



Junij 2022

Navodila za uporabo (značilnosti delovanja) QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Kit

Različica 2



Samo za diagnostično uporabo in vitro

Za uporabo kompletov Mini in Midi Kits QIAsymphony DSP Virus/Pathogen



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemčija

R1

Značilnosti delovanja so na voljo v elektronski obliki in jih lahko najdete pod zavihkom Resource (Vir) na strani izdelka na www.qiagen.com.

Splošni uvod

Kompleti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit so predvideni za uporabo samo v kombinaciji z QIASymphony SP.

Kompleti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit zagotavljajo reagente za popolnoma avtomatizirano in sočasno prečiščevanje virusnih in bakterijskih nukleinskih kislin. Kompleti se lahko uporabljajo za čiščenje nukleinskih kislin iz širokega spektra virusov DNA in RNA ter bakterijske DNA iz gram-negativnih in gram-pozitivnih bakterij. Vendar značilnosti delovanja za vsako vrsto virusa ali bakterije niso bile določene in jih mora potrditi uporabnik.

Tehnologija magnetnih delcev omogoča čiščenje visokokakovostnih nukleinskih kislin brez beljakovin, nukleaz in drugih nečistoč. Prečiščene nukleinske kisline so pripravljene za neposredno uporabo v nadaljnjih aplikacijah, kot so reakcije pomnoževanja (PCR). QIASymphony SP izvaja vse korake postopka čiščenja. V enem postopku se obdela do 96 vzorcev v serijah do 24.

V nadaljevanju so prikazani izbrani podatki o učinkovitosti za različne aplikacije.

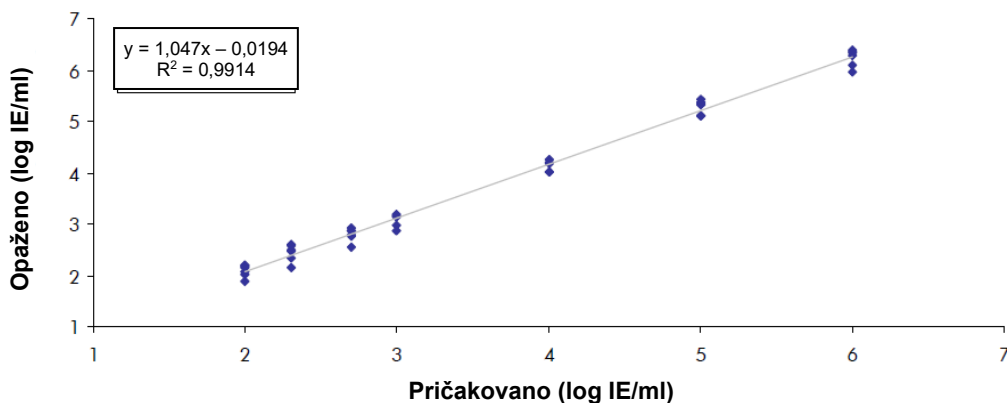
Značilnosti delovanja

Opomba: Značilnosti delovanja so močno odvisne od različnih dejavnikov in se nanašajo na specifično nadaljnjo uporabo. Ustvarjene so bile za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit v povezavi z zglednimi aplikacijami na nižji stopnji. Vendar pa se metode za izolacijo nukleinskih kislin iz biološkega vzorca uporabljajo kot začetek za več nadaljnjih aplikacij. Parametre delovanja, kot je navzkrižna kontaminacija ali natančnost delovanja, je treba določiti za vsak tak potek dela kot del nadaljnega razvoja aplikacij. Zato je odgovornost uporabnika, da potrdi celoten potek dela in vzpostavi ustrezne parametre delovanja.

