

Upute za uporabu za komplet QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit (radne značajke)

Inačica 2



Za in vitro dijagnostičku uporabu

Za uporabu s kompletom QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Njemačka

R1

Radne značajke dostupne su u elektroničkom obliku i možete ih pronaći na kartici s resursima stranice proizvođača na web-mjestu www.qiagen.com

Sadržaj

Opći uvod	3
Radne značajke.....	4
Osnovne radne značajke i kompatibilnost s različitim postupcima daljnje obrade.....	4
Raspon unosa uzorka / izlaza eluata.....	5
Preciznost	5
Stabilnost eluata.....	6
Križna kontaminacija	7
Simboli.....	8
Povijest revizija dokumenta	9

Opći uvod

Komplet QIAamp® DSP Virus Spin Kit namijenjen je za ručnu, ili, ako se upotrebljava zajedno s instrumentom QIAcube® Connect MDx, za automatiziranu izolaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz uzoraka humane plazme i seruma. Komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit primjenjuje tehnologiju membrane od silika-gela (tehnologija QIAamp) za izolaciju i pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz uzoraka humane plazme i seruma.

Postupak QIAamp DSP Virus Spin sastoji se od 4 koraka (liza, vezanje, ispiranje i elucija) i izvodi se primjenom kolona QIAamp MinElute® u standardnoj mikrocentrifugi ili automatizirano na instrumentu QIAcube Connect MDx. Postupak je osmišljen kako bi se mogućnost križne kontaminacije između uzoraka svela na najmanju moguću mjeru i omogućilo sigurno rukovanje potencijalno infektivnim uzorcima. Jednostavni postupak QIAamp DSP Virus Spin prikladan je za istovremenu obradu više uzoraka. Komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit može se koristiti za izolaciju RNA i DNA iz širokog niza RNA i DNA virusa.

U nastavku su prikazani odabrani podaci o radnim značajkama za različite primjene.

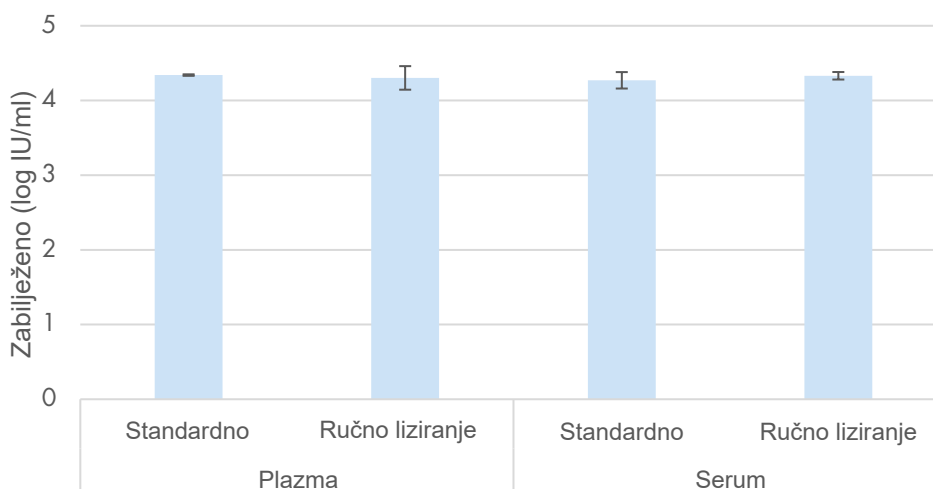
Radne značajke

Napomena: radne značajke u velikoj mjeri ovise o raznim čimbenicima i povezane su s vrstom virusa i određenim postupkom daljnje obrade. Radne značajke kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit utvrđene su u kombinaciji s vrstama virusa koje služe kao primjer i postupcima daljnje obrade koji služe kao primjer. Međutim, metode za izoliranje nukleinskih kiselina iz bioloških ispitaka upotrebljavaju se kao početni korak (engl. front-end) u mnogim postupcima daljnje obrade. Za svaki takav tijek rada u sklopu razvoja postupaka daljnje obrade moraju se odrediti parametri radnih značajki, npr. križna kontaminacija ili preciznost postupka. Stoga je korisnik dužan potvrditi cjelokupni tijek rada kako bi se utvrdili odgovarajući parametri radnih značajki.

Radne značajke kompleta nisu zajamčene za svaku vrstu virusa i korisnik ih mora potvrditi. Korisnik je dužan potvrditi radne značajke sustava za sve postupke koji se izvode u laboratoriju, a koje ne pokrivaju ispitivanja s procjenom radnih značajki koje je provela tvrtka QIAGEN®.

