



iunie 2022

Instrucțiuni de utilizare (caracteristici de performanță) QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Versiunea 2



A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro

Pentru utilizare cu kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini și Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Caracteristicile de performanță disponibile electronic pot fi găsite sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com.

Introducere generală

Kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sunt destinate utilizării exclusive în combinație cu QIASymphony SP.

Kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit furnizează reactivi pentru purificarea simultană, complet automată, a acizilor nucleici virali și bacterieni. Kiturile pot fi utilizate pentru purificarea acizilor nucleici dintr-o varietate largă de virusuri ADN și ARN, ca și din ADN-ul bacterian din bacteriile Gram-negative și Gram-pozitive. Cu toate acestea, nu au fost stabilite caracteristicile de performanță pentru fiecare specie de virus sau bacterie, acestea trebuind validate de către utilizator.

Tehnologia particulelor magnetice permite purificarea unor acizi nucleici de calitate ridicată, care nu conțin proteine, nucleaze și alte impurități. Acizii nucleici purificați sunt adecvați pentru utilizarea directă în aplicații din aval, precum reacțiile de amplificare (PCR). QIASymphony SP execută toate etapele procedurii de purificare. Într-un singur ciclu de funcționare se procesează până la 96 de probe, în loturi de până la 24 de probe.

În continuare sunt prezentate datele de performanță selectate pentru diferitele aplicații.

Caracteristici de performanță

Rețineți: Caracteristicile de performanță depind foarte mult de factori variați și sunt legate de aplicația din aval specifică. Acestea au fost stabilite pentru QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit împreună cu aplicații din aval tipice. Cu toate acestea, metodele de izolare a acizilor nucleici din specimenul biologic sunt utilizate ca interfață pentru mai multe aplicații din aval. Trebuie stabiliți parametri de performanță, cum ar fi contaminarea încrucișată sau precizia testării pentru un astfel de flux de lucru, ca parte a dezvoltării aplicației din aval. Prin urmare, este responsabilitatea utilizatorului să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili parametri de performanță corespunzători.

Performanța de bază și compatibilitatea cu diferite aplicații din aval

A fost evaluată performanța de bază a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, utilizând ARN HIV-1 ca virus exemplificativ. Testările au fost efectuate cu diluții ale panelurilor de virusuri cuantificate, realizate în plasma umană negativă la HIV-1. Au fost testate serii de diluții cu 7 titre virale diferite, cu câte 6 duplicate maxim fiecare, purificate prin procedura QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit și analizate pentru HIV-1 cu un test RT-PCR intern (Figura 1). Acizii nucleici virali au fost purificați de la probe de 1000 μl, cu un volum de eluție de 60 μl.

În plus, în timpul dezvoltării kitului au fost utilizați acizii nucleici bacterieni și virali, precum și diferite aplicații qPCR din aval pentru a se demonstra că acizii nucleici izolați sunt compatibili cu diferite aplicații din aval (Tabelul 2–Tabelul 7, Figura 2 și Figura 3).

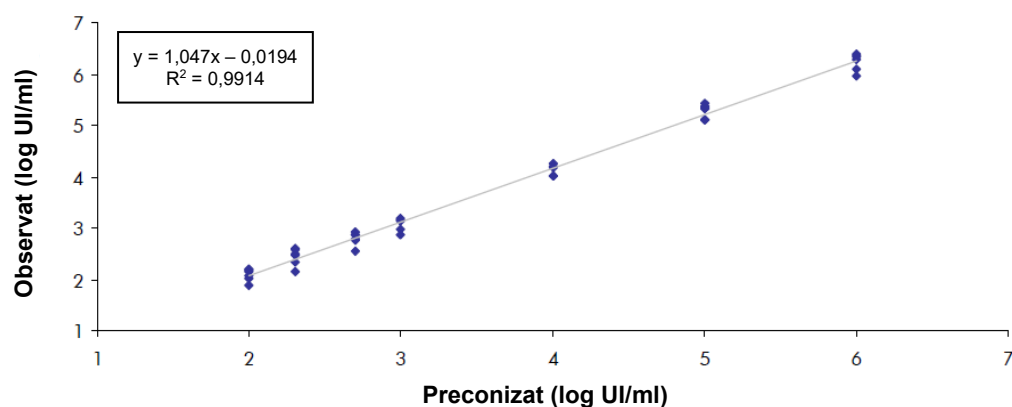


Figura 1. Cantitățile observate utilizând protocolul Virus Cellfree 1000, cu serii de diluții virale și un test RT-PCR intern pentru virusul ARN HIV-1.

Precizie

Abaterea standard și coeficienții de variație (CV) au fost determinate pentru serii de diluții HIV-1 în intervalul liniar al testelor din aval corespunzătoare. Pentru analiza preciziei au fost utilizate aceleași teste din aval ca și cele pentru determinarea performanței de bază (Figura 1). Datele referitoare la precizia inter-teste sunt prezentate în Tabelul 1. Pentru fiecare membru al panelului au fost extrase 5 sau 6 duplicate pe QIASymphony SP.

