



2022. június

QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Kit használati útmutató (Teljesítményjellemzők)

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

A QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini és Midi Kitekkel történő használatra



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A Teljesítményjellemzők elektronikus formában állnak rendelkezésre; a www.qiagen.com webhelyen, az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfűlén érhetők el.

Általános bevezetés

A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kiteket csak a QIASymphony SP készülékkel együtt lehet használni.

A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitek biztosítják a reagenseket a virális és bakteriális nukleinsavak egyidejű, teljesen automatizált tisztításához. A készletek segítségével a DNS- és RNS-vírusok széles spektrumának nukleinsavait, valamint Gram-negatív és Gram-pozitív baktériumok DNS-ét lehet tisztítani. Mivel azonban nincsenek megállapítva a teljesítményjellemzők minden vírus- és baktériumfaj esetén, ezekhez a felhasználónak hitelesítenie kell a készletet.

A mágnesesrészecske-technológiával való tisztítás lehetővé teszi a jó minőségű, fehérjéktől, nukleázoktól és egyéb szennyeződésektől mentes nukleinsavak kinyerését. A tisztított nukleinsavakat ezután már fel lehet használni downstream alkalmazásokban, mint például amplifikációs reakciókban (PCR). A QIASymphony SP végrehajtja a tisztítási eljárás minden lépését. Egyetlen futtatással akár 96 mintát tud feldolgozni, maximum 24-es kötegekben.

Az alábbiakban bemutatjuk a különböző alkalmazásokhoz kiválasztott teljesítményadatokat.

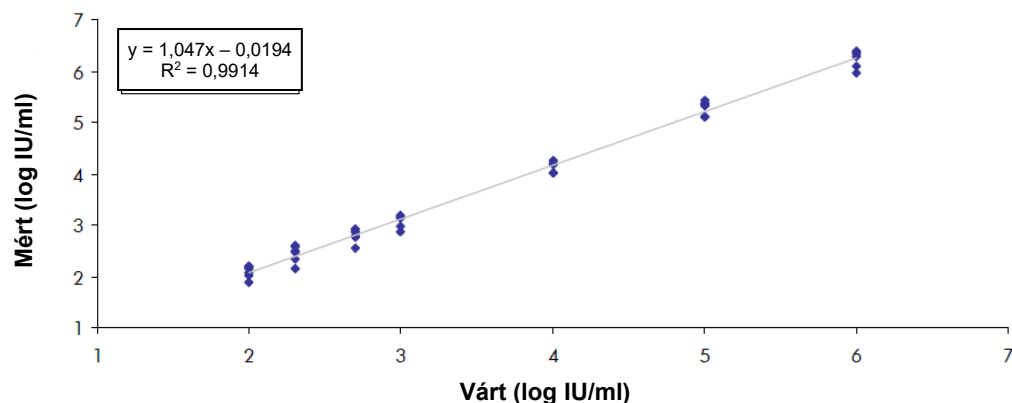
Teljesítményjellemzők

Megjegyzés: A teljesítményjellemzők több tényezőtől is nagymértékben függenek, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódnak. A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit teljesítményjellemzőit példaként szolgáló downstream alkalmazásokkal (mintaalkalmazásokkal) összefüggésben határoztuk meg. A nukleinsavak biológiai mintákból való izolálásához alkalmazott módszerek azonban több downstream alkalmazás előtisztítási módszereként szolgálnak. A teljesítményparamétereket, például a keresztszennyeződést vagy a futtatás precizitását a downstream alkalmazás kifejlesztésének részeként minden ilyen munkafolyamathoz meg kell határozni. Ezért a felhasználó felelőssége, hogy a megfelelő teljesítményparaméterek meghatározásához a teljes munkafolyamatot validálja.

