

Istruzioni per l'uso (Caratteristiche delle prestazioni) del QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit

Versione 2



Per uso diagnostico in vitro

Per uso con i QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini e Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Le caratteristiche delle prestazioni sono disponibili in formato elettronico nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Introduzione generale

I QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sono studiati per essere utilizzati esclusivamente in combinazione con il sistema QIASymphony SP.

I QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit forniscono reagenti per procedure completamente automatizzate e simultanee di purificazione degli acidi nucleici virali e batterici. I kit possono essere utilizzati per purificare gli acidi nucleici da un'ampia gamma di virus del DNA e dell'RNA, nonché il DNA batterico da batteri gram-negativi e gram-positivi. Tuttavia, le caratteristiche di prestazione non sono state accertate per ogni specie virale e batterica, quindi devono essere convalidate dall'utente.

La tecnologia a particelle magnetiche consente di purificare gli acidi nucleici di alta qualità che sono privi di proteine, nucleasi e altre impurità. Gli acidi nucleici purificati sono pronti per essere utilizzati direttamente in applicazioni a valle, quali le reazioni di amplificazione (PCR). Il QIASymphony SP esegue tutte le fasi della procedura di purificazione. In una singola sessione possono essere processati fino a 96 campioni, in batch comprendenti max. 24 campioni.

Di seguito sono mostrati dati di prestazioni selezionati per le diverse applicazioni.

Caratteristiche delle prestazioni

Nota: le caratteristiche delle prestazioni dipendono fortemente da vari fattori e si riferiscono alla specifica applicazione a valle. Queste sono state determinate per il QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit in combinazione con applicazioni a valle esemplari. Tuttavia, i metodi per isolare gli acidi nucleici da campioni biologici sono utilizzati come fase iniziale per molteplici applicazioni a valle. I parametri delle prestazioni, come la contaminazione crociata o la precisione del processo, devono essere determinati per ogni flusso di lavoro come parte dello sviluppo dell'applicazione a valle. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire parametri delle prestazioni adeguati.

Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni a valle

Le prestazioni di base del QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit sono state valutate utilizzando RNA di HIV-1 come virus campione. I test sono stati eseguiti con diluizioni di pannelli di virus quantificati in plasma umano HIV-1 negativo. Le serie di diluizione con 7 titoli di virus diversi sono state testate con 6 repliche ciascuna, purificate con la procedura del QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit e analizzate per l'HIV-1 con un esame RT-PCR interno (Figura 1). Gli acidi nucleici virali sono stati purificati da campioni di 1000 µl con un volume di eluizione di 60 µl.

Inoltre, durante lo sviluppo del kit sono stati utilizzati acidi nucleici batterici e virali e diverse applicazioni qPCR a valle per dimostrare che gli acidi nucleici isolati sono compatibili con diverse applicazioni a valle (Tabella 2–Tabella 7, Figura 2 e Figura 3).

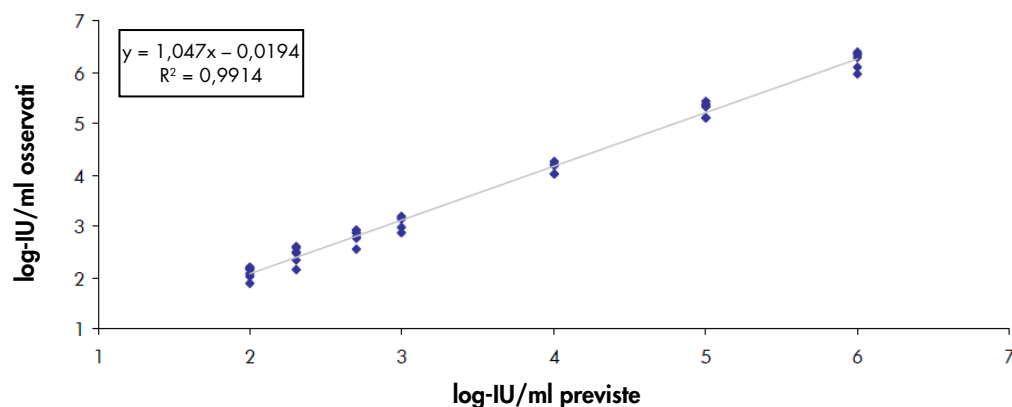


Figura 1. Rese osservate utilizzando il protocollo Virus Cellfree 1000, con serie di diluizioni virali e un esame RT-PCR interno per il virus HIV-1 RNA.

Precisione

Le deviazioni standard e i coefficienti di variazione (CV) sono stati determinati per le serie di diluizioni dell'HIV-1 nell'intervallo lineare dei relativi esami downstream. Per l'analisi della precisione sono stati usati gli stessi esami downstream per la determinazione delle prestazioni di base (Figura 1). I dati sulla precisione inter-esame sono riportati nella Tabella 1. Per ogni componente del pannello sono state estratte 5 o 6 repliche sul QIAAsymphony SP.

