




# Prestandaegenskaper

QIAamp® DSP Circulating NA Kit, Version 1 **REF** 61504

## Versionshantering

  	Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner under produktnummer och produktresurser på <b>www.qiagen.com</b> innan testet utförs.
---	---

## Allmän introduktion

QIAamp DSP Circulating NA Kit är ett system som använder kiseldioxid-membranteknik (QIAamp-teknik) för isolering och rening av cirkulerande, cellfritt (circulating cell-free, ccf) DNA och RNA från prover med humant blodplasma.

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.

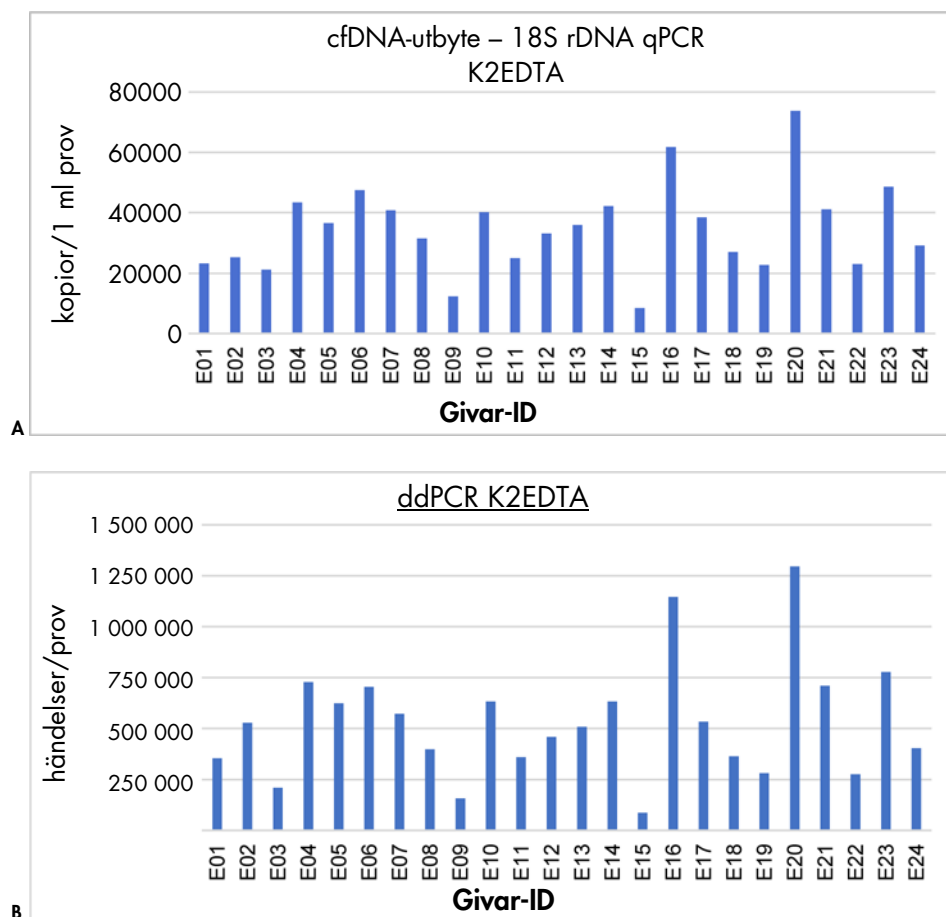
## Utbyte av renade nukleinsyror (Nucleic Acids, NA)

Plasmaprover kan uppvisa en hög variation i utbytet av renade nukleinsyror. Därför bör användarna optimera plasmainmatningen och elueringsvolymen för sitt specifika mål och nedströmsapplikationer i sitt laboratorium.

