

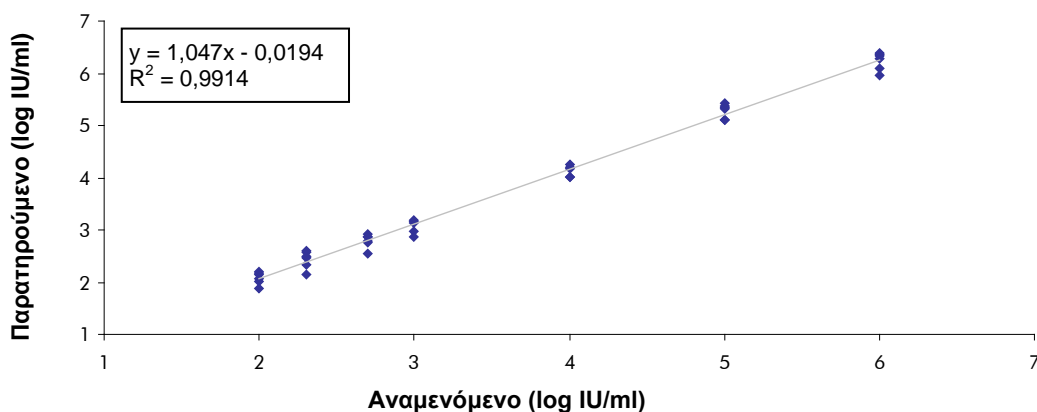
QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Τα kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen προορίζονται για χρήση μόνο σε συνδυασμό με το QIASymphony SP. Τα kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen παρέχουν αντιδραστήρια για τον πλήρως αυτοματοποιημένο και ταυτόχρονο καθαρισμό ιικών νουκλεϊκών οξέων από ορό, πλάσμα ή ENY ή ιικών νουκλεϊκών οξέων από βακτηριακό DNA προερχόμενο από διάφορα υλικά, συμπεριλαμβανομένων επιχρισμάτων, αναρροφήσεων, πτυέλων, βρογχοπνευμονικής έκπλυσης (BAL), ούρων και επιχρισμάτων του ουρογεννητικού συστήματος (τραχήλου και ουρήθρας). Τα kit 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, η απόδοση του kit δεν είναι εγγυημένη για κάθε είδος ιού ή βακτηριδίου και πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Γραμμικό εύρος

Το γραμμικό εύρος για το kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen αξιολογήθηκε με χρήση του ιού HIV-1 RNA ως παράδειγμα. Οι δοκιμασίες εκτελέστηκαν με αραιώσεις ποσοτικοποιημένων σετ ιών, παρασκευασμένων σε ανθρώπινο πλάσμα αρνητικό στον HIV-1. Οι σειρές αραιώσης με 7 διαφορετικούς τίτλους ιών ελέγχθηκαν με έως και 6 θυγατρικούς κλώνους η καθεμία. Το γραμμικό εύρος της διαδικασίας του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen καθορίστηκε για τον HIV-1 με προσδιορισμό RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας (σχήμα 1). Ιικά νουκλεϊκά οξέα καθαρίστηκαν από δείγματα των 1.000 μl με όγκο έκλουσης 60 μl.



Εικόνα 1. Γραμμικό εύρος αποδόσεων με χρήση του πρωτοκόλλου Virus Cellfree 1000. Το γραμμικό εύρος του πρωτοκόλλου Virus Cellfree προσδιορίστηκε με χρήση σειράς ιικών αραιώσεων και έναν προσδιορισμό RT-PCR στις εγκαταστάσεις μας για RNA του ιού HIV-1.



Ακρίβεια

Για τις σειρές αραίωσης HIV-1 στο γραμμικό εύρος των κατάλληλων καθοδικών (downstream) προσδιορισμών, καθορίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις και οι συντελεστές διακύμανσης (CV). Για την ανάλυση ακρίβειας, χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιοι καθοδικοί προσδιορισμοί όπως και για τον καθορισμό του γραμμικού εύρους (σχήμα 1). Τα δεδομένα ακρίβειας μεταξύ των προσδιορισμών παρατίθενται στον Πίνακα 1. Για κάθε μονάδα του σετ, εκχυλίστηκαν 5 ή 6 θυγατρικοί κλώνοι στο QIAAsymphony SP.

