

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit

Instrucciones de uso

(Características del rendimiento)

Versión 2



Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con el QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1

Las características del rendimiento están disponibles en formato electrónico y pueden consultarse en la pestaña resources (recursos) de la página de productos en www.qiagen.com

Contenido

Introducción general	3
Características del rendimiento.....	4
Rendimiento básico y compatibilidad con distintas aplicaciones anterógradas	4
Intervalo de entrada de muestras/salida de eluido	5
Precisión.....	5
Estabilidad del eluido	6
Contaminación cruzada	7
Símbolos.....	8
Historial de revisiones del documento	9

Introducción general

El QIAamp® DSP Virus Spin Kit está previsto para el aislamiento y purificación manuales, o automatizados, si se utiliza junto con el instrumento QIAcube® Connect MDx de ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma y suero humanos. El QIAamp DSP Virus Spin Kit utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para aislar y purificar los ácidos nucleicos víricos procedentes de muestras de plasma y suero humanos.

El procedimiento QIAamp DSP Virus Spin consta de 4 pasos (lisis, unión, lavado y elución) y se lleva a cabo con las columnas QIAamp MinElute® en una microcentrifugadora estándar o de forma automatizada, con el instrumento QIAcube Connect MDx. El procedimiento ha sido diseñado para minimizar la posible contaminación cruzada entre muestras y permite la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. El sencillo procedimiento QIAamp DSP Virus Spin permite el procesamiento simultáneo de varias muestras. El QIAamp DSP Virus Spin Kit puede utilizarse para aislar ARN y ADN víricos de una amplia variedad de virus de ARN y ADN.

A continuación, se muestran algunos datos del rendimiento de las distintas aplicaciones.

Características del rendimiento

Nota: Las características del rendimiento dependen en gran medida de varios factores y guardan relación con la especie de virus y la aplicación anterógrada específica. Las características del rendimiento del QIAamp DSP Virus Spin Kit se han establecido junto con especies de virus ejemplares y aplicaciones anterógradas ejemplares. Sin embargo, los métodos para aislar ácidos nucleicos de muestras biológicas se utilizan como punto de partida de numerosas aplicaciones anterógradas. Los parámetros del rendimiento, como la contaminación cruzada o la precisión de la serie, deben establecerse para cualquiera de estos flujos de trabajo como parte del desarrollo de la aplicación anterógrada. Por tanto, es responsabilidad del usuario validar todo el flujo de trabajo para establecer los parámetros de rendimiento adecuados.

El rendimiento del kit no se garantiza para cada especie de virus y debe ser validado por el usuario. Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté cubierto por los estudios de evaluación del rendimiento de QIAGEN®.

Rendimiento básico y compatibilidad con distintas aplicaciones anterógradas

El rendimiento de la purificación automatizada de ácidos nucleicos con el QIAamp DSP Virus Spin Kit se analizó con plasma y suero humanos y ARN del virus de la hepatitis C (VHC) como virus ejemplar. Las pruebas se llevaron a cabo con una dilución de paneles de virus cuantificados a partir de plasma humano negativo para el VHC ($n = 15$). El ARN de VHC se detectó con un ensayo de real-time PCR (Figura 1). Se purificaron los ácidos nucleicos del virus a partir de muestras de 200 μ l con el protocolo de lisis estándar y manual y un volumen de elución de 60 μ l.

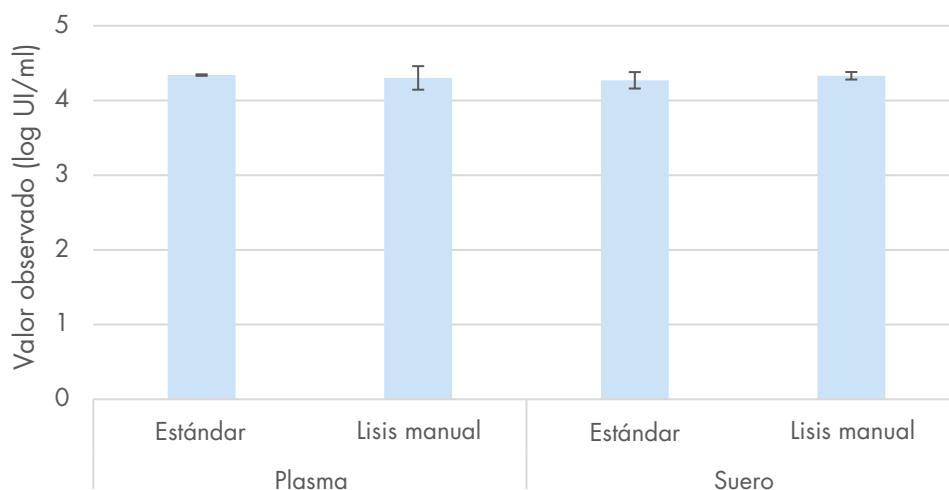


Figura 1. Rendimiento de la purificación automatizada de ácidos nucleicos víricos con el QIAamp DSP Virus Spin Kit. El rendimiento del QIAamp DSP Virus Spin Kit en dos protocolos diferentes (lisis estándar y manual) se analizó con muestras de suero y plasma. El ARN vírico se detectó mediante series de dilución del virus y un ensayo de real-time PCR para el ARN de VHC.

