



Czerwiec 2022 r.

# QIASymphony<sup>®</sup> DSP Virus/Pathogen Kit — Instrukcja użycia (Parametry skuteczności)

Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

Do stosowania z zestawami QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini i Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R1

Parametry skuteczności są dostępne w wersji elektronicznej i można je znaleźć na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), na karcie Resource (Materiały źródłowe).

# Wprowadzenie

Zestawy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit są przeznaczone do stosowania wyłącznie z aparatem QIASymphony SP.

Zestawy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit zawierają odczynniki przeznaczone do wykonania w pełni zautomatyzowanego, jednoczesnego oczyszczania wirusowych i bakteryjnych kwasów nukleinowych. Zestawów tych można używać do oczyszczania kwasów nukleinowych z wielu różnych wirusów DNA i RNA, jak również bakteryjnego DNA z bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Wartości parametrów skuteczności nie zostały jednak określone w kontekście wszystkich gatunków wirusów i bakterii, dlatego użytkownik jest zobowiązany do walidacji działania zestawów używanych do oczyszczania kwasu nukleinowego danego gatunku.

Technologia cząstek magnetycznych umożliwia otrzymanie oczyszczonych kwasów nukleinowych o wysokiej jakości, wolnych od białek, nukleaz i innych zanieczyszczeń. Oczyszczone kwasy nukleinowe są gotowe do bezpośredniego użycia w dalszych procedurach analitycznych, takich jak reakcje amplifikacji (PCR). Aparat QIASymphony SP wykonuje wszystkie etapy procedury oczyszczania. W ramach jednego cyklu można przetworzyć maksymalnie 96 próbek w partiach po maksymalnie 24 próbki.

Poniżej przedstawiono wybrane dane dotyczące skuteczności w kontekście różnych procedur analitycznych.

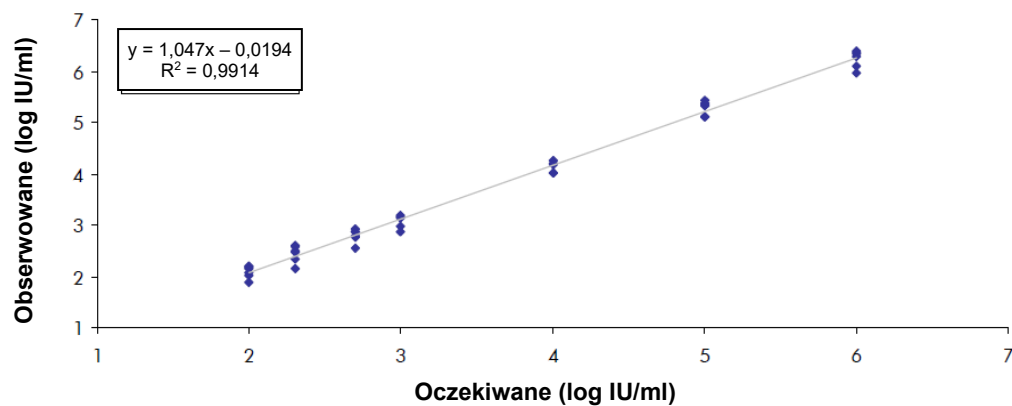
## Parametry skuteczności

**Uwaga:** Parametry skuteczności w dużym stopniu zależą od różnych czynników i odnoszą się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Zostały ustalone dla zestawów QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit używanych w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych. Metody izolacji kwasów nukleinowych z próbek biologicznych stanowią jednak etap początkowy dla wielu dalszych procedur analitycznych. Parametry skuteczności, takie jak np. występowanie zanieczyszczenia krzyżowego lub precyzja testu, muszą zostać określone dla całego przepływu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) jako część procesu opracowywania konkretnej dalszej procedury analitycznej. Z tego względu użytkownik jest odpowiedzialny za walidację całego przepływu pracy w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

### Skuteczność podstawowa i zgodność z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi

Skuteczność podstawową zestawu QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit oceniono przy użyciu RNA wirusa HIV-1 służącego jako wirus przykładowy. Testy wykonywano przy użyciu oznaczonych ilościowo rozcieńczeń paneli wirusa przygotowanych z ludzkiego osocza negatywnego względem wirusa HIV-1. Przetestowano serie rozcieńczeń o 7 różnych mianach wirusa, przetwarzając maksymalnie po 6 powtórzeń każdego rozcieńczenia. Procedura oczyszczania była wykonywana przy użyciu zestawu QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit, a następnie materiał był analizowany pod kątem obecności materiału wirusa HIV-1 przy użyciu wewnętrznego oznaczenia RT-PCR (Ryc. 1). Wirusowe kwasy nukleinowe oczyszczano z próbek o objętości 1000 µl, przy objętości elucji równej 60 µl.