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

Μονάδα σετ	n	IU/ml	ΣΔ (%)	log IU/ml	TA (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	1.363	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

DNA *Chlamydia trachomatis* καθαρίστηκε στο QIAAsymphony SP από 200, 400 και 800 μl ούρων, και εκλούστηκε σε 110 μl. Για κάθε πρωτόκολλο (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP, και Complex800_V5_DSP), ένας χειριστής πραγματοποίησε 3 επιμέρους εκτελέσεις στο ίδιο όργανο, 3 διαφορετικές ημέρες, όπου κάθε εκτέλεση περιλάμβανε 4 παρτίδες των 22 δειγμάτων.

Πίνακας 1. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 200 με χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση C _T	TA	ΣΔ (%)
Εκτέλεση 1	Παρτίδα 1	22	28,74	0,32	1,10
	Παρτίδα 2	22	29,03	0,49	1,68
	Παρτίδα 3	22	29,00	0,53	1,84
	Παρτίδα 4	22	29,04	0,45	1,55
Εκτέλεση 2	Παρτίδα 1	22	28,26	0,36	1,28
	Παρτίδα 2	22	28,90	0,27	0,93
	Παρτίδα 3	22	28,84	0,26	0,91
	Παρτίδα 4	22	28,94	0,31	1,08
Εκτέλεση 3	Παρτίδα 1	22	27,87	0,39	1,40
	Παρτίδα 2	22	28,35	0,32	1,12
	Παρτίδα 3	22	28,52	0,28	0,97
	Παρτίδα 4	22	28,94	0,32	1,09
Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264					
Συνολική μέση τιμή = 28,70					

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

	Από παρτίδα σε παρτίδα, εντός της ίδιας εκτέλεσης (S _{PWR})	Από παρτίδα σε παρτίδα (S _{BR})	Σύνολο (S _T)
TA	0,46	0,26	0,53
ΣΔ (%)	1,60	0,91	1,84

Πίνακας 3. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 400 με χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση C _T	TA	ΣΔ (%)
Εκτέλεση 1	Παρτίδα 1	22	27,32	0,43	1,57
	Παρτίδα 2	22	27,35	0,37	1,37
	Παρτίδα 3	22	27,54	0,44	1,61
	Παρτίδα 4	22	27,37	0,57	2,08
Εκτέλεση 2	Παρτίδα 1	22	28,07	0,46	1,62
	Παρτίδα 2	22	28,42	0,55	1,93
	Παρτίδα 3	22	28,47	0,55	1,95
	Παρτίδα 4	22	28,61	0,32	1,11
Εκτέλεση 3	Παρτίδα 1	22	27,85	0,53	1,89
	Παρτίδα 2	22	28,60	0,44	1,53
	Παρτίδα 3	22	28,09	0,87	3,11
	Παρτίδα 4	22	28,23	0,35	1,24
Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264					
Συνολική μέση τιμή = 27,99					

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

	Από παρτίδα σε παρτίδα, εντός της ίδιας εκτέλεσης (S _{PWR})	Από παρτίδα σε παρτίδα (S _{BR})	Σύνολο (S _T)
TA	0,51	0,52	0,73
ΣΔ (%)	1,83	1,87	2,62

Πίνακας 3. Επαναληψιμότητα του πρωτοκόλλου Complex 800 με χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

