



2022 年 6 月

QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Kit 使用说明 (性能特点)

第 2 版

IVD

供体外诊断使用

用于 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit 和 Midi Kit



REF

937036、937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, 德国

R1

性能特点有电子版，可以在 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下找到。

一般说明

QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 旨在仅配合 QIAasymphony SP 使用。

QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 为病毒和细菌核酸的全自动同时纯化提供试剂。这些试剂盒可用于从各种 DNA 和 RNA 病毒中纯化核酸以及从革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌中纯化细菌 DNA。但对每种病毒或细菌的性能特点尚未得到确定，必须由用户验证。

磁粉技术支持对没有蛋白、核酸酶和其他杂质的高质量核酸进行纯化。纯化核酸可随时直接用于下游应用，例如扩增反应 (PCR)。QIAasymphony SP 执行纯化操作程序的所有步骤。一次运行最多以 24 批次处理最多 96 份样本。

下面显示了不同应用的选定性能数据。

性能特点

提示：性能特点高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 可与示例性下游应用联用。然而，从生物标本中分离核酸的方法是各种下游应用的前端。作为下游应用开发的一部分，任何此类工作流都需要建立性能参数，例如交叉污染或运行精度。因此，用户有责任验证整个工作流，以确立适合的性能参数。

基本性能以及与不同下游应用的兼容性

使用 HIV-1 RNA 作为示例病毒，评价了 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 的基本性能。这些测试是用在 HIV-1 阴性人血浆中制备的定量病毒 panel 的稀释液进行的。对具有 7 种不同病毒滴度的系列稀释液各使用最多 6 份重复样本进行了测试，使用 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 流程步骤进行纯化，然后使用内部 RT-PCR 检测分析 HIV-1 (图 1)。从 1000 μ l 样本中纯化病毒核酸，洗脱体积为 60 μ l。

此外，在试剂盒开发过程中利用了细菌和病毒核酸以及不同的 qPCR 下游应用，以证明分离的核酸与不同下游应用兼容（表 2-表 7，图 2 和图 3）。

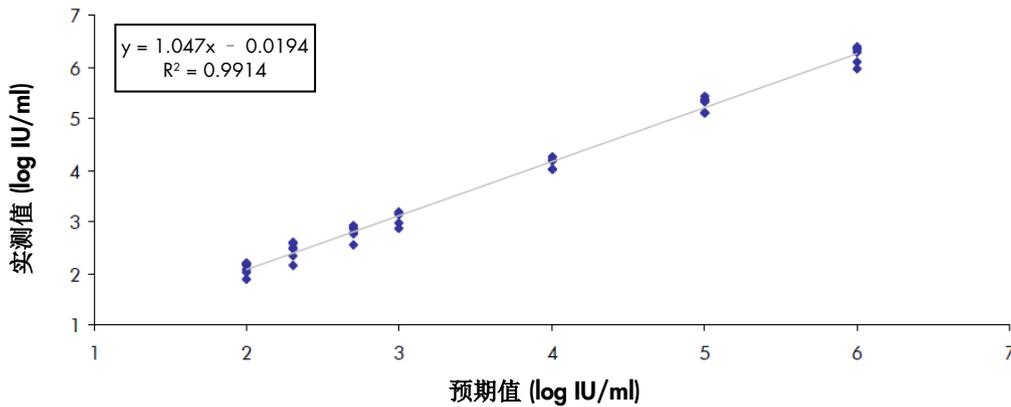


图 1.使用 Virus Cellfree 1000 方案、病毒系列稀释液以及针对 HIV-1 RNA 病毒的内部 RT-PCR 检测观察到的产量。

精度

在适当下游检测的线性范围内测定 HIV-1 系列稀释液的标准差和变异系数 (Coefficients of Variation, CV)。对于精度分析，使用了与确定基本性能时相同的下游检测（图 1）。表 1 中显示了检测批间精确性数据。对于每个 panel 成员，在 QIAasymphony SP 上对 5 或 6 份重复样本进行了提取。

表 1.使用针对 HIV-1 RNA 病毒的内部 RT-PCR 检测确定 Virus Cellfree 1000 方案的检测批间精确性

| Panel 成员 | 编号 | 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 |

Complex 200、400 和 800 方案的可重复性

在 QIAasymphony SP 上从 200、400 和 800 μ l 尿液中纯化 *Chlamydia trachomatis* DNA，并在 110 μ l 中洗脱。对于每种方案（Complex200_V5_DSP、Complex400_V3_DSP 和 Complex800_V5_DSP），一名操作员在同一台仪器上在 3 个不同的日期进行 3 次单独运行，其中每次运行由 4 个批次 22 份样本组成。

