



Lipanj 2022.

Upute za uporabu za QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit (Radne značajke)

Inačica 2



Za in vitro dijagnostičku uporabu

Za uporabu uz komplete QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini i Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Njemačka

R1

Radne značajke dostupne su u elektroničkom obliku i možete ih pronaći na kartici s resursima stranice proizvoda na web-adresi www.qiagen.com.

Opći uvod

Kompleti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit namijenjeni su za uporabu isključivo u kombinaciji s QIASymphony SP.

Kompleti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sadržavaju reagense za potpuno automatizirano i istovremeno pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa i bakterija. Kompleti se mogu upotrebljavati za pročišćavanje nukleinskih kiselina širokog spektra DNK i RNK virusa kao i bakterijske DNK iz gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija. Međutim, nisu utvrđene radne značajke za svaku vrstu virusa ili bakterije i korisnik ih mora potvrditi.

Tehnologija magnetskih čestica omogućava pročišćavanje visokokvalitetnih nukleinskih kiselina bez proteina, nukleaza i drugih nečistoća. Pročišćene nukleinske kiseline spremne su za izravnu uporabu u postupcima daljnje obrade, kao što su reakcije amplifikacije (PCR). QIASymphony SP izvodi sve korake postupka pročišćavanja. U jednom postupku obrađuje se do 96 uzoraka, u serijama do maksimalno 24 uzorka.

U nastavku su prikazani odabrani podaci o radnim značajkama za različite primjene.

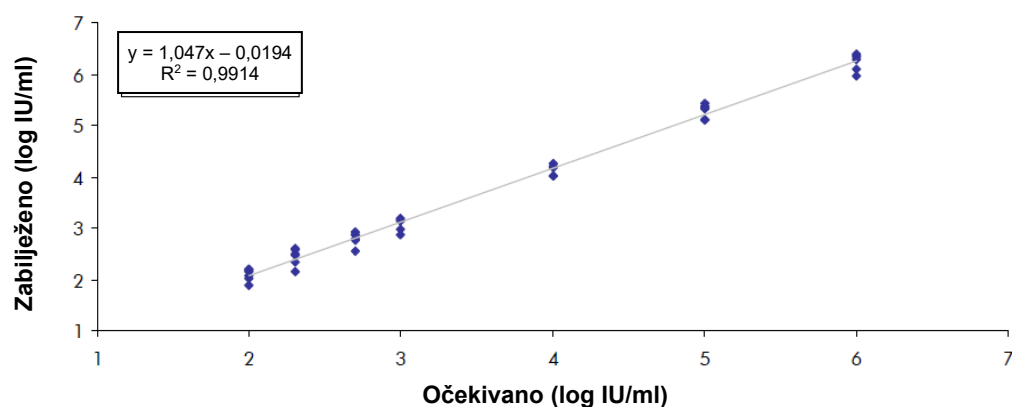
Radne značajke

Napomena: radne značajke u velikoj mjeri ovise o raznim čimbenicima i povezane su s određenim postupkom daljnje obrade. Određene su za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit u kombinaciji s postupcima daljnje obrade koji služe kao primjer. Međutim, metode za izoliranje nukleinskih kiselina iz biološkog ispitka upotrebljavaju se kao početni korak u mnogim postupcima daljnje obrade. Parametri radnih značajki, kao što su križna kontaminacija ili preciznost postupka, moraju se odrediti za svaki takav tijek rada u sklopu razvoja postupaka daljnje obrade. Stoga je korisnik dužan provjeriti valjanost cijelog tijeka rada kako bi se odredili odgovarajući parametri radnih značajki.

Osnovne radne značajke i kompatibilnost s različitim postupcima daljnje obrade

Osnovne radne značajke kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit procijenjene su na primjeru virusa HIV-1 RNK. Testovi su izvedeni s pomoću razrjeđivanja kvantificiranih virusnih panela u humanoj plazmi negativnoj na HIV-1. Testirane su serije razrjeđivanja sa 7 različitih titara virusa, svaka u do 6 replikata, pročišćene su postupkom s kompletom QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i analizirane na HIV-1 s pomoću internog ispitivanja RT-PCR (Slika 1). Nukleinske kiseline virusa pročišćene su iz uzoraka volumena 1000 µl s volumenom elucije od 60 µl.