Alapteljesítmény és különböző downstream alkalmazásokkal való kompatibilitás

A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit alapteljesítményének kiértékeléséhez mintavírusként HIV-1 RNS-t alkalmaztunk. A tesztek mennyiségileg meghatározott víruspanelek hígításaival végeztük, HIV-1-negatív humán plazmában. 7 különböző vírusitert tartalmazó hígítási sorozatot vizsgáltunk, mindegyiket legfeljebb 6 példányban. A tisztítást a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kithoz kapcsolódó eljárás szerint, a HIV-1 elemzést pedig házon belül kifejlesztett RT-PCR assay-vel végeztük (1. ábra). A virális nukleinsavakat 1000 µl-es mintákból tisztítottuk 60 µl-es elúciós térfogattal.

Továbbá a kit kifejlesztése során bakteriális és virális nukleinsavakat és különböző downstream qPCR alkalmazásokat használtunk annak igazolásához, hogy az izolált nukleinsavak kompatibilisek a különböző downstream alkalmazásokkal (2. táblázat–7. táblázat, 2. ábra és 3. ábra).



1. ábra: A Virus Cellfree 1000 protokoll alkalmazásával kapott hozam, vírushígítási sorozatokat és házon belül kifejlesztett HIV-1 RNS-vírus specifikus RT-PCR assay-t használva.

Precizitás

A megfelelő downstream assay-k lineáris tartományában meghatároztuk a HIV-1 hígítási sorozatokhoz tartozó szórásokat és variációs koefficienseket (Coefficients of Variations, CV). A precizitás vizsgálatához ugyanazokat a downstream assay-eket alkalmaztuk, mint az alapteljesítmény meghatározásához (1. ábra). Az assay-k közötti precizitás adatai az 1. táblázatban láthatók. A panel minden tagja esetében 5 vagy 6 replikátum extrakcióját végeztük el a QIASymphony SP készüléken.

1. táblázat: A Virus Cellfree 1000 protokoll tesztek közötti pontossága házon belül végzett HIV-1 RNS-vírus RT-PCR assay alkalmazásával

Panel tagja	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	Szórás (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

A Complex 200, 400 és 800 protokollok reprodukálhatósága

Chlamydia trachomatis DNS-t tisztítottunk QIASymphony SP készüléken 200, 400, illetve 800 µl vizeletből, és 110 µl-ben eluáltuk. Mindegyik protokoll (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP és Complex800_V5_DSP) esetén ugyanaz a kezelő 3 külön futtatást végzett el ugyanazon a készüléken 3 különböző napon, és mindegyik futtatás 4 darab 22 mintát tartalmazó mintasorozatból állt.

2. táblázat: A Complex 200 protokoll reprodukálhatósága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

Futtatás	Mintasorozat	n	Átlag C _T	Szórás	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

Minták száma összesen = 264

Összesített átlag = 28,70

3. táblázat: A Complex 200 protokoll pontossága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

	Egy futtatáson belüli mintasorozatok között (S _{PWR})	Futtatások között (S _{BR})	Összesen (S)
Szórás	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

4. táblázat: A Complex 400 protokoll reprodukálhatósága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

Futtatás	Mintaszorozat	n	Átlag C _T	Szórás	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

Minták száma összesen = 264

Összesített átlag = 27,99

5. táblázat: A Complex 400 protokoll pontossága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

	Egy futtatáson belüli mintaszorozatok között (S _{PWR})	Futtatások között (S _{BR})	Összesen (S _r)
Szórás	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

6. táblázat: A Complex 800 protokoll reprodukálhatósága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

Futtatás	Mintaszorozat	n	Átlag C _T	Szórás	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

Minták száma összesen = 264

Összesített átlag = 26,20

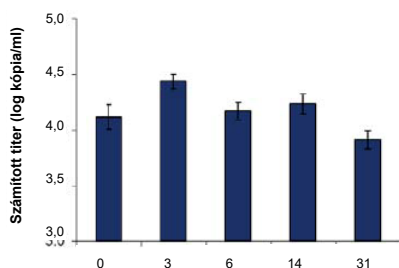
7. táblázat: A Complex 800 protokoll pontossága házon belüli *C. trachomatis* assay alkalmazásával

	Egy futtatáson belüli mintasorozatok között (S_{PWR})	Futtatások között (S_{BR})	Összesen (S_T)
Szórás	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

