

Kit QIASymphony® DSP Virus/Pathogen

Les kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen sont prévus exclusivement pour une utilisation sur QIASymphony SP. Ils fournissent les réactifs nécessaires à une purification entièrement automatisée et simultanée d'acides nucléiques viraux provenant de sérum, de plasma ou de liquide céphalorachidien ou d'acides nucléiques viraux et d'ADN bactérien issus de divers échantillons tels que des échantillons respiratoires (écouvillonnage, aspiration, expectorations, lavage bronchoalvéolaire (LBA)), des échantillons d'urine et des échantillons urogénitaux (écouvillonnage cervical ou urétral). Les kits peuvent être utilisés pour purifier les acides nucléiques d'un très grand nombre de virus à ADN et à ARN ainsi que l'ADN de bactéries Gram négatif ou Gram positif. Cependant, la performance du kit n'est pas garantie pour chaque espèce de virus ou de bactérie et doit être validée par l'utilisateur.

Caractéristiques de performance

Plage linéaire

La plage linéaire du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen a été évaluée en utilisant l'ARN du VIH-1 comme exemple de virus. Les tests ont été effectués avec des dilutions de panels de virus quantifiés réalisées dans du plasma humain non porteur du VIH-1. Des séries de dilutions avec 7 titres de virus différents ont été testées avec 6 réplicats chacune. La plage linéaire de la procédure du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen a été déterminée pour le VIH-1 avec un test de RT-PCR interne (Figure 1). Les acides nucléiques viraux ont été purifiés à partir d'échantillons de 1000 µl avec un volume d'élution de 60 µl.

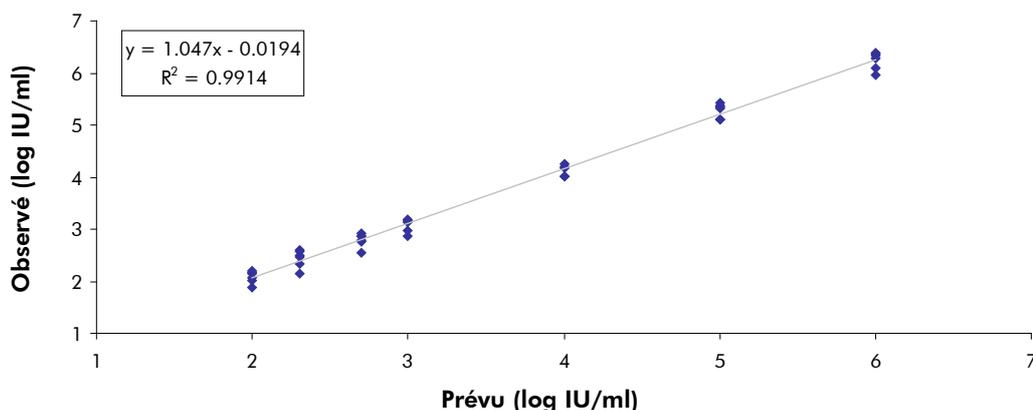


Figure 1. Plage linéaire des rendements avec le protocole Virus Cellfree 1000. La plage linéaire du protocole Virus Cellfree a été déterminée en utilisant des séries de dilutions virales et un test de RT-PCR interne spécifique au virus à ARN VIH-1.



Précision

Des écarts types et des coefficients de variations (CV) standard ont été déterminés pour les séries de dilutions du VIH-1, dans la plage linéaire des analyses en aval appropriées. Pour plus de précision, on a utilisé les mêmes analyses en aval que pour la détermination de la plage linéaire (Figure 1). Les données de précision inter-essai sont présentées dans le Tableau 1. Pour chaque élément du panel, 5 ou 6 réplicats ont été extraits sur le QIAAsymphony SP.

Tableau 1. Précision inter-essai du protocole Virus Cellfree 1000 en utilisant un test de RT-PCR interne spécifique au virus à ARN VIH-1

Élément du panel	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	SD (log IU/ml)
1	6	1835700	30,04	6,24	0,15
2	6	199931	26,99	5,28	0,13
3	5	13785	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

Répétabilité des protocoles Complex 200, 400 et 800

L'ADN de l'espèce *Chlamydia trachomatis* a été purifié sur le QIAAsymphony SP en utilisant 200, 400 et 800 μ l d'urine, et a été élué dans un volume de 110 μ l. Pour chaque protocole (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP et Complex800_V5_DSP), un seul opérateur a effectué 3 cycles individuels sur le même appareil, sur 3 jours différents, chaque cycle comprenant 4 lots de 22 échantillons.

