



2022 年 6 月

QIAsymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit 使用説明書（性能特性）

バージョン 2



体外診断用医薬品

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit および Midi Kit と共に使用



937036、937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ドイツ

R1

電子的に利用可能な性能特性は、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにあります。

導入・一般事項

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit は、QIAsymphony SP との組み合わせでのみ使用することを目的としています。

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit は、ウイルスおよび細菌の核酸を完全自動化して同時に精製する試薬を提供します。このキットは、広範囲の DNA や RNA ウイルスからの核酸精製と、グラム陰性菌およびグラム陽性菌からの細菌 DNA 精製に使用できます。ただし、すべてのウイルスや細菌種の性能特性が確立されているわけではないため、ユーザーによる検証が必要となります。

磁性粒子技術により、タンパク質、ヌクレアーゼ、その他の不純物を含まない高品質の核酸を精製できます。精製した核酸は、増幅反応 (PCR) などのダウンストリームアプリケーションで直接使用できます。QIAsymphony SP は、精製手順の全ステップを実行します。1 回のランで、最大 96 個のサンプル、最大 24 個のバッチを処理できます。

以下に、さまざまなアプリケーションのいくつかの性能データを示します。

性能特性

注釈：性能特性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関連しています。これらは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit 向けに確立されています。ただし、生物学的検体から核酸を分離する方法は、複数のダウンストリームアプリケーションのフロントエンドとして使用します。クロスコンタミネーションやラン精度などの性能パラメーターは、ダウンストリームアプリケーション開発の一環としてこのようなワークフローに対して確立される必要があります。したがって、ユーザーは責任を持ってワークフロー全体を検証し、適切な性能パラメーターを確立しなければなりません。

基本的な性能とさまざまなダウンストリームアプリケーションに対する適合性

ウイルスの例として HIV-1 RNA を使用して、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit の基本的な性能を評価しました。HIV-1 陰性のヒト血漿で作られた定量化したウイルスパネルを希釈し、テストを行いました。7 種類のウイルス力価の希釈シリーズをそれぞれ最大 6 複製までテストし、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit 手順で精製し、社内の RT-PCR アッセイで HIV-1 を分析しました (図 1)。溶出量 60 µl でサンプル 1000 µl から、ウイルス核酸を精製しました。

さらに、キット開発中に細菌およびウイルスの核酸とさまざまな qPCR ダウンストリームアプリケーションを利用して、分離した核酸がさまざまなダウンストリームアプリケーションに対応することを示しました (表 2-表 7, 図 2、図 3)。

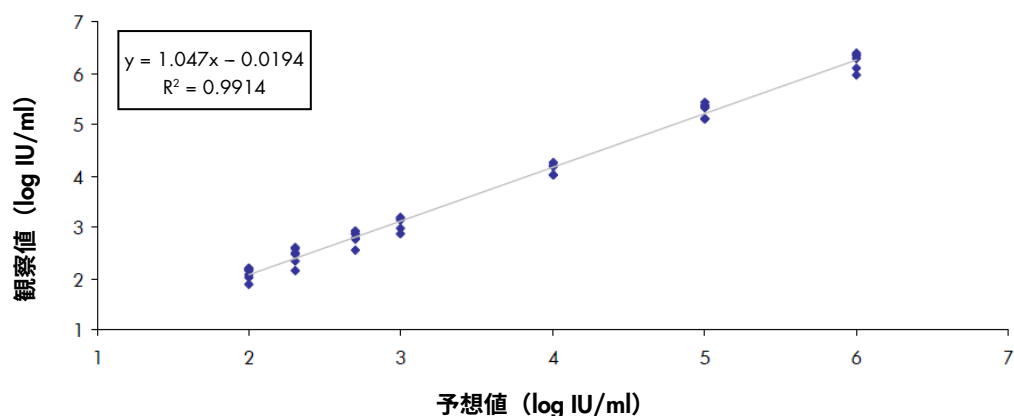


図 1. Virus Cellfree 1000 プロトコールを使用して、ウイルス希釈シリーズと HIV-1 RNA ウイルスの社内 RT-PCR アッセイを使用して観察された収量。