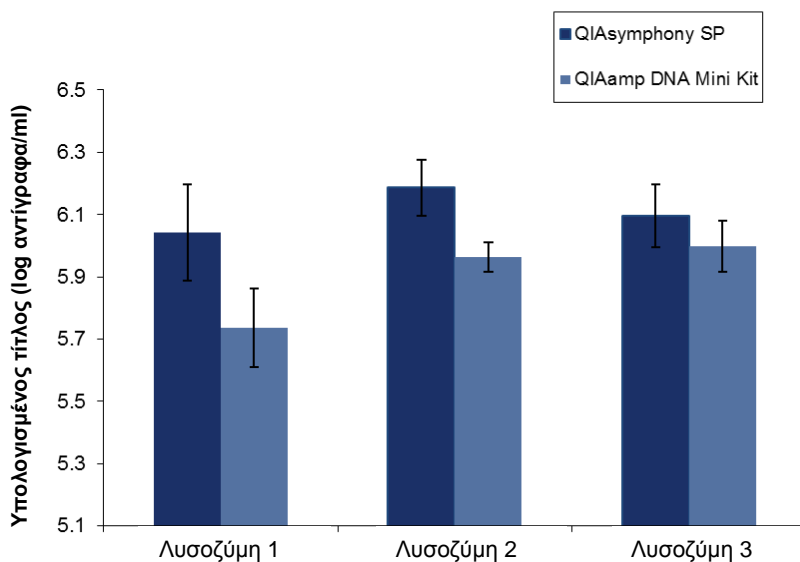
Εκτέλεση	Παρτίδα	n	Μέση C _T	TA	ΣΔ (%)
Εκτέλεση 1	Παρτίδα 1	22	26,04	0,34	1,32
	Παρτίδα 2	22	26,07	0,43	1,66
	Παρτίδα 3	22	26,81	0,47	1,76
	Παρτίδα 4	22	26,10	0,41	1,59
Εκτέλεση 2	Παρτίδα 1	22	26,17	0,29	1,10
	Παρτίδα 2	22	26,35	0,43	1,65
	Παρτίδα 3	22	26,11	0,34	1,31
	Παρτίδα 4	22	26,15	0,37	1,41
Εκτέλεση 3	Παρτίδα 1	22	26,05	0,33	1,25
	Παρτίδα 2	22	26,32	0,54	2,04
	Παρτίδα 3	22	25,72	0,41	1,60
	Παρτίδα 4	22	26,59	0,48	1,81
Συνολικός αριθμός δειγμάτων = 264					
Συνολική μέση τιμή = 26,20					

Πίνακας 4. Ακρίβεια του πρωτοκόλλου Complex 800 με χρήση προσδιορισμού *C. trachomatis* στις εγκαταστάσεις μας

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

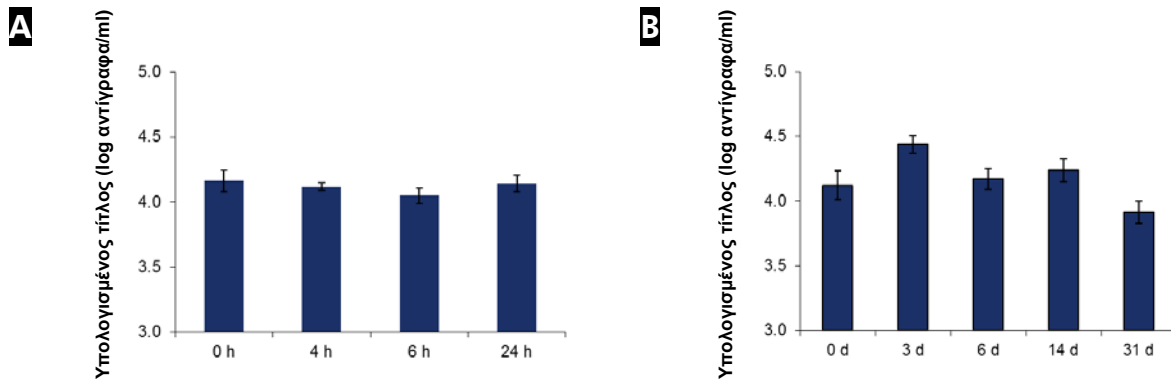
Προκαταρκτική επεξεργασία ιξωδών δειγμάτων και λύση θετικών κατά Gram βακτηρίων

Δείγματα σιέλου εμβολιάστηκαν με καθορισμένους όγκους εναιωρήματος καλλιέργειας *Mycobacterium tuberculosis*. Τα δείγματα συνδυάστηκαν με Sputasol σε αναλογία 1:1 για να υγροποιηθούν, και στη συνέχεια επωάστηκαν στους 37°C για 30 λεπτά. Υποπολλαπλάσια (1 ml) του υγροποιημένου δείγματος φυγοκεντρίστηκαν στα 5.000 x g για 10 λεπτά. Τα σφαιρίδια επανεναιωρήθηκαν σε διάλυμα λυσοζύμης (500 μl) και επωάστηκαν στους 37°C για 30 λεπτά. Χρησιμοποιήθηκαν τρία διαλύματα λυσοζύμης, που το καθένα περιείχε 1 από 3 διαφορετικές παρτίδες λυσοζύμης. DNA *M. tuberculosis* καθαρίστηκε από αυτά τα επεξεργασμένα με λυσοζύμη δείγματα (200 μl) χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο Complex 200 στο QIAasymphony SP ή χειροκίνητα χρησιμοποιώντας το κιτ QIAamp DNA Mini. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας έναν προσδιορισμό PCR πραγματικού χρόνου για *M. tuberculosis* στις εγκαταστάσεις μας.