Nadalje, tijekom razvoja kompleta korištene su nukleinske kiseline bakterija i virusa i različiti qPCR postupci daljnje obrade kako bi se pokazalo da su izolirane nukleinske kiseline kompatibilne s različitim postupcima daljnje obrade (tablica 2 – tablica 7, slika 2 i slika 3).



Slika 1. Zabilježeni prinosi s pomoću protokola Virus Cellfree 1000, uz serije razrjeđivanja virusa i interno RT-PCR ispitivanje za virus HIV-1 RNK.

Preciznost

Standardne devijacije i koeficijenti varijacije (Coefficient of Variation, CV) određeni su za serije razrjeđivanja HIV-1 u linearnom rasponu odgovarajućih daljnjih ispitivanja. Za analizu preciznosti korištena su ista daljnja ispitivanja kao i za određivanje osnovnih radnih značajki (slika 1). Podaci o preciznosti unutar ispitivanja prikazani su u tablici 1. Za svaku sastavnicu panela na instrumentu QIASymphony SP ekstrahirano je 5 ili 6 replikata.

Tablica 1. Preciznost unutar ispitivanja protokola Virus Cellfree 1000 s pomoću internog ispitivanja RT-PCR za virus HIV-1 RNK

Sastavnica panela	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

Ponovljivost protokola Complex 200, 400 i 800

DNK bakterije *Chlamydia trachomatis* pročišćena je na instrumentu QIA Symphony SP iz 200, 400 i 800 µl urina te je eluirana u 110 µl. Za svaki protokol (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP i Complex800_V5_DSP), jedan rukovatelj izveo je 3 pojedinačna postupka na istom instrumentu, na 3 različita dana, pri čemu se svaki postupak sastojao od 4 serije po 22 uzorka.

Tablica 2. Ponovljivost protokola Complex 200 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

Postupak	Seriya	n	Srednja vrijednost 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

Ukupan broj uzoraka = 264

Ukupna srednja vrijednost = 28,70

Tablica 3. Preciznost protokola Complex 200 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

	Između različitih serija u istom postupku (S_{PWR})	Između različitih postupaka (S_{BR})	Ukupno (S_t)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tablica 4. Ponovljivost protokola Complex 400 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

Postupak	Serija	n	Srednja vrijednost 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

Ukupan broj uzoraka = 264

Ukupna srednja vrijednost = 27,99

Tablica 5. Preciznost protokola Complex 400 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

	Između različitih serija u istom postupku (S_{PWR})	Između različitih postupaka (S_{BR})	Ukupno (S_t)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tablica 6. Ponovljivost protokola Complex 800 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

Postupak	Serija	n	Srednja vrijednost 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

Ukupan broj uzoraka = 264

Ukupna srednja vrijednost = 26,20

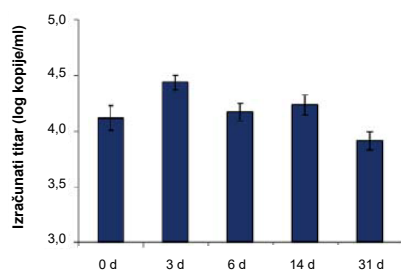
Tablica 7. Preciznost protokola Complex 800 s pomoću internog ispitivanja na *C. trachomatis*

	Između različitih serija u istom postupku (S_{PWR})	Između različitih postupaka (S_{BR})	Ukupno (S_T)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

