

# QIAamp® DSP Circulating NA Kit

## Gebrauchsanweisung (Leistungsmerkmale)

Version 2

**IVD**

In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem QIAamp DSP Circulating NA Kit



**REF**

61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Die Leistungsmerkmale sind elektronisch unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) der Produktseite auf [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar.

# Allgemeine Einführung

Das QIAamp DSP Circulating NA Kit ist ein System zur manuellen Isolierung und Aufreinigung zirkulierender zellfreier (ccf) DNA und RNA aus humanen Blutplasmaproben unter Anwendung der Silikamembran-Technologie (QIAamp-Technologie).

Das Produkt darf nur von Fachpersonal wie technischen Angestellten und Ärzten, die in der Anwendung molekularbiologischer Techniken geschult sind, verwendet werden.

Das QIAamp DSP Circulating NA Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

## Ausbeute an aufgereinigten Nukleinsäuren (Nucleic Acids, NA)

Die Ausbeute an aufgereinigten Nukleinsäuren kann bei Plasmaproben stark variieren. Aus diesem Grund empfehlen wir Anwendern, Plasma-Eingabevolumen und Elutionsvolumen für ihr konkretes Ziel und die weitere geplante Verwendung in ihrem Labor zu optimieren.

Wird das Kit als Vorstufe für nachgelagerte QIAGEN®-Anwendungen verwendet, sind die Anweisungen in dem entsprechenden Handbuch zu beachten.

# Analyse nachgelagerter Anwendungen

Mit dem QIAamp DSP Circulating NA Kit isolierte Nukleinsäuren können direkt für verschiedene nachgelagerte Anwendungen eingesetzt werden. Zur Leistungsbeurteilung wurden Nukleinsäuren aus Humanblutplasma von Einzelspendern mit drei verschiedenen Blutentnahmeröhrchen (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH; und Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; n = jeweils 24 Spender) isoliert. Die Eluate von je 1 ml Plasma-Eingabevolumen wurden mittels quantitativer PCR (qPCR, Abbildung 1A), digitaler Droplet-PCR (ddPCR, Abbildung 1B) sowie Reverse-Transkriptase-qPCR (RT-qPCR) für RNA (nur Plasma aus BD Vacutainer K2EDTA Tubes, Abbildung 2) getestet.

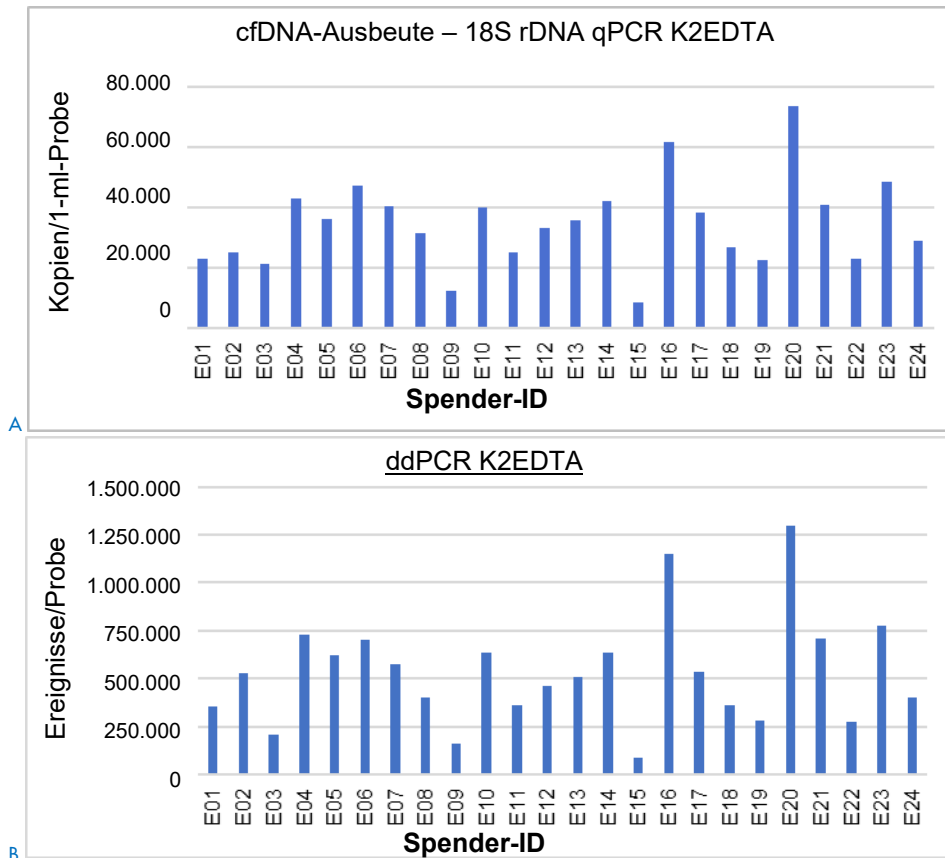


Abbildung 1. Vergleich zwischen qPCR und ddPCR (Bio-Rad®) für Einzelspender-Plasma (1 ml Eingabevolumen)

