

QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit

Die QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits sind nur für den Gebrauch mit dem QIASymphony SP vorgesehen. Die QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits enthalten die Reagenzien für die vollautomatische und parallele Reinigung von viralen Nukleinsäuren aus Serum, Plasma oder Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) oder von viralen Nukleinsäuren und bakterieller DNA aus verschiedenen Ausgangsmaterialien, unter anderem aus Atemwegsproben, wie Abstrichen, Aspiraten, Sputum oder bronchoalveolärer Lavage (BAL), oder aus Urin sowie Urogenitalabstrichen (Gebärmutterhals- oder Uretherabstriche). Mit den Kits können Nukleinsäuren aus einem breiten Spektrum an DNA- und RNA-Viren sowie bakterielle DNA aus gramnegativen und grampositiven Bakterien isoliert werden. Allerdings kann die volle Leistungsfähigkeit eines Kits nicht für jede Virus- oder Bakterien-Spezies garantiert werden; sie ist vielmehr vom Anwender zu validieren.

Leistungscharakteristik

Linearer Wertebereich

Der lineare Wertebereich des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits wurde exemplarisch für das RNA-Virus HIV-1 bestimmt. Dazu wurden Verdünnungsreihen von zuvor quantifizierten Virus-Standards in HIV-1-negativem Humanplasma hergestellt. Die Tests mit sieben verschiedenen Virustitern wurden als Mehrfach-Bestimmung (bis zu 6-fach) durchgeführt. Der lineare Bereich des Virus-Protokolls mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit für HIV-1 wurde mit einem unternehmenseigenen RT-PCR-Assay bestimmt (siehe Abb. 1). Dabei wurde die Präparation der viralen Nukleinsäuren mit 1000- μ l-Proben durchgeführt; die Elution erfolgte mit einem Volumen von 60 μ l.



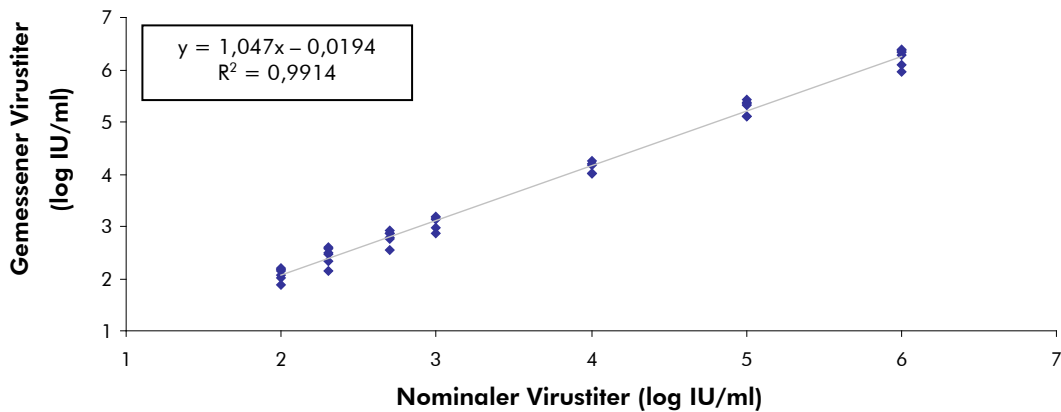


Abbildung 1. Linearer Wertebereich der Ausbeute bei der Nukleinsäure-Reinigung nach dem Virus-Cellfree-1000-Protokoll. Der lineare Bereich des Virus-Cellfree-Protokolls wurde mit einer Verdünnungsreihe der viralen Nukleinsäure und einem firmeneigenen RT-PCR-Assay für das HIV-1-RNA-Virus bestimmt.

Präzision

Im linearen Bereich des nachfolgenden Nachweis-Assays wurden für die HIV-1-Verdünnungsreihe jeweils die Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient (CV) bestimmt. Bei der Analyse der Assay-Präzision wurde derselbe Nachweis-Assay verwendet wie bei der Bestimmung des linearen Wertebereichs (siehe Abb. 1). Die Werte für die Inter-Assay-Präzision sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Für jede Konzentrationsstufe wurde aus 5 oder 6 Wiederholproben (Replikaten) die Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIA Symphony SP durchgeführt.

Tabelle 1. Inter-Assay-Präzision des Virus-Cellfree-1000-Protokolls mit einem unternehmenseigenen RT-PCR-Assay für den Nachweis von HIV-1-RNA

Konzentrationsstufe	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	SD (log IU/ml)
1	6	1835700	30,04	6,24	0,15
2	6	199931	26,99	5,28	0,13
3	5	13785	21,02	4,13	0,09
4	5	1363	17,49	3,13	0,09
5	6	642	24,82	2,79	0,12
6	6	294	31,12	2,44	0,16
7	6	123	23,25	2,08	0,11

Wiederholpräzision bei Anwendung der Complex-Protokolle (Complex 200/400/800)

Für diese Untersuchung wurde *Chlamydia-trachomatis*-DNA aus 200, 400 und 800 μ l Urin mit dem QIASymphony SP gereinigt; dabei erfolgte die Elution in 110 μ l. Für jedes der drei Protokolle (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP und Complex800_V5_DSP) wurden von einem Laboranten drei separate Läufe, und zwar an drei verschiedenen Tagen, auf demselben Gerät durchgeführt. Jeder Lauf bestand dabei aus vier Chargen zu je 22 Proben.

Tabelle 2. Wiederholpräzision beim Complex-200-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

Lauf	Charge	n	C _T -Mittelwert	SD	CV (%)
Lauf 1	Charge 1	22	28,74	0,32	1,10
	Charge 2	22	29,03	0,49	1,68
	Charge 3	22	29,00	0,53	1,84
	Charge 4	22	29,04	0,45	1,55
Lauf 2	Charge 1	22	28,26	0,36	1,28
	Charge 2	22	28,90	0,27	0,93
	Charge 3	22	28,84	0,26	0,91
	Charge 4	22	28,94	0,31	1,08
Lauf 3	Charge 1	22	27,87	0,39	1,40
	Charge 2	22	28,35	0,32	1,12
	Charge 3	22	28,52	0,28	0,97
	Charge 4	22	28,94	0,32	1,09
Gesamtzahl an Proben = 264					
C _T -Mittelwert insgesamt = 28,70					

Tabelle 3. Präzision beim Complex-200-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

	Inter-Chargen-Präzision im selben Lauf (S _{PWR})	Präzision zwischen Läufen (S _{BR})	Gesamt (S _T)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabelle 4. Wiederholpräzision beim Complex-400-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

Lauf	Charge	n	C _T -Mittelwert	SD	CV (%)
Lauf 1	Charge 1	22	27,32	0,43	1,57
	Charge 2	22	27,35	0,37	1,37
	Charge 3	22	27,54	0,44	1,61
	Charge 4	22	27,37	0,57	2,08
Lauf 2	Charge 1	22	28,07	0,46	1,62
	Charge 2	22	28,42	0,55	1,93
	Charge 3	22	28,47	0,55	1,95
	Charge 4	22	28,61	0,32	1,11
Lauf 3	Charge 1	22	27,85	0,53	1,89
	Charge 2	22	28,60	0,44	1,53
	Charge 3	22	28,09	0,87	3,11
	Charge 4	22	28,23	0,35	1,24
Gesamtzahl an Proben = 264					
C _T -Mittelwert insgesamt = 27,99					

Tabelle 5. Präzision beim Complex-400-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

	Inter-Chargen-Präzision im selben Lauf (S _{PWR})	Präzision zwischen Läufen (S _{BR})	Gesamt (S _,)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabelle 6. Wiederholpräzision beim Complex-800-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

Lauf	Charge	n	C _T -Mittelwert	SD	CV (%)
Lauf 1	Charge 1	22	26,04	0,34	1,32
	Charge 2	22	26,07	0,43	1,66
	Charge 3	22	26,81	0,47	1,76
	Charge 4	22	26,10	0,41	1,59
Lauf 2	Charge 1	22	26,17	0,29	1,10
	Charge 2	22	26,35	0,43	1,65
	Charge 3	22	26,11	0,34	1,31
	Charge 4	22	26,15	0,37	1,41
Lauf 3	Charge 1	22	26,05	0,33	1,25
	Charge 2	22	26,32	0,54	2,04
	Charge 3	22	25,72	0,41	1,60
	Charge 4	22	26,59	0,48	1,81
Gesamtzahl an Proben = 264					
C _T -Mittelwert insgesamt = 26,20					

Tabelle 7. Präzision beim Complex-800-Protokoll bei Anwendung eines unternehmenseigenen C.-trachomatis-Assays

	Inter-Chargen-Präzision im selben Lauf (S _{PWR})	Präzision zwischen Läufen (S _{BR})	Gesamt (S _g)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

Vorbehandlung viskoser Proben und Lyse grampositiver Bakterien

Sputum-Proben wurden mit definierten Volumina einer Suspensionskultur von *Mycobacterium tuberculosis* versetzt („gespikt“). Die Proben wurden dann im Verhältnis 1:1 mit Sputasol verdünnt, um sie zu verflüssigen, und anschließend für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Aliquots (1 ml) der verflüssigten Probe wurden dann bei 5000 x g für 10 Minuten zentrifugiert. Die erhaltenen Pellets wurden in Lysozym-Lösung (500 µl) resuspendiert und für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert. Dabei wurden drei Lysozym-Lösungen verwendet, die jeweils aus einer von drei unterschiedlichen Chargen Lysozym stammten. Aus 200 µl dieser mit Lysozym behandelten Proben wurde dann die *M. tuberculosis*-DNA nach dem Complex-200-Protokoll mit dem QIAasymphony SP oder manuell unter Verwendung des QIAamp DNA Mini Kits isoliert. Die resultierenden Eluate wurden mittels eines unternehmenseigenen Real-Time-PCR-Assays analysiert, der spezifisch ist für *M. tuberculosis*.

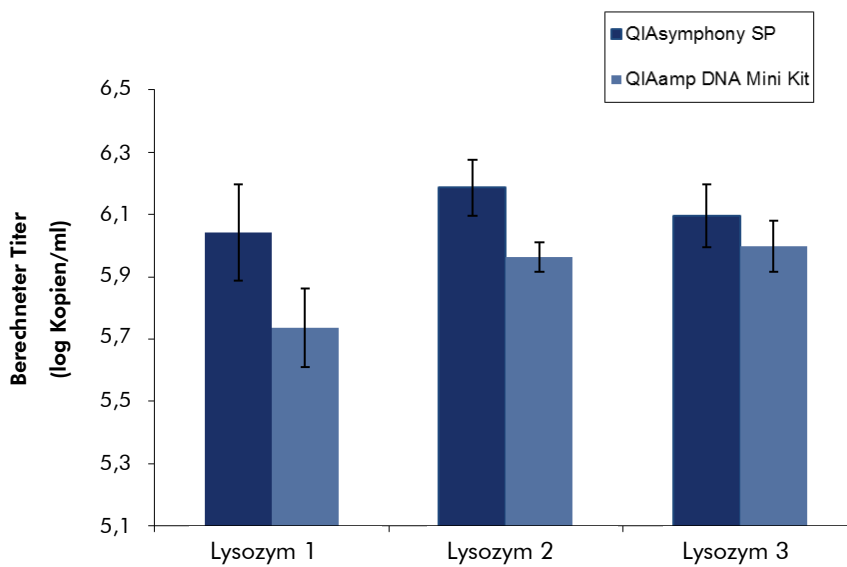


Abbildung 2. Vorbehandlung viskoser Proben und Lyse grampositiver Bakterien.

Nukleinsäure-Stabilität im Eluat

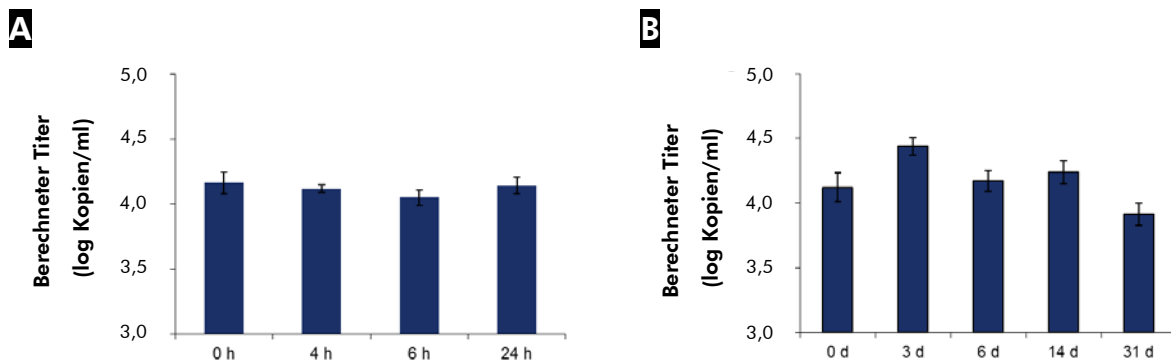


Abbildung 3. Stabilität von HIV-RNA in den Eluaten. Ein in Urin gegebener HIV-RNA-Standard wurde unter Anwendung des Complex-200-Protokolls mit dem QIA Symphony SP gereinigt. Die Eluate wurden anschließend **A** für bis zu 24 Stunden bei 37 °C bzw. **B** für bis zu 31 Tage bei 5 °C inkubiert. Für die HIV-Bestimmung zu festgelegten Zeitpunkten wurde ein unternehmenseigener HIV-spezifischer Real-Time-PCR-Assay verwendet. Die Eluate wurden jeweils als Achtfachbestimmung (8 Replikate) analysiert.

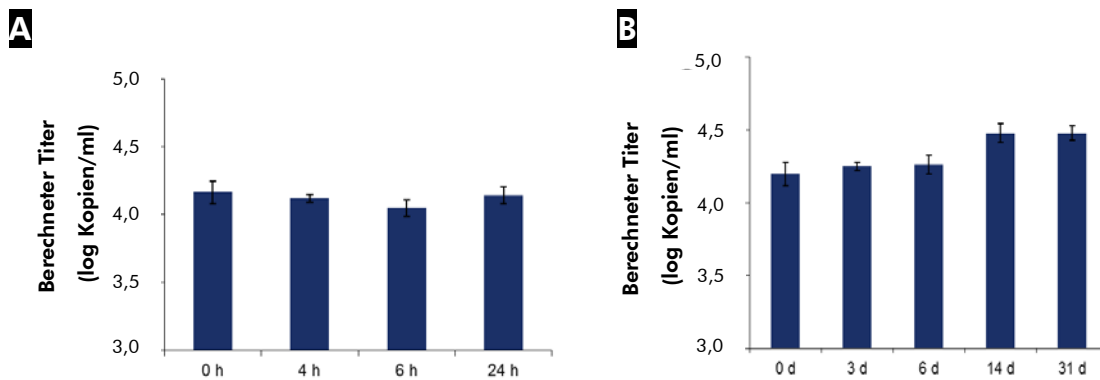


Abbildung 4. Stabilität von CMV-DNA in den Eluaten. Ein in Urin gegebener CMV-DNA-Standard wurde unter Anwendung des Complex-200-Protokolls mit dem QIA Symphony SP gereinigt. Die Eluate wurden anschließend **A** für bis zu 24 Stunden bei 37 °C bzw. **B** für bis zu 31 Tage bei 5 °C inkubiert. Für die CMV-Bestimmung zu festgelegten Zeitpunkten wurde ein unternehmenseigener CMV-spezifischer Real-Time-PCR-Assay verwendet. Die Eluate wurden jeweils als Achtfachbestimmung (8 Replikate) analysiert.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können Sie vom QIAGEN Technischen Service oder dem für Sie zuständigen Außendienstmitarbeiter oder Distributor anfordern.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN-Gruppe).
Juli-11 © 2011 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com
Australia ■ 1-800-243-800
Austria ■ 0800/281010
Belgium ■ 0800-79612
Canada ■ 800-572-9613
China ■ 021-51345678
Denmark ■ 80-885945
Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930
Germany ■ 02103-29-12000
Hong Kong ■ 800 933 965
Ireland ■ 1800 555 049
Italy ■ 800 787980
Japan ■ 03-5547-0811
Korea (South) ■ 1544 7145
Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592
Norway ■ 800-18859
Singapore ■ 65-67775366
Spain ■ 91-630-7050
Sweden ■ 020-790282
Switzerland ■ 055-254-22-11
UK ■ 01293-422-911
USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies