiju/ml (DNS) rādītāja atšķirības 95% ticamības robeža bija $\pm 2 \times SD$, ja SD atbilst klasiskajā protokolā novērotajai precizitātei (atsauces nosacījums). Tika izmantotas trīs komplekta partijas, un eksperimentus veica trīs operatori.

Breeze protokolam ģenerētā Ct vērtību kopējā precizitāte (STD) bija mazāka, salīdzinot ar divpusējā 95% prognozēšanas intervāla augšējo robežu attiecībā uz klasiskā protokola kopējo precizitāti (STD), kur prognozēšanas intervāls tika aprēķināts pētījuma ietvaros, izmantojot datus no klasiskā protokola ($n = 143$) un izmantojot pētījuma datu punktu skaitu Breeze protokolam ($n = 144$).

Interferējošas vielas

Potenciāli interferējošas vielas var rasties no dažādiem avotiem, piemēram, no dabīgiem metabolītiem, vielām, kas ievadītas pacienta ārstēšanas laikā, vai vielām, ko pacients ir lietojis iekšķīgi. QIAamp DSP Circulating NA Kit sistēmā hemoglobīns, triglicerīdi, EDTA, kofeīns, albumīns, konjugētais bilirubīns un nekonjugētais bilirubīns tika testēti kā endogēnie komponenti. Izmantojot qPCR kā pakārtoto lietojumu, interference netika konstatēta. Turklāt interference no QIAamp DSP Circulating NA Kit komponentiem (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 un etanola) paraugu apstrādes un nukleīnskābju ekstrakcijas laikā netika konstatēta.

Potenciāli interferējošu vielu komplikētības un atšķirīgās specifiskās pakārtoto lietojumu jutības dēļ lietotājiem ir ieteicams novērtēt savai konkrētajai darbplūsmai specifisko interferējošo vielu iedarbību un validēt interferences kontroles metodi šo vielu specifiskajā diagnostiskajā pakārtotajā lietojumā.

Lai iegūtu papildinformāciju par interferējošām vielām specifiskajos QIAGEN pakārtotajos lietojumos, skatiet attiecīgās komplekta rokasgrāmatas.

Krusteniskā kontaminācija

Lai novērtētu krusteniskās kontaminācijas pakāpi, 105 HBV vīrusa kopijas tika pievienotas 5 vai 2 ml cilvēka asins plazmai (pozitīvi paraugi), un šie paraugi izolēšana tika veikta līdztekus vīrusus nesaturošiem paraugiem (negatīvi paraugi) šaha galdiņa izvietojumā, kur ekstrakcijas cikli tiek veikti pārmaiņus ar negatīviem paraugiem (lai novērtētu intraekstrakcijas un interekstrakcijas izpildes krustenisko kontamināciju). Pētījuma mērķis bija imitēt situāciju, kur paraugi, kas satur augstas pakāpes nukleīnskābes mērķa molekulas, ekstrakcijas procedūras laikā var krusteniski kontaminēt citus paraugus. Nukleīnskābju izdalīšana tika veikta, izmantojot vienu reaģentu partiju. Krusteniskā kontaminācija tika novērtēta, izmantojot *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Rezultāti uzrādīja krusteniskās kontaminācijas neesamību visā sistēmā.

Simboli



Šis produkts atbilst prasībām, ko nosaka Eiropas Regula 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskajām ierīcēm.



In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce



Kataloga numurs



Ražotājs

Rn

R apzīmē lietošanas instrukciju (veiktspējas raksturojuma) redakciju, bet n ir redakcijas numurs

Dokumenta redakciju vēsture

Redakcija

R1, 2022. gada jūnijs

Apraksts

Atjauninājums ar IVDR atbilstoši QIAamp DSP Circulating Kit versijai V2

Paredzētajā lietojumā pievienota "manuāla" izolēšana. Nav izmaiņu veikspējas datos, salīdzinot ar komplekta versiju 1.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktiem specifiskās atrunas skatiet attiecīgajā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplekta rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, un tās var pieprasīt arī no QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta vai vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: 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 vai tā filiāles). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes utt. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.
06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, visas tiesības paturētas.

