

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit

Návod na použitie

(charakteristiky účinnosti)

Verzia 2



Na diagnostické použitie in vitro

Na použitie so súpravou QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemecko

R1

Charakteristiky účinnosti sú dostupné v elektronickej podobe a nájdete ich v karte zdrojov na stránke výrobku www.qiagen.com

Obsah

Všeobecný úvod	3
Charakteristiky účinnosti	4
Základná účinnosť a kompatibilita s rôznymi následnými aplikáciami	4
Rozsah vstupného objemu vzorky/výstupného objemu eluátu	5
Presnosť	5
Stabilita eluátu	6
Křížová kontaminácia	7
Symboly	8
História úprav dokumentu	9

Všeobecný úvod

Súprava QIAamp® DSP Virus Spin Kit je určená na manuálnu, alebo v prípade použitia s prístrojom QIAcube® Connect MDx, na automatickú izoláciu a purifikáciu vírusových nukleových kyselín zo vzoriek ľudskej plazmy a séra. Súprava QIAamp DSP Virus Spin Kit využíva technológiu membrány z oxidu kremičitého (technológia QIAamp), na izoláciu a purifikáciu vírusových nukleových kyselín zo vzoriek ľudskej plazmy a séra.

Postup QIAamp DSP Virus Spin zahŕňa 4 kroky (lýza, viazanie, premytie a elúcia) a vykonáva sa pomocou kolón QIAamp MinElute® v štandardnej mikrocentrifúge alebo úplne automaticky na QIAcube Connect MDx. Postup je navrhnutý tak, aby sa minimalizovala možnosť krížovej kontaminácie medzi vzorkami a aby sa umožnila bezpečná manipulácia s potenciálne infekčnými vzorkami. Jednoduchý postup QIAamp DSP Virus Spin je vhodný na súčasné spracovanie viacerých vzoriek. Súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit je možné použiť na izoláciu vírusovej RNA a DNA zo širokej škály RNA a DNA vírusov.

Ďalej sú zobrazené vybrané údaje pre rôzne aplikácie.

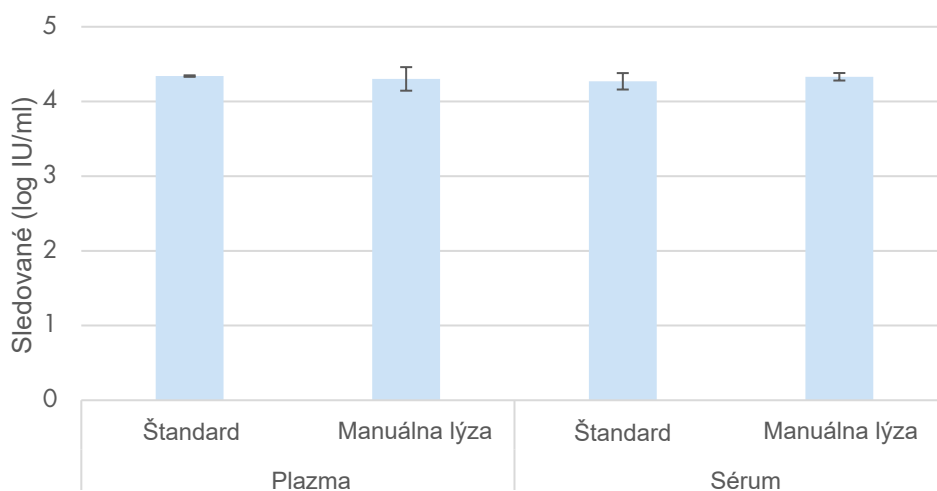
Charakteristiky účinnosti

Poznámka: Charakteristiky účinnosti veľmi závisia od rôznych faktorov a týkajú sa druhov vírusov a konkrétnej následnej aplikácie. Charakteristiky účinnosti boli stanovené pre súpravu QIAamp DSP Virus Spin Kit pri použití so vzorovým druhom vírusu a vzorovými následnými aplikáciami. Metódy na izolovanie nukleových kyselín z biologických vzoriek sa ale používajú ako základ pre viacero následných aplikácií. Parameter účinnosti, napr. krížová kontaminácia alebo presnosť cyklu, sa musí určiť pre každý takýto pracovný postup ako súčasť vývoja následnej aplikácie. Preto je zodpovednosťou používateľa, aby overil celý pracovný postup a stanovil vhodné parametre účinnosti.

Účinnosť súpravy nie je zaručená pre každý druh vírusu a používateľ ju musí validovať. Používateľ je zodpovedný za overenie výkonu systému pre všetky postupy používané v jeho laboratóriu, na ktoré sa nevzťahujú hodnotiace štúdie výkonnosti QIAGEN®.