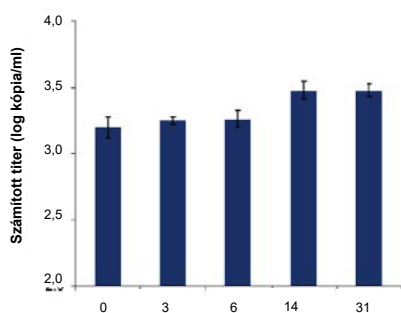
Az eluátum stabilitása

Megjegyzés: Az eluátum stabilitása több tényezőtől is nagymértékben függ, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. A QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit esetében az eluátum stabilitását downstream mintaalkalmazásokkal összefüggésben határoztuk meg. A felhasználó felelőssége, hogy kövesse a laboratóriumban használt adott alkalmazás használati útmutatóját, és/vagy a megfelelő tárolási körülmények meghatározásához a teljes munkafolyamatot validálja.

A QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit esetében az eluátum stabilitását HIV standarddal és CMV standarddal adalékolt vizeletből extrahált nukleinsav használatával határoztuk meg. A nukleinsav stabilitását HIV és CMV vírushoz házon belül kifejlesztett real-time PCR assay-ekkel határoztuk meg. Az eluátum stabilitását 2–8 °C-on nem befolyásolta a legfeljebb 1 hónap tárolási idő. Hosszú távú (24 órán túli) tárolási idők esetében azonban a tisztított nukleinsavak –20 °C-on való tárolását javasoljuk.



2. ábra: A HIV RNS stabilitása az eluátumokban. Vizeletbe oltott HIV standard anyag tisztítását végeztük el Complex 200 protokoll alkalmazásával QIAAsymphony SP készüléken. Az eluátumokat 31 napig inkubáltuk 2–8 °C-on. Detektálás céljából rendszeres időközönként HIV-vírushoz házon belül kifejlesztett real-time PCR assay-t végeztünk. Az eluátumokat 8 példányban elemeztük.



3. ábra: A CMV stabilitása az eluátumokban. Vizeletbe oltott CMV standard anyag tisztítását végeztük el Complex 200 protokoll alkalmazásával QIAAsymphony SP készüléken. Az eluátumokat 31 napig inkubáltuk 2–8 °C-on. Detektálás céljából rendszeres időközönként CMV-vírushoz házon belül kifejlesztett real-time PCR assay-t végeztünk. Az eluátumokat 8 példányban elemeztük.

Zavaró anyagok

A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kittel való mintaelőkészítés után különböző potenciálisan zavaró endogén és exogén anyagokat adalékoltunk vírusanyagot tartalmazó EDTA-s plazmához, CSF vizelethez és transzport tápközeghez (eNAT), és vizsgáltuk, milyen hatással vannak a downstream mintaassay-re. Az alábbi 8. táblázatban felsoroljuk a potenciálisan zavaró általános releváns anyagokat és a kapcsolódó vizsgált mintaanyagokat. A felsorolt és további több mint 80 potenciálisan zavaró anyag esetében nem volt megfigyelhető szignifikáns negatív hatás.

8. táblázat: A különböző mintaanyagokkal vizsgált potenciálisan zavaró anyagok

Zavaró anyagok	Plazma	Liquor	Vizelet	eNAT
Humán szérumalbumin	√		√	
Bilirubin	√		√	
Erythrociták		√	√	
Gamma-globulin	√			
gDNS	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Humán máj teljes RNS	√			
Triglicerid (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Ammóniaoldat	√			
Glükóz			√	
Nyák			√	√
Vér			√	√
Leukociták			√	√
pH 4, pH 9			√	

Megjegyzés: A „√” jel a potenciálisan zavaró adott anyag esetében vizsgált mintaanyagokat jelöli.

A potenciálisan zavaró anyagok (pl. gyógyszerek) mindegyike és a megfelelő koncentráció nagyon jellemző az adott downstream alkalmazásra és a beteg esetleges korábbi orvosi kezeléseire. Ezen downstream alkalmazások ellenőrzése során a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitek használatával vizsgálni kell ezeket a zavaró anyagokat.