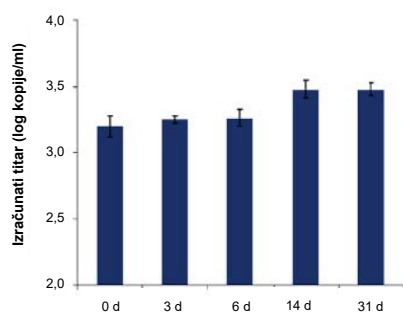
Stabilnost eluata

Napomena: stabilnost eluata u velikoj mjeri ovisi o raznim čimbenicima i povezana je s određenim postupkom daljnje obrade. Određena je za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit u kombinaciji s postupcima daljnje obrade koji služe kao primjer. Korisnik je dužan proučiti upute za uporabu određenog postupka daljnje obrade koji se primjenjuje u njegovom laboratoriju i/ili provjeriti valjanost cijelog tijeka rada radi određivanja odgovarajućih uvjeta pohrane.

Stabilnost eluata za komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit procijenjena je s pomoću nukleinske kiseline ekstrahirane iz urina u koji je dodan HIV standardni materijal i CMV standardni materijal. Stabilnost nukleinske kiseline određena je s pomoću internih real-time PCR ispitivanja za HIV i CMV. Trajanje pohrane do 1 mjesec nije utjecalo na stabilnost eluata pri temperaturi od 2 °C – 8 °C. Međutim, za pohranu dulju od 24 sata preporučujemo čuvanje pročišćenih nukleinskih kiselina na temperaturi od –20 °C.



Slika 2. Stabilnost HIV RNK u eluatima. HIV standardni materijal dodan u urin pročišćen je na instrumentu QIASymphony SP s pomoću protokola Complex 200. Eluati su inkubirani 31 dan na temperaturi od 2 °C – 8 °C. Za detekciju u redovitim vremenskim intervalima upotrijebljeno je interno real-time PCR ispitivanje za HIV. Eluati su analizirani u replikatima od 8.



Slika 3. Stabilnost CMV u eluatima. CMV standardni materijal dodan u urin pročišćen je na instrumentu QIASymphony SP s pomoću protokola Complex 200. Eluati su inkubirani 31 dan na temperaturi od 2 °C – 8 °C. Za detekciju u redovitim vremenskim intervalima upotrijebljeno je interno real-time PCR ispitivanje za CMV. Eluati su analizirani u replikatima od 8.

Interferirajuće tvari

Različite potencijalne endogene i egzogene interferirajuće tvari dodane su u EDTA plazmu, CSF, urin i transportni medij (eNAT) s virusnim materijalom kako bi se testirao njihov utjecaj na daljnja ispitivanja koja služe kao primjer nakon pripreme uzoraka s pomoću kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Uobičajene relevantne potencijalne interferirajuće tvari i odgovarajući testirani materijali uzoraka navedeni su u nastavku u tablici 8. Za navedene interferirajuće tvari i preko 80 dodatnih potencijalnih interferirajućih tvari nije uočen nikakav značajan negativan utjecaj.

Tablica 8. Potencijalne interferirajuće tvari testirane s pomoću različitih materijala uzoraka

Interferirajuće tvari	Plazma	CSF	Urin	eNAT
Albumin (humani serum)	√		√	
Bilirubin	√		√	
Eritrociti		√	√	
Gama globulin	√			
Genomska DNK	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Ukupna RNK u humanoj jetri	√			
Triglicerid (intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Otopina amonijaka	√			
Glukoza			√	
Sluz			√	√
Krv			√	√
Leukociti			√	√
pH 4, pH 9			√	

Napomena: „√“ označava na kojim je materijalima uzoraka testirana navedena potencijalna interferirajuća tvar.

Svaka potencijalno interferirajuća tvar (npr. lijekovi) i odgovarajuća koncentracija vrlo su specifični za postupak daljnje obrade i eventualna prethodna medicinska liječenja pacijenta i treba je istražiti tijekom provjere valjanosti tog postupka daljnje obrade s pomoću kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Napomena: testiranje je izvedeno s pomoću postupaka daljnje obrade koji služe kao primjer za procjenu kvalitete ekstrahiranih nukleinskih kiselina. Međutim, različiti postupci daljnje obrade mogu se razlikovati u pogledu zahtjeva za čistoćom (tj. odsutnosti ili koncentracije potencijalnih interferirajućih tvari), pa u sklopu razvoja postupaka daljnje obrade za sve tijekom rada u kojima se upotrebljavaju kompleti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit treba identificirati i testirati relevantne tvari i odgovarajuće koncentracije.