Tableau 1. Répétabilité du protocole Complex 200 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

Cycle	Lot	n	Moyenne		
			C_T	SD	CV (%)
Cycle 1	Lot 1	22	28,74	0,32	1,10
	Lot 2	22	29,03	0,49	1,68
	Lot 3	22	29,00	0,53	1,84
	Lot 4	22	29,04	0,45	1,55
Cycle 2	Lot 1	22	28,26	0,36	1,28
	Lot 2	22	28,90	0,27	0,93
	Lot 3	22	28,84	0,26	0,91
	Lot 4	22	28,94	0,31	1,08
Cycle 3	Lot 1	22	27,87	0,39	1,40
	Lot 2	22	28,35	0,32	1,12
	Lot 3	22	28,52	0,28	0,97
	Lot 4	22	28,94	0,32	1,09
Nombre total d'échantillons = 264					
Moyenne = 28,70					

Tableau 2. Précision du protocole Complex 200 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

	Lot à lot au cours d'un même cycle		
	(S_{PWR})	Lot à lot (S_{BR})	Total (S_t)
SD	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tableau 3. Répétabilité du protocole Complex 400 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

Cycle	Lot	n	Moyenne		
			C_T	SD	CV (%)
Cycle 1	Lot 1	22	27,32	0,43	1,57
	Lot 2	22	27,35	0,37	1,37
	Lot 3	22	27,54	0,44	1,61
	Lot 4	22	27,37	0,57	2,08
Cycle 2	Lot 1	22	28,07	0,46	1,62
	Lot 2	22	28,42	0,55	1,93
	Lot 3	22	28,47	0,55	1,95
	Lot 4	22	28,61	0,32	1,11
Cycle 3	Lot 1	22	27,85	0,53	1,89
	Lot 2	22	28,60	0,44	1,53
	Lot 3	22	28,09	0,87	3,11
	Lot 4	22	28,23	0,35	1,24
Nombre total d'échantillons = 264					
Moyenne = 27,99					

Tableau 4. Précision du protocole Complex 400 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

	Lot à lot au cours d'un même cycle (S_{PWR})	Lot à lot (S_{BR})	Total (S_t)
SD	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tableau 3. Répétabilité du protocole Complex 800 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

Cycle	Lot	n	Moyenne		
			C_T	SD	CV (%)
Cycle 1	Lot 1	22	26,04	0,34	1,32
	Lot 2	22	26,07	0,43	1,66
	Lot 3	22	26,81	0,47	1,76
	Lot 4	22	26,10	0,41	1,59
Cycle 2	Lot 1	22	26,17	0,29	1,10
	Lot 2	22	26,35	0,43	1,65
	Lot 3	22	26,11	0,34	1,31
	Lot 4	22	26,15	0,37	1,41
Cycle 3	Lot 1	22	26,05	0,33	1,25
	Lot 2	22	26,32	0,54	2,04
	Lot 3	22	25,72	0,41	1,60
	Lot 4	22	26,59	0,48	1,81
Nombre total d'échantillons = 264					
Moyenne = 26,20					

Tableau 4. Précision du protocole Complex 800 avec un test interne spécifique à *C. trachomatis*

	Lot à lot au cours d'un même cycle		
	(S_{PWR})	Lot à lot (S_{BR})	Total (S_t)
SD	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

Prétraitement des échantillons visqueux et lyse des bactéries à Gram positif

Les échantillons d'expectorations sont inoculés avec des volumes définis d'une culture de *Mycobacterium tuberculosis* en suspension. Les échantillons sont mélangés à du Sputasol dans le rapport 1:1 pour être fluidifiés, puis incubés à 37 °C pendant 30 minutes. Des fractions aliquotes (1 ml) d'échantillon fluidifié sont centrifugées à 5 000 x g pendant 10 minutes. Les culots sont remis en suspension dans une solution de lysozyme (500 µl) et incubés à 37 °C pendant 30 minutes. Trois solutions de lysozyme, chacune contenant 1 des 3 différents lots de lysozyme, ont été utilisées. L'ADN de *M. tuberculosis* DNA a été purifié à partir de ces échantillons traités par le lysozyme (200 µl), en appliquant le protocole Complex 200 sur le QIAasymphony SP ou manuellement en utilisant le kit QIAamp DNA Mini. Les éluats ont été analysés en utilisant un test interne de PCR en temps réel spécifique à l'espèce *M. tuberculosis*.

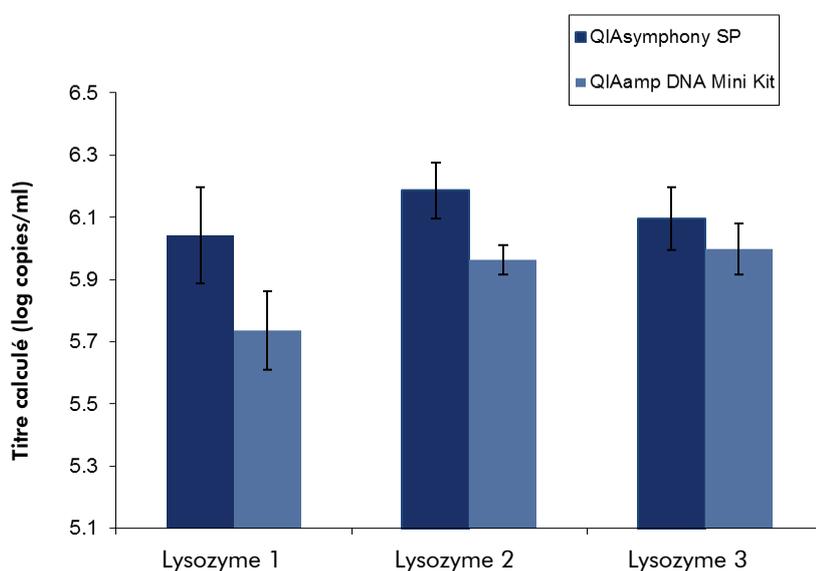


Figure 2. Prétraitement d'échantillon visqueux et lyse des bactéries à Gram positif.