Megjegyzés: Downstream mintaalkalmazásokkal vizsgálatot végeztünk az extrahált nukleinsavak minőségének kiértékelése céljából. Mivel azonban a különböző downstream alkalmazásoknál különböző követelmények lehetnek érvényben a tisztaságra vonatkozóan (potenciálisan zavaró anyagok hiánya vagy koncentrációja), a downstream alkalmazás kifejlesztésének részeként a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitet használó minden munkafolyamathoz be kell vezetni a releváns anyagok és a hozzájuk tartozó koncentráció azonosítását és vizsgálatát.

Megjegyzés: Az ISO 20186-2:2019(E) értelmében a vérvételi csövekből származó heparin befolyásolhatja az izolált nukleinsavak tisztaságát, és az eluátumba való esetleges átkerülése néhány downstream alkalmazás esetében gátlást eredményezhet. Ezért a plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-val kezelt vérminták használatát javasoljuk.

Keresztszennyeződés





A QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit keresztszennyeződése kockázatának vizsgálatához a QIAAsymphony SP készüléken 96 mintafuttatást végeztünk sakktablettaszerűen váltakozó mintasorozatok (felváltva alkalmazott pozitív és negatív minták) használatával. Modellrendszerként HIV anyaggal ($2,93E + 07$, illetve $> 1,00E + 07$ IU/ml) adalékolt humán EDTA-s plazmát és vizeletet használtunk. A minta-előkészítést a Vírus Cellfree és Pathogen Complex alkalmazásokhoz rendelkezésre álló összes protokollal elvégeztük. Az extrakciós futtatások során az eluátumok további elemzése által értékeltük a negatív plazma- és vizeletminták potenciális szennyeződését, házon belül kifejlesztett HIV-vírusspecifikus RT-PCR assay-t használva. A minták között, mintasorozatok között és futtatások között nem volt észlelhető keresztszennyeződés.

Bevitt mintamennyiség / eluátumhozam tartományai

A QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kittal végzett minta-előkészítéshez különböző mintabeviteli és elúciós térfogatok választhatók. A további részleteket a protokoll lapok tartalmazzák, amelyek a www.qiagen.com webhelyen, az adott termék oldalának termékdokumentációs lapfűlén érhetők el. A három különböző elúciós térfogat hatásának vizsgálatához korrelációs mintavizsgálatokat végeztünk HBV és HIV vírushanyaggal adalékolt EDTA-s plazmával, a Cellfree 200 és a Cellfree 1000 protokollt használva. A Cellfree 200 vagy a Cellfree 1000 protokoll és a három különböző elúciós térfogat (60, 85 és 110 μ l) kombinációival kapott eredmények nem mutatnak szignifikáns eltéréseket az RNS-vírusok és a DNS-vírusok mennyiségi meghatározása esetében.

Szimbólumok

A dokumentumban az alábbi szimbólumok fordulnak elő. A használati útmutatóban, csomagoláson és címkéken szereplő szimbólumok teljes listája a kézikönyvben található.

Szimbólum	A szimbólum jelentése
	Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	In vitro diagnosztikai orvostechikai eszköz
	Katalógusszám
Rn	Az R a használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli
	Gyártó

Átdolgozási előzmények

Átdolgozás

Leírás

R1, 2022. június

2. verzió, 1. átdolgozás

- Frissítés a 2. verzióra az IVDR-nek való megfelelés érdekében
- A Lineáris tartománnyal kapcsolatos rész áthelyezése az Alapteljesítmény és különböző downstream alkalmazásokkal való kompatibilitás című részbe
- Az eluátum stabilitása című rész kibővítése
- A Zavaró anyagok című rész hozzáadása
- A Keresztszennyeződés című rész hozzáadása
- A Bevitt mintamennyiség / eluátumhozam tartományai című rész hozzáadása
- A Szimbólumok című rész hozzáadása

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói kézikönyvében található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN csoport). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelmén kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.

