



# Veiktspējas raksturojums

QIAamp® DSP Circulating NA Kit, 1. versija **REF** 61504

Versiju pārvaldība

  	Pirms testa veikšanas pārliecinieties, vai vietnē <b>www.qiagen.com</b> saistībā ar produkta numuru un resursiem nav pieejamas jaunas elektroniskā marķējuma versijas.
---	--

## Vispārīgs ievads

QIAamp DSP Circulating NA Kit ir sistēma, kurā tiek izmantota kvarca membrānu tehnoloģija (QIAamp technology) cirkulējošu, DNS un RNS nesaturošu šūnu (circulating, cell-free, ccf) izdalīšanai un attīrīšanai no cilvēka asins plazmas paraugiem.

Šo produktu ir paredzēts lietot kvalificētiem speciālistiem, piemēram, tehniķiem un ārstiem, kuriem ir zināšanas molekulāri bioloģisko metožu izmantošanā.

QIAamp DSP Circulating NA Kit sistēma ir paredzēta lietošanai in vitro diagnostikā.

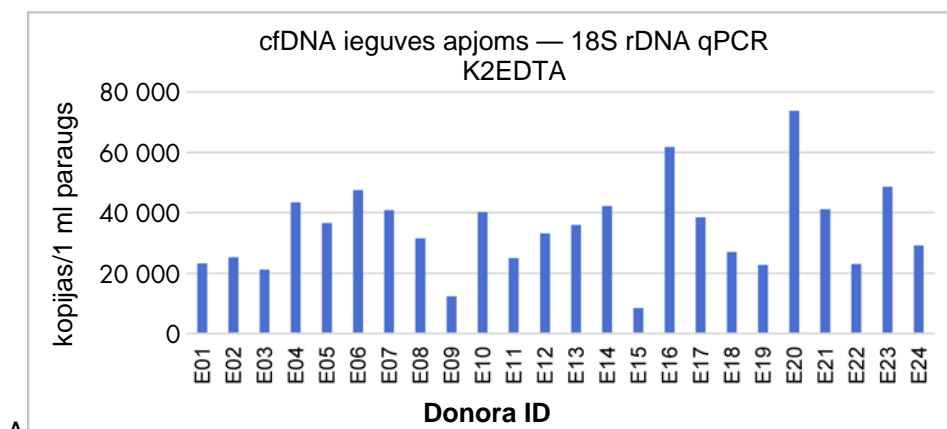
## Attīrītu nukleīnskābju (Nucleic Acid, NA) iznākums

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

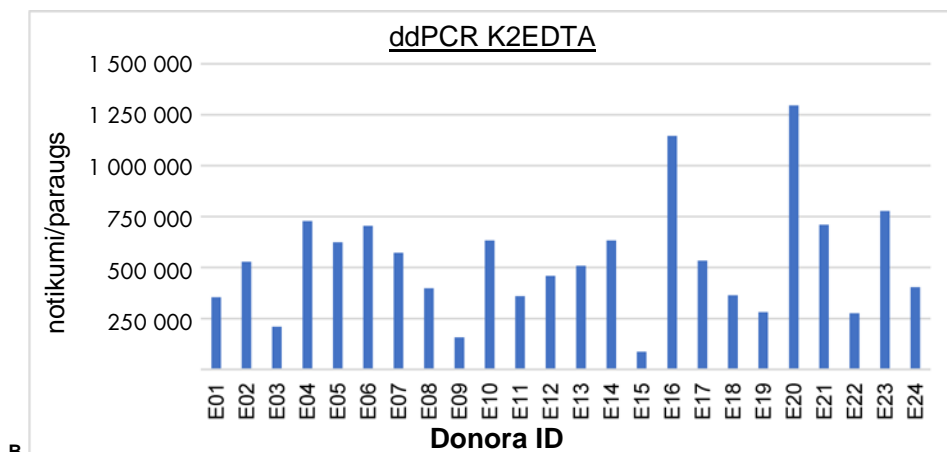
Ja komplektu izmanto kopā ar QIAGEN® lejupvērsto lietojumu, instrukcijas skatiet attiecīgajā rokasgrāmatā.

## Lejupvērsto lietojumu analīze

Nukleīnskābes, kas izolētas ar QIAamp DSP Circulating NA Kit, ir gatavas izmantošanai dažādos lejupvērstajos lietojumos. Lai izvērtētu veiktspēju, nukleīnskābes no individuāla donora cilvēka asins plazmas tika izolētas, izmantojot trīs dažādus asins paraugu savākšanas stobriņus (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson®, PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX; Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; donoru skaits katrā n=24). 1 ml tilpuma plazmas ievades eluāti tika testēti, izmantojot kvantitatīvo PCR metodi (qPCR, 1. attēlsA), pilienu digitālo PCR metodi (ddPCR, 1. attēlsB), kā arī atgriezenisko transkripciju qPCR (RT-qPCR) RNS noteikšanai (tikai BD Vacutainer K2EDTA Tube plazma, 2. attēls).

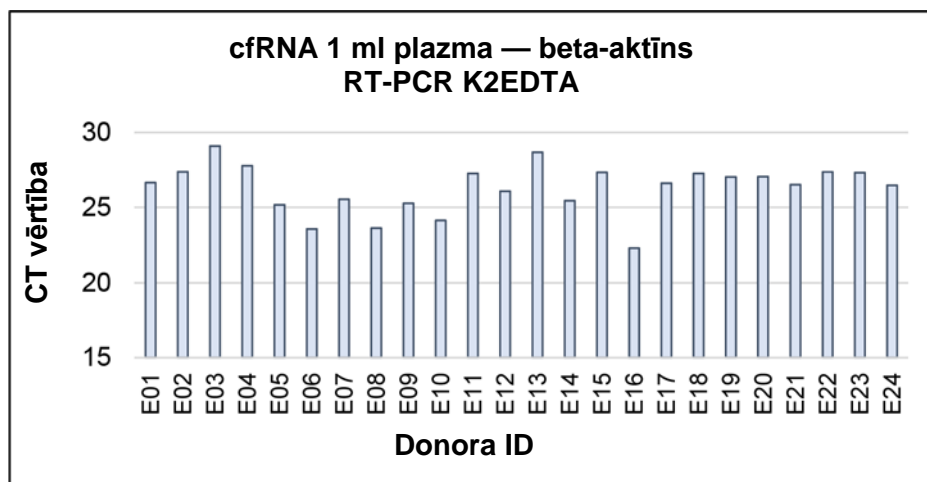


A



B

1. attēls. Individuāla donora plazmas (1 ml ievades tilpums) salīdzinājums, nosakot ar qPCR un ddPCR metodi (Bio-Rad®)



2. attēls. Bezšūnu RNS noteikšana individuāla donora plazmā (1 ml ievades tilpums), izmantojot atgriezeniskās transkripcijas qPCR analīzi cilvēka beta-aktīna gēna (fragmenta garums 293 bp) noteikšanai.

Jaunākās paaudzes sekvencēšanas (Next Generation Sequencing, NGS) analīzei tika ģenerēti eluāti 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 iznākums 5 ml plazmas parauga bija 50–150 ng DNS diapazonā, nosakot ar Qubit® HS dsDNA analīzi. NGS analīzes tika veiktas, izmantojot GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel un GeneReader™ sistēmu. Visi paraugi tika sekmīgi bagātināti, un tika ģenerētas bibliotēkas. >98% nolasīto ģenerēto datu tika izmantoti cilvēka genoma kartēšanai, un interesi raisošos reģionos >99,8% pozīciju nodrošinājums bija  $\geq 500\times$ .

Abiem nukleīnskābju veidiem (DNS un RNS) tika demonstrēts sekmīgs lejupvērsto tehnoloģiju lietojums (3. attēls).

	qPCR	ddPCR	RT-qPCR	NGS
K2EDTA	✓	✓	✓	✓
PAXgene	✓	✓	nav testēts	✓
Streck	✓	✓	nav testēts	✓

3. attēls. Sekmīga izolēto nukleīnskābju izmantošana dažādos lejupvērstajos lietojumos.

