

# QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit

## Instrukcja użycia (Parametry skuteczności)

Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R1

Parametry skuteczności są dostępne w wersji elektronicznej i można je znaleźć na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), na karcie z materiałami źródłowymi

# Spis treści

Informacje ogólne .....	3
Parametry skuteczności .....	4
Skuteczność podstawowa i zgodność z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi....	4
Zakres objętości wejściowych próbki i objętości wyjściowych eluatu .....	5
Precyzja .....	5
Stabilność eluatu .....	6
Zanieczyszczenie krzyżowe .....	7
Symbole .....	8
Historia zmian dokumentu .....	9

## Informacje ogólne

Zestaw QIAamp® DSP Virus Spin Kit jest przeznaczony do izolacji i oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych z ludzkich próbek osocza i surowicy w sposób ręczny lub — w przypadku korzystania z aparatu QIAcube® Connect MDx — w sposób zautomatyzowany. Do izolacji i oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych z ludzkich próbek osocza i surowicy w zestawie QIAamp DSP Virus Spin Kit wykorzystywana jest technologia membrany krzemionkowej (technologia QIAamp).

Procedura QIAamp DSP Virus Spin obejmuje 4 etapy (liza, wiązanie, płukanie i elucja) i jest przeprowadzana przy użyciu kolumn QIAamp MinElute® w standardowej mikrowirówce lub w zautomatyzowany sposób w aparacie QIAcube Connect MDx. Procedura jest zaprojektowana w taki sposób, aby zminimalizować ryzyko wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami, i umożliwia bezpieczną pracę z potencjalnie zakaźnymi próbkami. Prosta procedura QIAamp DSP Virus Spin jest odpowiednia do przetwarzania wielu próbek jednocześnie. Zestaw QIAamp DSP Virus Spin Kit może być używany do izolacji wirusowego RNA i DNA szerokiej gamy wirusów RNA i DNA.

Poniżej przedstawiono wybrane dane dotyczące skuteczności w przypadku różnych zastosowań.

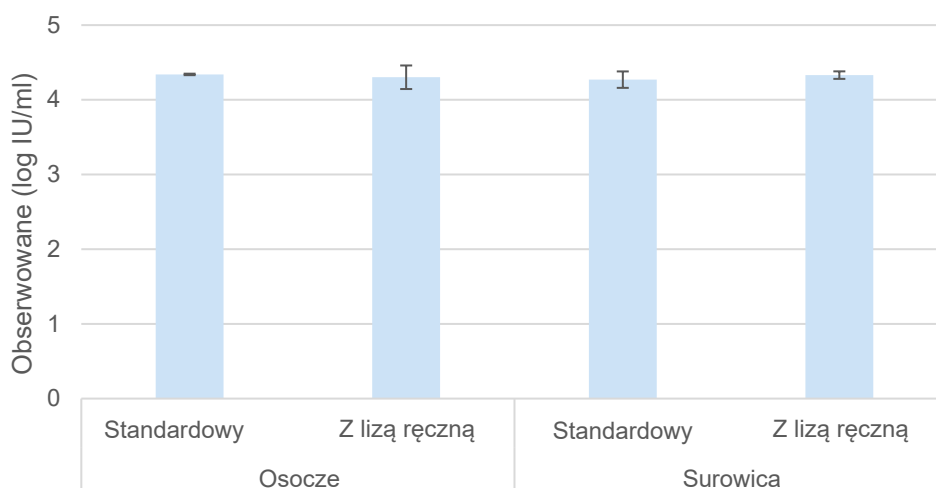
## Parametry skuteczności

**Uwaga:** Parametry skuteczności w dużym stopniu zależą od różnych czynników i odnoszą się do gatunku wirusa i konkretnej dalszej procedury analitycznej. Parametry skuteczności zostały określone dla zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit używanego z materiałem przykładowych gatunków wirusów i w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych. Metody izolacji kwasów nukleinowych z próbek biologicznych stanowią jednak etap początkowy dla wielu dalszych procedur analitycznych. Parametry skuteczności, takie jak np. występowanie zanieczyszczenia krzyżowego lub precyzja testu, muszą zostać określone dla całego przepływu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) jako część procesu opracowywania konkretnej dalszej procedury analitycznej. Z tego względu użytkownik jest odpowiedzialny za walidację całego przepływu pracy w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

