



Juni 2022

Petunjuk Penggunaan QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (Karakteristik Kinerja)

Versi 2



Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro

Untuk penggunaan dengan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini dan Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Jerman

R1

Karakteristik Kinerja tersedia secara elektronik dan dapat ditemukan pada tab sumber daya dari halaman produk di www.qiagen.com.

Pengenalan Umum

QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit ditujukan untuk digunakan hanya dengan kombinasi bersama QIAasymphony SP.

QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit menyediakan reagen untuk pemurnian yang sepenuhnya otomatis dan sekaligus pada asam nukleat bakteri dan virus. Kit dapat digunakan untuk memurnikan asam nukleat dari beragam virus DNA dan RNA serta DNA bakteri dari bakteri Gram-negatif dan Gram-positif. Akan tetapi, karakteristik kinerja untuk setiap spesies virus atau bakteri belum ditetapkan dan harus divalidasi oleh pengguna.

Teknologi partikel magnetik memungkinkan pemurnian asam nukleat berkualitas tinggi yang bebas protein, nuklease, dan kotoran lain. Asam nukleat yang dimurnikan siap untuk digunakan langsung dalam aplikasi downstream, seperti reaksi amplifikasi (PCR). QIAasymphony SP melakukan semua langkah pada prosedur pemurnian. Hingga 96 sampel, dalam batch sebanyak hingga 24, diproses dalam satu proses.

Dalam kinerja yang dipilih berikut, ditampilkan data untuk berbagai aplikasi.

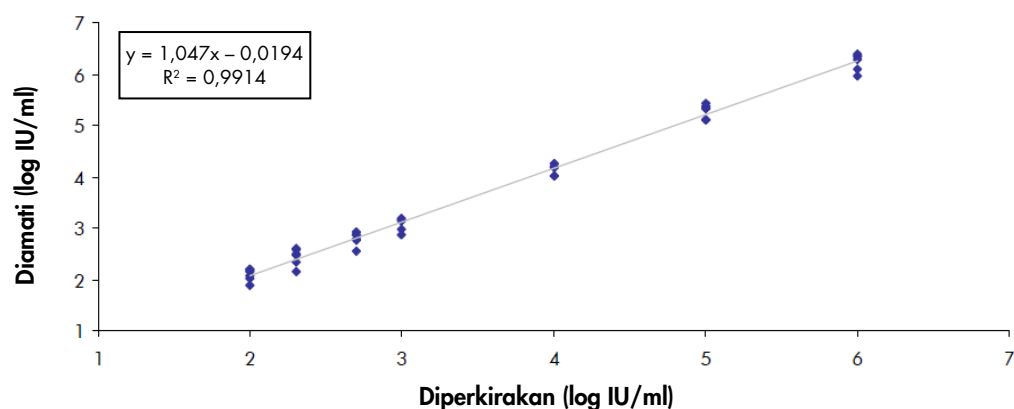
Karakteristik Kinerja

Catatan: Karakteristik Kinerja sangat bergantung pada berbagai faktor dan berkaitan dengan aplikasi downstream tertentu. Ini telah ditetapkan untuk QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sehubungan dengan aplikasi downstream contoh. Akan tetapi, metode untuk mengisolasi asam nukleat dari spesimen biologis digunakan sebagai awal untuk beberapa aplikasi downstream. Parameter kinerja seperti kontaminasi silang atau presisi proses perlu ditetapkan untuk alur kerja mana pun tersebut sebagai bagian dari pengembangan aplikasi downstream. Oleh karena itu, merupakan tanggung jawab pengguna untuk memvalidasi keseluruhan alur kerja untuk menetapkan parameter kinerja yang sesuai.