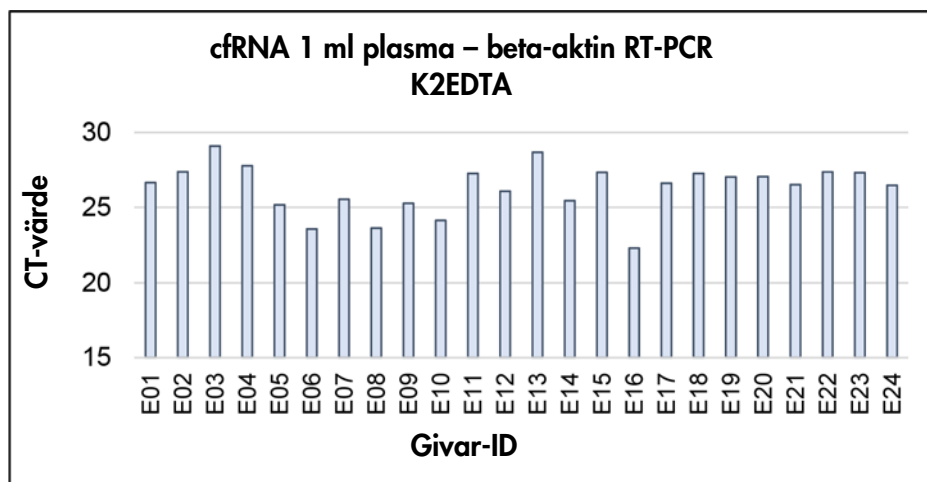
Om satsen används tillsammans med en QIAGEN®-nedströmsapplikation, se relevant handbok för instruktioner.

## Analys av nedströmsapplikationer

Nukleinsyror isolerade med QIAamp DSP Circulating NA Kit är redo för användning i olika nedströmsapplikationer. För att utvärdera prestandan isolerades nukleinsyror från humant blodplasma med en enda givare med användning av tre olika blodprovtagningsrör (BD Vacutainer® K2EDTA Tube, Becton Dickinson®; PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX och Streck® Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT)®, Streck; n=24 givare vardera). Eluat från 1 ml plasma testades med användning av kvantitativ PCR (qPCR, Fig. 1A), digital droppe PCR (ddPCR, Fig. 1B), såväl som omvänd transkription qPCR (RT-qPCR) för RNA (endast BD Vacutainer K2EDTA Tube plasma, Fig. 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 omvänd transkription-qPCR-analys för den humana beta-aktinengen (293 bp fragmentlängd).

För analys av Next Generation Sequencing (NGS) genererades eluat från 5 ml plasmainmatningsvolym (BD Vacutainer K2EDTA Tube, PAXgene Blood ccfDNA Tube och Streck Cell-Free DNA BCT; n=8 givare vardera). Det totala DNA-utbytet för 5 ml plasma varierade mellan 50–150 ng DNA detekterat med Qubit® HS dsDNA-analys. NGS-analys gjordes med användning av GeneRead® QIAact Actionable Insights Tumor Panel och GeneReader™-systemet. Alla prover berikades framgångsrikt och bibliotek genererades. > 98 % av de genererade avläsningarna mappades till det humana genomet, och > 99,8 % av positionerna i de intressanta regionerna hade en basäckning på  $\geq 500\times$ .

För båda nukleinsyrearterna (DNA och RNA), visades framgångsrik tillämpning av nedströmstekniker (Figur 3).

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

Figur 3. Framgångsrik användning av isolerade nukleinsyror med olika nedströmsapplikationer.

Användaren bör optimera plasmainmatningen och elueringsvolymen för sin målmolekyl och eventuella efterföljande procedurer som används i det aktuella laboratoriet eller hänvisa till den specifika prestandan för den relevanta nedströmsapplikationen.

## Eluatstabilitet

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

Eluatstabiliteten testades med avseende på DNA och eluat härledda från human plasma genererad från BD Vacutainer K2EDTA Tube (Becton Dickinson) och stabiliserande blodprovtagningsrör (PAXgene Blood ccfDNA Tube och Streck Cell-Free DNA BCT). Eluat förvarades vid -30 till -15 °C och -90 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.

Eluatstabiliteten testades med avseende på RNA och eluat härledda från human plasma genererad från BD Vacutainer K2EDTA Tubes (Becton Dickinson). Eluat förvarades vid -30 till -15 °C och -90 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-aktingenen.

Om satsen används tillsammans med QIAGEN nedströmsapplikationer, se relevant satshandbok 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.