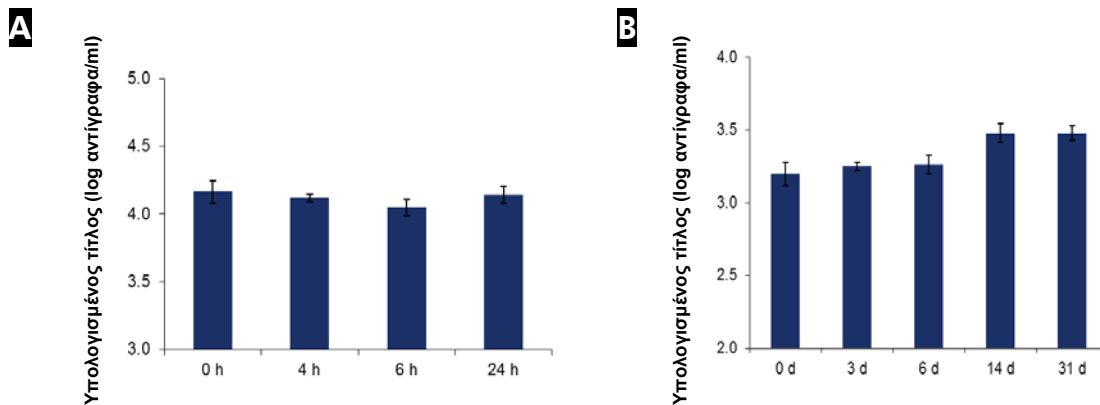


Εικόνα 2. Προκαταρκτική επεξεργασία ιξωδών δειγμάτων και λύση θετικών κατά Gram βακτηρίων.

Σταθερότητα εκλούσματος



Εικόνα 3. Σταθερότητα του HIV RNA σε εκλούσματα. Πρότυπο υλικό HIV εμβολιασμένο σε ούρα καθαρίστηκε στο QIAsymphony SP με χρήση του πρωτοκόλλου Complex 200. Τα εκλούσματα επώαστηκαν **A** για 24 ώρες στους 37°C, και **B** για 31 ημέρες στους 5°C. Ένας προσδιορισμός PCR πραγματικού χρόνου για HIV στις εγκαταστάσεις μας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση σε τακτά χρονικά σημεία. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν σε θυγατρικούς κλώνους των 8.



Εικόνα 4. Σταθερότητα του CMV σε εκλούσματα. Πρότυπο υλικό CMV εμβολιασμένο σε ούρα καθαρίστηκε στο QIAsymphony SP με χρήση του πρωτοκόλλου Complex 200. Τα εκλούσματα επώαστηκαν **A** για 24 ώρες στους 37°C και **B** για 31 ημέρες στους 5°C. Ένας προσδιορισμός PCR πραγματικού χρόνου για CMV στις εγκαταστάσεις μας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση σε τακτά χρονικά σημεία. Τα εκλούσματα αναλύθηκαν σε θυγατρικούς κλώνους των 8.

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Τα εγχειρίδια και οι οδηγίες χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στη διεύθυνση www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από τις τεχνικές υπηρεσίες της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group).
Ιούλιος-11 © 2011 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

www.qiagen.com
Australia ■ 1-800-243-800
Austria ■ 0800/281010
Belgium ■ 0800-79612
Canada ■ 800-572-9613
China ■ 021-51345678
Denmark ■ 80-885945
Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930
Germany ■ 02103-29-12000
Hong Kong ■ 800 933 965
Ireland ■ 1800 555 049
Italy ■ 800 787980
Japan ■ 03-5547-0811
Korea (South) ■ 1544 7145
Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592
Norway ■ 800-18859
Singapore ■ 65-67775366
Spain ■ 91-630-7050
Sweden ■ 020-790282
Switzerland ■ 055-254-22-11
UK ■ 01293-422-911
USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies