

Bruksanvisningen för QIA Symphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (prestandaegenskaper)

Version 2



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini och Midi Kit



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Prestandaegenskaper finns tillgängliga elektroniskt och kan hittas i fliken resource (resurs) på produktsidan på www.qiagen.com.

Allmän introduktion

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit är avsedda att endast användas i kombination med QIASymphony SP.

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit tillhandahåller reagenser för helautomatiserad och simultan rening av virala och bakteriella nukleinsyror. Kiten kan användas för att rena nukleinsyror från ett brett fält av DNA- och RNA-virus liksom bakterie-DNA från gramnegativa och grampositiva bakterier. Prestandaegenskaperna för varje virus- eller bakteriestam har emellertid inte fastställts, utan måste valideras av användaren.

Magnetisk partikelteknik möjliggör rening av högkvalitativa nukleinsyror som är fria från proteiner, nukleaser och andra orenheter. De renade nukleinsyrorna är klara för direkt användning i nedströmsapplikationer, till exempel amplifieringsreaktioner (PCR). QIASymphony SP utför alla steg i reningsproceduren. Upp till 96 prover, i batcher på upp till 24, bearbetas i en enda körning.

I följande visas valda prestandadata för de olika applikationerna.

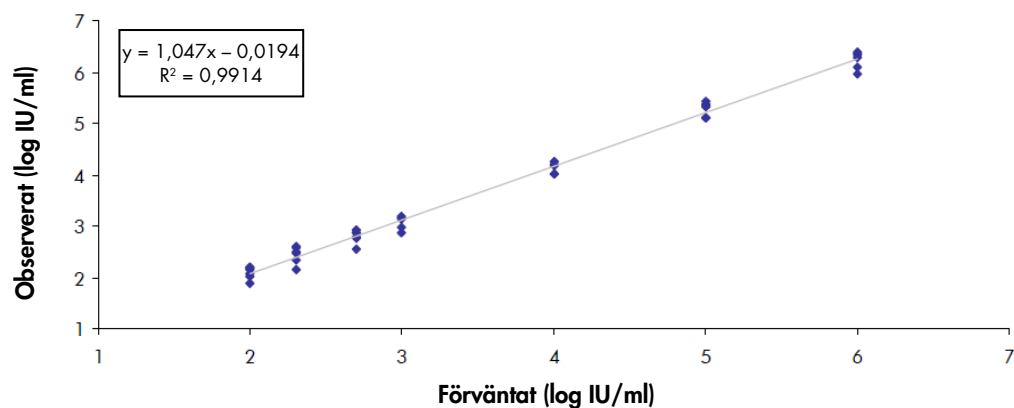
Prestandaegenskaper

Obs! Prestandaegenskaper beror i hög grad på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. De har etablerats för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i kombination med exemplariska nedströmsapplikationer. Metoder för att isolera nukleinsyror från biologiska prover används dock som inledande för flera nedströmsapplikationer. Prestandaparametrar som korskontaminering eller körprecision måste fastställas för ett sådant arbetsflöde som en del av utvecklingen av nedströmsapplikationen. Därför är det användarens ansvar att validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga prestandaparametrar.

Grundläggande prestanda och kompatibilitet med olika nedströmsapplikationer

Grundläggande prestanda för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit utvärderades med HIV-1 RNA som ett exempelvirus. Testerna utfördes med spädningar av kvantifierade viruspaneler utförda på HIV-1 negativt humant plasma. Spädningsserier med 7 olika virustitrar testades med upp till 6 replikat vardera, renades med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit-proceduren och analyserades för HIV-1 med en intern RT-PCR-analys (Figur 1). Virala nukleinsyror renades från 1 000 µl prover med en 60 µl elueringsvolym.

Vidare användes bakteriella och virala nukleinsyror och olika qPCR-nedströmsapplikationer under kitutvecklingen för att visa att de isolerade nukleinsyrorna är kompatibla med olika nedströmsapplikationer (tabell 2–tabell 7, figur 2 och figur 3).



Figur 1. Observerade avkastningar med användning av Virus Cellfree 1000-protokollet, med virala spädningsserier och en intern RT-PCR-analys för HIV-1 RNA-virus.

Precision

Standardavvikelse och variationskoefficienter (CV) fastställdes för HIV-1 spädningsserien i det linjära området för lämpliga analyser nedströms. För precisionsanalys användes samma nedströms analyser som för fastställande av grundläggande prestanda (figur 1). Precision mellan analyser visas i tabell 1. För varje panelmedlem så extraherades 5 eller 6 replikat på QIASymphony SP.