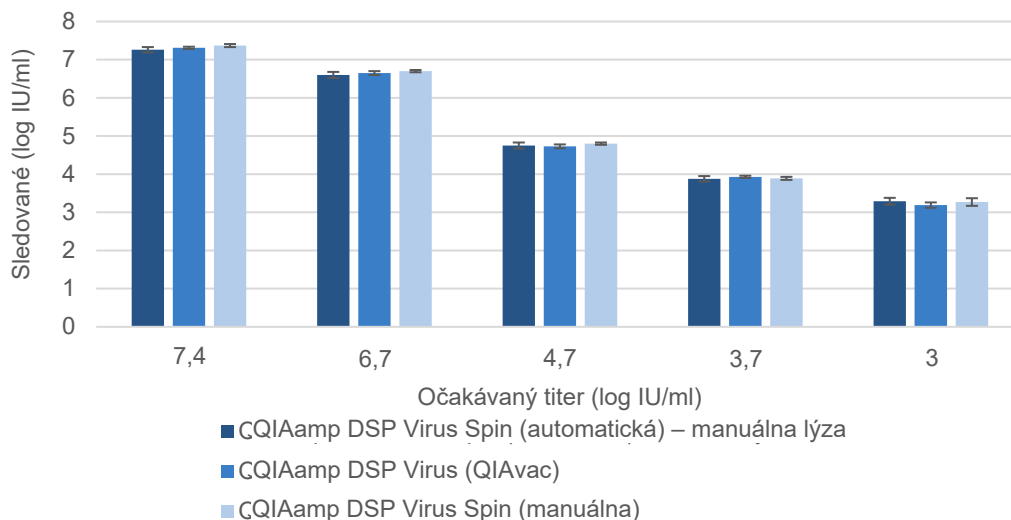
Základná účinnosť a kompatibilita s rôznymi následnými aplikáciami

Účinnosť pre automatickú purifikáciu vírusovej nukleovej kyseliny pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit sa analyzovala na ľudskej plazme a sére a na RNA vírusu hepatitídy C (HCV) ako vzorovom víruse. Vykonali sa testy pomocou riedenia kvantifikovaných panelov vírusu v ľudskej plazme a sére negatívnom na prítomnosť HCV (n = 15). HCV RNA sa zistila pomocou testu real-time PCR (obrázok 1). Vírusová nukleová kyselina sa purifikovala zo vzoriek s objemom 200 µl pomocou štandardu a protokolu manuálnej lýzy a elučným objemom 60 µl.



Obrázok 1. Účinnosti automatickej purifikácie vírusovej nukleovej kyseliny pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit. Účinnosť súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit v dvoch rôznych protokoloch (štandard a manuálna lýza) sa analyzoval na vzorkách séra a plazmy. Vírusová RNA sa zistila pomocou série vírusového riedenia a testu real-time PCR pre HCV RNA.

Okrem toho sa testovala účinnosť automatickej a manuálnej extrakcie RNA vírusu hepatitídy C (HCV) pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit so sériou riedenia kvantifikovaných panelov vírusu vytvorených v ľudskej plazme negatívnej na prítomnosť HCV. Séria riedenia s 5 rôznymi titrami vírusov sa otestovala, každá s 12 replikátmi. HCV RNA sa zistila pomocou testu real-time PCR (obrázok 2). Vírusové nukleové kyseliny sa purifikovali zo vzoriek s objemom 200 µl s elučným objemom 60 µl.



Obrázok 2. Titre vírusov určené pomocou vzorového testu real-time PCR pre HCV po použítí súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit na manuálnu a automatickú purifikáciu série vírusového riedenia HCV z ľudskej plazmy a elučného objemu 60 µl.

Okrem toho sa počas vývoja súpravy použili ďalšie vzorové vírusové nukleové kyseliny a rôzne následné aplikácie qPCR, aby sa dokázalo, že izolované nukleové kyseliny sú kompatibilné s rôznymi následnými aplikáciami (pozri časti nižšie a tabuľku 1).

Rozsah vstupného objemu vzorky/výstupného objemu eluátu

Začiatočný objem vzorky na purifikáciu vírusových nukleových kyselín zo vzoriek ľudskej plazmy a séra pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit je 200 µl. Pre manuálny odstredovací pracovný postup je možné zvoliť flexibilné elučné objemy medzi 20 a 150 µl. Pre automatický odstredovací pracovný postup na prístroji QIAcube Connect MDx je možné vybrať elučné objemy 60 – 100 µl v prírastkoch po 5 µl.