Skuteczność zestawu nie jest gwarantowana dla każdego gatunku wirusa i musi zostać zwalidowana przez użytkownika. Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację skuteczności systemu pod kątem wszelkich stosowanych w danym laboratorium procedur, które nie są objęte badaniami w zakresie oceny skuteczności wykonanymi przez firmę QIAGEN®.

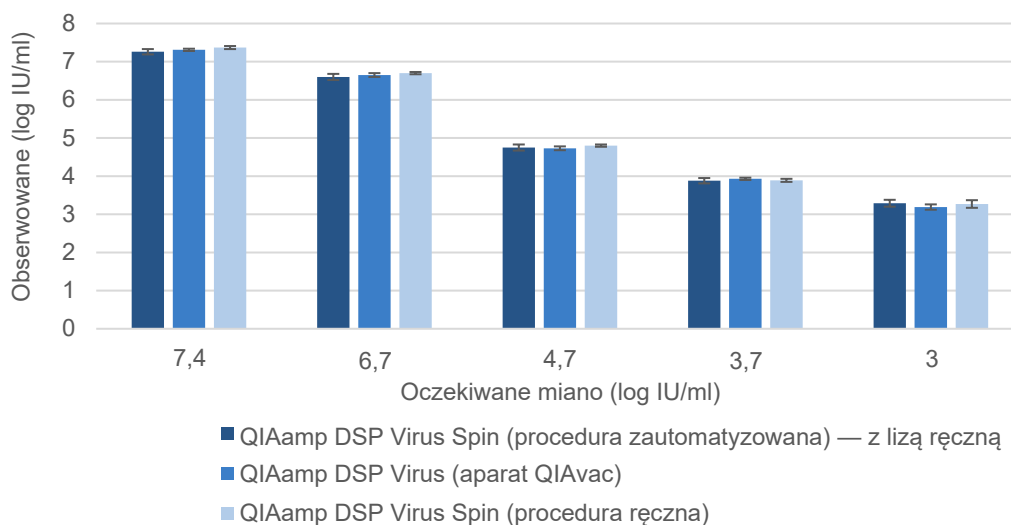
### Skuteczność podstawowa i zgodność z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi

Skuteczność zautomatyzowanego oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych za pomocą zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit została przeanalizowana przy użyciu ludzkich próbek osocza i surowicy oraz RNA przykładowego wirusa w postaci wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV). Testy przeprowadzono, wykorzystując rozcieńczenia oznaczone ilościowo paneli wirusa wykonanych w ludzkim osoczu i surowicy negatywnych względem wirusa HCV (n=15). RNA wirusa HCV wykrywano za pomocą oznaczenia real-time PCR (Ryc. 1). Wirusowe kwasy nukleinowe oczyszczano z próbek o objętości 200 µl przy użyciu protokołu standardowego i protokołu z etapem lizy ręcznej oraz objętości elucji wynoszącej 60 µl.



**Ryc. 1. Skuteczność zautomatyzowanego oczyszczania wirusowych kwasów nukleinowych przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit.** Skuteczność zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit w przypadku dwóch różnych protokołów (standardowego i z etapem lizy ręcznej) została przeanalizowana przy użyciu próbek osocza i surowicy. Wirusowy RNA wykrywano, wykorzystując serię rozcieńczeń materiału wirusa oraz wykonując oznaczenie real-time PCR na obecność RNA wirusa HCV.