Dodatkowo podczas opracowywania zestawu wykorzystywano bakteryjne i wirusowe kwasy nukleinowe oraz różne dalsze procedury analityczne oparte na reakcji qPCR w celu wykazania zgodności wyizolowanych kwasów nukleinowych z szeregiem różnych dalszych procedur analitycznych (Tabela 2–Tabela 7, Ryc. 2 i Ryc. 3).



Ryc. 1. Obserwowany uzysk przy użyciu protokołu Virus Cellfree 1000, serii rozcieńczeń wirusa i wewnętrznego oznaczenia RT-PCR względem RNA wirusa HIV-1.

### Precyzja

Odchylenia standardowe i współczynniki zmienności (Coefficient of Variation, CV) wyznaczono dla serii rozcieńczeń wirusa HIV-1 w zakresie liniowym odpowiednich dalszych oznaczeń. Do analizy precyzji wykorzystano te same dalsze oznaczenia, których używano do wyznaczenia skuteczności podstawowej (Ryc. 1). Dane dotyczące precyzji między oznaczeniami przedstawiono w Tabeli 1. Dla każdej próbki panelu wykonano 5 lub 6 powtórzeń izolacji na aparacie QIAAsymphony SP.

Tabela 1. Precyzja między oznaczeniami dla protokołu Virus Cellfree 1000 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia RT-PCR do detekcji RNA wirusa HIV-1

Próbka panelu	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

## Powtarzalność protokołów Complex 200, 400 i 800

DNA bakterii *Chlamydia trachomatis* było oczyszczane w aparacie QIASymphony SP z próbek moczu o objętości 200, 400 i 800 µl, a następnie poddawane elucji w objętości 110 µl. W przypadku każdego protokołu (Complex200\_V5\_DSP, Complex400\_V3\_DSP i Complex800\_V5\_DSP) jeden operator wykonywał 3 odrębne testy na tym samym aparacie w 3 różnych dniach, przy czym każdy test zawierał 4 partie po 22 próbki.

Tabela 2. Powtarzalność protokołu Complex 200 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

Test	Partia	n	Średnia wartość C <sub>T</sub>	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

Całkowita liczba próbek = 264

Średnia ogólna = 28,70

Tabela 3. Precyzja protokołu Complex 200 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

	Między partiami z tego samego testu (S <sub>PWR</sub> )	Między testami (S <sub>BR</sub> )	Całkowita (S <sub>r</sub> )
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabela 4. Powtarzalność protokołu Complex 400 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

Test	Partia	n	Średnia wartość C <sub>T</sub>	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

Całkowita liczba próbek = 264

Średnia ogólna = 27,99

Tabela 5. Precyzja protokołu Complex 400 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

	Między partiami z tego samego testu (S <sub>PWR</sub> )	Między testami (S <sub>BR</sub> )	Całkowita (S <sub>r</sub> )
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabela 6. Powtarzalność protokołu Complex 800 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

Test	Partia	n	Średnia wartość C <sub>T</sub>	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

Całkowita liczba próbek = 264

Średnia ogólna = 26,20

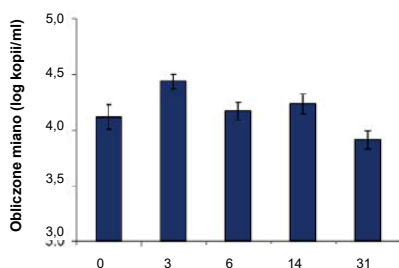
Tabela 7. Precyzja protokołu Complex 800 określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia na obecność bakterii *C. trachomatis*

	Między partiami z tego samego testu (S <sub>PWR</sub> )	Między testami (S <sub>BR</sub> )	Całkowita (S <sub>r</sub> )
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

