

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit

Návod k použití (Charakteristika funkčních vlastností)

Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se sadou QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Německo

R1

Charakteristika funkčních vlastností je k dispozici v elektronické podobě a lze ji nalézt pod kartou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com

Obsah

Obecný úvod	3
Charakteristika funkčních vlastností	4
Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými následnými aplikacemi	4
Rozsah vstupu alikvotu / výstupu eluátu	5
Přesnost	5
Stabilita eluátů	6
Křížová kontaminace	7
Symboly	8
Historie revizí dokumentu	9

Obecný úvod

Sada QIAamp® DSP Virus Spin Kit je určena k manuální nebo, při použití ve spojení s přístrojem QIAcube® Connect MDx, k automatizované izolaci a purifikaci virových nukleových kyselin ze vzorků lidské plazmy a séra. Sada QIAamp DSP Virus Spin Kit využívá technologii silikátové membrány (technologie QIAamp) k izolaci a purifikaci virových nukleových kyselin ze vzorků lidské plazmy a séra.

Postup QIAamp DSP Virus Spin obsahuje 4 kroky (lýza, vázání, promývání, eluce) a provádí se pomocí kolon QIAamp MinElute® na standardní mikrocentrifuze nebo automaticky na přístroji QIAcube Connect MDx. Postup je navržen k minimalizaci potenciální zkřížené kontaminace mezi alikvoty a tak, aby umožnil bezpečné zacházení s potenciálně infekčními alikvoty. Jednoduchý postup QIAamp DSP Virus Spin je vhodný pro simultánní zpracování několika vzorků. Sadu QIAamp DSP Virus Spin Kit lze použít pro izolaci virové RNA a DNA z široké řady RNA a DNA virů.

V následujícím textu jsou uvedena data o vybraných funkčních vlastnostech pro různé aplikace.

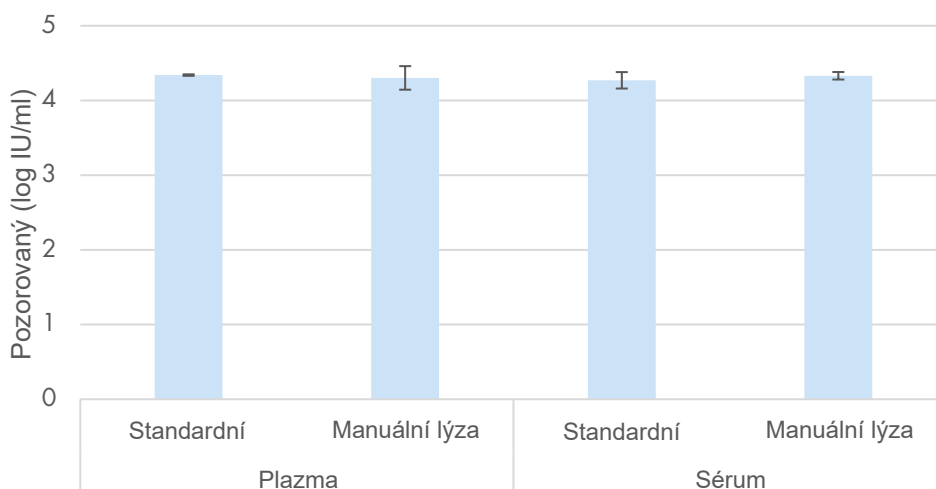
Charakteristika funkčních vlastností

Poznámka: Charakteristika funkčních vlastností je ve velké míře závislá na různých faktorech a souvisí s druhem viru a konkrétní následnou aplikací. Charakteristika funkčních vlastností byla stanovena pro sadu QIAamp DSP Virus Spin Kit ve spojení s příkladnými druhy virů a modelovými následnými aplikacemi. Metody izolace nukleových kyselin z biologického vzorku se však používají jako vstup pro více následných aplikací. Pro každý takový pracovní postup je třeba v rámci vývoje následných aplikací stanovit funkční vlastnosti, např. křížovou kontaminaci nebo přesnost cyklu. Proto je povinností uživatele validovat celý pracovní postup a stanovit vhodné funkční vlastnosti.

Funkční vlastnosti sady nejsou garantovány pro každý druh viru a musí být uživatelem validovány. Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkčních vlastností systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích hodnotících funkční vlastnosti výrobků QIAGEN®.