Dodatkowo skuteczność zautomatyzowanej i ręcznej izolacji RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) za pomocą zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit została zbadana przy użyciu serii rozcieńczeń oznaczonych ilościowo paneli wirusa wykonanych z ludzkiego osocza negatywnego względem wirusa HCV. Przetestowano serie rozcieńczeń o 5 różnych mianach wirusa, wykonując 12 powtórzeń każdego rozcieńczenia. RNA wirusa HCV wykrywano za pomocą oznaczenia real-time PCR (Ryc. 2). Wirusowe kwasy nukleinowe oczyszczono z próbek o objętości 200 µl, przy objętości elucji równej 60 µl.



Ryc. 2. Miana wirusów określone przy użyciu standardowego oznaczenia real-time PCR względem wirusa HCV po ręcznym i zautomatyzowanym oczyszczaniu kwasów nukleinowych serii rozcieńczeń materiału wirusa HCV za pomocą zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit i objętości elucji wynoszącej 60 µl z ludzkich próbek osocza.

Ponadto podczas opracowywania zestawu wykorzystywano kwasy nukleinowe różnych innych przykładowych wirusów oraz różne dalsze procedury analityczne oparte na reakcji qPCR w celu wykazania zgodności wyizolowanych kwasów nukleinowych z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi (patrz sekcje poniżej i Tabela 1).

## Zakres objętości wejściowych próbki i objętości wyjściowych eluatu

Początkowa objętość próbki wymagana do oczyszczenia wirusowych kwasów nukleinowych z ludzkiej próbki osocza lub surowicy przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit wynosi 200 µl. W przypadku ręcznej procedury wirówkowej można wybierać między różnymi objętościami elucji wynoszącymi od 20 do 150 µl. W przypadku zautomatyzowanej procedury wirówkowej wykonywanej przy użyciu aparatu QIAcube Connect MDx można wybierać objętości elucji wynoszące 60–100 µl; wartości można ustawiać w odstępach co 5 µl.

Różne objętości eluatów zostały przeanalizowane przy użyciu różnych standardowych dalszych oznaczeń real-time PCR względem wirusów HBV, HCV i HIV oraz zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit.

## Precyzja

Współczynniki zmienności (Coefficient of Variation, CV) dla zautomatyzowanej izolacji wirusowych kwasów nukleinowych z ludzkich próbek osocza z dodatkiem EDTA i materiału wzorca w postaci wirusów HBV i HCV (oba w stężeniu 2,5E+03 IU/ml) zostały określone przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit i aparatu QIAcube Connect MDx. Miana wirusów określono przy użyciu oznaczenia real-time PCR względem wirusów HBV i HCV.

Określono powtarzalność (zmienność w cyklu przetwarzania w ramach jednego cyklu oczyszczania) oraz precyzję całkowitą. Dane dotyczące precyzji przedstawiono w Tabeli 1. W ramach analizy precyzji całkowity uzysk DNA został określony poprzez pomiar OD.

Tabela 1. Analiza oszacowań wartości precyzji

Oznaczenie	Precyzja	CV (%)
HBV	Powtarzalność	0,79
	Precyzja całkowita	0,90
HCV	Powtarzalność	0,57
	Precyzja całkowita	0,59

## Stabilność eluatu

**Uwaga:** Stabilność eluatu w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została oceniona dla izolacji wirusowych kwasów nukleinowych przy użyciu zestawu QIAamp DSP Virus Kit, w którym wykorzystywane są te same odczynniki, w połączeniu ze standardowymi dalszymi procedurami analitycznymi. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Stabilność eluatu dla zestawu QIAamp DSP Virus Kit została oceniona przy użyciu próbek osocza z dodatkiem EDTA, o objętości 500 µl, do których dodano materiał wzorca w postaci wirusów HBV i HCV (oba w stężeniu  $1 \times 10^4$  IU/ml), oraz objętości elucji wynoszącej 60 µl. Stabilność kwasu nukleinowego została określona przy użyciu oznaczenia real-time PCR względem wirusów HBV i HCV. Na stabilność eluatu przechowywanego w temperaturze 2–8°C nie miał wpływu czas przechowywania wynoszący do 2 tygodni. W przypadku przechowywania przekraczającego 24 godziny zalecane jest jednak, aby oczyszczone kwasy nukleinowe przechowywać w temperaturze –20°C przez maksymalnie 6 miesięcy lub w temperaturze –80°C przez maksymalnie 12 miesięcy.

