



Ιούνιος 2022

Οδηγίες χρήσης (Χαρακτηριστικά απόδοσης) για το QIAAsymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Έκδοση 2



Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με τα QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini και Midi Kit



REF

937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

R1

Το έντυπο Χαρακτηριστικά απόδοσης διατίθεται ηλεκτρονικά στην καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στη διεύθυνση www.qiagen.com.

Γενική εισαγωγή

Τα QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit προορίζονται για χρήση μόνο σε συνδυασμό με το QIASymphony SP.

Τα QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit παρέχουν αντιδραστήρια για τον πλήρως αυτοματοποιημένο και ταυτόχρονο καθαρισμό ιικών και βακτηριακών νουκλεϊκών οξέων. Τα κιτ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό νουκλεϊκών οξέων από ευρεία γκάμα DNA και RNA ιών όπως και βακτηριακού DNA από θετικά και αρνητικά κατά Gram βακτηρίδια. Εντούτοις, δεν έχουν καθιερωθεί χαρακτηριστικά απόδοσης για κάθε είδος ιού ή βακτηρίου και πρέπει να επαληθεύονται από το χρήστη.

Η τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων παρέχει τη δυνατότητα καθαρισμού νουκλεϊκών οξέων υψηλής ποιότητας που είναι ελεύθερα πρωτεϊνών, νουκλεασών και άλλων προσμείξεων. Τα καθαρισμένα νουκλεϊκά οξέα είναι έτοιμα για απευθείας χρήση σε καθοδικές εφαρμογές, όπως αντιδράσεις ενίσχυσης (PCR). Το QIASymphony SP εκτελεί όλα τα βήματα της διαδικασίας καθαρισμού. Σε μία μόνο εκτέλεση υποβάλλονται σε επεξεργασία έως και 96 δείγματα, σε παρτίδες των έως και 24.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται επιλεγμένα δεδομένα απόδοσης για τις διάφορες εφαρμογές.

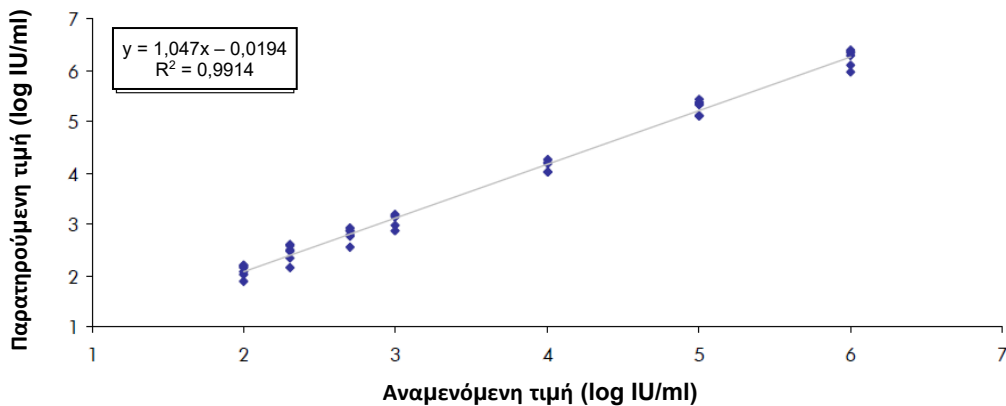
Χαρακτηριστικά απόδοσης

Σημείωση: Τα χαρακτηριστικά απόδοσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζονται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχουν προσδιοριστεί για τα QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Ωστόσο, χρησιμοποιούνται μέθοδοι για την απομόνωση των νουκλεϊκών οξέων από βιολογικά δείγματα ως front-end για πολλαπλές καθοδικές εφαρμογές. Οι παράμετροι απόδοσης, όπως διασταυρούμενη μόλυνση ή ακρίβεια ανάλυσης, πρέπει να καθοριστούν για κάθε ροή εργασιών στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής. Συνεπώς, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Βασική απόδοση και συμβατότητα με διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές

Αξιολογήθηκε η βασική απόδοση του QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit με τη χρήση του ιού HIV-1 RNA ως παράδειγμα. Οι δοκιμασίες εκτελέστηκαν με αραιώσεις ποσοτικοποιημένων σετ ιών, παρασκευασμένων σε ανθρώπινο πλάσμα αρνητικό στον HIV-1. Εξετάστηκαν οι σειρές αραιώσης με 7 διαφορετικούς τίτλους ιών με έως 6 επαναληπτικά δείγματα η καθεμία, οι οποίες υποβλήθηκαν σε καθαρισμό με τη διαδικασία του QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit και αναλύθηκαν για τον ιό HIV-1 με έναν προσδιορισμό RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας (Εικόνα 1). Τα ιικά νουκλεϊκά οξέα καθαρίστηκαν από δείγματα 1000 μl με όγκο έκλουσης 60 μl.

Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν βακτηριακά και ιικά νουκλεϊκά οξέα και διάφορες καθοδικές εφαρμογές qPCR κατά την ανάπτυξη του kit για να αποδειχθεί ότι τα απομονωμένα νουκλεϊκά οξέα είναι συμβατά με διάφορες καθοδικές εφαρμογές (Πίνακας 2–Πίνακας 7, Εικόνα 2 και Εικόνα 3).



Εικόνα 1. Παρατηρούμενες αποδόσεις με τη χρήση του πρωτοκόλλου Virus Cellfree 1000, με σειρές ιικών αραιώσεων και προσδιορισμό RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας για τον ιό HIV-1 RNA.

Ακρίβεια

Για τις σειρές αραιώσης HIV-1 στο γραμμικό εύρος των κατάλληλων καθοδικών (downstream) προσδιορισμών, καθορίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις και οι συντελεστές διακύμανσης (Coefficient of Variation, CV). Για την ανάλυση ακρίβειας, χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιοι καθοδικοί προσδιορισμοί όπως και για τον καθορισμό της βασικής απόδοσης (Εικόνα 1). Τα δεδομένα ακρίβειας μεταξύ των προσδιορισμών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Για κάθε μονάδα του σετ, εκχυλίστηκαν 5 ή 6 επαναληπτικά δείγματα στο QIASymphony SP.

Πίνακας 1. Ακρίβεια μεταξύ των προσδιορισμών του πρωτοκόλλου Virus Cellfree 1000 με χρήση προσδιορισμού RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας για τον ιό HIV-1 RNA

Μονάδα σετ	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	T. απόκλιση (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

Επαναληψιμότητα των πρωτοκόλλων Complex 200, 400 και 800

Το *Chlamydia trachomatis* DNA καθαρίστηκε στο QIASymphony SP από 200, 400 και 800 μl ούρων και υποβλήθηκε σε έκλουση με 110 μl. Για κάθε πρωτόκολλο (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP και Complex800_V5_DSP), ένας χειριστής πραγματοποίησε 3 ξεχωριστές εκτελέσεις στο ίδιο όργανο, σε 3 διαφορετικές ημέρες, όπου κάθε εκτέλεση αποτελούνταν από 4 παρτίδες 22 δειγμάτων.

Πίνακας 2. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 200 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση τιμή 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

Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264

Συνολική μέση τιμή = 28,70

Πίνακας 3. Ακρίβεια του πρωτοκόλλου Complex 200 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

	Από παρτίδα σε παρτίδα, εντός της ίδιας εκτέλεσης (S_{PWR})	Από εκτέλεση σε εκτέλεση (S_{BR})	Σύνολο (S_T)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Πίνακας 4. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 400 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση τιμή 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

Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264

Συνολική μέση τιμή = 27,99

Πίνακας 5. Ακρίβεια του πρωτοκόλλου Complex 400 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

	Από παρτίδα σε παρτίδα, εντός της ίδιας εκτέλεσης (S_{PWR})	Από εκτέλεση σε εκτέλεση (S_{BR})	Σύνολο (S_T)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Πίνακας 6. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 800 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση τιμή 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

Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264

Συνολική μέση τιμή = 26,20

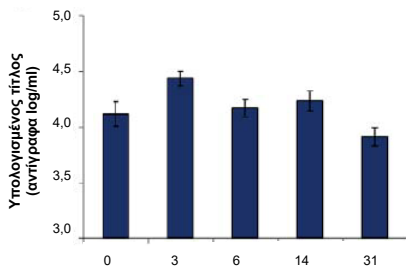
Πίνακας 7. Ακρίβεια του πρωτοκόλλου Complex 800 με τη χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

	Από παρτίδα σε παρτίδα, εντός της ίδιας εκτέλεσης (S _{PWR})	Από εκτέλεση σε εκτέλεση (S _{BR})	Σύνολο (S _T)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

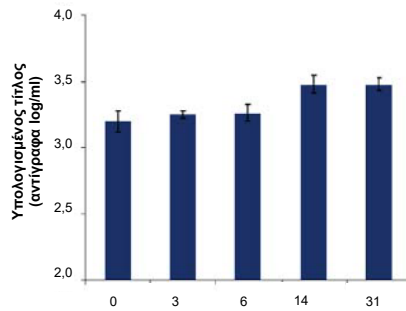
Σταθερότητα εκλουσμάτων

Σημείωση: Η σταθερότητα των εκλουσμάτων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχει προσδιοριστεί για το QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Ο χρήστης οφείλει να ανατρέξει στις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών για τον καθορισμό κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσης.