Kinerja dasar dan kompatibilitas dengan aplikasi downstream lain

Kinerja dasar QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit dievaluasi, dengan menggunakan RNA HIV-1 sebagai virus contoh. Pengujian dilakukan dengan pengenceran panel virus yang dihitung yang dibuat dalam plasma manusia HIV-1 negatif. Seri pengenceran dengan 7 titer virus yang berbeda diuji dengan maksimum 6 replikat masing-masing, yang dimurnikan dengan prosedur QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, dan analisis HIV-1 dengan uji kadar RT-PCR in-house (Gambar 1). Asam nukleat virus dimurnikan dari sampel 1000 µl dengan volume elusi 60 µl.

Selanjutnya, asam nukleat bakteri dan virus serta aplikasi downstream qPCR yang berbeda digunakan selama pengembangan kit untuk menunjukkan bahwa asam nukleat yang terisolasi kompatibel dengan aplikasi downstream lain (Tabel 2–Tabel 7, Gambar 2, dan Gambar 3).



Gambar 1. Hasil yang diamati menggunakan protokol Virus Cellfree 1000, dengan seri pengenceran virus dan uji kadar RT-PCR in-house untuk virus RNA HIV-1.

Presisi

Simpangan baku dan koefisien variasi (Coefficient of Variation, CV) ditentukan untuk seri pengenceran HIV-1 dalam rentang linear uji kadar downstream yang sesuai. Untuk analisis presisi, uji kadar downstream yang sama digunakan sebagai penentuan kinerja dasar (Gambar 1). Data presisi inter-uji kadar ditunjukkan dalam Tabel 1. Untuk setiap bagian panel, 5 atau 6 replikat diekstrak di QIASymphony SP.

Tabel 1. Presisi inter-uji kadar protokol Virus Cellfree 1000 menggunakan uji kadar RT-PCR in-house untuk virus RNA HIV-1

Bagian panel	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

Keterulangan protokol Complex 200, 400, dan 800

DNA *Chlamydia trachomatis* dimurnikan pada QIAAsymphony SP dari urine 200, 400, dan 800 µl, dan dielusi dalam 110 µl. Untuk setiap protokol (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP, dan Complex800_V5_DSP), satu operator melakukan 3 proses individual pada instrumen yang sama, dalam 3 hari yang berbeda, di mana setiap proses terdiri dari 4 batch sebanyak 22 sampel.

Tabel 2. Keterulangan protokol Complex 200 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

Proses	Batch	n	Rata-rata C _T	SB	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

Total jumlah sampel = 264

Keseluruhan rata-rata = 28,70

Tabel 3. Presisi protokol Complex 200 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

	Batch-ke-batch dalam proses yang sama (S _{PWR})	Proses-ke-proses (S _{BR})	Total (S _t)
SB	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabel 4. Keterulangan protokol Complex 400 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

Proses	Batch	n	Rata-rata C_T	SB	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

Total jumlah sampel = 264

Keseluruhan rata-rata = 27,99

Tabel 5. Presisi protokol Complex 400 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

	Batch-ke-batch dalam proses yang sama (S_{PWR})	Proses-ke-proses (S_{BR})	Total (S)
SB	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabel 6. Keterulangan protokol Complex 800 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

Proses	Batch	n	Rata-rata C_T	SB	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

Total jumlah sampel = 264

Keseluruhan rata-rata = 26,20

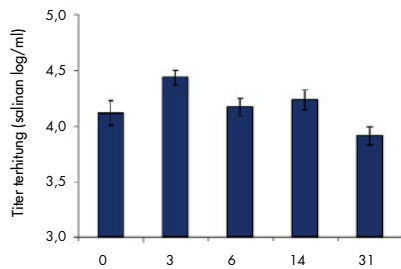
Tabel 7. Presisi protokol Complex 800 menggunakan uji kadar in-house *C. trachomatis*

	Batch-ke-batch dalam proses yang sama (S_{PWR})	Proses-ke-proses (S_{BR})	Total (S_t)
SB	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

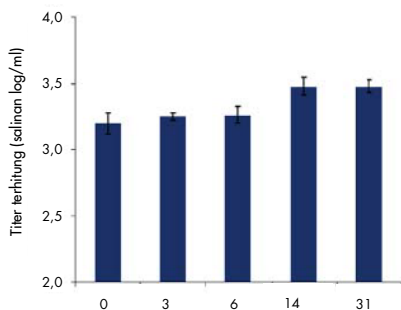
Stabilitas eluat

Catatan: Stabilitas eluat sangat bergantung pada berbagai faktor dan berkaitan dengan aplikasi downstream tertentu. Ini telah ditetapkan untuk QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit sehubungan dengan aplikasi downstream contoh. Merupakan tanggung jawab pengguna untuk membaca petunjuk penggunaan aplikasi downstream tertentu yang digunakan dalam laboratorium dan/atau memvalidasi keseluruhan alur kerja untuk menciptakan kondisi penyimpanan yang sesuai.

Stabilitas eluat untuk QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit dievaluasi, menggunakan asam nukleat yang diekstrak dari urine yang dibubuhi dengan materi standar HIV dan materi standar CMV. Stabilitas asam nukleat ditentukan dengan uji kadar real-time PCR in-house untuk HIV dan CMV. Stabilitas eluat pada suhu 2–8 °C tidak terpengaruh oleh durasi penyimpanan hingga 1 bulan. Akan tetapi, untuk waktu penyimpanan selama 24 jam, kami menyarankan untuk menyimpan asam nukleat yang dimurnikan pada suhu -20 °C.



Gambar 2. Stabilitas RNA HIV dalam eluat. Materi standar HIV yang dibubuhkan dalam urine dimurnikan pada QIA Symphony SP menggunakan protokol Complex 200. Eluat diinkubasi selama 31 hari pada suhu 2–8 °C. Uji kadar real-time PCR in-house untuk HIV digunakan untuk deteksi pada titik waktu reguler. Eluat dianalisis dalam replikat sebanyak 8.



Gambar 3. Stabilitas CMV dalam eluat. Materi standar CMV yang dibubuhkan dalam urine dimurnikan pada QIA Symphony SP menggunakan protokol Complex 200. Eluat diinkubasi selama 31 hari pada suhu 2–8 °C. Uji kadar real-time PCR in-house untuk CMV digunakan untuk deteksi pada titik waktu reguler. Eluat dianalisis dalam replikat sebanyak 8.

Zat yang mengganggu

Potensi pengganggu eksogen dan endogen yang berbeda dibubuhkan dalam plasma EDTA, CSF, urine, dan media transpor (eNAT) dengan materi virus untuk menguji dampaknya pada uji kadar downstream contoh setelah penyiapan sampel dengan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Potensi pengganggu terkait yang umum dan materi sampel yang diuji masing-masing tercantum di bawah dalam Tabel 8. Tidak teramati adanya dampak negatif yang signifikan untuk pengganggu yang tercantum dan lebih dari 80 potensi pengganggu tambahan.

Tabel 8. Potensi zat yang mengganggu yang diuji dengan materi sampel yang berbeda

Zat yang mengganggu	Plasma	CSF	Urine	eNAT
(Serum Manusia) Albumin	√		√	
Bilirubin	√		√	
Eritrosit		√	√	
Gamma Globulin	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Total RNA Hati Manusia	√			
Trigliserida (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Larutan Amonia	√			
Glukosa			√	
Lendir			√	√
Darah			√	√
Leukosit			√	√
pH 4, pH 9			√	

Catatan: "√" menunjukkan materi sampel mana yang diuji untuk potensi zat yang mengganggu terkait.

