

Bruksanvisning (Prestandaegenskaper) till QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit

Version 2



För in vitro-diagnostisk användning
För användning med QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Prestandaegenskaper finns att tillgå elektroniskt under resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Allmän introduktion

QIAamp DSP Circulating NA Kit är ett system som använder kiselmembranteknik (QIAamp-teknik) för manuell isolering och rening av cirkulerande cellfritt (ccf) DNA och RNA från plasmaprover av humant blod.

Produkten är avsedd att användas av yrkesanvändare, såsom tekniker och läkare som är utbildade i molekylärbiologiska metoder.

QIAamp DSP Circulating NA Kit är avsett för in vitro-diagnostisk användning.

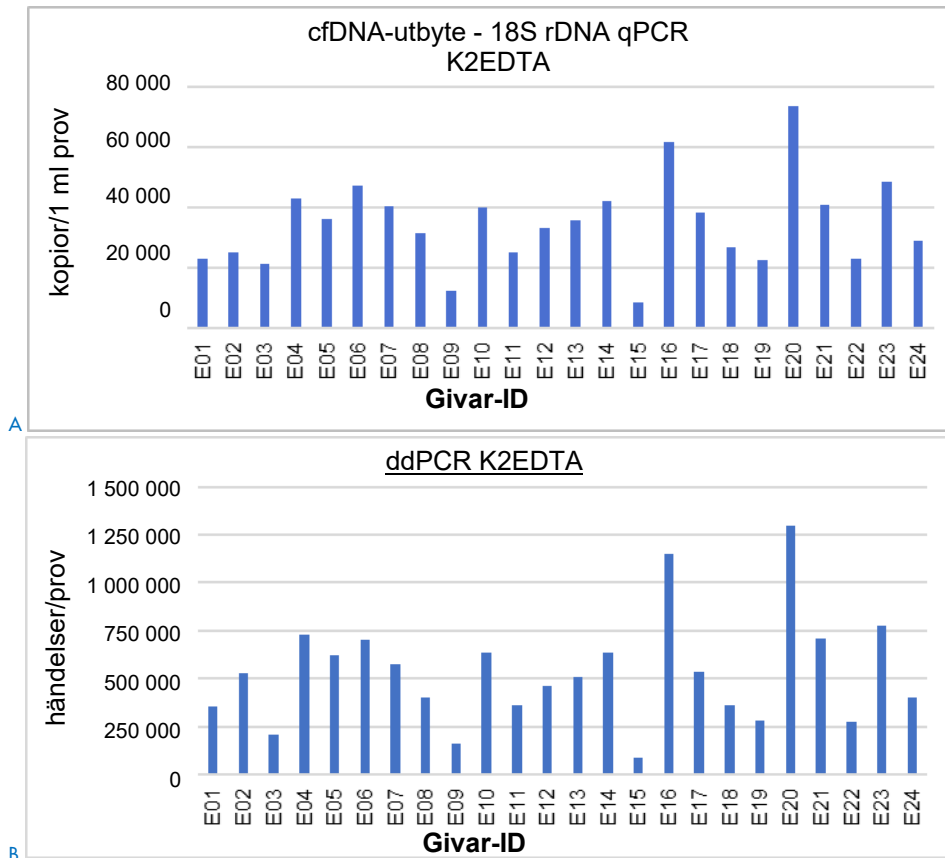
Utbyte av renade nukleinsyror (NA)

Plasmaprover kan uppvisa en hög variation i utbytet av renade nukleinsyror. Därför bör användarna optimera plasmainmatning och elueringsvolym för sitt specifika mål och nedströms applikation i sitt laboratorium.

