

# Návod k použití soupravy QIASymphony<sup>®</sup> DSP Virus/Pathogen Kit (charakteristika funkčních vlastností)

Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se soupravami QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit a Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Německo

R1

Charakteristiky funkčních vlastností jsou k dispozici elektronicky a lze je nalézt na záložce zdrojů na produktové stránce na webových stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Obecný úvod

Soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit jsou určeny k použití spolu s přístrojem QIASymphony SP.

Soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit poskytují reagentie pro plně automatizovanou a simultánní purifikaci virových a bakteriálních nukleových kyselin. Sady lze používat k purifikaci nukleových kyselin ze širokého spektra DNA a RNA virů a bakteriální DNA z gramnegativních a grampozitivních bakterií. Charakteristiky funkčních vlastností pro jednotlivé druhy virů či bakterií nebyly stanoveny, uživatel je musí validovat sám.

Technologie magnetických částic umožňuje purifikaci vysoce kvalitních nukleových kyselin, které neobsahují bílkoviny, nukleázy ani jiné nečistoty. Purifikované nukleové kyseliny jsou připraveny k přímému použití v následných aplikacích, např. při amplifikačních reakcích (Polymerase Chain Reaction, PCR). Přístroj QIASymphony SP provádí všechny kroky postupu purifikace. V jednom cyklu se zpracovává až 96 alikvotů v dávkách až po 24 alikvotech.

V následujícím textu jsou uvedeny vybrané údaje o charakteristikách funkčních vlastností pro různé aplikace.

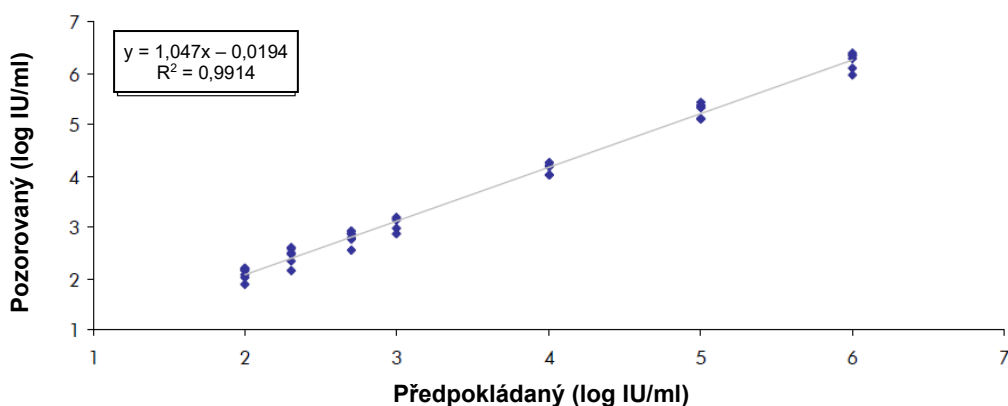
## Charakteristika funkčních vlastností

**Poznámka:** Charakteristika funkčních vlastností závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro soupravu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ve spojení s příklady následných aplikací. Metody izolace nukleových kyselin z biologických vzorků se však používají jako předstupeň pro řadu navazujících aplikací. Pro každý takový pracovní postup je třeba v rámci vývoje následné aplikace stanovit parametry funkčních vlastností, jako je křížová kontaminace nebo přesnost cyklu. Proto je povinností uživatele celý pracovní postup validovat a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

### Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými následnými aplikacemi

Základní funkční vlastnosti pro soupravu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit byly hodnoceny pomocí RNA viru HIV-1 coby vzorového viru. Testy byly provedeny s ředěními kvalifikovaných virových panelů vytvořených v HIV-1 negativní lidské plazmě. Řady ředění se 7 různými titry viru byly testovány vždy s až 6 replikátů, purifikovány postupem pro soupravu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit a analyzovány na přítomnost viru HIV-1 pomocí vlastní analýzy RT-PCR (Obrázek 1). Virové nukleové kyseliny byly purifikovány z 1 000 µl alikvotů se 60 µl elučního objemu.

Kromě toho byly při vývoji soupravy použity bakteriální a virové nukleové kyseliny a různé následné aplikace qPCR, aby se prokázalo, že izolované nukleové kyseliny jsou kompatibilní s různými následnými aplikacemi (tabulka 2 – tabulka 7, obrázek 2 a obrázek 3).



Obrázek 1. Pozorovaná výtěžnost pomocí protokolu Virus Cellfree 1000 s řadou ředění virů a vlastní analýzou RT-PCR na přítomnost RNA viru HIV-1.