表 2.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 200 方案的可重复性

| 运行 | Batch (批次) | 编号 | 均值 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 |

样本总数 = 264

总体均值 = 28.70

表 3.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 200 方案的精度

| | 同一运行中的批次间 (S _{PWR}) | 运行间 (S _{BR}) | 总计 (S _t) |
|--------|-------------------------------|------------------------|----------------------|
| SD | 0.46 | 0.26 | 0.53 |
| CV (%) | 1.60 | 0.91 | 1.84 |

表 4.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 400 方案的可重复性

| 运行 | Batch (批次) | 编号 | 均值 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 |

样本总数 = 264

总体均值 = 27.99

表 5.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 400 方案的精度

| | 同一运行中的批次间 (S _{PWR}) | 运行间 (S _{BR}) | 总计 (S _t) |
|--------|-------------------------------|------------------------|----------------------|
| SD | 0.51 | 0.52 | 0.73 |
| CV (%) | 1.83 | 1.87 | 2.62 |

表 6.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 800 方案的可重复性

| 运行 | Batch (批次) | 编号 | 均值 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 |
| 样本总数 = 264 | | | | | |
| 总体均值 = 26.20 | | | | | |

表 7.使用 *C. trachomatis* 内部检测确定 Complex 800 方案的精度

| | 同一运行中的批次间 (S _{PWR}) | 运行间 (S _{BR}) | 总计 (S _t) |
|--------|-------------------------------|------------------------|----------------------|
| SD | 0.46 | 0.00 | 1.76 |
| CV (%) | 0.46 | 0.00 | 1.76 |

洗脱液稳定性

提示: 洗脱液稳定性高度依赖于各种因素，并与特定的下游应用相关。QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 可与示例性下游应用联用。用户应负责查阅在其实验室中使用的特定下游应用的使用说明和/或验证整个工作流程，以建立适当的存储条件。

使用从掺有 HIV 标准材料和 CMV 标准材料的尿液中提取的核酸，评价了 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 的洗脱液稳定性。通过针对 HIV 和 CMV 的内部 real-time PCR 检测来确定核酸的稳定性。在 2-8° C 的温度下，洗脱液稳定性不受存储期时长（最长为 1 个月）的影响。但是，如果存储时间超过 24 小时，我们建议在 -20° C 下储存纯化的核酸。

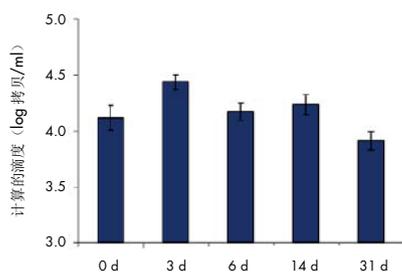


图 2. HIV RNA 在洗脱液中的稳定性。使用 Complex 200 方案在 QIAAsymphony SP 上纯化尿液中掺入的 HIV 标准材料。洗脱液在 2-8° C 下孵育 31 天。使用针对 HIV 的内部 real-time PCR 检测进行定期检测。以 8 份复制品来分析洗脱液。

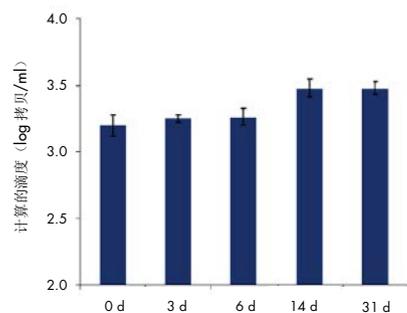


图 3. CMV 在洗脱液中的稳定性。使用 Complex 200 方案在 QIAAsymphony SP 上纯化尿液中掺入的 CMV 标准材料。洗脱液在 2-8° C 下孵育 31 天。使用针对 CMV 的内部 real-time PCR 检测进行定期检测。以 8 份复制品来分析洗脱液。

干扰性物质

使用 QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit 完成样本制备后，在包含病毒材料的 EDTA 血浆、CSF、尿液和运送培养基 (eNAT) 中掺入不同的潜在内源性和外源性干扰物，以检测它们对示例性下游检测的影响。下面的表 8 列出了常见的相关潜在干扰物和相应的测试样本材料。对于所列干扰物和 80 多种其他潜在干扰物，未观察到显著的负面影响。