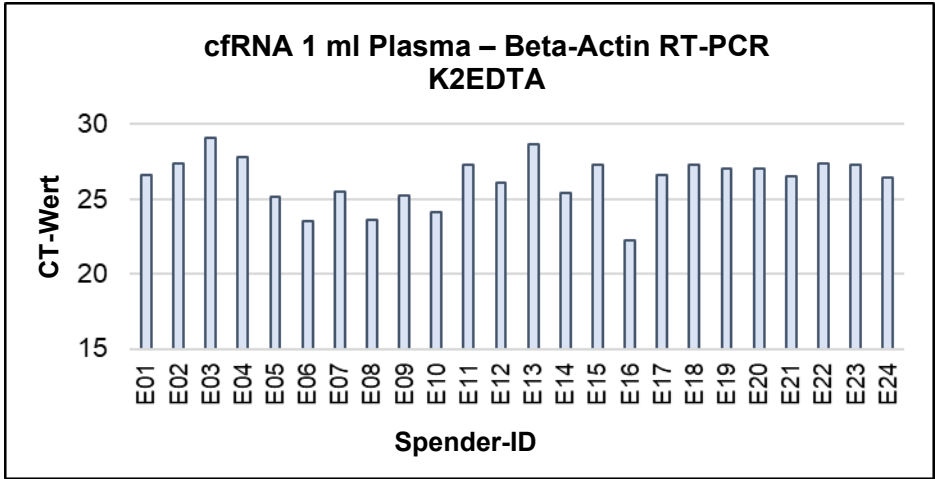


Abbildung 2. Detektion zellfreier RNA in Einzelspender-Plasma (1 ml Eingabevolumen) unter Anwendung eines RT-qPCR-Assays für das humane Beta-Actin-Gen (Fragmentlänge 293 bp).

Für eine Analyse mittels Next Generation Sequencing (NGS) wurden Eluate von je 5 ml Plasma-Eingabevolumen (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube und Streck Cell-Free DNA BCT; n = jeweils 8 Spender) gewonnen. Die Gesamtausbeute an DNA für 5 ml Plasma, ermittelt mit dem Qubit® HS dsDNA-Assay, bewegte sich zwischen 50 ng und 150 ng DNA. Die NGS-Analyse wurde unter Anwendung des GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel und des GeneReader® Systems durchgeführt. Alle Proben wurden erfolgreich angereichert und Bibliotheken wurden angelegt. Mehr als 98 % der generierten Reads konnten dem Humangenom zugeordnet werden, und für > 99,8 % der Positionen in den Zielregionen ergab sich eine Basenabdeckung von  $\geq 500\times$ .

Für beide Nukleinsäurespezies (DNA und RNA) wurde die erfolgreiche Durchführung nachgelagerter Technologien demonstriert (Abbildung 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	nicht getestet	✓
Streck	✓	✓	nicht getestet	✓

Abbildung 3. Erfolgreiche Verwendung isolierter Nukleinsäuren in verschiedenen nachgelagerten Anwendungen.

Anwender sollten Plasma-Eingabevolumen und Elutionsvolumen für ihr jeweiliges Zielmolekül und die weitere geplante Verwendung in ihrem Labor optimieren oder sich an den Anforderungen der entsprechenden nachgelagerten Anwendungen orientieren.

## Eluatstabilität

Die Eluatstabilität hängt von Inhalt und Art der isolierten Nukleinsäuren, dem Elutionsvolumen und den Lagerungsbedingungen ab. Wir empfehlen Anwendern, die Eluatstabilität unter Berücksichtigung ihrer spezifischen Anforderungen selbst zu ermitteln.

Die Eluatstabilität für DNA wurde an Eluaten aus Humanplasma, die mit BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company) und stabilisierenden Blutentnahmeröhrchen (PAXgene Blood ccfDNA Tube und Streck Cell-Free DNA BCT) gewonnen wurden, getestet. Die Eluate wurden bei –30 °C bis –15 °C und –90 °C bis –65 °C gelagert. Für bis zu 12 Monate wurde kein Verfall beobachtet. Bei 2–8 °C und Raumtemperatur (15–25 °C) gelagerte Eluate waren für bis zu 48 Stunden stabil. Alle Bedingungen wurden mittels qPCR für das humane 18S rDNA-Gen beurteilt.

Die Eluatstabilität für RNA wurde an Eluaten aus Humanplasma, die mit BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson and Company) gewonnen wurden, getestet. Die Eluate wurden bei –30 °C bis –15 °C und –90 °C bis –65 °C gelagert. Für bis zu 6 Monate wurde kein Verfall beobachtet. Bei 2–8 °C gelagerte Eluate waren für bis zu 48 Stunden stabil. Alle Bedingungen wurden mittels RT-qPCR für das humane Beta-Actin-Gen beurteilt.

Wird das Kit als Vorstufe für nachgelagerte QIAGEN Anwendungen verwendet, sind die Anweisungen in dem entsprechenden Kit-Handbuch zu beachten.

## Präzision der NA-Isolation

Die Präzision wurde unter Verwendung von Humanplasma bewertet und die Bedingungen wurden mittels qPCR für das humane 18S rDNA-Gen beurteilt.

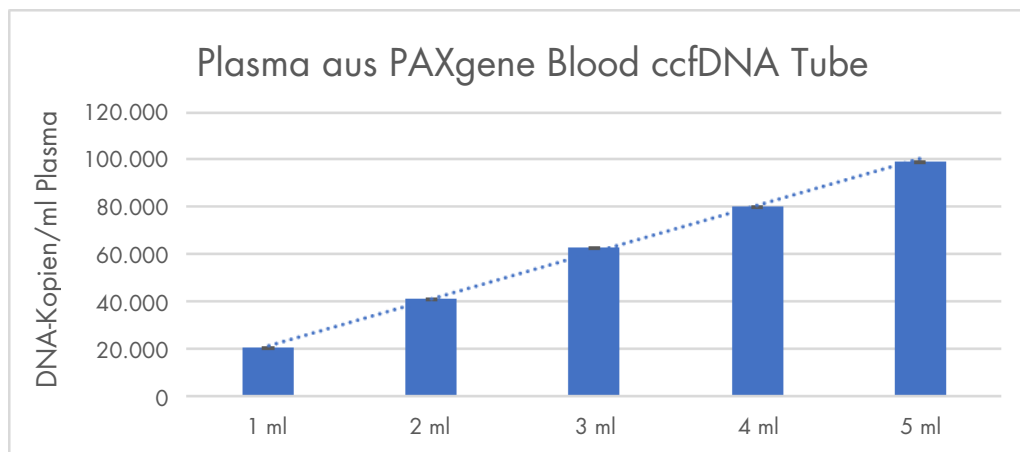
Der Versuchsaufbau bestand aus 12 Aufreinigungsläufen mit je 12 Wiederholungen (insgesamt 144 Aufreinigungen). Die Aufreinigungsläufe wurden von drei verschiedenen Bedienern an drei verschiedenen Tagen mit drei verschiedenen Geräten und unter Verwendung von drei verschiedenen Chargen des QIAamp DSP Circulating NA Kit durchgeführt. Standardabweichung (standard deviation, SD) und Variationskoeffizient (VK) wurden für jeden Einzelparameter und für die Gesamtvariabilität des QIAamp DSP Circulating NA Kit bestimmt (Tabelle 1).

Tabelle 1. Ergebnisse für die Präzision

Parameter	MW Kopien/ml	Präzision	
		SA	VK (%)
Lauf-zu-Lauf		461	1,78
Bediener-zu-Bediener		1.392	5,38
Instrument-zu-Instrument	25.894	228	0,88
Tag-zu-Tag		2.096	8,09
Charge-zu-Charge		969	3,74
Gesamt		3.120	12,05

## Linearität

Daten wurden generiert für 1–5 ml Plasma-Eingabevolumen aus Blut, das in BD Vacutainer K2EDTA Tubes, PAXgene Blood ccfDNA Tubes und Streck Cell-Free DNA BCTs gelagert worden war. Für alle Blutentnahmeröhrchen wurde eine lineare Zunahme der DNA-Ausbeute beobachtet (siehe Abbildung 4); bei den BD Vacutainer K2EDTA Tubes traf dies auch für RNA zu.