Αξιολογήθηκε η σταθερότητα εκλουσμάτων για το QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit με τη χρήση εκχυλισμένου νουκλεϊκού οξέος από ούρα που εμβολιάστηκαν με πρότυπο υλικό HIV και πρότυπο υλικό CMV. Καθορίστηκε η σταθερότητα του νουκλεϊκού οξέος με προσδιορισμούς real-time PCR στις εγκαταστάσεις μας για HIV και CMV. Η σταθερότητα των εκλουσμάτων στους 2–8 °C δεν επηρεάστηκε από τη διάρκεια της αποθήκευσης έως 1 μήνα. Ωστόσο, για χρόνους αποθήκευσης άνω των 24 ωρών, συνιστάται η αποθήκευση κεκαθαμένων νουκλεϊκών οξέων στους –20 °C.



Εικόνα 2. Σταθερότητα HIV RNA στα εκλούσματα. Το πρότυπο υλικό HIV με το οποίο εμβολιάστηκαν τα ούρα υποβλήθηκε σε καθαρισμό στο QIASymphony SP με τη χρήση του πρωτοκόλλου Complex 200. Τα εκλούσματα επώαστηκαν για 31 ημέρες στους 2–8 °C. Χρησιμοποιήθηκε σε τακτικά χρονικά σημεία προσδιορισμός real-time PCR στις εγκαταστάσεις μας για HIV. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν σε 8 επαναλήψεις.



Εικόνα 3. Σταθερότητα του CMV στα εκλούσματα. Το πρότυπο υλικό CMV με το οποίο εμβολιάστηκαν τα ούρα υποβλήθηκε σε καθαρισμό στο QIASymphony SP με τη χρήση του πρωτοκόλλου Complex 200. Τα εκλούσματα επώαστηκαν για 31 ημέρες στους 2–8 °C. Χρησιμοποιήθηκε σε τακτικά χρονικά σημεία προσδιορισμός real-time PCR στις εγκαταστάσεις μας για CMV. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν σε 8 επαναλήψεις.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Διάφορες δυνητικά παρεμβαλλόμενες ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες εμβολιάστηκαν σε πλάσμα EDTA, ENY, ούρα και μέσο μεταφοράς (eNAT) με υλικό ιού για να ελεγχθεί η επίδρασή τους σε υποδειγματικούς καθοδικούς προσδιορισμούς μετά την προετοιμασία των δειγμάτων με το QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Οι συνήθεις δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες και τα αντίστοιχα υλικά δείγματος που εξετάστηκαν παρουσιάζονται παρακάτω στον Πίνακα 8. Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική αρνητική επίδραση για τις παρεμβαλλόμενες ουσίες που αναφέρονται και για περισσότερες από 80 πρόσθετες δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες.

Πίνακας 8. Δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες που υποβλήθηκαν σε εξέταση με διαφορετικά υλικά δείγματος

Παρεμβαλλόμενες ουσίες	Πλάσμα	ENY	Ούρα	eNAT
Λευκωματίνη (ανθρώπινου ορού)	√		√	
Χολερυθρίνη	√		√	
Ερυθροκύτταρα		√	√	
Γάμμα σφαιρίνη	√			
gDNA	√	√	√	
Αιμοσφαιρίνη	√			
Ανθρώπινο συνολικό RNA ήπατος	√			
Τριγλυκερίδια (Intralipid)	√			
EDTA	√			
Ηπαρίνη	√			
Διάλυμα αμμωνίας	√			
Γλυκόζη			√	
Βλέννη			√	√
Αίμα			√	√
Λευκά αιμοσφαίρια			√	√
pH 4, pH 9			√	

Σημείωση: Το «√» υποδεικνύει τα υλικά δείγματος που εξετάστηκαν για την αντίστοιχη δυνητικά παρεμβαλλόμενη ουσία.