精度

標準偏差と変動係数 (Coefficients of Variations、CV) は、適切なダウンストリームアッセイの直線範囲で、HIV-1 希釈シリーズに対して決定しました。精度分析では、基本的な性能の決定の場合と同じダウンストリームアッセイを使用しました (図 1)。アッセイ間精度データを表 1 に示します。各パネルメンバーに対して、QIASymphony SP で 5 または 6 複製を抽出しました。

表 1. HIV-1 RNA ウイルスの社内 RT-PCR アッセイを使用する Virus Cellfree 1000 プロトコールのアッセイ間精度

パネルメンバー	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	SD (log IU/ml)
1	6	1 835 700	30.04	6.24	0.15
2	6	199 931	26.99	5.28	0.13
3	5	13 785	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

Complex 200、400、800 プロトコールの再現性

Chlamydia trachomatis DNA を、QIAasymphony SP で 200、400、800 µl の尿から精製し、110 µl に溶出しました。各プロトコール (Complex200_V5_DSP、Complex400_V3_DSP、Complex800_V5_DSP) では、1 人のオペレーターが同じ装置で別々の 3 日間、22 サンプルの 4 バッチを個別に 3 回ランしました。

表 2. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 200 プロトコールの再現性

ラン	バッチ	n	平均 C_T	SD	CV (%)
1	1	22	28.74	0.32	1.10
	2	22	29.03	0.49	1.68
	3	22	29.00	0.53	1.84
	4	22	29.04	0.45	1.55
2	1	22	28.26	0.36	1.28
	2	22	28.90	0.27	0.93
	3	22	28.84	0.26	0.91
	4	22	28.94	0.31	1.08
3	1	22	27.87	0.39	1.40
	2	22	28.35	0.32	1.12
	3	22	28.52	0.28	0.97
	4	22	28.94	0.32	1.09

サンプル総数 = 264

全体平均 = 28.70

表 3. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 200 プロトコールの精度

	同一ラン内のバッチ間 (S_{PWR})	ラン間 (S_{BR})	合計 (S_t)
SD	0.46	0.26	0.53
CV (%)	1.60	0.91	1.84

表 4. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 400 プロトコルの再現性

ラン	バッチ	n	平均 C_T	SD	CV (%)
1	1	22	27.32	0.43	1.57
	2	22	27.35	0.37	1.37
	3	22	27.54	0.44	1.61
	4	22	27.37	0.57	2.08
2	1	22	28.07	0.46	1.62
	2	22	28.42	0.55	1.93
	3	22	28.47	0.55	1.95
	4	22	28.61	0.32	1.11
3	1	22	27.85	0.53	1.89
	2	22	28.60	0.44	1.53
	3	22	28.09	0.87	3.11
	4	22	28.23	0.35	1.24

サンプル総数 = 264

全体平均=27.99

表 5. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 400 プロトコルの精度

	同一ラン内のバッチ間(S_{PWR})	ラン間(S_{BR})	合計(S_T)
SD	0.51	0.52	0.73
CV (%)	1.83	1.87	2.62

表 6. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 800 プロトコルの再現性

ラン	バッチ	n	平均 C_T	SD	CV (%)
1	1	22	26.04	0.34	1.32
	2	22	26.07	0.43	1.66
	3	22	26.81	0.47	1.76
	4	22	26.10	0.41	1.59
2	1	22	26.17	0.29	1.10
	2	22	26.35	0.43	1.65
	3	22	26.11	0.34	1.31
	4	22	26.15	0.37	1.41
3	1	22	26.05	0.33	1.25
	2	22	26.32	0.54	2.04
	3	22	25.72	0.41	1.60
	4	22	26.59	0.48	1.81

サンプル総数 = 264

全体平均=26.20

表 7. *C. trachomatis* 社内アッセイを使用する Complex 800 プロトコールの精度

	同一ラン内のバッチ間(S _{PWR})	ラン間(S _{SR})	合計(S _t)
SD	0.46	0.00	1.76
CV (%)	0.46	0.00	1.76