Además, el rendimiento de la extracción automatizada y manual del ARN del virus de la hepatitis C (VHC) con el QIAamp DSP Virus Spin Kit se analizó con la serie de dilución de los paneles de virus cuantificados a partir de plasma humano negativo para el VHC. Las series de diluciones con 5 títulos víricos diferentes se analizaron con 12 réplicas cada una. El ARN de VHC se detectó mediante un ensayo de real-time PCR (Figura 2). Los ácidos nucleicos víricos se purificaron a partir de muestras de 200 μ l con un volumen de elución de 60 μ l.

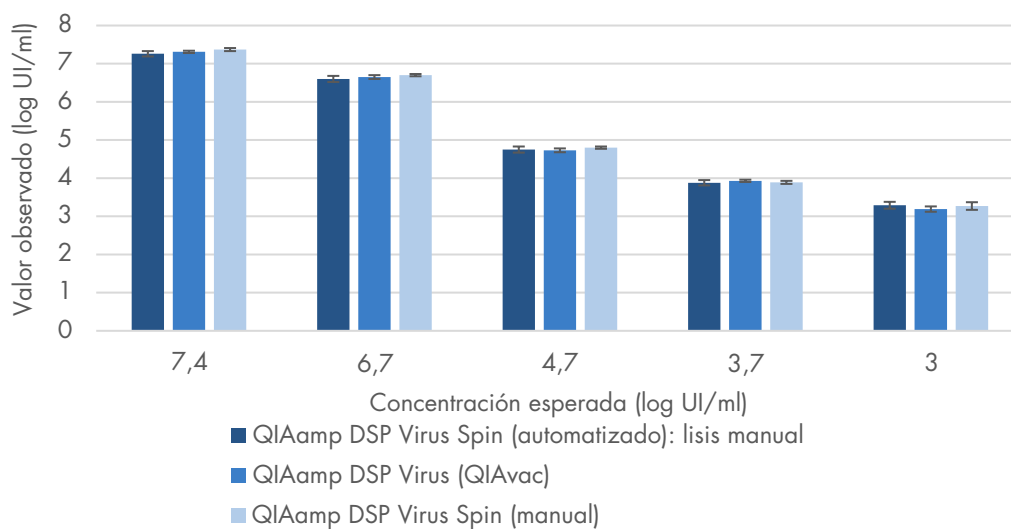


Figura 2. Concentraciones víricas determinadas mediante un ensayo ejemplar de real-time PCR para el VHC utilizando el QIAamp DSP Virus Spin Kit para la purificación manual y automatizada de la serie de diluciones del VHC a partir de plasma humano y un volumen de elución de 60 µl.

Además, durante el desarrollo del kit se utilizaron otros ácidos nucleicos víricos ejemplares y diferentes aplicaciones anterógradas de qPCR para demostrar que los ácidos nucleicos aislados eran compatibles con diferentes aplicaciones anterógradas (consulte los apartados siguientes y la Tabla 1).

Intervalo de entrada de muestras/salida de eluido

El volumen de muestra de partida para la purificación de ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma y suero humanos con el QIAamp DSP Virus Spin Kit es de 200 µl. Para el flujo de trabajo de centrifugación manual se pueden seleccionar volúmenes de elución flexibles entre 20 y 150 µl. Para el flujo de trabajo de centrifugación automatizada en el instrumento QIAcube Connect MDx, se pueden seleccionar unos volúmenes de elución de 60-100 µl en incrementos de 5 µl.

Se analizaron diferentes volúmenes de eluido mediante varios ensayos ejemplares anterógrados de real-time PCR para VHB, VHC y VIH utilizando el QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Precisión

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) utilizando el QIAamp DSP Virus Spin Kit en el instrumento QIAcube Connect MDx para la extracción automatizada de ácido nucleico de plasma humano con EDTA enriquecido con material estándar de VHB y VHC ($2,5E+03$ UI/ml en ambos casos). Las concentraciones víricas se determinaron mediante ensayos de real-time PCR para VHB y VHC.

Se determinaron la repetibilidad (variabilidad intraserie con una serie de purificación) y la precisión total. Los datos de precisión se presentan en la Tabla 1. Para el análisis de la precisión, se determinó el rendimiento total de ADN mediante medición de la DO.

Tabla 1. Análisis de los cálculos de precisión

Ensayo	Precisión	CV (%)
VHB	Repetibilidad	0,79
	Precisión total	0,90
VHC	Repetibilidad	0,57
	Precisión total	0,59

Estabilidad del eluido

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de varios factores y guarda relación con la aplicación anterógrada específica. Se ha evaluado para el aislamiento de ácido nucleico vírico con el QIAamp DSP Virus Kit, que utiliza sustancias químicas idénticas, junto con aplicaciones anterógradas ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación anterógrada específica utilizada en su laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer unas condiciones de almacenamiento adecuadas.