### Přesnost

Směrodatná odchylky a koeficienty variace (Coefficients of Variation, CV) byly stanoveny pro řady ředění HIV-1 v lineární oblasti kvantifikace příslušných navazujících analýz. Pro analýzu přesnosti byly použity stejné následné analýzy jako pro stanovení základních funkčních vlastností (obrázek 1). Údaje o přesnosti mezi analýzami jsou uvedeny v tabulce 1. Pro každý prvek panelu bylo na přístroji QIASymphony SP extrahováno 5 nebo 6 replikátů.

**Tabulka 1. Přesnost mezi analýzami protokolu Virus Cellfree 1000 byla stanovena pomocí interní analýzy RT-PCR pro RNA viru HIV-1**

Prvek 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

## Opakovatelnost protokolů Complex 200, 400 a 800

DNA bakterií *Chlamydia trachomatis* byla na přístroji QIASymphony SP purifikována ze 200, 400 a 800 µl moči a byla eluována ve 110 µl. U každého protokolu (Complex200\_V5\_DSP, Complex400\_V3\_DSP a Complex800\_V5\_DSP) provedl jeden operátor 3 jednotlivá zpracování na stejném přístroji ve 3 různých dnech, přičemž každé zpracování obsahovalo 4 šarže po 22 alikvotech.

**Tabulka 2. Opakovatelnost protokolu Complex 200 při použití interní analýzy *C. trachomatis***

Cyklus	Šarže	n	Průměr 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

Celkový počet alikvotů = 264

Celkový průměr = 28,70

**Tabulka 3. Přesnost protokolu Complex 200 při použití interní analýzy *C. trachomatis***

	Mezi šaržemi v rámci stejného zpracování (S <sub>PWR</sub> )	Mezi zpracováními (S <sub>BR</sub> )	Celková (S <sub>c</sub> )
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabulka 4. Opakovatelnost protokolu Complex 400 při použití interní analýzy *C. trachomatis*

Cyklus	Šarže	n	Průměr 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

Celkový počet alikvotů = 264

Celkový průměr = 27,99

Tabulka 5. Přesnost protokolu Complex 400 při použití interní analýzy *C. trachomatis*

	Mezi šaržemi v rámci stejného zpracování (S <sub>PWR</sub> )	Mezi zpracováními (S <sub>BR</sub> )	Celková (S <sub>c</sub> )
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabulka 6. Opakovatelnost protokolu Complex 800 při použití interní analýzy *C. trachomatis*

Cyklus	Šarže	n	Průměr 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

Celkový počet alikvotů = 264

Celkový průměr = 26,20

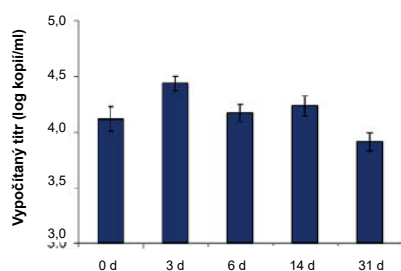
Tabulka 7. Přesnost protokolu Complex 800 při použití interní analýzy *C. trachomatis*

	Mezi šaržemi v rámci stejného zpracování (S <sub>PWR</sub> )	Mezi zpracováními (S <sub>BR</sub> )	Celková (S <sub>c</sub> )
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

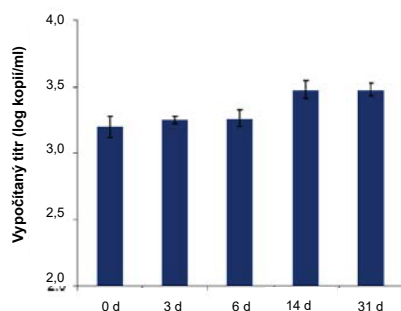
## Stabilita eluátů

**Poznámka:** Stabilita eluátů závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro soupravu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ve spojení s příklady následných aplikací. Uživatel je povinen prostudovat si návod k použití konkrétní následné aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Stabilita eluátů pro soupravu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit byla hodnocena pomocí nukleové kyseliny extrahované z moči, obohacené o standardní materiál HIV a standardní materiál CMV. Stabilita nukleové kyseliny byla stanovena pomocí vlastních analýz real-time PCR pro HIV a CMV. Stabilita eluátů při teplotě 2–8 °C nebyla ovlivněna délkou skladování až do 1 měsíce. Při skladování delším než 24 hodin však doporučujeme skladovat purifikované nukleové kyseliny při teplotě –20 °C.



**Obrázek 2. Stabilita RNA HIV v eluátech.** Standardní materiál HIV přidáný do moči byl purifikován na přístroji QIASymphony SP za použití protokolu Complex 200. Eluáty byly inkubovány po dobu 31 dnů při teplotě 2–8 °C. Pro detekci v pravidelných časových intervalech byla použita vlastní analýza real-time PCR pro HIV. Eluáty byly analyzovány v 8 replikátech.