溶出液安定性

注釈：溶出液の安定性はさまざまな要因に大きく依存し、特定のダウンストリームアプリケーションに関係します。これは、典型的なダウンストリームアプリケーションと組み合わせて QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit に対して確立されています。ユーザーは責任を持ってラボで使用する特定のダウンストリームアプリケーションの使用に関する指示を参照し、ワークフロー全体を検証して適切な保管条件を確立しなければなりません。

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit の溶出液の安定性は、HIV 標準物質と CMV 標準物質をスパイクした尿から抽出した核酸を使用して評価しています。核酸の安定性は、HIV および CMV の社内 real-time PCR アッセイで測定されています。2~8°Cの温度での溶出液の安定性は、最長 1 ヶ月にわたる保管期間の影響を受けていません。しかし、保管期間が 24 時間を超える場合、精製した核酸を-20°Cの温度で保存することをお勧めします。

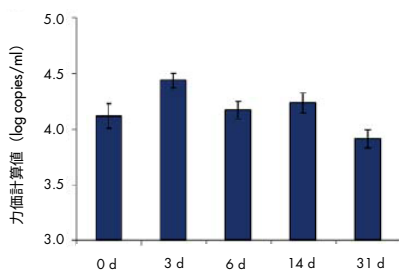


図 2. 溶出液中の HIV RNA の安定性。尿にスパイクした HIV 標準物質は、Complex 200 プロトコールを使用して QIASymphony SP で精製しています。溶出液を 2°C~8°Cの温度で 31 日間インキュベートしました。HIV の社内 real-time PCR アッセイを使用して、一定時間ごとに検出しました。溶出液を 8 回繰り返し分析しました。

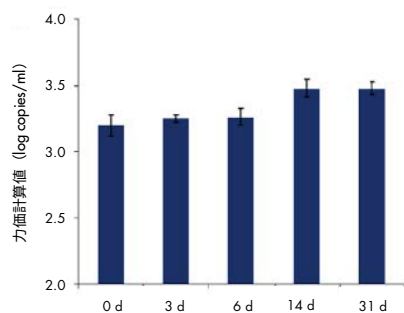


図 3. 溶出液中の CMV の安定性。尿にスパイクした CMV 標準物質は、Complex 200 プロトコールを使用して QIASymphony SP で精製しました。溶出液を 2~8°Cで 31 日間インキュベートしました。CMV の社内 real-time PCR アッセイを使用して、一定時間ごとに検出しました。溶出液を 8 回繰り返し分析しました。

妨害物質

さまざまな潜在的な内因性および外因性妨害物質を、EDTA 血漿、CSF、尿、ウイルス材料を含む輸送培地（eNAT）にスパイクし、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit を使用したサンプル調製後の典型的なダウンストリームアッセイへの影響をテストしました。一般的な関連する潜在的妨害物質とそれぞれのテスト済みサンプル材料を以下の表 8 に示します。リストした妨害物質および 80 を超える追加の潜在的妨害物質に対して、重大な悪影響は観察されませんでした。

表 8. さまざまなサンプル材料を用いてテストした潜在的妨害物質

妨害物質	血漿	CSF	尿	eNAT
(ヒト血清) Albumin	√		√	
ビリルビン	√		√	
赤血球		√	√	
ガンマグロブリン	√			
gDNA	√	√	√	
ヘモグロビン	√			
ヒト肝臓トータル RNA	√			
トリグリセリド (イントラリピッド)	√			
EDTA	√			
ヘパリン	√			
アンモニア溶液	√			
グルコース			√	
粘液			√	√
血液			√	√
白血球			√	√
pH 4、pH 9			√	

注釈：「√」は、それぞれの潜在的妨害物質に対してテストしたサンプル材料を示します。

潜在的妨害物質（薬物など）と対応する濃度は、ダウンストリームアプリケーションと患者の過去の治療可能性に非常に固有であり、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit を使用してこのようなダウンストリームアプリケーションの検証中に調査する必要があります。

