

Bruksanvisning (ytelsesegenskaper) for QIAamp[®] DSP Circulating NA Kit

Versjon 2



Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk sammen med QIAamp DSP Circulating NA Kit



61504



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Du finner gjeldende ytelsesegenskaper elektronisk under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com.

Generell innledning

QIAamp DSP Circulating NA Kit er et system som bruker en silikamembranteknologi (QIAamp-teknologi) til manuell isolasjon og rensing av sirkulerende cellefritt (ccf) DNA og RNA fra humane blodplasmaprøver.

Produktet er beregnet for bruk av profesjonelle brukere, for eksempel teknikere og leger, som har fått opplæring i molekylærbioologiske teknikker.

QIAamp DSP Circulating NA Kit er beregnet på in vitro-diagnostisk bruk.

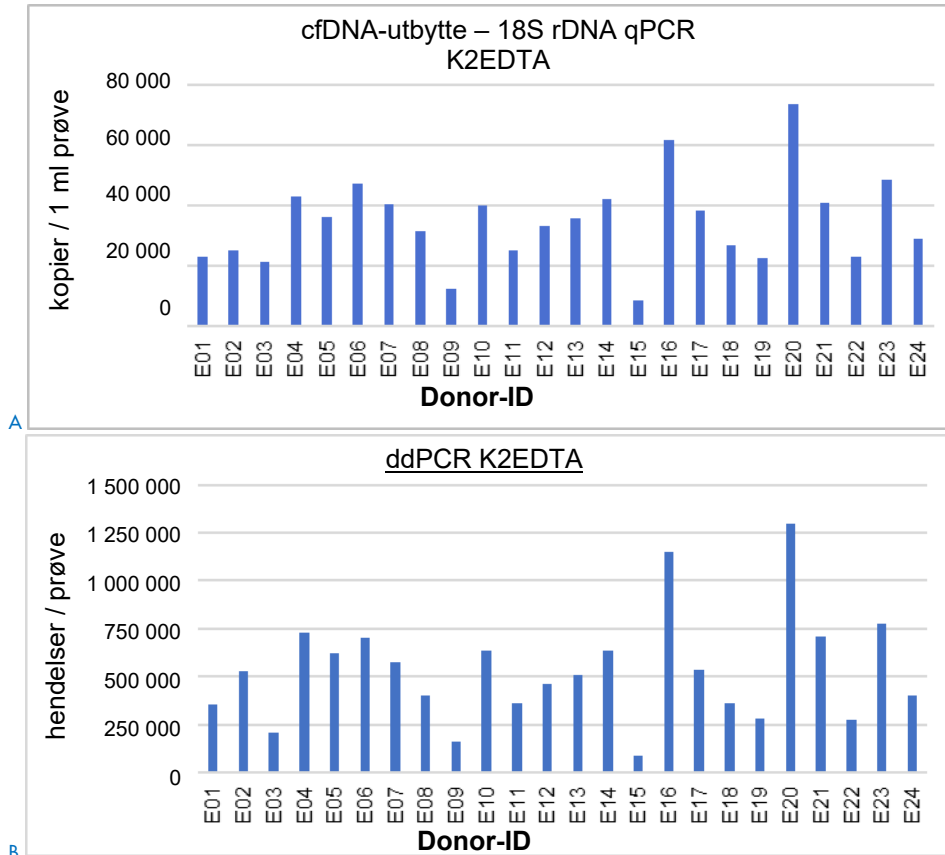
Utbytte av rensede nukleinsyrer (NA)

Plasmaprøver kan vise en høy varians i utbytte av rensede nukleinsyrer. Brukerne bør derfor optimalisere plasmatilførsel og elusjonsvolum for det spesifikke målet og den spesifikke nedstrømsapplikasjonen i laboratoriet.

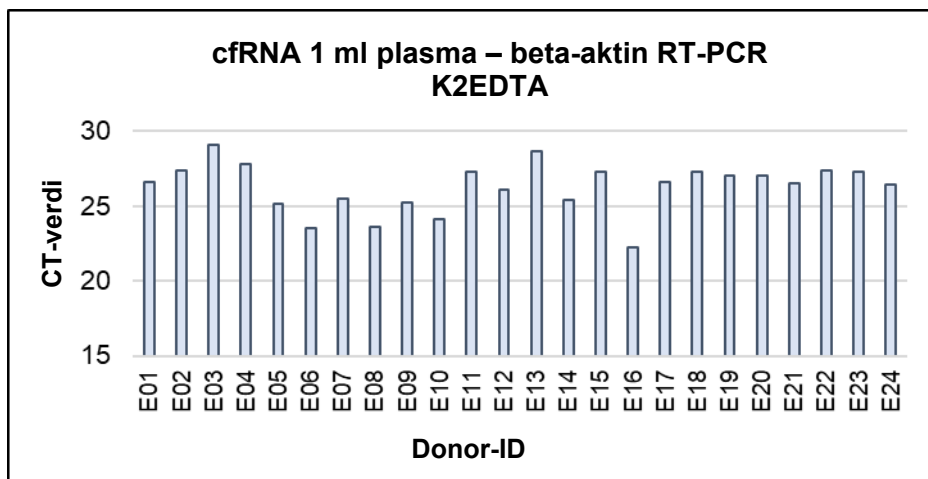
Hvis settet brukes sammen med en QIAGEN®-nedstrømsapplikasjon, se den relevante håndboken for instruksjoner.

Analyse av nedstrømsapplikasjoner

Nukleinsyrer isolert med QIAamp DSP Circulating NA Kit er klare til bruk i forskjellige nedstrømsapplikasjoner. For å evaluere ytelsen ble nukleinsyrer fra humant blodplasma fra enkeltdonor isolert ved bruk av tre forskjellige blodprøvetakingsrør (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson and Company; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX GmbH og Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck, $n = 24$ donorer hver). Eluater fra 1 ml plasmatilførsel ble testet ved hjelp av kvantitativ PCR (qPCR, figur 1A), digital droplet PCR (ddPCR, figur 1B), samt revers transkripsjon qPCR (RT-qPCR) for RNA (bare BD Vacutainer K2EDTA Tube-plasma, figur 2).



Figur 1. Sammenligning av enkeltdonorplasma (1 ml tilført) mellom qPCR and ddPCR (Bio-Rad®)



Figur 2. Påvisning av cellefritt RNA i enkeltdonorplasma (1 ml tilført) ved bruk av en RT-qPCR-analyse for det humane beta-aktin-genet (293 bp fragmentlengde).

For analyse med neste generasjons sekvensering (Next Generation Sequencing, NGS) ble eluater fra 5 ml tilført plasmavolum (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube og Streck Cell-Free DNA BCT, $n = 8$ donorer hver) generert. Det totale DNA-utbyttet for 5 ml plasma varierte mellom 50 og 150 ng DNA påvist med Qubit® HS dsDNA-analysen. NGS-analyse ble utført ved hjelp av GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel og GeneReader®-systemet. Alle prøver ble vellykket anriket, og biblioteker ble generert. Mer enn 98 % av de genererte avlesningene ble kartlagt til det humane genomet, og >99,8 % av posisjonene i interesseområdene hadde en basisdekning på $\geq 500x$.

For begge nukleinsyrearter (DNA og RNA) ble vellykket bruk av nedstrømsteknologier vist (figur 3).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	ikke testet	✓
Streck	✓	✓	ikke testet	✓

Figur 3. Vellykket bruk av isolerte nukleinsyrer med forskjellige nedstrømsapplikasjoner.

Brukeren bør optimalisere plasmatilførsel og elusjonsvolum for målmolekylet og eventuelle påfølgende prosedyrer som brukes i laboratoriet, eller referere til den spesifikke ytelsen til den relevante nedstrømsapplikasjonen.

Eluatstabilitet

Eluatstabilitet vil avhenge av innholdet og typen isolerte nukleinsyrer, elusjonsvolum og oppbevaringsforhold. Vi anbefaler at brukerne etablerer eluatstabiliteten etter behov for de spesifikke kravene de har.

Eluatstabilitet ble testet for DNA og eluater fra humane plasma generert fra BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company) og stabiliserende blodprøvetakingsrør (PAXgene Blood ccfDNA Tube og Streck Cell-Free DNA BCT). Eluater ble oppbevart ved $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ingen forringelse ble observert i opptil 12 måneder. Eluater oppbevart ved $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ og ved romtemperatur ($15-25\text{ }^{\circ}\text{C}$) var stabile i opptil 48 timer. Alle forhold ble vurdert ved bruk av qPCR rettet mot det humane 18S rDNA-genet.

Eluatstabilitet ble testet for RNA og eluater fra humane plasma generert fra BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson and Company). Eluater ble oppbevart ved $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ og $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ til $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ingen forringelse ble observert i opptil 6 måneder. Eluater oppbevart ved $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ var stabile i opptil 48 timer. Alle forhold ble vurdert ved bruk av RT-qPCR rettet mot det humane beta-aktin-genet.

Hvis settet brukes sammen med QIAGEN-nedstrømsapplikasjoner, se det relevante settets håndbok for instruksjoner.

Presisjon av NA-isolering

Presisjon ble evaluert ved bruk av humane plasma, og forhold ble vurdert ved bruk av qPCR rettet mot det humane 18S rDNA-genet.

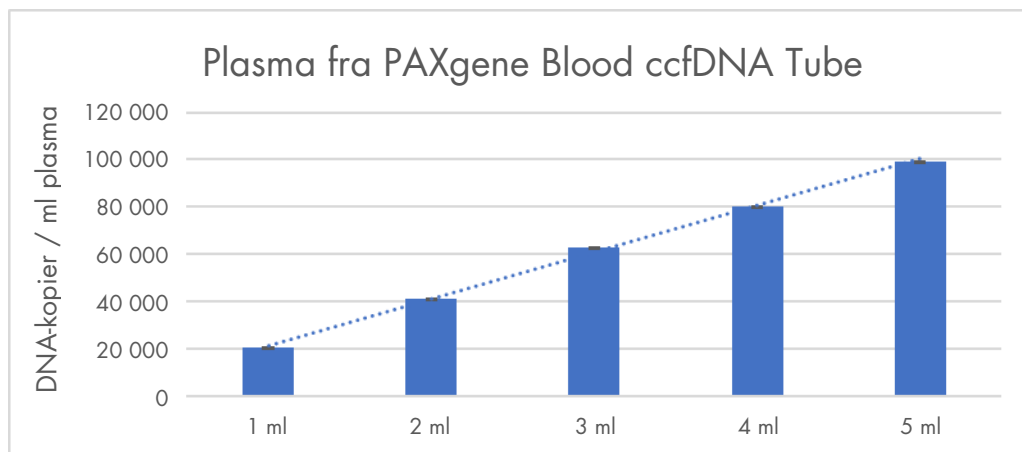
Det eksperimentelle oppsettet omfattet 12 rensekjøringer med 12 replikater hver (totalt 144 rensingler). Rensekjøringer ble arrangert med tre forskjellige operatører på tre forskjellige dager med tre forskjellige instrumenter ved hjelp av tre forskjellige partier av QIAamp DSP Circulating NA Kit. Standardavviket (SA) og variasjonskoeffisienten (VK) ble bestemt for hver enkelt parameter og for den samlede variabiliteten (totalt) for QIAamp DSP Circulating NA Kit (tabell 1).

Tabell 1. Presisjonsresultater

Parameter	Gjennomsnittskopier/ml	Presisjon	
		SA	VK (%)
Kjøring til kjøring		461	1,78
Operatør til operatør		1392	5,38
Instrument til instrument	25 894	228	0,88
Dag til dag		2096	8,09
Parti til parti		969	3,74
Totalt		3120	12,05

Linearitet

Data er generert for 1–5 ml plasmatilførselsvolum fra blod lagret i BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube og Streck Cell-Free DNA BCT-er. For alle BCT-er ble det observert en lineær økning av DNA-utbyttet (se figur 4). For BD Vacutainer K2EDTA Tube var dette også tilfellet for RNA.



Figur 4. Lineær økning av totalt DNA-utbytte (DNA-kopier / ml plasmatilførsel) for forskjellige plasmatilførselsvolumer. Data for plasma generert fra PAXgene Blood ccfDNA Tube vist, tilsvarende resultater for plasma fra BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNA/RNA) og Streck Cell-Free DNA BCT.

Protokollekvivalens (Breeze/Classic-protokoller)

Ekvivalens i ytelse mellom Breeze-protokollen og Classic-protokollen ble bestemt ved å vise at den tilsvarende 95 % konfidensgrensen for forskjellen i den gjennomsnittlige Ct-verdien (RNA) eller gjennomsnittskopier / ml (DNA) var innenfor $\pm 2 \times \text{STD}$, med STD som observert presisjon av Classic-protokollen (referanseforhold). Tre settpartier ble brukt, og tre operatører utførte eksperimentene.

Den totale presisjonen (STD) for Ct-verdiene som ble generert for Breeze-protokollen var mindre enn den øvre grensen for det tosidige 95 % prediksjonsintervallet for den totale presisjonen (STD) for Classic-protokollen, der prediksjonsintervallet ble beregnet innenfor studien ved hjelp av dataene fra den Classic-protokollen ($n = 143$) og bruk av antall datapunkter for Breeze-protokollen ($n = 144$) i studien.

Interfererende stoffer

Potensielt interfererende stoffer kan stamme fra forskjellige kilder, f.eks. naturlige metabolitter, stoffer som ble introdusert under pasientbehandling eller stoffer som pasienten har inntatt. For QIAamp DSP Circulating NA Kit ble hemoglobin, triglyserider, EDTA, koffein, albumin, konjugert bilirubin og ukonjugert bilirubin testet som endogene komponenter. Ingen interferens ble funnet ved bruk av qPCR som nedstrømsapplikasjon. Videre ble det ikke observert interferens fra komponenter i QIAamp DSP Circulating NA Kit (Proteinase K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 og etanol) under prøvebehandling og nukleinsyreekstraksjon.

På grunn av kompleksiteten til potensielle interfererende stoffer og ulik sensitivitet for spesifikke nedstrømsapplikasjoner, anbefaler vi at brukerne vurderer effekten av interfererende stoffer som er spesifikke for deres egen arbeidsflyt og validerer en metode for å kontrollere interferens i den spesifikke diagnostiske nedstrømsapplikasjon.

For mer informasjon om interfererende stoffer i spesifikke QIAGEN-nedstrømsapplikasjoner, se de relevante håndbøkene for settet.

Krysskontaminering

For å vurdere nivået av krysskontaminering, ble 105 kopier av HBV-virus tilsatt i 5 eller 2 ml humant blodplasma (positive prøver) og isolert ved siden av virusfrie prøver (negative prøver) i et sjakkbrettoppsett som vekslet med ekstraksjonskjøringer som bare inneholdt negative prøver (for å vurdere krysskontaminering innenfor og mellom ekstraksjon). Studien hadde som mål å etterligne situasjonen der prøver som inneholder et høyt nivå av mål molekyl med nukleinsyre kan krysskontaminere andre prøver under ekstraksjonsprosedyren. NA-rensing ble utført ved bruk av en mengde reagenser. Krysskontaminering ble vurdert ved bruk av *artus*[®] HBV RG CE PCR Kit. Resultatene viste ingen krysskontaminering i hele systemet.

Symboler



Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr.



In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



Katalognummer



Produsent

Rn

R står for revisjon av bruksanvisningen (ytelsesegenskaper), og n er revisjonsnummeret

Tidligere dokumentrevisjoner

Revisjon	Beskrivelse
R1, juni 2022	Oppdatering til IVDR-kompatibel QIAamp DSP Circulating Kit V2 Tillegg av "manuell" isolasjon ved tiltenkt bruk. Ingen endring i ytelsesdata sammenlignet med Kit, versjon 1.

Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: 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 dets datterselskaper). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.
06/2022 HB-3049-D01-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.