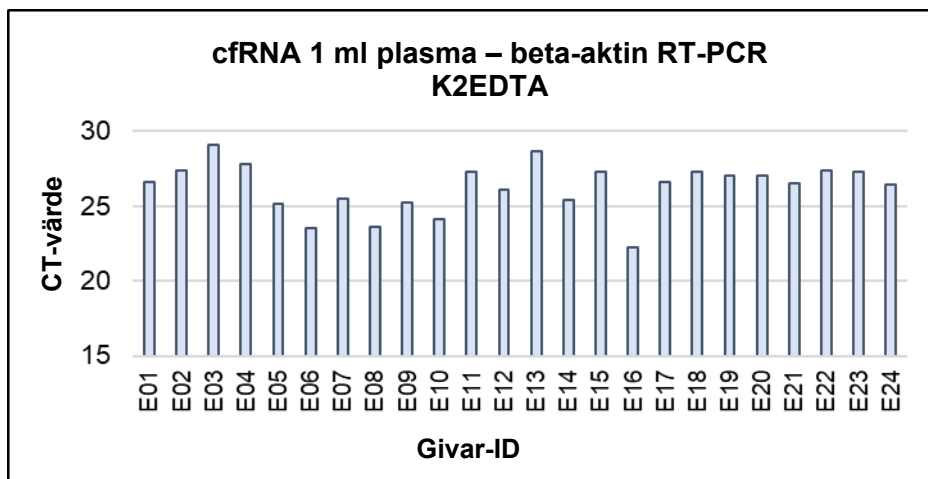
Om satsen används tillsammans med en QIAGEN®-nedströmmande applikation, se relevant handbok för instruktioner.

Analys av nedströms applikationer

Nukleinsyror isolerade med QIAamp DSP Circulating NA Kit är redo för användning i olika nedströms applikationer. För att utvärdera prestandan isolerades nukleinsyror från humant blodplasma från en enda givare med hjälp av tre olika blodprovtagningsrör (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson® and Company, PAXgene® Blood ccfDNATube, PreAnalytiX GmbH; och Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; n = 24 givare vardera). Eluat från 1 ml plasmainmatning testades med användning av kvantitativ PCR (qPCR, Figur 1A), digital droppe PCR (ddPCR, Figur 1B), såväl som omvänd transkription qPCR (RT-qPCR) för RNA (endast BD Vacutainer K2EDTA Tube plasma, Figur 2).



Figur 1. Jämförelse av plasma från en givare (1 ml inmatning) mellan qPCR och ddPCR (Bio-Rad®)



Figur 2. Detektion av cellfritt RNA i plasma från en givare (1 ml inmatning) med användning av en RT-qPCR-analys för den humana beta-aktin-genen (293 bp fragmentlängd).

För analys av Next - Generation Sekvensering (NGS) genererades eluat från en inmatningsvolym på 5 ml plasma ur (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube och Streck Cell-Free DNA BCT; n = 8 givare vardera). Det totala DNA-utbytet på 5 ml plasma pendlade mellan 50 och 150 ng DNA, upptäckt med en Qubit® HS dsDNA-analys. NGS-analyser utfördes med GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel och ett GeneReader®-system. Alla prover berikades framgångsrikt och bibliotek genererades. Mer än 98 % av de genererade avläsningarna kartlades till det humana genomet och > 99,8 % av positionerna i de intressanta regionerna hade en bastäckning på $\geq 500\times$.

För båda typerna av nukleinsyra (DNA och RNA), påvisades framgångsrik tillämpning av nedströms tekniker (Figur 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	ej testat	✓
Streck	✓	✓	ej testat	✓

Figur 3. Framgångsrik användning av isolerade nukleinsyror med olika nedströms applikationer.

Användaren bör optimera plasmainmatning och elueringsvolym för sin mål molekyl och eventuella efterföljande procedurer som används i det aktuella laboratoriet eller hänvisa till den specifika prestandan för en relevant nedströms applikation.

Eluatets stabilitet

Eluatets stabilitet beror på innehållet och typen av isolerade nukleinsyror, elueringsvolym och förvaringsförhållanden. Vi rekommenderar att användare fastställer eluatstabiliteten efter behov för sina specifika krav.