**Abbildung 4. Lineare Zunahme der Gesamtausbeute an DNA (DNA-Kopien/ml Plasma-Eingabevolumen) für verschiedene Plasma-Eingabevolumina.** Der Dargestellt sind die Daten für Plasma aus PAXgene Blood ccfDNA Tubes; für Plasma aus BD Vacutainer K2EDTA Tubes (DNA/RNA) und Streck Cell-Free DNA BCTs ergaben sich vergleichbare Ergebnisse.

## Gleichwertigkeit der Protokolle (Breeze-/klassisches Protokoll)

Die Gleichwertigkeit zwischen dem Breeze- und dem klassischen Protokoll wurde ermittelt, indem gezeigt wurde, dass die entsprechende 95%-Konfidenzgrenze für den Unterschied im mittleren Ct-Wert (RNA) oder dem MW Kopien/ml (DNA) sich innerhalb von  $\pm 2 \times SD$  bewegte, wobei SD die beobachtete Präzision des klassischen Protokolls (Referenzstandard) repräsentiert. Drei Kits wurden verwendet, und die Experimente wurden durch drei Bediener durchgeführt.

Die Gesamtpräzision (SD) der für das Breeze-Protokoll generierten Ct-Werte lag unterhalb der Obergrenze des zweiseitigen 95%-Prognoseintervalls für die Gesamtpräzision (SD) des klassischen Protokolls, wobei das Prognoseintervall innerhalb der Studie aus Daten für das klassische Protokoll ( $n = 143$ ) und mit der Anzahl von Datenpunkten für das Breeze-Protokoll ( $n = 144$ ) in der Studie berechnet wurde.

## Störsubstanzen

Potenzielle Störsubstanzen können unterschiedlicher Natur sein; beispielsweise natürliche Metaboliten, im Rahmen der Behandlung des Patienten zugeführte Substanzen oder vom Patienten aufgenommene Substanzen. Für das QIAamp DSP Circulating NA Kit wurden als endogene Komponenten Hämoglobin, Triglyceride, EDTA, Koffein, Albumin, konjugiertes Bilirubin und unkonjugiertes Bilirubin getestet. Für die Durchführung einer qPCR als nachgelagerte Anwendung wurde keine Interferenz festgestellt. Es wurde auch keine von Komponenten des QIAamp DSP Circulating NA Kit (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 und Ethanol) ausgehende Interferenz während der Probenverarbeitung und Nukleinsäureextraktion beobachtet.

Aufgrund der Komplexität potenzieller Störsubstanzen und der unterschiedlichen Sensitivität der konkreten nachgelagerten Anwendungen empfehlen wir Anwendern, die Auswirkungen von Störsubstanzen speziell für ihren eigenen Arbeitsablauf zu bewerten und eine Methode zur Kontrolle von Interferenzen in ihrer jeweiligen nachgelagerten diagnostischen Anwendung zu validieren.





Weitere Informationen über Störsubstanzen in spezifischen nachgelagerten QIAGEN finden Sie in den entsprechenden Kit-Handbüchern.

## Kreuzkontaminationen

Um das Ausmaß an Kreuzkontaminationen zu ermitteln, wurden 5 oder 2 ml Humanblutplasma (Positivproben) mit je 10<sup>5</sup> Kopien des HBV-Virus versetzt und in einem schachbrettartigen Aufbau neben virusfreien Proben (Negativproben) isoliert; abwechselnd damit wurden Extraktionsläufe ausschließlich mit Negativproben durchgeführt (zur Bewertung der Kreuzkontamination innerhalb oder zwischen den Extraktionsläufen). Die Untersuchung zielte darauf ab, die Situation nachzuahmen, in der Proben während der Extraktion unter Umständen mit anderen Proben mit hohem Gehalt an Nukleinsäure-Zielmolekülen kreuzkontaminiert werden. Die Aufreinigung der Nukleinsäuren wurde mit einer Reagenziencharge durchgeführt. Kreuzkontaminationen wurden mit dem *artus*<sup>®</sup> HBV RG CE PCR Kit geprüft. Die Ergebnisse zeigten im gesamten System keinerlei Kreuzkontamination.

# Symbole

---

	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
	Hersteller
Rn	R = Revision der Gebrauchsanweisung (Leistungsmerkmale); n = Revisionsnummer

---



# Revisionsverlauf des Dokuments

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	Aktualisierung für IVDR-konformes QIAamp DSP Circulating Kit V2 Hinzufügung von „manueller“ Isolierung im Verwendungszweck. Keine Änderung der Leistungsdaten im Vergleich zu Kit-Version 1.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: 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 oder Tochtergesellschaften). Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.  
06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