Napomena: u skladu s normom ISO 20186-2:2019(E), heparin iz epruveta za prikupljanje krvi može utjecati na čistoću izoliranih nukleinskih kiselina, a mogući prijenos u eluate može prouzročiti inhibicije u nekim postupcima daljnje obrade. Stoga preporučujemo uporabu uzoraka krvi tretiranih kiselinom EDTA ili citratom kao antikoagulansom za pripremu plazme.

Križna kontaminacija





Rizik od križne kontaminacije kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit analiziran je izvođenjem triju postupaka s 96 uzoraka na instrumentu QIASymphony SP uz naizmjenične serije po uzoru na šahovnicu (naizmjenična uporaba pozitivnih i negativnih uzoraka). Kao modelni sustav upotrijebljeni su humana EDTA plazma i urin u koje je dodan HIV materijal ($2,93E+07$ odnosno $> 1,00E+07$ IU/ml). Priprema uzoraka izvedena je s pomoću svih dostupnih protokola (za primjene Virus Cellfree i Pathogen Complex). Potencijalna kontaminacija negativnih uzoraka plazme i urina tijekom postupaka ekstrakcije procijenjena je analizom eluata koja je uslijedila s pomoću internog ispitivanja RT-PCR za virus HIV. Nije detektirana križna kontaminacija prenesena između različitih uzoraka, serija ili postupaka.

Raspon volumena unosa uzorka / izlaznog volumena eluata

Za pripremu uzoraka s pomoću kompleta QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit moguće je odabrati različite volumene unosa uzorka i elucije. Dodatne pojedinosti potražite na listovima protokola koji se nalaze na kartici s resursima stranice proizvođača na web-adresi www.qiagen.com. Korelacijske studije koje služe kao primjer provedene su za EDTA plazmu u koju je dodan materijal HBV i HIV virusa s pomoću protokola Cellfree 200 i Cellfree 1000 kako bi se analizirao utjecaj triju različitih volumena elucije. Rezultati su pokazali da nema značajnih razlika u kvantifikaciji RNK ili DNK virusa pri uporabi protokola Cellfree 200 ili Cellfree 1000 u kombinaciji s jednim od triju različitih volumena elucije (60, 85 i 110 μ l).

Simboli

U ovom dokumentu pojavljuju se simboli navedeni u nastavku. Cjeloviti popis simbola korištenih u uputama za uporabu ili na pakiranju i oznakama potražite u priručniku.

Simbol	Definicija simbola
	Ovaj proizvod ispunjava zahtjeve europske Uredbe 2017/746 za in vitro dijagnostičke medicinske proizvode.
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Kataloški broj
Rn	R se odnosi na reviziju uputa za uporabu, a n je broj revizije
	Proizvođač

Povijest revizija

Revizija

Opis

R1, lipanj 2022.

Inačica 2, revizija 1

- Ažuriranje na inačicu 2 radi sukladnosti s uredbom IVDR
- Prijenos odjeljka Linearni raspon u odjeljak Osnovne radne značajke i kompatibilnost s različitim postupcima daljnje obrade
- Proširenje odjeljka Stabilnost eluata
- Dodavanje odjeljka Interferirajuće tvari
- Dodavanje odjeljka Križna kontaminacija
- Dodavanje odjeljka Raspon volumena unosa uzorka / izlaznog volumena eluata
- Dodavanje odjeljka Simboli

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave o odricanju odgovornosti specifične za proizvod potražite u odgovarajućem priručniku za QIAGEN komplet ili korisničkom priručniku. Priručnici za komplete tvrtke QIAGEN i korisnički priručnici dostupni su na www.qiagen.com ili ih možete zatražiti od Tehničke službe tvrtke QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Grupa QIAGEN). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenima.
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, sva prava pridržana.