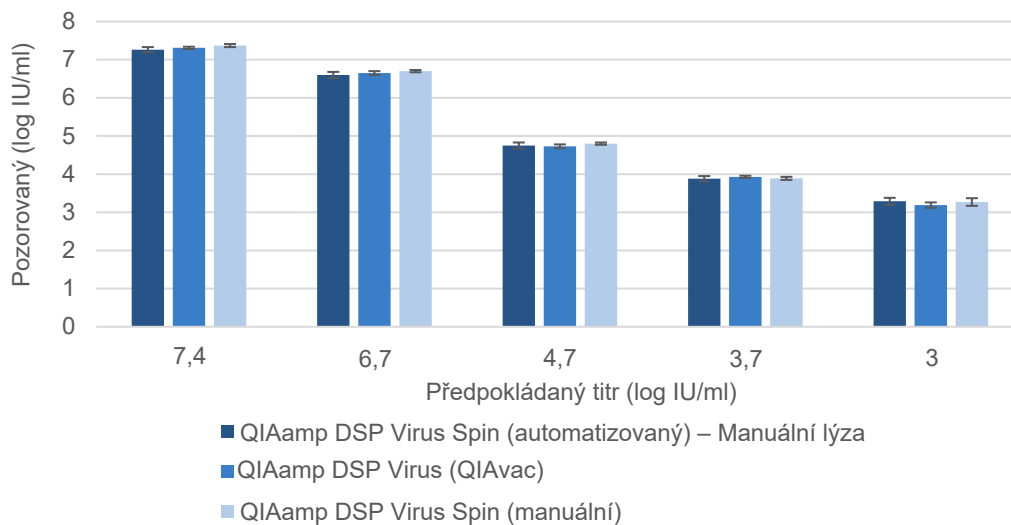
Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými následnými aplikacemi

Funkční vlastnosti pro automatizovanou purifikaci virové nukleové kyseliny pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit byla analyzována s lidskou plazmou a sérem a RNA viru hepatitidy C (hepatitis C virus, HCV) jako příkladem viru. Testy byly provedeny s ředěním kvalifikovaných virových panelů vytvořených v HCV negativní lidské plazmě a séru (n = 15). RNA HCV byla detekována pomocí analýzy real-time PCR (obrázek 1). Virové nukleové kyseliny byly purifikovány z 200 μ l alikvotů pomocí standardního protokolu a protokolu manuální lýzy a elučního objemu 60 μ l.



Obrázek 1 . Funkční vlastnosti automatizované purifikace virové nukleové kyseliny pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit. Funkční vlastnosti sady QIAamp DSP Virus Spin Kit ve dvou různých protokolech (standardní a manuální lýza) byly analyzovány se vzorky séra a plazmy. Virová RNA byla detekována pomocí řady ředění viru a analýzy real-time PCR pro RNA HCV.

Dále byly testovány funkční vlastnosti pro automatickou a manuální extrakci RNA viru hepatitidy C (Hepatitis C virus, HCV) pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit s řadami ředění kvantifikovaných virových panelů vytvořených v HCV negativní lidské plazmě. Testovány byly řady ředění s 5 různými virovými titry, přičemž v každém bylo 12 replikátů. RNA HCV byla detekována pomocí analýzy real-time PCR (obrázek 2). Virové nukleové kyseliny byly purifikovány ze 200 μ l alikvotů se 60 μ l elučního objemu.



Obrázek 2. Titry virů stanovené modelovou analýzou real-time PCR na HCV po použití sady QIAamp DSP Virus Spin Kit pro manuální a automatizovanou purifikaci řad ředění viru HCV z lidské plazmy a elučního objemu 60 µl.

Kromě toho byly při vývoji sady použity další modelové virové nukleové kyseliny a různé následné aplikace qPCR, aby se prokázalo, že izolované nukleové kyseliny jsou kompatibilní s různými následnými aplikacemi (viz oddíly níže a tabulka 1).

Rozsah vstupu alikvotu / výstupu eluátu

Počáteční objem alikvotu pro purifikaci virových nukleových kyselin ze vzorků lidské plazmy a séra pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit je 200 µl. Pro manuální centrifugační pracovní postup lze zvolit flexibilní eluční objemy mezi 20 a 150 µl. Pro automatizovaný centrifugační pracovní postup na přístroji QIAcube Connect MDx lze zvolit eluční objemy 60–100 µl s přírůstkem 5 µl.

Různé objemy eluátu byly pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit analyzovány s různými modelovými následnými analýzami real-time PCR pro HBV, HCV a HIV.

Přesnost

Variační koeficienty (Coefficients of Variations, CV) byly stanoveny pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit na přístroji QIAcube Connect MDx pro automatizovanou extrakci virové nukleové kyseliny z lidské plazmy ošetřené EDTA s příměsí standardního materiálu HBV a HCV (2,5E + 03 IU/ml pro oba). Titry virů byly stanoveny pomocí analýz real-time PCR pro HBV a HCV.

Byla stanovena opakovatelnost (variabilita v rámci jednoho purifikačního cyklu) a celková přesnost. Údaje o přesnosti jsou uvedeny v tabulce 1. Pro analýzu přesnosti byl celkový výtěžek DNA stanoven měřením OD.