表 8.使用不同样本材料测试的潜在干扰性物质

| 干扰性物质 | 血浆 | CSF | 尿液 | eNAT |
|-------------------|----|-----|----|------|
| (人血清) 白蛋白 | ✓ | | ✓ | |
| 胆红素 | ✓ | | ✓ | |
| 红细胞 | | ✓ | ✓ | |
| 丙种球蛋白 | ✓ | | | |
| 基因组 DNA | ✓ | ✓ | ✓ | |
| 血红蛋白 | ✓ | | | |
| 人肝总 RNA | ✓ | | | |
| 甘油三酯 (Intralipid) | ✓ | | | |
| EDTA | ✓ | | | |
| 肝素 | ✓ | | | |
| 氨水 | ✓ | | | |
| 葡萄糖 | | | ✓ | |
| 黏液 | | | ✓ | ✓ |
| 血液 | | | ✓ | ✓ |
| 白细胞 | | | ✓ | ✓ |
| pH 4, pH 9 | | | ✓ | |

提示：“✓”表示针对相应的潜在干扰性物质检测了哪些样本材料。

任何潜在的干扰性物质（例如药物）及相应浓度都与下游应用和患者之前可能接受的医学治疗具有高度特异性，在使用 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit 验证此类下游应用期间需要对此进行调查。

提示：使用下游应用示例进行测试，以评估核酸提取质量。然而，不同的下游应用可能对纯度可能有不同的要求（例如，无潜在干扰性物质或潜在干扰性物质的浓度），因此作为下游应用开发的一部分，涉及 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit 的任何工作流都需要进行相关物质及各自浓度的鉴定和测试。

提示：根据 ISO 20186-2:2019(E)，采血管中的肝素可能会影响分离的核酸纯度，并且可能残留到洗脱液中，从而在某些下游应用中产生抑制作用。因此，我们建议使用经 EDTA 或枸橼酸盐作为抗凝剂处理的血样进行血浆制备。

交叉污染

通过在 QIAasymphony SP 仪器上使用批次纵横交替（阳性和阴性样本交替）执行 3 次 96 个样本运行来分析 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 交叉污染的风险。使用掺有 HIV 材料的人 EDTA 血浆和尿液（分别为 $2.93E+07$ 和 $>1.00E+07$ IU/ml）作为模型系统。使用所有可用的方案（用于无细胞病毒和病原体 Complex 应用）进行样本制备。通过使用针对 HIV 病毒的内部 RT-PCR 检测对洗脱液进行后续分析，评价了阴性血浆和尿液样本在提取过程中的潜在污染。未检测到样本间、批次间或运行间存在交叉污染。

样本输入/洗脱液输出范围

可以使用 QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit 选择不同的样本输入和洗脱体积进行样本制备。有关更多详细信息，请参阅 www.qiagen.com 产品页面的“资源”标签下提供的方案书。已经使用 Cellfree 200 和 Cellfree 1000 方案对掺有 HBV 和 HIV 病毒材料的 EDTA 血浆进行了示例性相关研究，以分析三种不同洗脱体积的影响。结果显示，使用 Cellfree 200 或 Cellfree 1000 方案并结合三种不同洗脱体积（60、85 和 110 μ l）之一进行 RNA 或 DNA 病毒纯化的定量结果没有显著差异。

符号

本文档中出现了以下符号。有关使用说明或包装和标签上所用符号的完整列表，请参阅手册。

| 符号 | 符号定义 |
|---|------------------------------------|
|  | 本产品符合体外诊断医疗器械法规 (EU) 2017/746 的要求。 |
|  | 体外诊断医疗器械 |
|  | 目录编号 |
| Rn | R 表示使用说明为修订版，n 为修订版本号 |
|  | 制造商 |

修订历史

修订版本

说明

R1, 2022 年 6 月

第 2 版, 修订 1

- 更新到第 2 版以符合 IVDR
- 将“线性范围”章节调换为“基本性能以及与不同下游应用的兼容性”章节
- 对“洗脱液稳定性”章节进行了扩展
- 增加了“干扰性物质”章节
- 增加了“交叉污染”章节
- 增加了“样本输入/洗脱液输出范围”章节
- 增加了“符号”章节

有关最新许可信息以及产品特定免责声明, 请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 www.qiagen.com 或 QIAGEN 技术服务部门以及您当地的经销商处获得。

商标: QIAGEN®、Sample to Insight®、QIAsymphony® (QIAGEN 集团)。本文中使用的注册名称、商标等, 甚至在没有专门如此标记时, 也不得视为不受法律保护。
06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, 保留所有权利。