Tabell 1. Precision mellan analyser för Virus Cellfree 1000-protokollet med en intern RT-PCR-analys för HIV-1 RNA virus

Panelprov	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

Repeterbarhet för Complex 200, 400 och 800 protokollen

Chlamydia trachomatis DNA renades på QIASymphony SP från 200, 400 och 800 µl urin och eluerades i 110 µl. För varje protokoll (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP och Complex800_V5_DSP) utförde en operatör 3 individuella körningar på samma instrument under 3 olika dagar där varje körning bestod av 4 satser med 22 prover.

Tabell 2. Repeterbarhet för Komplex 200 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

Körning	Sats	n	Genomsnittlig C _T	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

Totalt antal prover = 264

Övergripande genomsnitt = 28,70

Tabell 3. Precision för Komplex 200 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

	Sats till sats inom samma körning (S _{PWR})	Körning till körning (S _{BR})	Totalt (S _t)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabell 4. Repeterbarhet för Komplex 400 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

Körning	Sats	n	Genomsnittlig C_T	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

Totalt antal prover = 264

Övergripande genomsnitt = 27,99

Tabell 5. Precision för Komplex 400 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

	Sats till sats inom samma körning (S_{PWR})	Körning till körning (S_{BR})	Totalt (S)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabell 6. Repeterbarhet för Komplex 800 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

Körning	Sats	n	Genomsnittlig C_T	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

Totalt antal prover = 264

Övergripande genomsnitt = 26,20

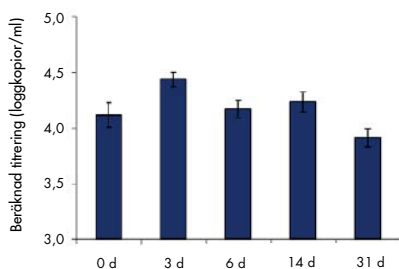
Tabell 7. Precision för Komplex 800 protokollet med en intern *C. trachomatis* analys

	Sats till sats inom samma körning (S_{PWR})	Körning till körning (S_{BR})	Totalt (S)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

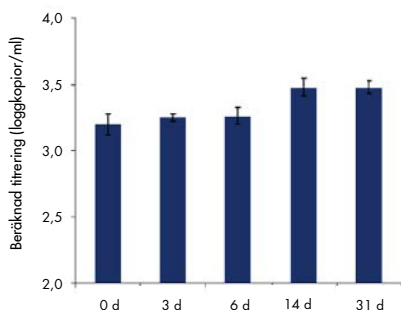
Eluatstabilitet

Obs! Eluatets stabilitet beror i hög grad på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Det har etablerats för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i kombination med exemplariska nedströmsapplikationer. Det är användarens ansvar att läsa bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i deras laboratorium och/eller validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga lagringsförhållanden.

Eluatstabilitet för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit utvärderades med hjälp av extraherad nukleinsyra från urin spetsad med HIV-standardmaterial och CMV-standardmaterial. Nukleinsyrans stabilitet bestämdes med interna real-time PCR-analyser för HIV och CMV. Eluatstabilitet vid 2–8 °C påverkades inte av lagringstiden på upp till 1 månad. För lagringstider på över 24 timmar rekommenderar vi dock att rena nukleinsyror förvaras vid –20 °C.



Figur 2. Stabilitet för HIV RNA i eluat. HIV-standardmaterial tillsatt till urin renades på QIASymphony SP med Complex 200-protokollet. Eluaten inkuberades i 31 dagar vid 2–8 °C. En intern real-time PCR-analys för HIV användes för detektion vid regelbundna tidpunkter. Eluat analyserades i replikat om 8.



Figur 3. Stabilitet för CMV i eluat. CMV-standardmaterial tillsatt till urin renades på QIASymphony SP med Complex 200-protokollet. Eluaten inkuberades i 31 dagar vid 2–8 °C. En intern real-time PCR-analys för CMV användes för detektion vid regelbundna tidpunkter. Eluat analyserades i replikat om 8.