Tabulka 1. Analýza odhadů přesnosti

Analýza	Přesnost	CV (%)
HBV	Opakovatelnost	0,79
	Celková přesnost	0,90
HCV	Opakovatelnost	0,57
	Celková přesnost	0,59

Stabilita eluátů

Poznámka: Stabilita eluátů je značně závislá na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla hodnocena pro izolaci virové nukleové kyseliny pomocí sady QIAamp DSP Virus Kit, která používá identické chemikálie ve spojení s modelovými následnými aplikacemi. Je na odpovědnosti uživatele, aby se seznámil s návodem k použití konkrétní následné aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo aby si ověřil celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Stabilita eluátů pro sadu QIAamp DSP Virus Kit byla hodnocena s použitím 500 µl vzorků plazmy ošetřené EDTA s příměsí standardního materiálu HBV a HCV (1×10^4 IU/ml pro oba) a elučního objemu 60 µl. Stabilita nukleové kyseliny byla stanovena pomocí analýz real-time PCR pro HBV a HCV. Stabilita eluátů při teplotě 2–8 °C nebyla ovlivněna délkou skladování po dobu až 2 týdnů. Při době skladování delší než 24 hodin však doporučujeme skladovat purifikované nukleové kyseliny až 6 měsíců při teplotě –20 °C a až 12 měsíců při teplotě –80 °C.

Interferující látky

Různé potenciální exogenní a endogenní interferující látky přítomné v krvi pacientů byly přidány do plazmy s EDTA se standardním materiálem viru, aby se otestoval jejich vliv na modelové následné analýzy po automatické purifikaci virových nukleových kyselin pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit a sady QIAamp DSP Virus Kit, která používá identické chemikálie.

V modelových následných analýzách byly hodnoceny běžné relevantní potenciální interferující látky pro hemolýzu (lidský hemoglobin), lipémii (triglyceridy) a žloutenku (nekonjugovaný bilirubin). Nebyl pozorován žádný významný negativní vliv těchto potenciálních interferentů ani více než 30 dalších potenciálních interferentů, jako jsou léky, které se obvykle používají např. k léčbě příslušných virových infekcí nebo jiných oportunních infekcí, a které se tedy pravděpodobně vyskytují v alikvotech pacientů.

Poznámka: Testování bylo provedeno pomocí modelových následných aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé následné aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost nebo koncentraci potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování příslušných látek a příslušné koncentrace musí být rovněž stanoveny jako součást vývoje následné aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující sadu QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Interference by však mohly být zjištěny při analýze real-time PCR pro heparinovanou plazmu. To je v souladu s normou ISO 20186-2:2019(E), která naznačuje, že heparin ze zkumavek na odběr krve může ovlivnit čistotu izolovaných nukleových kyselin a případný přenos do eluátů může způsobit inhibice v některých následných aplikacích. Proto pro přípravu plazmy doporučujeme používat krevní alikvoty ošetřené antikoagulantem EDTA nebo citrátem.







Případné interferující látky (např. léky) a odpovídající koncentrace jsou velmi specifické vzhledem k následné aplikaci a případné předchozí léčbě pacienta a je třeba je prošetřit při ověřování takové následné aplikace pomocí sady QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Křížová kontaminace

Riziko křížové kontaminace při automatické purifikaci virové nukleové kyseliny pomocí sady QIAamp DSP Virus Spin Kit bylo analyzováno provedením pěti cyklů s 12 vzorky se střídajícími se šaržemi v šachovnicovém uspořádání (střídavě pozitivní a negativní vzorky) pro vzorky plazmy a séra s příměsí viru HBV $1,00E + 07$ kopií/ml. Potenciální kontaminace negativních alikvotů během extrakčních cyklů byla vyhodnocena následnou analýzou eluátů pomocí analýzy real time-PCR. Nebyla zjištěna žádná křížová kontaminace mezi alikvoty ani přenos mezi jednotlivými cykly.

Symbols

V tomto dokumentu se vyskytují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce:

Symbol	Definice symbolu
	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro.
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Katalogové číslo
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce
	Viz návod k použití
	Důležitá poznámka

Historie revizí dokumentu

Revize	Popis
R1, červen 2022	<p>Verze 2, revize 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVDR● Přenos a aktualizace charakteristik funkčních vlastností z příručky k sadě do tohoto dokumentu● Přidání následujících oddílů:<ul style="list-style-type: none">○ Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými následnými aplikacemi○ Rozsah vstupu alikvotu / výstupu eluátu○ Přesnost○ Přídavek interferujících látek○ Křížová kontaminace○ Symboly○ Historie revizí dokumentu

Omezené licenční ujednání pro sadu QIAamp® DSP Virus Spin Kit

Používáním tohoto produktu vyjadřuje každý kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento produkt se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto produktem a tímto návodem k použití a pro použití pouze se součástmi dodanými v tomto panelu. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění součástí, které jsou obsaženy v tomto panelu, společně s kterýmikoliv součástmi, které v tomto panelu obsaženy nejsou, s výjimkou případů popsanych v tomto návodu k použití a dalších protokolech dostupných na webových stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto doplňujících protokolů byly poskytnuty uživateli produktů společnosti QIAGEN pro jiné uživatele produktů QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN důkladně testovány ani optimalizovány. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tento panel a jeho komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepracovávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel tohoto panelu souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakémukoliv shora zakázané činnosti nebo ji usnadnit. Společnost QIAGEN může prosazovat zájazy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti s panelem a/nebo jeho součástmi.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (skupina QIAGEN). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