Κάθε δυνητικά παρεμβαλλόμενη ουσία (π.χ. φάρμακα) και η αντίστοιχη συγκέντρωση είναι ειδικές για την καθοδική εφαρμογή και οι πιθανές προηγούμενες ιατρικές θεραπείες ενός ασθενούς πρέπει να διερευνηθούν κατά την επαλήθευση αυτής της καθοδικής εφαρμογής με τη χρήση των QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Σημείωση: Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση υποδειγματικών καθοδικών εφαρμογών για αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμένων νουκλεϊκών οξέων. Ωστόσο, διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις σε ό,τι αφορά την καθαρότητα (δηλ. απουσία ή συγκέντρωση δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών) και επομένως η ταυτοποίηση και η εξέταση των σχετικών ουσιών και των αντίστοιχων συγκεντρώσεων πρέπει επίσης να καθοριστούν στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής για κάθε ροή εργασιών με τα QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

Σημείωση: Σύμφωνα με το ISO 20186-2:2019(E), η ηπαρίνη από τα σωληνάρια συλλογής αίματος μπορεί να επηρεάσει την καθαρότητα των απομονωμένων νουκλεϊκών οξέων και η πιθανή επιμόλυνση στα εκλούσματα μπορεί να προκαλέσει αναστολή σε ορισμένες καθοδικές εφαρμογές. Συνεπώς, συνιστάται η χρήση δειγμάτων αίματος που υποβάλλονται σε επεξεργασία με EDTA ή κιτρικό οξύ ως αντιπηκτικό για παρασκευή του πλάσματος.

Διασταυρούμενη μόλυνση





Ο κίνδυνος διασταυρούμενης μόλυνσης των QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit αναλύθηκε με την πραγματοποίηση τριών εκτελέσεων 96 δειγμάτων στο όργανο QIASymphony SP με παρτίδες εναλλάξ σε διάταξη τύπου σκακιέρας (θετικά και αρνητικά δείγματα εναλλάξ). Ως πρότυπο σύστημα χρησιμοποιήθηκαν ανθρώπινο πλάσμα EDTA και ούρα, τα οποία εμβολιάστηκαν με υλικό HIV ($2,93E+07$ και $>1,00E+07$ IU/ml αντίστοιχα). Η παρασκευή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση όλων των διαθέσιμων πρωτοκόλλων (για εφαρμογές Virus Cellfree και συμπλόκων παθογόνων). Η πιθανή μόλυνση των αρνητικών δειγμάτων πλάσματος και ούρων κατά τη διάρκεια των εκτελέσεων εκχύλισης αξιολογήθηκαν μέσω επακόλουθης ανάλυσης των εκλουσμάτων με τη χρήση προσδιορισμού RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας για τον ιό HIV. Δεν ανιχνεύθηκε διασταυρούμενη μόλυνση για μεταφορά από δείγμα σε δείγμα, παρτίδα σε παρτίδα ή εκτέλεση σε εκτέλεση.

Εύρος εισαγωγής δείγματος/εξαγωγής εκλούσματος

Μπορούν να επιλεγούν διαφορετικοί όγκοι εισαγωγής δείγματος και έκλουσης για παρασκευή των δειγμάτων με τη χρήση των QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Για περαιτέρω πληροφορίες, ανατρέξτε στα φύλλα πρωτοκόλλου που παρέχονται στην καρτέλα πόρων στη σελίδα του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com. Πραγματοποιήθηκαν υποδειγματικές μελέτες συσχέτισης για πλάσμα με EDTA, το οποίο εμβολιάστηκε με υλικό ιού HBV και HIV, με τη χρήση των πρωτοκόλλων Cellfree 200 και Cellfree 1000 για ανάλυση της επιρροής των τριών διαφορετικών όγκων έκλουσης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν μη σημαντικές διαφορές στην ποσοτικοποίηση ενός ιού RNA ή DNA με τη χρήση του πρωτοκόλλου Cellfree 200 ή Cellfree 1000 σε συνδυασμό με έναν από τους τρεις διαφορετικούς όγκους έκλουσης (60, 85 και 110 μ l).

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα περιλαμβάνονται στο παρόν έγγραφο. Για μια πλήρη λίστα των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και στην επισήμανση, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο.

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
Rn	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Κατασκευαστής

Ιστορικό αναθεώρησης

Αναθεώρηση

Περιγραφή

R1, Ιούνιος 2022

Έκδοση 2, Αναθεώρηση 1

- Ενημέρωση σε έκδοση 2 για συμμόρφωση με τις απαιτήσεις IVDR
- Μεταφορά ενότητας Γραμμικό εύρος στην ενότητα Βασική απόδοση και συμβατότητα με διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές
- Επέκταση της ενότητας Σταθερότητα εκλουσμάτων
- Προσθήκη της ενότητας Παρεμβαλλόμενες ουσίες
- Προσθήκη της ενότητας Διασταυρούμενη μόλυνση
- Προσθήκη της ενότητας Εύρος εισαγωγής δείγματος/εξαγωγής εκλούσματος
- Προσθήκη της ενότητας Σύμβολα

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. εγχειρίδιο του αντίστοιχου kit της QIAGEN ή το κατάλληλο εγχειρίδιο χρήσης. Τα εγχειρίδια kit και τα εγχειρίδια χρήστη της QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και εάν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