Osnovno delovanje in združljivost z različnimi nadaljnjimi aplikacijami

Osnovno delovanje kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je bilo ovrednoteno z uporabo HIV-1 RNA kot primer virusa. Testi so bili izvedeni z razredčinami kvantificiranih virusnih plošč, izdelanih v HIV-1 negativni človeški plazmi. Serije razredčine s 7 različnimi titri virusa so bile testirane z do 6 ponovitvami vsaka, prečiščene s postopkom kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit in analizirane na HIV-1 z internim testom RT-PCR (Slika 1). Virusne nukleinske kisline so bile prečiščene iz 1000 µl vzorcev s 60 µl elucijskega volumna.

Poleg tega so bile med razvojem kompleta uporabljene bakterijske in virusne nukleinske kisline ter različne aplikacije qPCR na nižji stopnji, da se dokaže, da so izolirane nukleinske kisline združljive z različnimi nadaljnjimi aplikacijami (preglednica 2–preglednica 7, slika 2 in slika 3).



Slika 1. Opaženi izkoristki z uporabo protokola Virus Cellfree 1000, s serijami razredčine virusov in internim testom RT-PCR za virus HIV-1 RNA.

Natančnost

Standardni odkloni in koeficienti variacije (coefficients of variations, CV) so bili določeni za serije razredčin HIV-1 v linearnem območju ustreznih nadaljnjih testov. Za analizo natančnosti so bili uporabljeni isti nadaljnji testi kot za določanje osnovnega delovanja (slika 1). Podatki o natančnosti med testi so prikazani v preglednici 1. Za vsakega člana sveta je bilo na QIASymphony SP ekstrahiranih 5 ali 6 ponovitev.

Preglednica 1. Natančnost med testi protokola Virus Cellfree 1000 z uporabo internega testa RT-PCR za virus HIV-1 RNA

Član sveta	n	IE/ml	CV (%)	log IE/ml	SD (log IE/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

Ponovljivost protokolov Complex 200, 400 in 800

DNA *Chlamydia trachomatis* je bila prečiščena na QIASymphony SP iz 200, 400 in 800 µl urina in je bila eluiran v 110 µl. Za vsak protokol (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP in Complex800_V5_DSP) je en operater izvedel 3 posamezne postopke na istem instrumentu v 3 različnih dneh, pri čemer je vsak postopek obsegal 4 serije po 22 vzorcev.

Preglednica 2. Ponovljivost protokola Complex 200 z internim testom *C. trachomatis*

Postopek	Serija	n	Povprečni 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

Skupno število vzorcev = 264

Skupno povprečje = 28,70

Preglednica 3. Natančnost protokola Complex 200 z internim testom *C. trachomatis*

	Od serije do serije znotraj istega postopka (S _{PWR})	Od postopka do postopka (S _{BR})	Skupno (S _r)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Preglednica 4. Ponovljivost protokola Complex 400 z internim testom *C. trachomatis*

Postopek	Serijska	n	Povprečni 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
Skupno število vzorcev = 264					
Skupno povprečje = 27,99					

Preglednica 5. Natančnost protokola Complex 400 z internim testom *C. trachomatis*

	Od serije do serije znotraj istega postopka (S_{PWR})	Od postopka do postopka (S_{BR})	Skupno (S_r)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Preglednica 6. Ponovljivost protokola Complex 800 z internim testom *C. trachomatis*

Postopek	Serijska	n	Povprečni 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
Skupno število vzorcev = 264					
Skupno povprečje = 26,20					

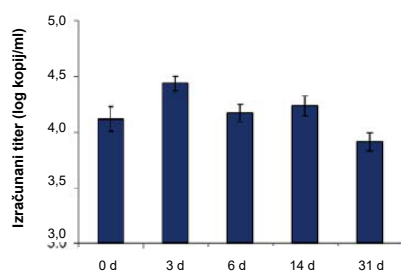
Preglednica 7. Natančnost protokola Complex 800 z internim testom *C. trachomatis*

	Od serije do serije znotraj istega postopka (S_{PWR})	Od postopka do postopka (S_{BR})	Skupno (S_r)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