Interfererande ämnen

Olika potentiella endogena och exogena interferenter spetsades i EDTA-plasma, CSF, urin och transportmedium (eNAT) med virusmaterial för att testa deras inverkan på exemplariska nedströms analyser efter provberedning med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Vanliga relevanta potentiella störningar och respektive testade provmaterial listas nedan i tabell 8. Ingen signifikant negativ påverkan observerades för de listade störande ämnena och över 80 ytterligare potentiella störande ämnen.

Tabell 8. Potentiella interfererande ämnen testade med olika provmaterial

Interfererande ämnen	Plasma	CSF	Urin	eNAT
(Humant serum) Albumin	√		√	
Bilirubin	√		√	
Erythrocyter		√	√	
Gammaglobulin	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobin	√			
Människolever, total RNA	√			
Triglycerid (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Heparin	√			
Ammoniaklösning	√			
Glukos			√	
Slem			√	√
Blod			√	√
Leukocyter			√	√
pH 4, pH 9			√	

Obs! "√" indikerar vilka provmaterial som testades för respektive potentiellt interfererande ämne.

Eventuella potentiellt interfererande ämne (t.ex. läkemedel) och motsvarande koncentration är mycket specifika för nedströmsapplikationen och eventuella tidigare medicinska behandlingar av en patient och måste undersökas under verifiering av sådan nedströmsapplikation med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Obs! Testning gjordes med användning av exemplifierande nedströmsapplikationer för en bedömning av kvaliteten på de extraherade nukleinsyrorna. Olika nedströmsapplikationer kan dock ha olika krav med avseende på renhet (d.v.s. frånvaro eller koncentration av potentiellt interfererande ämnen), så identifiering och testning av relevanta ämnen och respektive koncentrationer måste också fastställas som en del av utvecklingen av nedströmsapplikationer för eventuella arbetsflöde som involverar QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Obs! Enligt ISO 20186-2:2019(E) kan heparin från blodprovtagingsrör påverka renheten hos de isolerade nukleinsyrorna och eventuell överföring (carryover) till eluat kan orsaka hämningar i vissa nedströmsapplikationer. Därför rekommenderar vi användning av blodprover behandlade med EDTA eller citrat som antikoagulant för plasmaberedning.

Korskontaminering





Risken för korskontaminering av QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit analyserades genom att utföra tre 96 provkörningar på QIAasymphony SP-instrumentet med alternerande schackrutebatchar (omväxlande positiva och negativa prover). Human EDTA-plasma och urin spetsad med HIV-material ($2,93E+07$ respektive $>1,00E+07$ IU/ml) användes som modellsystem. Provberedning utfördes med alla tillgängliga protokoll (för Virus Cellfree-applikationer och patogenkomplexapplikationer). En potentiell kontaminering av de negativa plasma- och urinproverna under extraktionskörningarna utvärderades genom efterföljande analys av eluaten med användning av en intern RT-PCR-analys för HIV-virus. Ingen korskontaminering upptäcktes för överföring prov-till-prov, batch-till-batch eller körning-to-körning.

Provinmatnings-/eluatutmatningsintervall

Olika provinmatnings- och elueringsvolymerna kan väljas för provberedning med QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Se protokollbladen som finns i fliken resource (resurs) på produktsidan på www.qiagen.com för ytterligare information. Exemplariska korrelationsstudier har utförts för EDTA-plasma spetsad med HBV- och HIV-virusmaterial med användning av Cellfree 200- och Cellfree 1000-protokollen för att analysera påverkan av de tre olika elueringsvolymerna. Resultaten visar inga signifikanta skillnader i kvantifieringen av ett RNA- eller DNA-virus med användning av Cellfree 200- eller Cellfree 1000-protokollet i kombination med en av de tre olika elueringsvolymerna (60, 85 och 110 μ l).

Symboler

Följande symboler förekommer i detta dokument. Se handboken för en fullständig lista över symboler som används i bruksanvisningen eller på förpackningen och märkningen.

Symbol	Symbolförklaring
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Tillverkare

Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 2, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Uppdatera till version 2 för överensstämmelse med IVDR• Överföring av avsnittet Linjärt område till Grundläggande prestanda och kompatibilitet till olika avsnitt för nedströmsapplikationer• Förlängning av avsnittet Eluatstabilitet• Tillägg av avsnittet Interfererande ämnen• Tillägg av avsnittet Korskontaminering• Tillägg av avsnittet Provinmatnings-/eluatutmatningsintervall• Tillägg av avsnittet Symboler

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller bruksanvisning för QIAGEN-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-Group). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