Setiap potensi zat yang mengganggu (mis., obat-obatan) dan konsentrasi terkait bersifat sangat spesifik terhadap aplikasi downstream dan kemungkinan perawatan medis sebelumnya pada pasien sehingga perlu diperiksa selama verifikasi aplikasi downstream tersebut menggunakan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Catatan: Pengujian dilakukan menggunakan aplikasi downstream contoh untuk penilaian kualitas asam nukleat yang diekstrak. Akan tetapi, aplikasi downstream lain mungkin memiliki persyaratan lain sehubungan dengan pemurnian (yakni, tidak adanya atau konsentrasi potensi zat yang mengganggu), sehingga identifikasi dan pengujian zat terkait dan konsentrasi terkait juga perlu ditetapkan sebagai bagian dari bagian pengembangan aplikasi downstream untuk setiap alur kerja yang melibatkan QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Catatan: Berdasarkan ISO 20186-2:2019(E), heparin dari tabung penampung darah dapat berdampak pada pemurnian asam nukleat yang terisolasi dan kemungkinan limpahan ke dalam eluat dapat menyebabkan inhibisi dalam beberapa aplikasi downstream. Oleh karena itu, kami menyarankan penggunaan sampel darah yang diperlakukan dengan EDTA atau sitrat sebagai antikoagulan untuk penyiapan plasma.

Kontaminasi silang





Risiko kontaminasi silang QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit dianalisis dengan melakukan tiga 96 proses sampel pada instrumen QIAasymphony SP dengan batch kotak-kotak bergantian (sampel positif dan negatif secara bergantian). Plasma EDTA manusia dan urine yang dibubuhi dengan materi HIV ($2,93E+07$ dan $>1,00E+07$ IU/ml, masing-masing) digunakan sebagai sistem model. Penyiapan sampel dilakukan menggunakan semua protokol yang tersedia (untuk aplikasi Virus Cellfree dan Pathogen Complex). Potensi kontaminasi sampel plasma negatif dan urine selama proses ekstraksi dievaluasi dengan analisis berikutnya pada eluat menggunakan uji kadar RT-PCR in-house untuk virus HIV. Tidak terdeteksi adanya kontaminasi silang untuk limpahan sampel-ke-sampel, batch-ke-batch, atau proses-ke-proses.

Rentang input sampel/output eluat

Volume elusi dan input sampel yang berbeda dapat dipilih untuk penyiapan sampel menggunakan QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Untuk detail selengkapnya, lihat lembar protokol yang dapat ditemukan pada tab sumber daya dari halaman produk di www.qiagen.com. Studi korelasi contoh telah dilakukan untuk plasma EDTA yang dibubuhi dengan materi virus HBV dan HIV menggunakan protokol Cellfree 200 dan Cellfree 1000 untuk menganalisis pengaruh ketiga volume elusi yang berbeda. Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan dalam kuantifikasi virus RNA atau DNA menggunakan protokol Cellfree 200 atau Cellfree 1000 yang dikombinasikan dengan salah satu dari ketiga volume elusi yang berbeda (60, 85, dan 110 μ l).

Simbol

Simbol berikut muncul dalam dokumen ini. Untuk daftar lengkap simbol-simbol yang digunakan dalam petunjuk penggunaan atau pada kemasan dan label, silakan lihat buku pegangan.

Simbol	Definisi simbol
	Produk ini memenuhi persyaratan Peraturan Eropa 2017/746 untuk perangkat medis diagnostik in vitro.
	Perangkat medis diagnostik in vitro
	Nomor katalog
Rn	R adalah untuk revisi Instruksi Penggunaan dan n adalah nomor revisi
	Produsen

Riwayat Revisi

Revisi	Deskripsi
R1, Juni 2022	<p>Versi 2, Revisi 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Pembaruan pada versi 2 untuk kesesuaian terhadap IVDR• Transfer bab Rentang linear ke dalam bab Kinerja dasar dan kompatibilitas dengan aplikasi downstream lain• Ekstensi bab Stabilitas eluat• Penambahan bab Zat yang mengganggu• Penambahan bab Kontaminasi silang• Penambahan bab Rentang input sampel/output eluat Bab• Penambahan bab Simbol

Untuk informasi pelisensian terbaru dan penafian produk-spesifik, lihat buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN. Buku pegangan atau panduan pengguna kit QIAGEN tersedia di www.qiagen.com atau dapat dipesan dari Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda.

Merek Dagang: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Nama, merek dagang terdaftar, dll. yang digunakan di dalam dokumen ini, meski tidak secara khusus ditandai sebagaimana demikian, tidak akan dianggap tidak dilindungi oleh undang-undang.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