Tabelul 1. Precizia inter-teste a protocolului Virus Cellfree 1000 utilizând un test RT-PCR intern pentru virusul HIV-1 ARN

Membru al panelului	n	UI/ml	CV (%)	log UI/ml	SD (log UI/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

Repetabilitatea protoalelor Complex 200, 400 și 800

Chlamydia trachomatis ADN a fost purificat pe QIASymphony SP din urină de 200, 400 și 800 µl, apoi a fost eluat în 110 µl. Pentru fiecare protocol (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP și Complex800_V5_DSP), un operator a efectuat 3 testări individuale pe același instrument, în 3 zile diferite, fiecare testare fiind formată din 4 loturi de câte 22 de probe.

Tabelul 2. Repetabilitatea protocolului Complex 200 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

Testare	Lot	n	C _T mediu	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

Număr total de probe = 264

Medie generală = 28,70

Tabelul 3. Precizia protocolului Complex 200 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

	Lot-lot în aceeași testare (S _{PWR})	Testare-testare (S _{BR})	Total (S _T)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabelul 4. Repetabilitatea protocolului Complex 400 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

Testare	Lot	n	C _T mediu	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

Număr total de probe = 264
 Medie generală = 27,99

Tabelul 5. Precizia protocolului Complex 400 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

	Lot-lot în aceeași testare (S _{PWR})	Testare-testare (S _{BR})	Total (S _t)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabelul 6. Repetabilitatea protocolului Complex 800 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

Testare	Lot	n	C _T mediu	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

Număr total de probe = 264
 Medie generală = 26,20

Tabelul 7. Precizia protocolului Complex 800 utilizând un test intern pentru *C. trachomatis*

	Lot-lot în aceeași testare (S _{PWR})	Testare-testare (S _{BR})	Total (S _t)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

Stabilitatea eluatului

Rețineți: Stabilitatea eluatului depinde foarte mult de factori variați și este legată de aplicația din aval specifică. Aceasta s-a stabilit pentru QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit împreună cu aplicații din aval tipice. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației din aval specifice utilizate în laboratorul propriu și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare corespunzătoare.

S-a evaluat stabilitatea eluatului pentru QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, utilizând acidul nucleic extras din urină, îmbogățit cu material standard HIV și material standard CMV. Stabilitatea acidului nucleic a fost determinată cu teste real-time PCR interne pentru HIV și CMV. Stabilitatea eluatului la 2-8 °C nu a fost afectată de durata de depozitare de până la 1 lună. Totuși, pentru perioade de depozitare mai mari de 24 de ore, se recomandă păstrarea acizilor nucleici purificați la -20 °C.

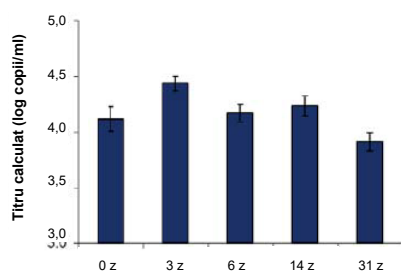


Figura 2. Stabilitatea HIV ARN în eluate. Materialul HIV standard îmbogățit în urină a fost purificat pe QIASymphony SP, utilizând protocolul Complex 200. Eluatele au fost incubate timp de 31 de zile la 2-8 °C. A fost utilizat un test real-time PCR intern pentru HIV, pentru detecția la intervale regulate de timp. Eluatele au fost analizate în duplicate de câte 8.

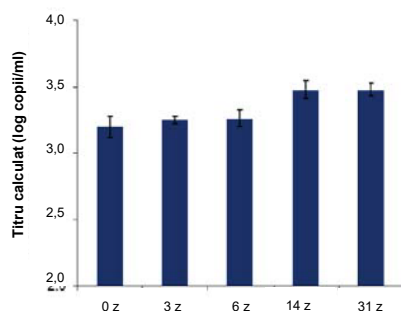


Figura 3. Stabilitatea CMV în eluate. Materialul CMV standard îmbogățit în urină a fost purificat pe QIASymphony SP, utilizând protocolul Complex 200. Eluatele au fost incubate timp de 31 de zile la 2-8 °C. A fost utilizat un test real-time PCR intern pentru CMV, pentru detecția la intervale regulate de timp. Eluatele au fost analizate în duplicate de câte 8.

Substanțe de interferență

Diferiți interferenți endogeni și exogeni potențiali au fost îmbogățiți în plasmă EDTA, LCR, urină și mediu de transport (eNAT) cu material viral pentru a testa impactul acestora asupra testelor din aval tipice, după prepararea probelor cu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Potențialii interferenți comuni relevanți și materialele de probă testate respective sunt enumerate mai jos, în Tabelul 8. Nu s-a observat niciun impact negativ semnificativ pentru interferenții enumerați și mai mult de 80 de interferenți potențiali suplimentari.