注釈：抽出した核酸の品質の評価に典型的なダウンストリームアプリケーションを使用してテストを行いました。しかし、ダウンストリームアプリケーションが異なれば、純度（つまり、潜在的妨害物質の不在または濃度）に関する要件が異なる可能性があるため、関連物質とそれぞれの濃度の同定とテストも、QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit が関与するすべてのワークフローで、ダウンストリームアプリケーション開発の一環として確立する必要があります。

注釈：ISO 20186-2：2019（E）によると、血液採取チューブ由来ヘパリンは、分離した核酸の純度に影響を与える可能性があり、溶出液へのキャリアオーバーが、ダウンストリームアプリケーションを阻害する可能性があります。したがって、血漿調製用抗凝固剤として、EDTA またはクエン酸塩で処理した血液サンプルの使用をお勧めします。

クロスコンタミネーション

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit のクロスコンタミネーションリスクは、交互チェッカーボードバッチ（陽性サンプルと陰性サンプルが交互に並ぶ）を使用して、QIASymphony SP 装置で 96 サンプルを 3 回ランして分析しました。モデルシステムとして、HIV 物質をスパイクしたヒト EDTA 血漿および尿（それぞれ $2.93E+07$ および $>1.00E+07$ IU/ml）を使用しました。利用可能なすべてのプロトコールを使用してサンプルを調製しました（Virus Cellfree および Pathogen Complex アプリケーション）。抽出ラン中の陰性血漿および尿サンプルのコンタミネーションの可能性は、HIV ウイルスに社内 RT-PCR アッセイを使用する溶出液のその後の分析によって評価しました。サンプル間、バッチ間、またはラン間のキャリーオーバーでは、クロスコンタミネーションは検出されませんでした。

サンプルインプット／溶出液アウトプット 範囲

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit を使用して、サンプル調製にさまざまなサンプルインプットおよび溶出量を選択できます。詳細は、www.qiagen.com の製品ページのリソースタブにあるプロトコールシートをご覧ください。Cellfree 200 および Cellfree 1000 プロトコールを使用して、HBV および HIV ウイルス材料をスパイクした EDTA 血漿に対して、典型的な相関試験を行い、3 種類の溶出量の影響を分析しました。Cellfree 200 または Cellfree 1000 プロトコールを 3 種類の溶出量（60、85、110 μ l）のいずれかと組み合わせで使用し、RNA または DNA ウイルスの定量に有意差がないという結果が得られました。

図記号

本文書には、次の図記号が使用されています。使用説明書またはパッケージとラベルに使用している図記号の完全なリストについては、ハンドブックを参照してください。

図記号	図記号の定義
	本製品は、体外診断用医療機器に関する欧州規制 2017/746 の要件を満たしています。
	体外診断用医療機器
	カタログ番号
Rn	R は使用説明書の改訂を示し、n は改訂番号を示す。
	製造者

改訂履歴

改訂	説明
R1、2022年6月	<p>バージョン 2、改訂 1</p> <ul style="list-style-type: none">• IVDR に準拠するために、バージョン 2 に更新• 直線範囲セクションを、基本性能とさまざまなダウンストリームアプリケーションへの適合性セクションに移動• 溶出液の安定性セクションを拡大• 妨害物質セクションを追加• クロスコンタミネーションセクションを追加• サンプルインプット／溶出液アウトプット範囲セクションを追加• 図記号セクションを追加

最新のライセンス情報と製品ごとの免責事項については、該当する QIAGEN キットハンドブックまたはユーザーマニュアルを参照してください。QIAGEN キットのハンドブックとユーザーマニュアルは、弊社ウェブサイト (www.qiagen.com) から入手できます。QIAGEN テクニカルサービスや最寄りの代理店からも入手可能です。

商標：QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAsymphony® (QIAGEN Group)。本文書で使用している登録済みの名称、商標などは、具体的な表示がない場合でも法的保護の対象からは外れません。

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN、無断複写・転載を禁じます。