Se evaluó la estabilidad del eluido para el QIAamp DSP Virus Kit utilizando muestras de 500 µl de plasma con EDTA enriquecidas con material estándar de VHB y VHC (1×10^4 UI/ml en ambos casos) y un volumen de elución de 60 µl. La estabilidad del ácido nucleico se determinó mediante ensayos de real-time PCR para VHB y VHC. La estabilidad del eluido a 2-8 °C no se vio afectada por una duración del almacenamiento de hasta 2 semanas. Sin embargo, para el almacenamiento durante más de 24 horas, se recomienda almacenar los ácidos nucleicos purificados durante un máximo de 6 meses a -20 °C, y de 12 meses a -80 °C.

Sustancias interferentes

Se añadieron distintas sustancias interferentes endógenas y exógenas potencialmente presentes en la sangre de los pacientes al plasma con EDTA con el material estándar vírico para evaluar su impacto en los ensayos anterógrados ejemplares tras la purificación automatizada de ácidos nucleicos víricos con el QIAamp DSP Virus Spin Kit y el QIAamp DSP Virus Kit, que utiliza sustancias químicas idénticas.

Se evaluaron varias sustancias interferentes potenciales habituales en cuanto a hemólisis (hemoglobina humana), lipidemia (triglicéridos) e ictericia (bilirrubina no conjugada) en ensayos anterógrados ejemplares. No se observaron efectos negativos importantes de estas posibles sustancias interferentes ni de más de 30 posibles sustancias interferentes distintas, como fármacos de uso habitual, por ejemplo, para el tratamiento de infecciones víricas pertinentes u otras infecciones oportunistas que, por tanto, era probable encontrar en muestras de pacientes.

Nota: Las pruebas se realizaron con aplicaciones anterógradas ejemplares para evaluar la calidad de los ácidos nucleicos extraídos. Sin embargo, otras aplicaciones anterógradas distintas podrían tener requisitos diferentes en cuanto a la pureza (es decir, ausencia o concentración de las posibles sustancias interferentes), por lo que la identificación y análisis de las sustancias pertinentes y las concentraciones respectivas también deben establecerse como parte del desarrollo de la aplicación anterógrada para cualquier flujo de trabajo con el QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

No obstante, podrían detectarse interferencias en un ensayo de real-time PCR con plasma heparinizado. Esto está en consonancia con la norma ISO 20186-2:2019(E), que indica que la heparina de los tubos de recogida de sangre podría repercutir en la pureza de los ácidos nucleicos aislados y que el posible arrastre hacia los eluidos podría ocasionar inhibiciones en algunas aplicaciones anterógradas. Por tanto, se recomienda usar muestras de sangre tratadas con EDTA o citrato como anticoagulante para la preparación del plasma.







Cualquier posible sustancia interferente (p. ej., fármacos) y la concentración correspondiente es muy específica de la aplicación anterógrada y de los posibles tratamientos médicos previos del paciente, por lo que debe investigarse durante la verificación de la aplicación anterógrada en cuestión con el QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Contaminación cruzada

El riesgo de contaminación cruzada durante la purificación automatizada de ácidos nucleicos víricos con el QIAamp DSP Virus Spin Kit se analizó realizando cinco series de 12 muestras con lotes alternantes en disposición de tablero de ajedrez (alternando muestras positivas y negativas) para muestras de plasma y suero enriquecidas con $1,00E+07$ copias/ml de VHB. Se evaluó la posible contaminación de las muestras negativas durante las series de extracción mediante el análisis posterior de los eluidos con un ensayo de real-time PCR. No se detectó contaminación cruzada en cuanto al arrastre de una muestra a otra o de una serie a otra.

Símbolos

Los siguientes símbolos aparecen en este documento. Para obtener una lista completa de los símbolos utilizados en las instrucciones de uso o en el embalaje y el etiquetado, consulte el manual de uso:

Símbolo	Definición del símbolo
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
Rn	"R" es la revisión de las Instrucciones de uso y "n" es el número de revisión
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Nota importante

Historial de revisiones del documento

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p>Versión 2, revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Actualización de la versión 2 en cumplimiento del IVDR● Transferencia y actualización de las características del rendimiento del manual de uso del kit a este documento● Adición de los apartados siguientes:<ul style="list-style-type: none">○ Rendimiento básico y compatibilidad con distintas aplicaciones anterógradas○ Intervalo de entrada de muestras/salida de eluido○ Precisión○ Adición de sustancias interferentes○ Contaminación cruzada○ Símbolos○ Historial de revisiones del documento

Acuerdo de licencia limitada para el QIAamp® DSP Virus Spin Kit

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a estas instrucciones de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, estas instrucciones de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