Tabella 1. Precisione inter-esame del protocollo Virus Cellfree 1000 mediante un esame RT-PCR interno per il virus HIV-1 RNA

Componente del pannello	n	UI/ml	CV (%)	log IU/ml	DS (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

Ripetibilità dei protocolli Complex 200, 400 e 800

Il DNA di *Chlamydia trachomatis* è stato purificato sul QIASymphony SP da 200, 400 e 800 µl di urina ed è stato eluito in 110 µl. Per ciascun protocollo (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP e Complex800_V5_DSP) un operatore ha eseguito 3 singoli cicli sullo stesso strumento in 3 giorni diversi, ogni ciclo composto da 4 lotti di 22 campioni.

Tabella 2. Ripetibilità del protocollo Complex 200 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

Ciclo	Lotto	n	C _i medio	DS	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

Numero totale di campioni = 264

Media complessiva = 28,70

Tabella 3. Precisione del protocollo Complex 200 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

	Da lotto a lotto nello stesso ciclo (S _{PWR})	Da ciclo a ciclo (S _{BR})	Totale (S _t)
DS	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabella 4. Ripetibilità del protocollo Complex 400 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

Ciclo	Lotto	n	C _i medio	DS	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

Numero totale di campioni = 264

Media complessiva = 27,99

Tabella 5. Precisione del protocollo Complex 400 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

	Da lotto a lotto nello stesso ciclo (S _{PWR})	Da ciclo a ciclo (S _{BR})	Totale (S _t)
DS	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabella 6. Ripetibilità del protocollo Complex 800 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

Ciclo	Lotto	n	C _i medio	DS	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

Numero totale di campioni = 264

Media complessiva = 26,20

Tabella 7. Precisione del protocollo Complex 800 mediante un esame interno per *C. trachomatis*

	Da lotto a lotto nello stesso ciclo (S _{PWR})	Da ciclo a ciclo (S _{BR})	Totale (S _t)
DS	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

Stabilità degli eluati

Nota: la stabilità degli eluati dipende da vari fattori ed è relativa alla specifica applicazione a valle. È stata determinata per il QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit in combinazione con applicazioni a valle esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione a valle utilizzata nel laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per determinare le condizioni di conservazione adatte.

La stabilità degli eluati per il QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit è stata valutata utilizzando acido nucleico estratto da urina arricchita con materiale standard HIV e materiale standard CMV. La stabilità dell'acido nucleico è stata determinata tramite esami PCR in tempo reale interni per HIV e CMV. La stabilità degli eluati a 2–8°C non è stata influenzata dalla durata di conservazione fino a un mese. Tuttavia, per una conservazione che supera le 24 ore, si consiglia di mantenere gli acidi nucleici purificati ad una temperatura di –20°C.

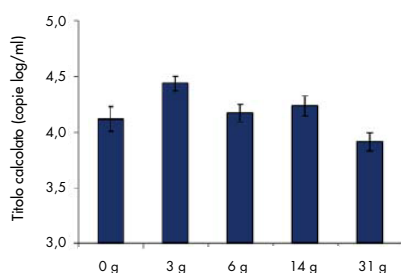


Figura 2. Stabilità dell'HIV RNA negli eluati. Il materiale HIV standard addizionato nell'urina è stato purificato sul QIAAsymphony SP usando il protocollo Complex 200. Gli eluati sono stati incubati per 31 giorni a 2–8°C. Con un esame real-time PCR interno per il HIV si sono effettuati i rilevamenti ad intervalli temporali regolari. Gli eluati sono stati analizzati in replicati di 8.

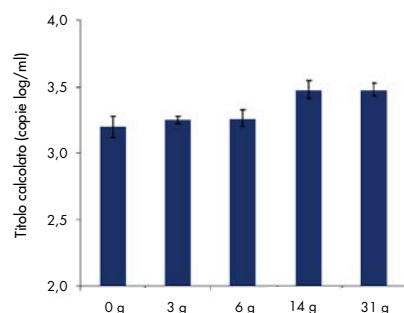


Figura 3. Stabilità del CMV negli eluati. Il materiale CMV standard addizionato nell'urina è stato purificato sul QIAAsymphony SP usando il protocollo Complex 200. Gli eluati sono stati incubati per 31 giorni a 2–8°C. Con un esame real-time PCR interno per il CMV si sono effettuati i rilevamenti ad intervalli temporali regolari. Gli eluati sono stati analizzati in replicati di 8.