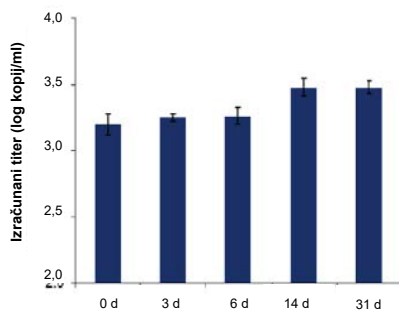
Stabilnost eluata

Opomba: Stabilnost eluata je močno odvisna od različnih dejavnikov in se nanaša na specifično nadaljnjo uporabo. Ustvarjen je bil za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit v povezavi z zglednimi aplikacijami na nižji stopnji. Uporabnik je dolžan prebrati navodila za uporabo določene nadaljnje aplikacije, ki se uporablja v njegovem laboratoriju, in/ali potrditi celoten potek dela, da vzpostavi ustrezne pogoje shranjevanja.

Stabilnost eluata za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je bila ovrednotena z uporabo ekstrahirane nukleinske kisline iz urina, primešanega standardnega materiala HIV in standardnega materiala CMV. Stabilnost nukleinske kisline je bila določena z internimi testi real-time PCR za HIV in CMV. Trajanje shranjevanja do 1 meseca ni vplivalo na stabilnost eluata pri 2–8 °C. Vendar pa za čas shranjevanja nad 24 ur priporočamo shranjevanje prečiščenih nukleinskih kislin pri -20 °C.



Slika 2. Stabilnost RNA HIV v eluatih. Standardni material za HIV, primešan v urinu, je bil prečiščen na QIASymphony SP z uporabo protokola Complex 200. Eluate so bili inkubirani 31 dni pri 2–8 °C. Za odkrivanje ob rednih časovnih točkah je bil uporabljen interni test real-time PCR za HIV. Eluati so bili analizirani v ponovitvah po 8.



Slika 3. Stabilnost CMV v eluatih. Standardni material za CMV, primešan v urinu, je bil prečiščen na QIASymphony SP z uporabo protokola Complex 200. Eluate so bili inkubirani 31 dni pri 2–8 °C. Za odkrivanje ob rednih časovnih točkah je bil uporabljen interni test real-time PCR za CMV. Eluati so bili analizirani v ponovitvah po 8.

Moteče snovi

Različni potencialni endogeni in eksogeni moteči dejavniki so bili dodani v plazmo EDTA, cerebrospinalno tekočino (Cerebrospinal Fluid, CSF), urin in medij za transport (eNAT) z virusnim materialom, da bi preizkusili njihov vpliv na zglede nadaljnje teste po pripravi vzorca s kompletom QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Pogosti ustrezni potencialni moteči dejavniki in ustrezni testirani vzorčni materiali so navedeni spodaj v preglednici 8. Za navedene moteče snovi in več kot 80 dodatnih potencialnih motečih učinkov ni bilo opaziti pomembnega negativnega vpliva.

Preglednica 8. Morebitne moteče snovi, testirane z različnimi vzorčnimi materiali

Moteče snovi	Plazma	Cerebrospinalna tekočina (cerebrospinal fluid, CSF)	Urin	eNAT
(Človeški serum) albumin	√		√	
Bilirubin	√		√	
Eritrociti		√	√	
Gama globulin	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Skupna RNA človeških jeter	√			
Triglicerid (intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Raztopina amonijaka	√			
Glukoza			√	
Sluz			√	√
Kri			√	√
Levkociti			√	√
pH 4, pH 9			√	

Opomba: »√« označuje, kateri vzorčni materiali so bili testirani za zadevno potencialno motečo snov.