Stabilité de l'éluat

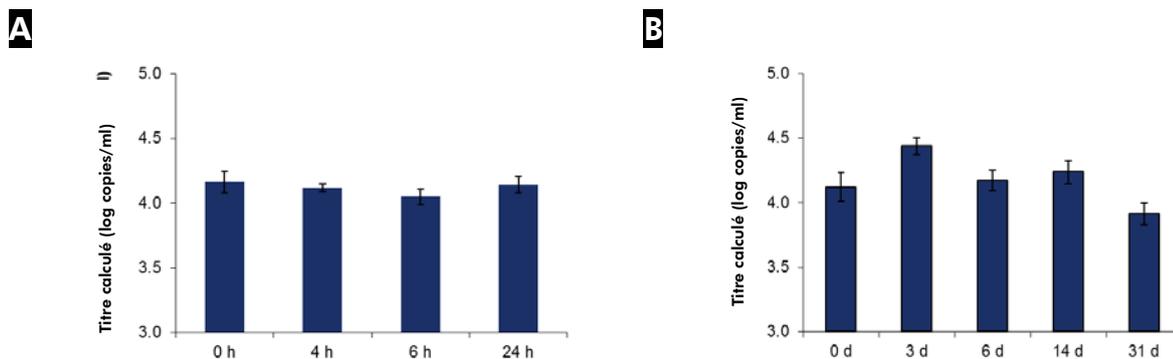


Figure 3. Stabilité de l'ARN du VIH dans les éluats. Une matière standard de VIH inoculée dans de l'urine a été purifiée sur le QIAAsymphony SP avec le protocole Complex 200. Les éluats ont été incubés **A** pendant 24 heures à 37 °C et **B** pendant 31 jours à 5 °C. Un test interne de PCR en temps réel spécifique au VIH a été utilisé pour la détection à des intervalles de temps réguliers. Les éluats ont été analysés en réplicats de 8.

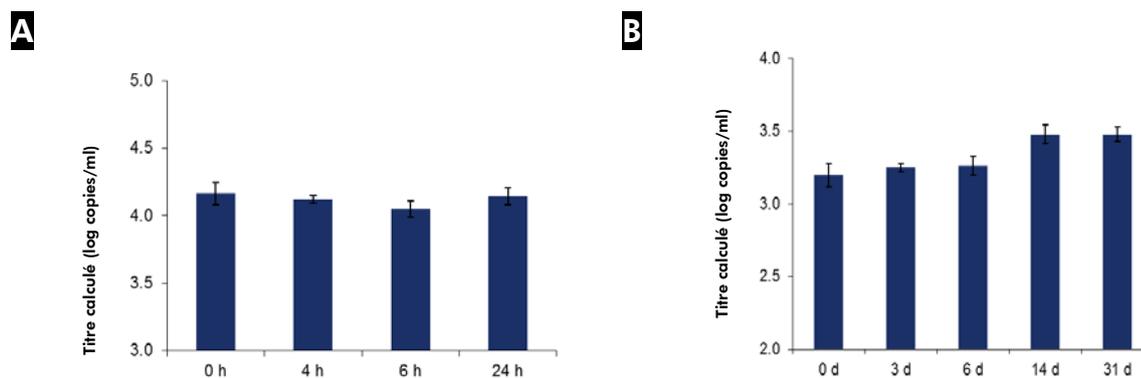


Figure 4. Stabilité du CMV dans les éluats. Une matière standard de CMV inoculée dans de l'urine a été purifiée sur le QIAAsymphony SP avec le protocole Complex 200. Les éluats ont été incubés **A** pendant 24 heures à 37 °C et **B** pendant 31 jours à 5 °C. Un test interne de PCR en temps réel spécifique au CMV a été utilisé pour la détection à des intervalles de temps réguliers. Les éluats ont été analysés en réplicats de 8.

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN respectif. Les manuels des kits QIAGEN et les manuels d'utilisation sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques de QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, QIASymphony® (Groupe QIAGEN).
Juillet-11 © 2011 QIAGEN, tous droits réservés.

www.qiagen.com	France = 01-60-920-930	The Netherlands = 0800 0229592
Australia = 1-800-243-800	Germany = 02103-29-12000	Norway = 800-18859
Austria = 0800/281010	Hong Kong = 800 933 965	Singapore = 65-67775366
Belgium = 0800-79612	Ireland = 1800 555 049	Spain = 91-630-7050
Canada = 800-572-9613	Italy = 800 787980	Sweden = 020-790282
China = 021-51345678	Japan = 03-5547-0811	Switzerland = 055-254-22-11
Denmark = 80-885945	Korea (South) = 1544 7145	UK = 01293-422-911