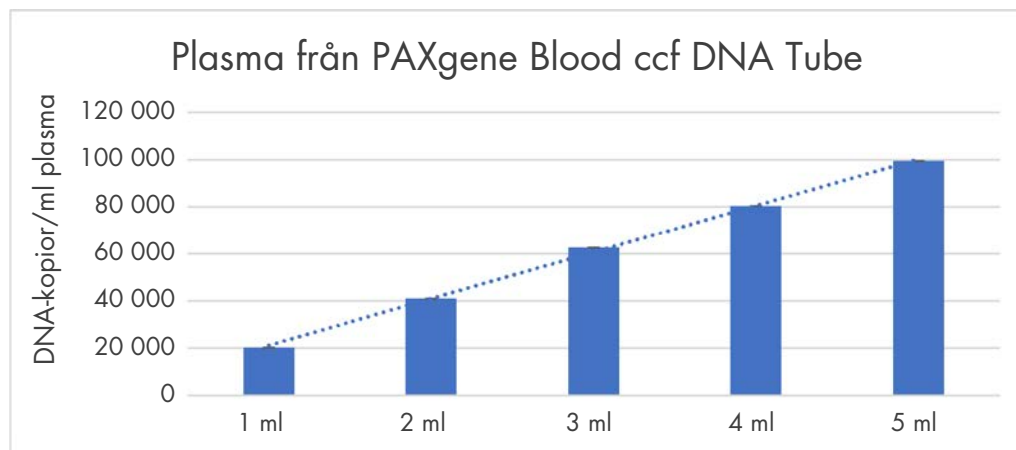
Den experimentella konfigurationen omfattade 12 reningskörningar med 12 replikat vardera (totalt 144 reningar). Reningskörningar arrangerades med tre olika operatörer tre olika dagar med tre olika instrument, med användning av tre olika partier QIAamp DSP Circulating NA Kit. Standardavvikelsen (Standard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

**Tabell 1. Precisionsresultat**

Parameter	Precision		
	Genomsnitt av kopior/ml	SD	CV (%)
Körning till körning	25894	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 BCTs. För alla BCT:er, observerades en linjär ökning av DNA-utbyte (se Fig. 4); för BD Vacutainer K2EDTA Tubes, var detta även fallet för RNA.



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

## Protokollekvivalens (breeze-protokoll/klassiska protokoll)

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

Den totala precisionen (SD) för Ct-värden som genererades för breeze-protokollet var mindre än den övre gränsen för det tvåsidiga 95 % prediktionsintervallet för den totala precisionen (SD) för det klassiska protokollet, varvid prediktionsintervallet inom 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, t.ex. 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 okonjugerat bilirubin som endogena komponenter. Ingen störning hittades vid tillämpning av qPCR som nedströmsapplikation. Vidare observerades ingen störning härrörande från komponenter i QIAamp DSP Circulating NA Kit (protein K, Buffer ACL, Buffer ACB, Buffer ACW1, Buffer ACW2 och etanol) under provbearbetning och extraktion 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® nedströmsapplikationer, se satshandböckerna.

## Korskontamination

För att bedöma graden av korskontamination spetsades  $10^5$  kopior av HBV-virus i 5 ml eller 2 ml human blodplasma (positiva prover) och isolerades intill virusfria prover (negativa prover) i en kontrollpanelkonfiguration alternerat med extraktionskörningar som endast innehöll negativa prover (för att bedöma korskontamination 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 reagens. Korskontamination bedömdes med användning av *artus*® HBV RG CE PCR Kit. Resultaten visade ingen korskontamination någonstans i systemet.

---

**Obs!**

## Revisionshistorik

Datum	Ändringar
R1 09/2019	Startversion
R2 08/2021	Reviderade förvaringsförhållanden för eluatstabilitet testad för DNA: Förvaring i -30 till -15 °C och -90 till -65 °C är möjligt i upp till 12 månader. Reviderade förvaringsförhållanden för eluatstabilitet testad för RNA: Förvaring i -30 till -15 °C och -90 till -65 °C är möjligt i upp till 6 månader. Korrigerade felet i prestandabladet: RNA-förvaring har inte testats vid rumstemperatur (15–25 °C). Korrigerade data i precisionsstudien under kolumnerna SD och CV i Tabell 1.

Aktuell licensinformation och produktspecifika ansvarsfriskrivningar finns i handboken eller användarmanualen till respektive QIAGEN-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: 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 eller dess dotterbolag).

HB-0466-D01-002 © 2021 QIAGEN, med ensamrätt.