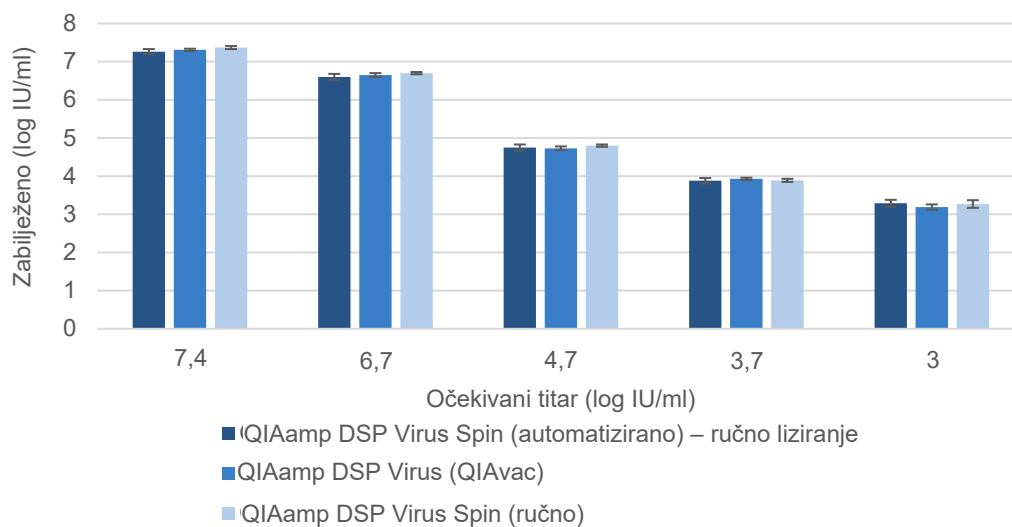
Osnovne radne značajke i kompatibilnost s različitim postupcima daljnje obrade

Radne značajke za automatizirano pročišćavanje nukleinske kiseline virusa primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit analizirane su s pomoću uzoraka humane plazme i seruma te RNA virusa hepatitisa C (HCV) kao primjera virusa. Testovi su izvedeni uz razrjeđivanje kvantificiranih virusnih panela pripremljenih u humanoj plazmi i serumu negativnih na HCV (n = 15). RNA virusa HCV detektirana je s pomoću real-time PCR ispitivanja (slika 1). Nukleinske kiseline virusa pročišćene su iz uzoraka od 200 µl primjenom standardnog i protokola ručnog liziranja te volumena elucije od 60 µl.



Slika 1. Radne značajke automatiziranog pročišćavanja nukleinske kiseline virusa s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit. Radne značajke kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit u dvama različitim protokolima (standardni i ručno liziranje) analizirane su s pomoću uzoraka seruma i plazme. RNA virusa detektirana je s pomoću serije razrjeđivanja virusa i real-time PCR ispitivanja za RNA virusa HCV.

Nadalje, radne značajke za automatiziranu i ručnu ekstrakciju RNA virusa hepatitisa C (HCV) primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit testirane su s pomoću serije razrjeđivanja kvantificiranih virusnih panela pripremljenih u humanoj plazmi negativnoj na HCV. Testirane su serije razrjeđivanja s 5 različitim virusnih titara, i to svaka u 12 replikata. RNA virusa HCV detektirana je s pomoću real-time PCR ispitivanja (slika 2). Nukleinske kiseline virusa pročišćene su iz uzoraka od 200 µl s volumenom elucije od 60 µl.



Slika 2. Virusni titri određeni real-time PCR ispitivanjem za HCV koje služi kao primjer nakon uporabe kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit za ručno i automatizirano pročišćavanje serije razrjeđivanja virusa HCV iz humane plazme i s pomoću volumena elucije od 60 µl.

Osim toga, daljnje nukleinske kiseline virusa i različiti postupci daljnje qPCR obrade koji služe kao primjer upotrijebljeni su tijekom razvoja kompleta kako bi se pokazalo da su izolirane nukleinske kiseline kompatibilne s različitim postupcima daljnje obrade (pogledajte odjeljke u nastavku i tablicu 1).

Raspon unosa uzorka / izlaza eluata

Početni volumen uzorka za pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa iz uzoraka humane plazme i seruma s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit iznosi 200 µl. Za tijek rada s ručnim centrifugiranjem moguće je odabrati fleksibilne volumene elucije između 20 µl i 150 µl. Za tijek rada s automatiziranim centrifugiranjem na instrumentu QIAcube Connect MDx moguće je odabrati volumene elucije od 60 – 100 µl u koracima povećanja od 5 µl.

Različiti volumeni eluata analizirani su raznim daljnjim real-time PCR ispitivanjima za HBV, HCV i HIV koji služe kao primjer, i to primjenom kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Preciznost

Koeficijenti varijacije (Coefficient of Variation, CV) određeni su s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit na instrumentu QIAcube Connect MDx za automatiziranu ekstrakciju nukleinske kiseline virusa iz humane plazme s EDTA u koju je dodan standardni materijal virusa HBV i HCV ($2,5E+03$ IU/ml za oba). Virusni titri određeni su s pomoću real-time PCR ispitivanja za HBV i HCV.

Određeni su ponovljivost (varijabilnost unutar postupka za jedan postupak pročišćavanja) i ukupna preciznost. Podaci o preciznosti prikazani su u tablici 1. Radi analize preciznosti određen je ukupni prinos DNA mjerenjem OD-a.

Tablica 1. Analiza procjena preciznosti

Ispitivanje	Preciznost	CV (%)
HBV	Ponovljivost	0,79
	Ukupna preciznost	0,90
HCV	Ponovljivost	0,57
	Ukupna preciznost	0,59

Stabilnost eluata

Napomena: stabilnost eluata u velikoj mjeri ovisi o raznim čimbenicima, a povezana je s određenim postupkom daljnje obrade. Procijenjena je za izolaciju nukleinske kiseline virusa s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Kit, u kojem se upotrebljavaju ista kemijska sredstva u kombinaciji s postupcima daljnje obrade koji služe kao primjer. Korisnik je dužan pročitati upute za uporabu određenog postupka daljnje obrade koji se primjenjuje u laboratoriju i/ili potvrditi cjelokupni tijek rada kako bi se odredili odgovarajući uvjeti pohrane.

Stabilnost eluata za komplet QIAamp DSP Virus Kit procijenjena je s pomoću uzoraka plazme s EDTA od 500 µl u koje je dodan standardni materijal virusa HBV i HCV (1×10^4 IU/ml za oba) i volumena elucije od 60 µl. Stabilnost nukleinske kiseline određena je real-time PCR ispitivanjima za HBV i HCV. Trajanje pohrane do 2 tjedna nije utjecalo na stabilnost eluata pri temperaturi od 2 – 8 °C. Međutim, u slučaju vremena pohrane duljih od 24 sata, preporučujemo da pročišćene nukleinske kiseline do 6 mjeseci čuvate na –20 °C, a do 12 mjeseci na –80 °C.

Interferirajuće tvari

Različite potencijalne egzogene i endogene interferirajuće tvari prisutne u krvi pacijenta dodane su u plazmu s EDTA sa standardnim materijalom virusa kako bi se testirao njihov utjecaj na postupke daljnjeg ispitivanja koji služe kao primjer nakon automatiziranog pročišćavanja nukleinskih kiselina virusa kompletom QIAamp DSP Virus Spin Kit i kompletom QIAamp DSP Virus Kit u kojem se upotrebljavaju ista kemijska sredstva.

U postupcima daljnjeg ispitivanja koji služe kao primjer procijenjene su uobičajene relevantne potencijalno interferirajuće tvari za hemolizu (humani hemoglobin), lipemiju (trigliceridi) i žuticu (nekonjugirani bilirubin). Nije uočen značajan negativni utjecaj za te i za više od 30 dodatnih potencijalnih interferirajućih tvari kao što su lijekovi koji se obično primjenjuju npr. za liječenje relevantnih virusnih infekcija ili drugih oportunističkih infekcija, koji se zbog toga vjerojatno mogu pronaći u uzorcima pacijenata.

Napomena: u svrhu procjene kvalitete ekstrahiranih nukleinskih kiselina izvedeno je testiranje s pomoću postupaka daljnje obrade koji služe kao primjer. Međutim, različiti postupci daljnje obrade mogu imati različite zahtjeve u pogledu čistoće (tj. odsustvo ili koncentracija potencijalnih interferirajućih tvari) pa je razvojem postupaka daljnje obrade potrebno obuhvatiti i identifikaciju i testiranje relevantnih tvari i njihovih koncentracija i to za sve tijekove rada koji uključuju komplet QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Međutim, interferencija bi se mogla otkriti u real-time PCR ispitivanju za hepariniziranu plazmu. To je u skladu s normom ISO 20186-2:2019(E) prema kojoj heparin iz epruveta za prikupljanje krvi može utjecati na čistoću izoliranih nukleinskih kiselina, a eventualni prijenos u eluate može uzrokovati inhibicije u nekim postupcima daljnje obrade. Zbog toga za pripremu plazme preporučujemo uporabu uzoraka krvi tretiranih EDTA-om ili citratom kao antikoagulansom.