**Obrázek 3. Stabilita CMV v eluátech.** Standardní materiál CMV přidáný do moči byl purifikován na přístroji QIASymphony SP za použití protokolu Complex 200. Eluáty byly inkubovány po dobu 31 dnů při teplotě 2–8 °C. Pro detekci v pravidelných časových intervalech byla použita vlastní analýza real-time PCR pro CMV. Eluáty byly analyzovány v 8 replikátech.

## Interferující látky

Do EDTA plazmy, CSF, moči a přepravního média (eNAT) s virovým materiálem byly přidány různé potenciální endogenní a exogenní interferující látky, aby se otestoval jejich vliv na příklady následných analýz po přípravě alikvotu pomocí soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Běžné relevantní potenciální interferující látky a příslušné testované materiály alikvotů jsou uvedeny níže v tabulce 8. U uvedených interferujících látek a více než 80 dalších potenciálních interferujících látek nebyl zjištěn žádný významný negativní dopad.

**Tabulka 8. Potenciální interferující látky testované s různými materiály alikvotů**

Interferující látky	Plazma	CSF	Moč	eNAT
(Lidské sérum) albumin	√		√	
Bilirubin	√		√	
Erytrocyty		√	√	
Gama globulin	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Lidská játra, celková RNA	√			
Triglyceridy (intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Roztok amoniaku	√			
Glukóza			√	
Slizniční			√	√
Krev			√	√
Leukocyty			√	√
pH 4, pH 9			√	

**Poznámka:** „√“ označuje, které materiály alikvotů byly testovány na příslušnou potenciální interferující látku.

Jakékoli potenciální interferující látky (např. léky) a odpovídající koncentrace jsou velmi specifické pro následnou aplikaci a případné předchozí lékařské ošetření a je třeba je prozkoumat při ověřování takové následné aplikace pomocí souprav QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

**Poznámka:** Testování bylo provedeno pomocí ukázkových následných aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé následné aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost nebo koncentraci potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování příslušných látek a odpovídajících koncentrací musejí být rovněž stanoveny jako součást vývoje následné aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

**Poznámka:** Podle normy ISO 20186-2:2019(E) může heparin ze zkumavek pro odběr krve ovlivnit čistotu izolovaných nukleových kyselin a případný přenos do eluátů by mohl způsobit inhibici v některých následných aplikacích. Proto doporučujeme pro přípravu plazmy používat krevní alikvoty ošetřené EDTA nebo citrátem jako antikoagulantem.

## Křížová kontaminace

Riziko křížové kontaminace souprav QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit bylo analyzováno provedením tří cyklů zpracování 96 alikvotů na přístroji QIASymphony SP se střídavými šachovnicovými dávkami (střídavě pozitivní a negativní alikvoty). Jako modelový systém byla použita lidská EDTA plazma a moč s přídavkem materiálu HIV ( $2,93E+07$ , respektive  $> 1,00E+07$  IU/ml). Příprava alikvotů byla provedena podle všech dostupných protokolů (pro aplikace Virus Cellfree a Pathogen Complex). Potenciální kontaminace negativních alikvotů plazmy a moči během extrakce byla vyhodnocena následnou analýzou eluátů pomocí vlastní analýzy RT-PCR na přítomnost viru HIV. Nebyla zjištěna žádná křížová kontaminace mezi jednotlivými alikvoty a šaržemi ani přenos z jednoho cyklu do druhého.





## Rozsah vstupu alikvotu / výstupu eluátu

Pro přípravu alikvotů pomocí souprav QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit lze zvolit různé vstupní objemy alikvotu a eluční objemy. Další podrobnosti jsou uvedeny na listech s protokoly, které lze nalézt na záložce zdrojů na produktové stránce na webových stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Pro analýzu vlivu tří různých elučních objemů byly provedeny ukázkové korelační studie pro EDTA plazmu s přídavkem virového materiálu HBV a HIV pomocí protokolů Cellfree 200 a Cellfree 1000. Výsledky neukazují žádné významné rozdíly v kvantifikaci RNA nebo DNA viru při použití protokolu Cellfree 200 nebo Cellfree 1000 v kombinaci s jedním ze tří různých elučních objemů (60, 85 a 110  $\mu$ l).



## Symboly

V tomto dokumentu se vyskytují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce.

Symbol	Definice symbolu
	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro.
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Katalogové číslo
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce

## Historie revizí

### Revize

### Popis

R1, červen 2022

Verze 2, revize 1

- Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVDR
- Převod oddílu Lineární rozsah do oddílu Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými následnými aplikacemi
- Rozšíření oddílu Stabilita eluátů
- Přidání oddílu Interferující látky
- Přidání oddílu Křížová kontaminace
- Přidání oddílu Rozsah vstupu alikvoty / výstupu eluátu
- Přidání oddílu Symboly

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro příslušnou soupravu QIAGEN nebo v uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na webových stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo si je lze vyžádat od technické podpory společnosti QIAGEN či místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.  
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