Eluatets stabilitet testades för DNA och eluat härledda från human plasma genererad från BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) och stabiliserande provtagningsrör för blod (PAXgene Blood ccfDNA Tube och Streck Cell-Free DNA BCT). Eluat förvarades vid -30 °C till -15 °C och -90 °C till -65 °C. Ingen försämring observerades under upp till 12 månader. Eluat som förvarades vid 2-8 °C och i rumstemperatur (15-25 °C) var stabila i upp till 48 timmar. Alla förhållanden utvärderades med användning av qPCR riktad mot den humana 18S rDNA-genen.

Eluatets stabilitet testades för RNA och eluat härledda från human plasma som genererats från BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company). Eluat förvarades vid -30 °C till -15 °C och -90 °C till -65 °C. Ingen försämring observerades under upp till 6 månader. Eluat som förvarades vid 2-8 °C var stabila i upp till 48 timmar. Alla förhållanden utvärderades med användning av RT-qPCR riktad mot den humana beta-aktin-genen.

Om satsen används tillsammans med QIAGEN-nedströmmande applikationer, se relevant kit-handbok för anvisningar.

Precision för NA-isolering

Precisionen utvärderades med användning av human plasma, och förhållandena utvärderades med användning av qPCR riktad mot den humana 18S rDNA-genen.

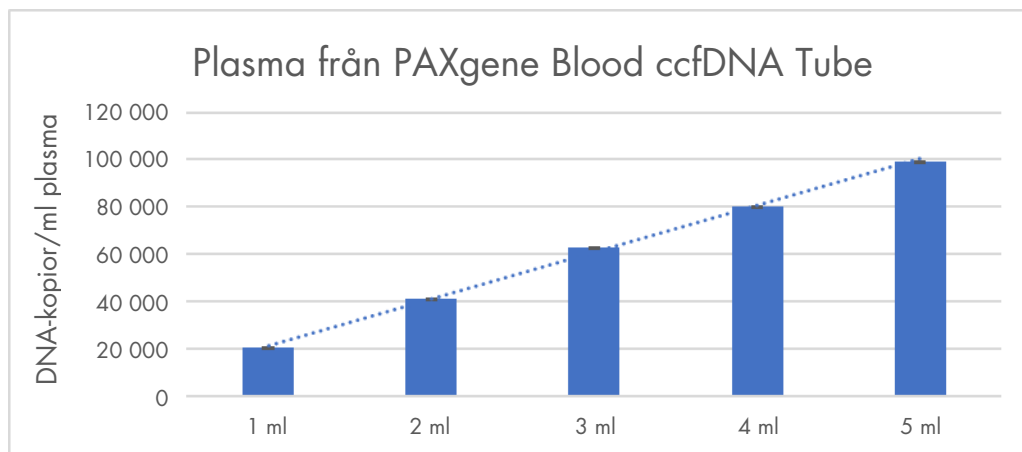
Den experimentella konfigurationen omfattade 12 körningar med rening med 12 upprepningar vardera (totalt 144 reningar). Körningar med rening arrangerades med tre olika operatörer tre olika dagar med tre olika instrument, med användning av tre olika partier av QIAamp DSP Circulating NA Kit. Standardavvikelsen (Standard Deviation, SD) och variationskoefficienten (Coefficient of Variation, CV) bestämdes för varje enskild parameter samt för den övergripande variationen (totala) för QIAamp DSP Circulating NA Kit (Tabell 1).

Tabell 1. Precisionsresultat

Parameter	Precision		
	Genomsnitt av kopior/ml	SD	CV (%)
Körning till körning	25 894	461	1,78
Operatör till operatör		1392	5,38
Instrument till instrument		228	0,88
Dag till dag		2096	8,09
Lot till lot		969	3,74
Totalt		3120	12,05

Linjäritet

Data har genererats för 1-5 ml plasmainmatningsvolym från blod förvarat i BD Vacutainer K2EDTA Tubes, PAXgene Blood ccfDNA Tubes och Streck Cell-Free DNA BCT. För alla BCT, observerades en linjär ökning av DNA-utbyte (se Figur 4); för BD Vacutainer K2EDTA Tubes, detta var även fallet för RNA.