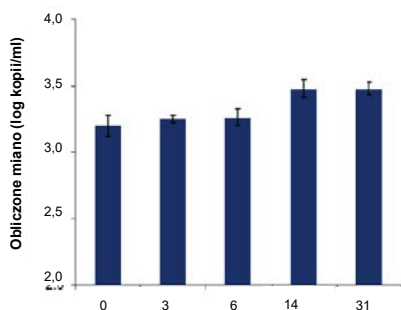
## Stabilność eluatu

**Uwaga:** Stabilność eluatu w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została ustalona dla zestawu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit używanego w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Stabilność eluatu dla zestawu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit została oceniona przy użyciu kwasów nukleinowych wyizolowanych z próbek moczu, do których dodano materiał wzorcowy wirusa HIV oraz materiał wzorcowy wirusa CMV. Stabilność kwasu nukleinowego została określona przy użyciu wewnętrznego oznaczenia real-time PCR ukierunkowanego na materiał wirusów HIV i CMV. Na stabilność eluatu przechowywanego w temperaturze 2–8°C nie miał wpływu czas przechowywania wynoszący do 1 miesiąca. Zalecane jest jednak, aby kwasy nukleinowe były przechowywane w temperaturze –20°C, jeśli czas przechowywania ma być dłuższy niż 24 godziny.



**Ryc. 2. Stabilność RNA wirusa HIV w eluatach.** Materiał wzorcowy wirusa HIV dodany do moczu oczyszczono na aparacie QIAasymphony SP, stosując protokół Complex 200. Eluaty inkubowano przez 31 dni w temperaturze 2–8°C. W regularnych odstępach czasu wykonywano wewnętrzne oznaczenie real-time PCR przeznaczone do detekcji wirusa HIV. Eluaty analizowano w powtórzeniach po 8.



**Ryc. 3. Stabilność kwasu nukleinowego wirusa CMV w eluatach.** Materiał wzorcowy wirusa CMV dodany do moczu oczyszczono na aparacie QIAasymphony SP, stosując protokół Complex 200. Eluaty inkubowano przez 31 dni w temperaturze 2–8°C. W regularnych odstępach czasu wykonywano wewnętrzne oznaczenie real-time PCR przeznaczone do detekcji wirusa CMV. Eluaty analizowano w powtórzeniach po 8.

## Substancje zakłócające

Do próbek osocza (z dodatkiem EDTA), PMR, moczu i podłoża transportowego (eNAT) zawierających materiał wirusowy dodawano różne endogenne i egzogenne potencjalne substancje zakłócające w celu sprawdzenia ich wpływu na detekcję materiału docelowego przez standardowe oznaczenia wykorzystywane w dalszych procedurach analitycznych po przygotowaniu próbek przy użyciu zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Często spotykane, istotne potencjalne substancje zakłócające oraz odpowiadające im materiały próbek wykorzystywane w badaniu zostały przedstawione w Tabeli 8. W przypadku wymienionych substancji oraz ponad 80 dodatkowych substancji zakłócających nie zaobserwowano negatywnego wpływu.

Tabela 8. Potencjalne substancje zakłócające badane przy użyciu różnych materiałów próbek

Substancje zakłócające	Osocze	PMR	Mocz	eNAT
(Surowica ludzka) albumina	√		√	
Bilirubina	√		√	
Erytrocyty		√	√	
Gamma-globulina	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobina	√			
Całkowity RNA wyizolowany z tkanki ludzkiej wątroby	√			
Trójglicerydy (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparyna	√			
Roztwór amoniaku	√			
Glukoza			√	
Śluz			√	√
Krew			√	√
Leukocyty			√	√
pH 4, pH 9			√	

**Uwaga:** Symbol „√” wskazuje, który materiał próbki był badany pod kątem danej substancji zakłócającej.

Wszelkie potencjalne substancje zakłócające (np. leki) oraz ich stężenia są ściśle związane z konkretną dalszą procedurą analityczną oraz możliwym wcześniejszym leczeniem pacjenta, dlatego muszą być sprawdzane podczas weryfikacji wszelkich dalszych procedur analitycznych uwzględniających użycie zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

**Uwaga:** Testy zostały przeprowadzone w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych w celu oceny jakości wyizolowanych kwasów nukleinowych. Różne dalsze procedury analityczne mogą jednak różnić się pod względem wymagań dotyczących czystości materiału (tj. braku lub stężeń potencjalnych substancji zakłócających), dlatego sposób identyfikacji i badania różnych substancji zakłócających oraz ich różnych stężeń również musi zostać ustalony jako część procesu opracowywania konkretnych dalszych procedur analitycznych dla jakiegokolwiek przebiegu pracy uwzględniającego użycie zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

**Uwaga:** Zgodnie z normą ISO 20186-2:2019(E) heparyna pochodząca z próbek do pobierania krwi może wpływać na czystość izolowanych kwasów nukleinowych, a w przypadku jej ewentualnego przeniesienia do eluatów może wykazywać właściwości inhibicyjne w dalszych procedurach analitycznych. Dlatego zalecane jest, aby w celu przygotowania próbek osocza używać próbek krwi, w przypadku których jako antykoagulantu zastosowano EDTA lub cytrynian.

## Zanieczyszczenie krzyżowe

Zbadano ryzyko wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego podczas używania zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Na potrzeby badania wykonano trzy testy, każdy przy użyciu 96 próbek i aparatu QIASymphony SP. Próbkami o różnym statusie były testowane w ramach jednej partii, w której układano je w układzie szachownicy (naprzemiennie ułożone próbki pozytywne i negatywne). Jako systemu modelowego użyto ludzkich próbek osocza z dodatkiem EDTA oraz próbek moczu, do których dodano materiał wirusa HIV (odpowiednio w stężeniu  $2,93E+07$  i  $>1,00E+07$  IU/ml). Próbkami były przygotowywane przy użyciu wszystkich dostępnych protokołów (dla zastosowań Virus Cellfree i Pathogen Complex). Ryzyko wystąpienia potencjalnego zanieczyszczenia negatywnych próbek osocza i moczu podczas procesu izolacji zostało ocenione poprzez wykonanie analizy uzyskanych eluatów przy użyciu wewnętrznego oznaczenia RT-PCR względem wirusa HIV. Nie wykryto zanieczyszczenia krzyżowego spowodowanego przeniesieniem między próbkami, między partiami oraz między cyklami przetwarzania.





## Zakres wejściowych objętości próbek i wyjściowych objętości eluatów

Podczas przygotowywania próbek przy użyciu zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit można wybierać różne objętości wejściowe próbek oraz różne objętości elucji. Szczegółowe informacje zawiera odpowiednia karta protokołu, którą można znaleźć na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), na karcie Resource (Materiały źródłowe). W celu przeanalizowania wpływu trzech różnych objętości elucji przeprowadzono standardowe badania korelacji przy użyciu próbek osocza z dodatkiem EDTA, do których dodawano materiał wirusów HBV i HIV, oraz protokołów Cellfree 200 i Cellfree 1000. Wyniki wskazują, że używanie trzech różnych objętości elucji (60, 85 i 110  $\mu$ l) w protokole Cellfree 200 lub Cellfree 1000, nie przyczyniło się do wystąpienia istotnych różnic w oznaczeniach ilościowych wirusowego RNA lub DNA.



## Symbole

W niniejszym dokumencie używane są poniższe symbole. Pełna lista symboli zamieszczonych w instrukcji użycia oraz na opakowaniu i etykietach znajduje się w instrukcji obsługi.

Symbol	Definicja symbolu
	Ten produkt spełnia wymogi rozporządzenia europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
Rn	R oznacza wydanie instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Producent

## Historia zmian

### Wydanie

### Opis

R1, czerwiec 2022 r.

Wersja 2, wydanie 1

- W ramach wersji 2 zaktualizowano treść w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDR
- Treść części „Zakres liniowy” została przeniesiona do części „Skuteczność podstawowa i zgodność z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi”
- Rozszerzono część „Stabilność eluatu”
- Dodano część „Substancje zakłócające”
- Dodano część „Zanieczyszczenie krzyżowe”
- Dodano część „Zakres wejściowych objętości próbek i wyjściowych objętości eluatów”
- Dodano część „Symbole”

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów można znaleźć w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawów QIAGEN są dostępne pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