Rôzne elučné objemy sa analyzovali s rôznymi vzorovými následnými testami Real-time PCR pre HBV, HCV a HIV pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Presnosť

Koeficienty rozptylu (KR) sa určili pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit na prístroji QIAcube Connect MDx pre automatickú extrakciu vírusovej nukleovej kyseliny z ľudskej plazmy EDTA, ktorá obsahovala materiál štandardu HBV a HCV (2,5E+03 IU/ml pre obidve). Titre vírusu sa určili pomocou testov real-time PCR pre HBV a HCV.

Stanovila sa opakovateľnosť (variabilita v rámci cyklu v rámci jedného purifikačného cyklu) a celková presnosť. Údaje o presnosti sú uvedené v tabuľke 1. V rámci analýzy presnosti sa určil celkový výťažok DNA podľa merania OD.

Tabuľka 1. Analýza odhadov presnosti

Test	Presnosť	CV (%)
HBV	Opakovateľnosť	0,79
	Celková presnosť	0,90
HCV	Opakovateľnosť	0,57
	Celková presnosť	0,59

Stabilita eluátu

Poznámka: Stabilita eluátu veľmi závisí od rôznych faktorov a týka sa druhov vírusov a konkrétnej následnej aplikácie. Vyhodnotil sa na izolovanie vírusovej nukleovej kyseliny pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Kit, ktorá používa rovnaké chemické látky spolu so vzorovými následnými aplikáciami. Používateľ je zodpovedný za to, aby si prečítal návod na použitie konkrétnej následnej aplikácie použitej vo svojom laboratóriu a/alebo validoval celý pracovný postup s cieľom stanoviť vhodné skladovacie podmienky.

Stabilita eluátu pre súpravu QIAamp DSP Virus Kit sa hodnotila pomocou vzoriek plazmy EDTA s objemom 500 µl, ktoré obsahovali štandardný materiál HBV a HCV (1×10^4 IU/ml pre obidva) a elučný objem 60 µl. Stabilita nukleovej kyseliny sa určila pomocou testu real-time PCR pre HBV a HCV. Stabilita eluátu pri teplote 2 – 8 °C nebola ovplyvnená trvaním skladovania dĺžke do 2 týždňov. Pri skladovacích dobách dlhších ako 24 hodín ale odporúčame uskladniť purifikované nukleovej kyseliny na 6 mesiacov pri teplote -20 °C a na 12 mesiacov pri teplote -80 °C.

Interferujúce látky

Rôzne potenciálne exogénne a endogénne interferujúce látky prítomné v krvi pacienta sa pridali do plazmy EDTA so štandardným materiálom vírusu, aby sa otestoval ich vplyv na vzorové následné testy po automatickej purifikácii vírusových nukleových kyselín pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit a súpravy QIAamp DSP Virus Kit, ktorá používa rovnaké chemické látky.

Bežné relevantné potenciálne interferujúce látky pre hemolýzu (ľudský hemoglobín), lipémiu (triglyceridy) a žltáčku (nekonjugovaný bilirubín) sa vyhodnotili so vzorovými následnými testami. Nezistil sa žiadny výrazný negatívny vplyv pre tieto potenciálne interferujúce látky a pre viac ako 30 ďalších potenciálnych interferujúcich látok, ako napríklad zvyčajne užívané lieky napr. na liečbu príslušných vírusových infekcií alebo iných oportunistických infekcií, ktoré sa tak pravdepodobne nachádzajú vo vzorkách pacientov.

Poznámka: Testovanie prebehlo pomocou vzorových následných aplikácií na vyhodnotenie kvality extrahovaných nukleových kyselín. Rôzne následné aplikácie mali ale rôzne požiadavky s ohľadom na čistotu (t. j. neprítomnosť alebo koncentráciu potenciálnych interferujúcich látok), takže identifikovanie a testovanie relevantných látok a príslušnej koncentrácie je ešte potrebné stanoviť ako súčasť vývoja následnej aplikácie pre každý pracovný postup zahŕňajúci použitie súpravy QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Interferenciu je ale možné zistiť pomocou testu real-time PCR z heparinizovanej plazmy. Toto je v súlade s normou ISO 20186-2:2019(E), ktorá hovorí, že heparín zo skúmaviek na odber krvi môže mať vplyv na čistotu izolovaných nukleových kyselín a prípadný prenos do eluátov môže spôsobiť inhibície v niektorých následných aplikáciách. Preto odporúčame používať vzorky krvi upravené pomocou EDTA alebo citrátu ako antikoagulantu na prípravu plazmy.