Sostanze interferenti

Diversi interferenti endogeni ed esogeni potenziali sono stati aggiunti a plasma EDTA, FCS, urina e terreno di trasporto (eNAT) con materiale virale, al fine di testare il loro impatto su esami downstream esemplari dopo la preparazione dei campioni con il QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit. I comuni interferenti potenziali rilevanti e i relativi materiali campione testati sono riportati di seguito nella Tabella 8. Non sono stati osservati impatti negativi significativi per gli interferenti elencati e più di 80 ulteriori interferenti potenziali.

Tabella 8. Potenziali sostanze interferenti testate su diversi materiali campione

Sostanze interferenti	Plasma	Liquido spinale cerebrale (Cerebral Spinal Fluid, CSF)	Urina	eNAT
Albumina (sierica umana)	√		√	
Bilirubina	√		√	
Eritrociti		√	√	
Gamma-globulina	√			
gDNA	√	√	√	
Emoglobina	√			
RNA totale da fegato umano	√			
Trigliceridi (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Eparina	√			
Soluzione di ammoniaca	√			
Glucosio			√	
Muco			√	√
Sangue			√	√
Leucociti			√	√
pH 4, pH 9			√	

Nota: "√" indica quali materiali campione sono stati testati per la rispettiva potenziale sostanza interferente.

Ogni potenziale sostanza interferente (ad es. medicinali) e corrispondenti concentrazioni sono altamente specifiche per l'applicazione a valle e ai possibili precedenti trattamenti medici di un paziente, e devono essere esaminate durante la verifica di tale applicazione a valle utilizzando i QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Nota: i test sono stati effettuati utilizzando applicazioni a valle esemplari per una valutazione della qualità degli acidi nucleici estratti. Tuttavia, applicazioni a valle diverse possono avere requisiti diversi rispetto alla purezza (ovvero, assenza o concentrazione di potenziali sostanze interferenti), pertanto anche l'identificazione e il test delle sostanze rilevanti e delle relative concentrazioni devono essere eseguiti come parte dello sviluppo dell'applicazione a valle per qualsiasi flusso di lavoro che coinvolge i QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Nota: secondo la norma ISO 20186-2:2019(E), l'eparina dalle provette per prelievo ematico potrebbe impattare la purezza degli acidi nucleici isolati e il possibile carryover negli eluati potrebbe causare inibizione in alcune applicazioni a valle. Pertanto, si consiglia l'utilizzo di campioni di sangue trattati con EDTA o citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma.

Contaminazione crociata





Il rischio di contaminazione crociata dei QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit è stato analizzato eseguendo tre processi da 96 campioni sullo strumento QIAasymphony SP con lotti alternati a scacchiera (alternanza di campioni positivi e negativi). Plasma umano con EDTA e urina addizionata con materiale HIV (rispettivamente $2.93E+07$ e $>1.00E+07$ IU/ml) sono stati utilizzati come sistema modello. La preparazione dei campioni è stata eseguita utilizzando tutti i protocolli disponibili (per applicazioni Virus Cellfree e Pathogen Complex). Una potenziale contaminazione dei campioni negativi di plasma e urina durante i processi di estrazione è stata valutata tramite analisi successive degli eluati, utilizzando un esame RT-PCR interno per il virus HIV. Non sono state individuate contaminazioni crociate per il carryover da campione a campione, da lotto a lotto o da ciclo a ciclo.

Intervallo inserimento campione/uscita eluati

Con i QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit, per la preparazione dei campioni è possibile selezionare diversi inserimenti campione e volumi di eluizione. Per maggiori dettagli, consultare le schede del protocollo disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com. Sono stati condotti studi di correlazione esemplari per il plasma EDTA addizionato con materiale virale HBV e HIV, utilizzando i protocolli Cellfree 200 e Cellfree 1000 per analizzare l'influenza dei tre diversi volumi di eluizione. I risultati non dimostrano differenze significative nella quantificazione di un virus DNA o RNA utilizzando il protocollo Cellfree 200 o Cellfree 1000 in combinazione con uno dei tre diversi volumi di eluizione (60, 85 e 110 µl).

Simboli

In questo documento sono presenti i seguenti simboli. Per un elenco completo dei simboli utilizzati nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e l'etichettature, fare riferimento al manuale.

Simbolo	Definizione del simbolo
	Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro.
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Numero di catalogo
Rn	R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione
	Produttore

Cronologia delle revisioni

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	<p>Versione 2, Revisione 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aggiornamento alla versione 2 per conformità a IVDR• Trasferimento della sezione Range lineare nella sezione Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni a valle• Estensione della sezione Stabilità dell'eluato• Aggiunta della sezione Sostanze interferenti• Aggiunta della sezione Contaminazione crociata• Aggiunta della sezione Intervallo inserimento campione/uscita eluati• Aggiunta della sezione Simboli

Per informazioni aggiornate sulle licenze e sulle esclusioni di responsabilità specifiche del prodotto, vedere il manuale del kit QIAGEN o il manuale dell'utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili all'indirizzo www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