Figur 4. Linjär ökning av det totala DNA-utbytet (DNA-kopior/ml plasmainmatning) för olika plasmainmatningsvolymerna. Data för plasma som genererats från PAXgene Blood ccfDNA Tube visas, ekvivalenta resultat för plasma hämtade från BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) och Streck Cell-Free DNA BCT.

Protokollekvivalens (breeze-protokoll/klassiska protokoll)

Ekvivalens i prestanda mellan breeze-protokoll och ett klassiskt protokoll bestämdes genom att visa att motsvarande 95 % konfidensgräns för skillnaden i genomsnittligt Ct-värde (RNA) eller genomsnitt av kopior/ml (DNA) var inom $\pm 2 \times \text{STD}$, varvid STD var den observerade precisionen för det klassiska protokollet (referensförhållande). Tre kit av loter användes och tre operatörer utförde experimenten.

Den totala precisionen (STD) för Ct-värden som genererades för breeze-protokollet var mindre än den övre gränsen för det tvåsidiga 95 % prediktionsintervall för den totala precisionen (STD) för det klassiska protokollet. Inom vilket prediktionsintervall för studien beräknades med hjälp av data från det klassiska protokollet ($n = 143$) och med antalet datapunkter för breeze-protokollet ($n = 144$) i studien.

Interfererande ämnen

Potentiellt interfererande ämnen kan komma från olika källor, som exempelvis, naturliga metaboliter, substanser introducerade under patientbehandling eller substanser som intagits av patienten. För QIAamp DSP Circulating NA Kit testades hemoglobin, triglycerider, EDTA, koffein, albumin, konjugerat bilirubin och icke-konjugerat bilirubin som endogena komponenter. Ingen störning hittades vid tillämpning av qPCR som nedströmsapplikation. Vidare observerades ingen interferens som kunde härledas från komponenterna i QIAamp DSP Circulating NA Kit (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 och etanol) under provbearbetning och extrahering av nukleinsyra.

På grund av komplexiteten hos potentiella interfererande ämnen och olika känslighet för specifika nedströmsapplikationer rekommenderar vi att användare bedömer effekten av interfererande ämnen som är specifika för deras eget arbetsflöde och validerar en metod för att kontrollera störningar i deras specifika diagnostiska nedströmsapplikationer.

För mer information om interfererande ämnen i specifika QIAGEN nedströms applikationer, se relevanta kit-handböcker.

Korskontaminering

För att bedöma graden av korskontaminering spetsades 105 kopior med HBV-virus i 5 eller 2 ml human blodplasma (positiva prover) och isolerades intill virusfria prover (negativa prover) i en konfigurerad kontrollpanel alternerat med extraktionskörningar som endast innehöll negativa prover (för att bedöma korskontaminering för intra- och inter-extraktion). Studien syftade till att efterlikna situationen där prover som innehåller en hög nivå av mål molekyler för nukleinsyror kan korskontaminera andra prover under extraktionsförfarandet. NA-rening genomfördes med användning av en lot med reagens. Korskontaminering bedömdes med användning av *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Resultaten visade ingen korskontaminering någonstans i systemet.

Symboler



Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.



In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet



Katalognummer



Tillverkare

Rn

R betyder revidering av bruksanvisningen (prestandaegenskaper) och n är revisionsnumret

Dokumentrevisioner

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	Uppdatering för IVDR-kompatibla QIAamp DSP Circulating Kit V2 Tillägg för "manuell" isolering vid avsedd användning. Ingen skillnad på prestandainformation i jämförelse med Kit-version 1.

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN kit-handbok eller bruksanvisning. Handböcker och användarmanualer till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: 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 eller dess dotterbolag). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