Svaka potencijalno interferirajuća tvar (npr. lijekovi) i njezina koncentracija vrlo su specifične za postupak daljnje obrade i eventualne prethodne medicinske terapije pacijenta te je treba istražiti tijekom provjere valjanosti tog postupka daljnje obrade s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Križna kontaminacija

Rizik od križne kontaminacije za automatizirano pročišćavanje nukleinskih kiselina virusa s pomoću kompleta QIAamp DSP Virus Spin Kit analiziran je izvođenjem pet postupaka s 12 uzoraka s naizmjeničnim serijama (naizmjenični pozitivni i negativni uzorci) za uzorke plazme i seruma kojima je dodan virus HBV u količini od $1,00E+07$ kopija/ml. Potencijalna kontaminacija negativnih uzoraka tijekom postupaka ekstrakcije procijenjena je analizom eluata koja je uslijedila primjenom real-time PCR ispitivanja. Nije detektirana križna kontaminacija na način da je došlo do prijenosa između uzoraka ili između postupaka.

Simboli

Sljedeći se simboli pojavljuju u dokumentu. Cjeloviti popis simbola koji se upotrebljavaju u uputama za uporabu ili na ambalaži i naljepnicama potražite u priručniku:

Simbol	Definicija simbola
	Ovaj proizvod ispunjava zahtjeve Europske uredbe 2017/746 za in vitro dijagnostičke medicinske proizvode.
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Kataloški broj
Rn	R se odnosi na reviziju uputa za uporabu, a n je broj revizije
	Proizvođač
	Pročitajte upute za uporabu
	Važna napomena

Povijest revizija dokumenta

Revizija	Opis
R1, lipanj 2022.	<p>Inačica 2, revizija 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Ažuriranje inačice 2 radi usklađivanja s Uredbom o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVDR)● Prijenos i ažuriranje radnih značajki iz priručnika kompleta u ovaj dokument● Dodavanje sljedećih odjeljaka:<ul style="list-style-type: none">○ Osnovne radne značajke i kompatibilnost s različitim postupcima daljnje obrade○ Raspon unosa uzorka / izlaza eluata○ Preciznost○ Dodavanje odjeljka Interferirajuće tvari○ Križna kontaminacija○ Simboli○ Povijest revizija dokumenta

Ugovor o ograničenoj licenci za komplet QIAamp® DSP Virus Spin Kit

Uporabom ovog proizvoda svaki kupac ili korisnik proizvoda pristaje na sljedeće uvjete:

1. Proizvod se smije upotrebljavati samo u skladu s protokolima koji su isporučeni s proizvodom i ovim uputama za uporabu i namijenjen je samo za uporabu s komponentama koje su sadržane u panelu. Tvrtka QIAGEN ne daje nikakvu licenciju za svoje intelektualno vlasništvo za uporabu ili ugrađivanje komponenata ovog panela s bilo kojom komponentom koja nije uključena u ovaj panel, osim kako je opisano u protokolima koji su isporučeni s proizvodom, ovim uputama za uporabu i dodatnim protokolima dostupnima na stranici www.qiagen.com. Neke od tih dodatnih protokola ustupili su korisnici tvrtke QIAGEN drugim korisnicima tvrtke QIAGEN. Tvrtka QIAGEN nije temeljito ispitala niti optimizirala te protokole. QIAGEN ne daje na njih nikakva jamstva niti jamči da ne krše prava trećih strana.
2. Osim izričito navedenih licencija, QIAGEN ne jamči da ovaj panel i/ili njegova uporaba ne krši prava trećih strana.
3. Ovaj panel i njegove komponente licencirani su samo za jednokratnu uporabu i ne smiju se ponovno upotrebljavati, preradivati niti preprodavati.
4. QIAGEN se odriče svih drugih licencija, izričitih ili impliciranih, osim onih koje su izričito navedene.
5. Kupac i korisnik ovog panela potvrđuju da neće dopustiti drugim osobama poduzimanje koraka koji bi mogli dovesti do kršenja gore navedenih odredbi ili omogućiti njihovo kršenje. QIAGEN može provesti zabrane navedene u ovom Ugovoru o ograničenoj licenci na bilo kojem sudu te će potraživati sve sudske troškove i troškove postupka istraživanja, uključujući troškove odvjetnika, za svaku radnju s ciljem provedbe ovog Ugovora o ograničenoj licenci ili bilo kojeg svojeg prava intelektualnog vlasništva povezanog s panelom i/ili njegovim komponentama.

Ažurirane uvjete licencije potražite na www.qiagen.com.

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (grupacija QIAGEN). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenima.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN, sva prava pridržana.