## Substancje zakłócające

Do próbek osocza z dodatkiem EDTA oraz materiału wzorca wirusowego dodano różne potencjalne egzogenne i endogenne substancje zakłócające, występujące w próbkach krwi pacjentów, w celu zbadania ich wpływu na standardowe dalsze oznaczenia wykonywane po zautomatyzowanym oczyszczeniu wirusowych kwasów nukleinowych przy użyciu zestawów QIAamp DSP Virus Spin Kit i QIAamp DSP Virus Kit, w których wykorzystywane są te same odczynniki.

Istotne potencjalne substancje zakłócające występujące powszechnie w przypadku hemolizy (hemoglobina ludzka), lipemii (trójglicerydy) i żółtaczk (bilirubina niezwiązana) zostały ocenione w kontekście standardowych dalszych oznaczeń. Nie zaobserwowano istotnego negatywnego wpływu tych potencjalnych substancji zakłócających oraz ponad 30 dodatkowych potencjalnych substancji zakłócających, takich jak leki zwykle stosowane np. do leczenia odpowiednich infekcji wirusowych lub innych infekcji oportunistycznych, a zatem mogące występować w próbkach pacjentów.

**Uwaga:** Testy zostały przeprowadzone w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych w celu oceny jakości wyizolowanych kwasów nukleinowych. Różne dalsze procedury analityczne mogą jednak być odmienne pod względem wymagań dotyczących czystości materiału (tj. braku lub stężenia potencjalnych substancji zakłócających), dlatego sposób identyfikacji i badania różnych substancji zakłócających oraz ich stężeń musi również zostać ustalony jako część procesu opracowywania konkretnych dalszych procedur analitycznych dla jakiegokolwiek przebiegu pracy uwzględniającego użycie zestawu QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Podczas wykonywania oznaczenia real-time PCR można jednak było wykryć zakłócenia dla heparynizowanego osocza. Wynik ten jest zgodny treścią normy ISO 20186-2:2019(E), w której sugerowano, że heparyna zawarta w próbkach do pobierania krwi może mieć wpływ na czystość izolowanych kwasów nukleinowych, a potencjalne zanieczyszczenie spowodowane jej przeniesieniem do eluatów może być przyczyną inhibicji w dalszych procedurach analitycznych. Dlatego zalecane jest, aby w celu przygotowania osocza używać próbek krwi, w przypadku których jako antykoagulant zastosowano EDTA lub cytrynian.







Jakiegokolwiek potencjalne substancje zakłócające (np. leki) i ich stężenia są ściśle powiązane z konkretnymi dalszymi procedurami analitycznymi i możliwym wcześniejszym leczeniem pacjenta, dlatego należy je badać podczas weryfikacji określonej dalszej procedury analitycznej z wykorzystaniem zestawu QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

## Zanieczyszczenie krzyżowe

Ryzyko wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego podczas zautomatyzowanego oczyszczania wirusowego kwasu nukleinowego za pomocą zestawu QIAamp DSP Virus Spin Kit zostało przeanalizowane poprzez wykonanie pięciu cykli przetwarzania składających się z 12 próbek, gdzie partie próbek były rozmieszczone w układzie „szachownicy” (na przemian próbki pozytywne i negatywne). Na potrzeby badania wykorzystano próbki osocza i surowicy z dodatkiem materiału wirusa HBV w stężeniu  $1,00E+07$  kopii/ml. Ryzyko wystąpienia potencjalnego zanieczyszczenia negatywnych próbek podczas procesu izolacji zostało ocenione poprzez wykonanie analizy uzyskanych eluatów przy użyciu oznaczenia real-time PCR. Nie wykryto zanieczyszczenia krzyżowego spowodowanego przeniesieniem między próbkami oraz między cyklami przetwarzania.