Tabelul 8. Substanțe de interferență potențiale testate cu diferite materiale de probă

Substanțe de interferență	Plasmă	LCR – lichid cefalorahidian	Urină	eNAT
Albumină (serică umană)	√		√	
Bilirubină	√		√	
Eritrocite		√	√	
Gamma-globulină	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobină	√			
ARN total hepatic uman	√			
Trigliceride (intralipide)	√			
EDTA	√			
Heparină	√			
Soluție de amoniac	√			
Glucoză			√	
Membrane mucoase			√	√
Sânge			√	√
Leucocite			√	√
pH 4, pH 9			√	

Rețineți: „√” indică materialele de probă testate pentru substanța de interferență potențială respectivă.

Orice substanțe de interferență potențiale (de exemplu, medicamente) și concentrația corespunzătoare sunt extrem de specifice aplicației din aval și posibilelor tratamente medicale anterioare ale unui pacient și trebuie să fie investigate în timpul verificării unei astfel de aplicații din aval cu ajutorul kiturilor QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Rețineți: Testarea a fost efectuată utilizând aplicații din aval tipice pentru o evaluare a calității acizilor nucleici extrași. Cu toate acestea, diferite aplicații din aval pot avea cerințe diferite în ceea ce privește puritatea (adică absența sau concentrația de substanțe de interferență potențiale), astfel încât identificarea și testarea substanțelor relevante și a concentrațiilor respective trebuie, de asemenea, să fie stabilite ca parte a dezvoltării aplicației din aval pentru orice flux de lucru care implică kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Rețineți: În conformitate cu ISO 20186-2:2019(E), heparina din tuburile de recoltare a sângelui poate avea un impact asupra purității acizilor nucleici izolați, iar posibilul transfer în eluate ar putea cauza inhibiții în unele aplicații din aval. Prin urmare, recomandăm utilizarea probelor de sânge tratate cu EDTA sau citrat ca anticoagulant pentru prepararea plasmei.

Contaminare încrucișată





Riscul de contaminare încrucișată a kiturilor QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit a fost analizat prin efectuarea a trei testări de câte 96 de probe pe instrumentul QIASymphony SP cu loturi într-un tipar tablă de șah alternative (probe pozitive alternând cu probe negative). Plasma EDTA umană și urina îmbogățită cu material HIV ($2.93E+07$ și, respectiv, $>1.00E+07$ UI/ml) au fost utilizate ca sistem model. Prepararea probelor a fost efectuată utilizând toate protocoalele disponibile (pentru aplicațiile Virus Cellfree și Pathogen Complex). O potențială contaminare a probelor negative de plasmă și urină în timpul execuțiilor de extracție a fost evaluată prin analiza ulterioară a eluatelor cu ajutorul unui test RT-PCR intern pentru virusul HIV. Nu a fost detectată nicio contaminare încrucișată în cazul transferului de la o probă la alta, de la un lot la altul sau de la o testare la alta.

Intervalul de introducere a probelor/ieșire a eluatelor

Se pot selecta diferite volume de intrare și de eluție ale probelor pentru prepararea probelor cu ajutorul kiturilor QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Pentru detalii suplimentare, consultați fișele de protocol care pot fi găsite sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com. S-au efectuat studii de corelare tipice pentru plasma EDTA îmbogățită cu material viral VHB și HIV utilizând protocoalele Cellfree 200 și Cellfree 1000 pentru a analiza influența celor trei volume de eluție diferite. Rezultatele nu arată diferențe semnificative în ceea ce privește cuantificarea unui virus ARN sau ADN utilizând protocolul Cellfree 200 sau Cellfree 1000 în combinație cu unul dintre cele trei volume de eluție diferite (60, 85 și 110 μ l).

Simboluri

În acest document apar următoarele simboluri. Pentru o listă completă a simbolurilor utilizate în instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și etichetă, consultați manualul.

Simbol	Definiția simbolului
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 pentru dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr catalog
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii
	Producător

Istoricul revizuirilor

Ediție	Descriere
R1, iunie 2022	Versiunea 2, ediția 1 <ul style="list-style-type: none">• Actualizare la versiunea 2 pentru conformitate cu IVDR• Transferul secțiunii Interval liniar în secțiunea Performanța de bază și compatibilitatea cu diferite aplicații din aval• Extinderea secțiunii Stabilitatea eluatului• Adăugarea secțiunii Substanțe de interferență• Adăugarea secțiunii Contaminare încrucișată• Adăugarea secțiunii Intervalul de introducere a probelor/ieșire a eluatelor• Adăugarea secțiunii Simboluri

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