Lietotājam ir jāveic plazmas ievades un eluāta tilpuma optimizācija saistībā ar konkrēto mērķa molekulu un visām turpmākajām procedūrām, ko izmanto konkrētajā laboratorijā vai kas attiecas uz lejupvērsta lietojuma specifisko veikspēju.

## Eluāta stabilitāte

Eluāta stabilitāte ir atkarīga no izolēto nukleīnskābju sastāva un veida, eluāta tilpuma un glabāšanas apstākļiem. Lietotājiem ieteicams noskaidrot eluāta stabilitāti atbilstoši viņu īpašajām vajadzībām.

Tika pārbaudīta DNS un to eluātu stabilitāte, kas iegūti no cilvēka asins plazmas, kura ģenerēta no BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson) un stabilizēta asins paraugu savākšanas stobriņos (PAXgene Blood ccfDNA Tube un Streck Cell-Free DNA BCT). Eluāti tika glabāti temperatūrā no  $-30$  līdz  $-15$  °C un no  $-90$  līdz  $-65$  °C. Glabājot līdz 12 mēnešiem, netika novērota bojāšanās. Glabājot  $2-8$  °C temperatūrā un istabas temperatūrā ( $15-25$  °C), eluāti bija stabili līdz pat 48 stundām. Visi nosacījumi tika novērtēti, kā qPCR mērķa gēnu izmantojot cilvēka 18S rDNS gēnu.

Tika pārbaudīta RNS un to eluātu stabilitāte, kas iegūti no cilvēka plazmas, kura ģenerēta BD Vacutainer K2EDTA Tube sistēmās (Becton Dickinson). Eluāti tika glabāti temperatūrā no  $-30$  līdz  $-15$  °C un no  $-90$  līdz  $-65$  °C. Glabājot līdz 6 mēnešiem, netika novērota bojāšanās. Glabājot  $2-8$  °C temperatūrā, eluāti bija stabili līdz pat 48 stundām. Visi nosacījumi tika novērtēti, kā RT-qPCR mērķa gēnu izmantojot cilvēka beta-aktīna gēnu.

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

## Nukleīnskābju izolēšanas precizitāte

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

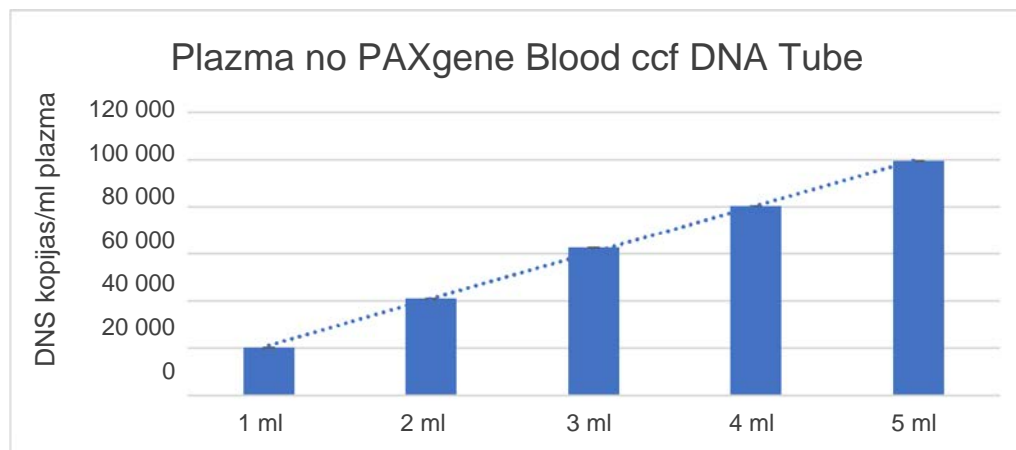
Eksperimentālā iestatīšana ietvēra 12 izdalīšanas ciklus ar 12 replikācijas variantiem katrā (kopā 144 izdalīšanas ciklus). Izdalīšanas ciklus sagatavoja trīs dažādi operatori trīs dažādās dienās ar trim dažādiem instrumentiem, izmantojot trīs dažādas QIAamp DSP Circulating NA Kit partijas. Tika noteikta katra atsevišķā QIAamp DSP Circulating NA Kit parametra un vispārīgās (kopējās) variabilitātes standartnovirze (Standard Deviation, SD) un variācijas koeficients (Coefficient of Variation, CV) (1. tabula).

1. tabula. Precizitātes rezultāti

Precizitāte			
Parametrs	Vidējais kopiju skaits/ml	SD	CV (%)
No apstrādes cikla uz apstrādes ciklu	25894	461	1,78
No operatora uz operatoru		1392	5,38
No ierīces uz ierīci		228	0,88
No dienas līdz dienai		2096	8,09
No partijas līdz partijai		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 iznākuma pieaugums (skatiet 4. attēlu); BD Vacutainer K2EDTA Tube sistēmām tas bija arī RNS gadījumā.



4. attēls. Lineārais kopējā DNS pieauguma iznākums (DNS kopijas/ml plazmas ievades tilpums) dažādiem plazmas ievades tilpumiem. Tās plazmas dati, kas ģenerēti no PAXgene Blood ccfDNA Tube, uzrādījuši ekvivalentus rezultātus plazmas datiem, kas iegūti no BD Vacutainer K2EDTA Tube (DNS/RNS) un Streck Cell-Free DNA BCT sistēmās.

## 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 (SD) bija mazāka, salīdzinot ar 95% divpusējā ticamības intervāla augšējo robežvērtību attiecībā uz klasiskajā protokolā esošo kopējo precizitāti (SD), kur ticamības intervāls tika aprēķināts pētījuma gaitā, izmantojot klasiskā protokola datus (n=143) un izmantojot noteiktu skaitu datu punktu pētījuma Breeze protokolā (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 lejupvērsto 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 komplicētības un atšķirīgās specifiskās lejupvērsto lietojumu jutības dēļ lietotājiem ir ieteicams novērtēt to interferējošo vielu iedarbību, kas specifiskas darbplūsmas, un validēt interferences kontroles metodi šo vielu specifiskajā diagnostiskajā lejupvērstajā lietojumā.

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

## Krusteniskā kontaminācija

Lai novērtētu krusteniskās kontaminācijas pakāpi, 5 ml vai 2 ml cilvēka asins plazmas tika pievienots  $10^5$  HBV vīrusa kopiju (pozitīvi paraugi) un tika izolēts blakus vīrusus nesaturošiem paraugiem (negatīvi paraugi) kontrolplates iestatījumā pārmaiņus ar ekstrakcijas cikliem, kuros ir tikai negatīvi paraugi (lai novērtētu intraekstrakcijas un interekstrakcijas ciklu 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.

---

## Piezīmes

## Pārskatījumu vēsture

Datums	Izmaiņas
R1 09/2019	Sākotnējais izdevums
R2 08/2021	<p>Pārskatīti uzglabāšanas nosacījumi, lai nodrošinātu eluāta stabilitāti, pārbaudīti attiecībā uz DNS:</p> <p>Temperatūrā no –30 līdz –15 °C un no –90 līdz –65 °C var uzglabāt līdz 12 mēnešiem.</p> <p>Pārskatīti uzglabāšanas nosacījumi, lai nodrošinātu eluāta stabilitāti, pārbaudīti attiecībā uz RNS:</p> <p>Temperatūrā no –30 līdz –15 °C un no –90 līdz –65 °C var uzglabāt līdz 6 mēnešiem.</p> <p>Labota kļūda veikspējas lapā: RNS uzglabāšana nav testēta istabas temperatūrā (15–25 °C).</p> <p>Koriģēti precizitātes dati kolonnās SD un CV 1. tabulā.</p>

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktu juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, artus®, GeneRead®, GeneReader™ (QIAGEN Group); BD Vacutainer®, Becton Dickinson® (Becton Dickinson and Co.); Bio-Rad® (Bio-Rad Laboratories, Inc.); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); Streck®, Cell-Free DNA BCT® (Streck Inc.); Qubit® (Thermo Fisher Scientific vai tā filiāles).

HB-0466-D01-002 © 2021 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.