# Symbole

W niniejszym dokumencie używane są poniższe symbole. Pełna lista symboli wykorzystywanych w instrukcji użycia lub na opakowaniu i etykietach znajduje się w instrukcji obsługi.

Symbol	Definicja symbolu
	Ten produkt spełnia wymogi rozporządzenia europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
Rn	R oznacza wydanie instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Producent
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Ważna informacja



# Historia zmian dokumentu

Wydanie	Opis
R1, czerwiec 2022 r.	<p>Wersja 2, wydanie 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● W ramach wersji 2 zaktualizowano treść w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDR</li><li>● Zaktualizowano informacje dotyczące parametrów skuteczności i przeniesiono je z instrukcji obsługi zestawu do niniejszego dokumentu</li><li>● Dodano następujące części:<ul style="list-style-type: none"><li>○ Skuteczność podstawowa i zgodność z różnymi dalszymi procedurami analitycznymi</li><li>○ Zakres objętości wejściowych próbek i objętości wyjściowych eluatu</li><li>○ Precyzja</li><li>○ Substancje zakłócające</li><li>○ Zanieczyszczenie krzyżowe</li><li>○ Symbole</li><li>○ Historia zmian dokumentu</li></ul></li></ul>

#### Umowa ograniczonej licencji dla zestawu QIAamp® DSP Virus Spin Kit

Korzystanie z tego produktu oznacza zgodę nabywcy lub użytkownika produktu na następujące warunki:

1. Niniejszy produkt może być użytkowany wyłącznie zgodnie z protokołami dołączonymi do produktu oraz niniejszą instrukcją użycia i wyłącznie ze składnikami znajdującymi się w tym zestawie. Firma QIAGEN nie udziela żadnej licencji w zakresie praw własności intelektualnej do użytkowania niniejszego zestawu ze składnikami nienależącymi do zestawu, z wyjątkiem przypadków opisanych w protokołach dołączonych do produktu, niniejszej instrukcji użycia oraz dodatkowych protokołach dostępnych na stronie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Niektóre dodatkowe protokoły zostały sformułowane przez użytkowników rozwiązań QIAGEN z myślą o innych użytkownikach rozwiązań QIAGEN. Takie protokoły nie zostały dokładnie przetestowane ani poddane procesowi optymalizacji przez firmę QIAGEN. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że nie naruszają one praw osób trzecich.
2. Firma QIAGEN nie gwarantuje, że niniejszy panel i/lub jego użytkowanie nie narusza praw osób trzecich. Wyjątek stanowią jedynie wyraźnie określone licencje.
3. Panel oraz jego składniki są na mocy licencji przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku i nie można ich ponownie używać, regenerować lub sprzedawać.
4. Firma QIAGEN nie udziela żadnych innych licencji, wyrażonych ani dorozumianych, poza tymi, które są wyraźnie określone.
5. Nabywca i użytkownik panelu zobowiązuje się nie podejmować działań ani nie zezwalać innym osobom na podejmowanie działań, które mogą doprowadzić do wykonania lub umożliwić wykonanie zabronionych czynności wymienionych powyżej. Firma QIAGEN może wyegzekwować przestrzeganie zakazów niniejszej Umowy ograniczonej licencji i wnieść sprawę do dowolnego sądu. Ma także prawo zażądać zwrotu kosztów wszelkich postępowań i kosztów sądowych, w tym wynagrodzeń prawników, związanych z egzekwowaniem postanowień Umowy ograniczonej licencji lub wszelkich praw własności intelektualnej w odniesieniu do zestawu i/lub jego składników.

Aktualne warunki licencji są dostępne na stronie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone jako zastrzeżone, nie należy uznawać za niechronione przepisami prawa.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