Vse morebitne moteče snovi (npr. zdravila) in ustrezna koncentracija so zelo specifične za nadaljnjo uporabo in morebitna predhodna zdravstvena zdravljenja bolnika in jih je treba raziskati med preverjanjem takšne nadaljnje aplikacije z uporabo kompletov QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Opomba: Testiranje je bilo izvedeno z uporabo vzorčnih nadaljnjih aplikacij za oceno kakovosti ekstrahiranih nukleinskih kislin. Vendar pa imajo lahko različne aplikacije na nižji stopnji različne zahteve glede čistosti (tj. odsotnost ali koncentracija potencialno motečih snovi), zato je treba identifikacijo in testiranje ustreznih snovi in zadevnih koncentracij vzpostaviti tudi kot del razvoja aplikacije na nižji stopnji za kateri koli potek dela, ki vključuje komplete QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Opomba: V skladu s standardom ISO 20186-2:2019(E) lahko heparin iz epruвет za odvzem krvi vpliva na čistost izoliranih nukleinskih kislin in morebiten prenos v eluate lahko povzroči zaviranje v nekaterih nadaljnjih aplikacijah. Zato priporočamo uporabo vzorcev krvi, obdelanih z EDTA ali citratom kot antikoagulantom za pripravo plazme.

Navzkrižno onesnaženje





Tveganje navzkrižne kontaminacije kompletov QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit je bilo analizirano z izvedbo treh 96 vzorcev na instrumentu QIAasymphony SP z izmeničnimi serijami (izmenično pozitivni in negativni vzorci). Kot modelni sistem sta bila uporabljena človeška plazma in urin EDTA, obogatena z materialom HIV ($2,93E+07$ oziroma $>1,00E+07$ IE/ml). Priprava vzorcev je bila izvedena z uporabo vseh razpoložljivih protokolov (za aplikacije Virus Cellfree in Pathogen Complex). Možna kontaminacija negativnih vzorcev plazme in urina med ekstrakcijo je bila ovrednotena z naknadno analizo eluatov z internim testom RT-PCR za virus HIV. Pri prenosu od vzorca do vzorca, od serije do serije ali od postopka do postopka ni bila zaznana navzkrižna kontaminacija.

Razpon vnosa/izhoda eluata

Za pripravo vzorca z uporabo kompletov QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit lahko izberete različne volumne vnosa in elucije. Za nadaljnje podrobnosti si oglejte liste protokolov, ki jih najdete pod zavihkom Resource (Vir) na strani izdelka na www.qiagen.com. Zgledne korelacijske študije so bile izvedene za plazmo EDTA, obogateno z virusom HBV in HIV, z uporabo protokolov Cellfree 200 in Cellfree 1000 za analizo vpliva treh različnih volumnov elucije. Rezultati ne kažejo pomembnih razlik v kvantifikaciji virusa RNA ali DNA z uporabo protokola Cellfree 200 ali Cellfree 1000 v kombinaciji z enim od treh različnih volumnov elucije (60, 85 in 110 µl).

Simboli

V tem dokumentu se pojavljajo naslednji simboli. Za celoten seznam simbolov, uporabljenih v navodilih za uporabo ali na embalaži in oznakah, glejte priročnik.

Simbol	Opredelitev simbola
	Ta izdelek izpolnjuje zahteve evropske uredbe 2017/746 za in vitro diagnostične medicinske pripomočke.
	Diagnostični medicinski pripomoček in vitro
	Kataloška številka
Rn	R pomeni revizijo navodil za uporabo, n pa številko revizije
	Proizvajalec

Zgodovina revizij

Revizija

Opis

R1, junij 2022

Različica 2, revizija 1

- Posodobitev na različico 2 za skladnost z IVDR
- Prenos razdelka Linearni razpon v razdelek z Osnovno delovanje in združljivost z različnimi nadaljnji aplikacijami
- Razširitev razdelka Stabilnost eluata
- Dodatek razdelka Moteče snovi
- Dodatek razdelka Navzkrižna kontaminacija
- Dodatek razdelka Razpon vnosa/izhoda eluata
- Dodatek razdelka Simboli

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani www.qiagen.com, lahko pa jih tudi naročite pri oddelku za tehnične storitve družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

Blagovne znamke: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN). V tem dokumentu uporabljena registrirana imena, blagovne znamke itd. se ne smejo šteti kot nezaščitene z zakonom, čeprav niso izrecno označene kot takšne.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, vse pravice pridržane.