Všetky potenciálne interferujúce látky (napr. lieky) a príslušná koncentrácia sú veľmi špecifické pre následnú aplikáciu a možné predchádzajúce spôsoby liečby pacienta a musia sa preskúmať počas overovania takejto následnej aplikácie pomocou súpravy QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Křížová kontaminácia

Riziko křížovej kontaminácie pri automatickej purifikácii vírusovej nukleovej kyseliny pomocou súpravy QIAamp DSP Virus Spin Kit sa analyzovalo vykonaním piatich 12-vzorkových cyklov so striedavými šachovnicovými šaržami (striedajúce sa pozitívne a negatívne vzorky) pre vzorky plazmy a séra, do ktorých sa pridalo $1,00E+07$ kópií/ml vírusu HBV. Potenciálna kontaminácia negatívnych vzoriek počas extrakčných cyklov sa vyhodnotila pomocou následnej analýzy eluátov pomocou testu real-time PCR. Nezistila sa žiadna křížová kontaminácia prenosom zo vzorky do vzorky alebo z cyklu do cyklu.

Symbols

V tomto dokumente sú uvedené tieto symboly. Celý zoznam symbolov použitých v tomto návode na použitie alebo na obale a etikete nájdete v príručke:

Symbol	Definícia symbolu
	Tento výrobok spĺňa požiadavky európskeho nariadenia 2017/746 pre pomôcky na použitie v podmienkach in vitro.
	Zdravotnícke diagnostické pomôcky na použitie v podmienkach in vitro
	Katalógové číslo
Rn	R označuje revíziu návodu na použitie a n je číslo revízie
	Výrobca
	Prečítajte si návod na použitie
	Dôležitá poznámka

História úprav dokumentu

Revízia	Popis
R1, jún 2022	<p>Verzia 2, revízia 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Aktualizácia na verziu 2 na dodržanie IVDR● Prenos a aktualizácia časti Charakteristiky účinnosti z príručky súpravy do tohto dokumentu● Pridanie nasledujúcich častí:<ul style="list-style-type: none">○ Základná účinnosť a kompatibilita s rôznymi následnými aplikáciami○ Rozsah vstupného objemu vzorky/výstupného objemu eluátu○ Presnosť○ Pridanie interferujúcich látok○ Krížová kontaminácia○ Symboly○ História úprav dokumentu

Obmedzená licenčná zmluva pre súpravu QIAamp® DSP Virus Spin Kit

Použitie tohto produktu predstavuje súhlas kupujúceho alebo používateľa tohto produktu s nasledovnými podmienkami:

1. Produkt sa môže používať výlučne v súlade s protokolmi poskytovanými spolu s produktom a týmto návodom na použitie a môže sa používať výlučne s komponentmi obsiahnutými v paneli. Spoločnosť QIAGEN neudeluje žiadnu licenciu v rámci žiadneho zo svojich práv na ochranu duševného vlastníctva na používanie alebo spájanie komponentov tohto panela s akýmkoľvek komponentmi, ktoré netvoria súčasť tohto panela s výnimkou ustanovení uvádzaných v protokoloch dodávaných spolu s produktom, tomto návode na použitie v ďalších protokoloch, ktoré sú dostupné na adrese www.qiagen.com. Niektoré z týchto protokolov boli poskytnuté používateľmi produktov od spoločnosti QIAGEN pre používateľov produktov od spoločnosti QIAGEN. Tieto protokoly neboli podrobne testované ani optimalizované spoločnosťou QIAGEN. Spoločnosť QIAGEN na ne neposkytuje žiadne záruky a neručí za to, že ich použitím nedôjde k porušeniu práv tretích strán.
2. Iné než výslovne uvedené licencie – spoločnosť QIAGEN neposkytuje žiadnu záruku na to, že tento panel a/alebo jeho použitie neporuší práva tretích strán.
3. Tento panel a jeho komponenty sú licenčne poskytnuté na jednorazové použitie a nesmú sa opätovne používať, opravovať ani predávať.
4. Spoločnosť QIAGEN sa špecificky zrieka všetkých ostatných (výslovných alebo implicitných) licencií než tých, ktoré sú tu výslovne uvedené.
5. Kupujúci a používateľ tohto panela súhlasia s tým, že iným osobám neumožnia ani nepovolí vykonať žiadne kroky, ktoré by mohli viesť k akýmkoľvek činnostiam, ktoré sú zakázané vyššie, alebo k ním napomáhať. Spoločnosť QIAGEN môže uplatňovať príslušné zákazy uvádzané v tejto obmedzenej licenčnej zmluve pred akýmkoľvek súdom a bude požadovať všetky náklady na vyšetrenie a súdne konania (vrátane nákladov na právne zastupovanie) pri každom takomto kroku s cieľom uplatniť ustanovenia tejto obmedzenej licenčnej zmluvy alebo práv duševného vlastníctva súvisiacich s panelom a/alebo jeho komponentmi.

Aktualizované licenčné podmienky nájdete na adrese www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

