

QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit

Istruzioni per l'uso

(caratteristiche delle prestazioni)

Versione 2

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con QIAamp[®] DSP Virus Spin Kit

CE

REF

61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Le Caratteristiche delle prestazioni sono disponibili in formato elettronico e sono reperibili nella scheda risorse della pagina del prodotto all'indirizzo www.qiagen.com

Indice

Introduzione generale	3
Caratteristiche delle prestazioni	4
Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni downstream	4
Portata di inserimento del campione/uscita dell'eluito.....	5
Precisione	5
Stabilità degli eluiti	6
Contaminazione crociata	7
Simboli	8
Cronologia delle revisioni del documento	9

Introduzione generale

Il QIAamp® DSP Virus Spin Kit è destinato all'isolamento e alla purificazione manuale o, se utilizzato in combinazione con lo strumento QIAcube® Connect MDx, all'isolamento e alla purificazione automatica di acidi nucleici virali provenienti da campioni di plasma e siero umani. Il QIAamp DSP Virus Spin Kit utilizza la tecnologia su membrana di silice (tecnologia QIAamp) per l'isolamento e la purificazione di acidi nucleici virali di campioni di plasma e siero umani.

La procedura QIAamp DSP Virus Spin prevede 4 fasi (lisi, legame, lavaggio ed eluizione) e viene eseguita con le QIAamp MinElute® Column in una microcentrifuga standard o suQIAcube Connect MDx in modo automatizzato. La procedura è studiata per minimizzare il potenziale di contaminazione crociata tra campioni e permette di manipolare con sicurezza i campioni potenzialmente infettivi. La semplice procedura QIAamp DSP Virus Spin è indicata per processare simultaneamente più campioni. Il QIAamp DSP Virus Spin Kit può essere usato per isolare l'RNA e il DNA virali da un'ampia gamma di virus a RNA e DNA.

Di seguito vengono mostrati i dati relativi alle prestazioni delle diverse applicazioni.

QIAamp DSP Virus Spin Kit Istruzioni per l'uso (caratteristiche delle prestazioni)

Caratteristiche delle prestazioni

Nota: le caratteristiche delle prestazioni dipendono da vari fattori e sono correlate alla specie virale e alla specifica applicazione downstream. Le caratteristiche delle prestazioni sono state stabilite per il QIAamp DSP Virus Spin Kit in combinazione con a specie virali e applicazioni downstream esemplari. Tuttavia, i metodi per l'isolamento degli acidi nucleici a partire da campioni biologici sono utilizzati come front-end per molteplici applicazioni downstream. I parametri di prestazione, ad es. la contaminazione crociata o la precisione del ciclo, devono essere stabiliti per qualsiasi flusso di lavoro come parte dello sviluppo dell'applicazione downstream. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire i parametri di prestazione appropriati.

Non si garantisce l'efficacia del kit per ogni specie virale e quindi deve essere collaudato dall'utente. È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia coperta dagli studi di valutazione delle prestazioni QIAGEN®.

Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni downstream

Le prestazioni della purificazione automatica dell'acido nucleico virale con il QIAamp DSP Virus Spin Kit sono state analizzate con plasma e siero umani e con l'RNA del virus dell'epatite C (HCV) come esempio di virus. I test sono stati eseguiti con una diluizione di pannelli di virus quantificati in plasma e siero umano HCV-negativo (n=15). L'HCV RNA è stato rilevato con un esame di real-time PCR (Figura 1). Gli acidi nucleici virali sono stati purificati a partire da campioni di 200 µl con il protocollo di lisi standard e manuale e un volume di eluizione di 60 µl.

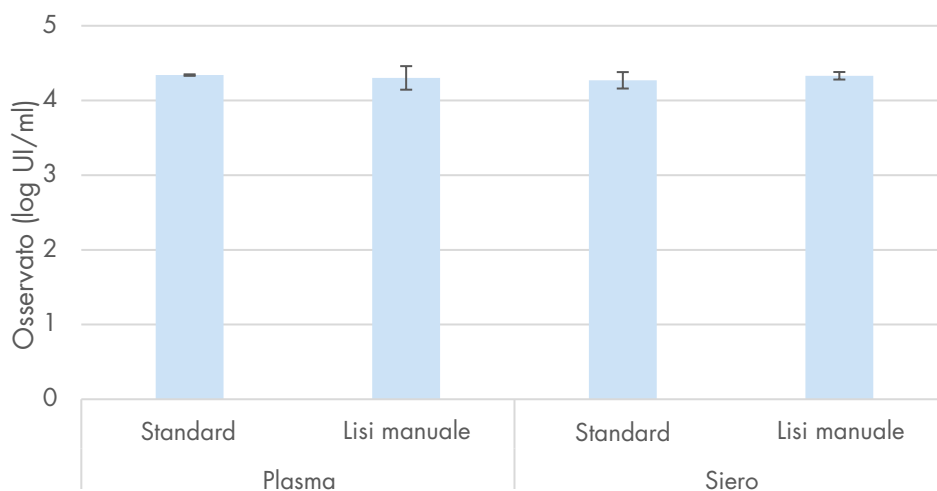


Figura 1 . Prestazioni della purificazione automatica dell'acido nucleico virale utilizzando il QIAamp DSP Virus Spin Kit. Sono state analizzate le prestazioni del QIAamp DSP Virus Spin Kit in due diversi protocolli (lisi standard e manuale) con campioni di siero e plasma. È stato rilevato l'RNA virale utilizzando serie di diluizioni virali e un esame real-time PCR per l'HCV RNA.

Inoltre, le prestazioni dell'estrazione automatica e manuale dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) con il QIAamp DSP Virus Spin Kit sono state testate con serie di diluizioni di pannelli di virus quantificati in plasma umano HCV-negativo. Le serie di diluizione con 5 titoli di virus diversi sono state testate con 12 replicati per ogni serie. L'HCV RNA è stato rilevato con un esame real-time PCR. (Figura 2). Gli acidi nucleici virali sono stati purificati da campioni di 200 µl con un volume di eluizione di 60 µl.

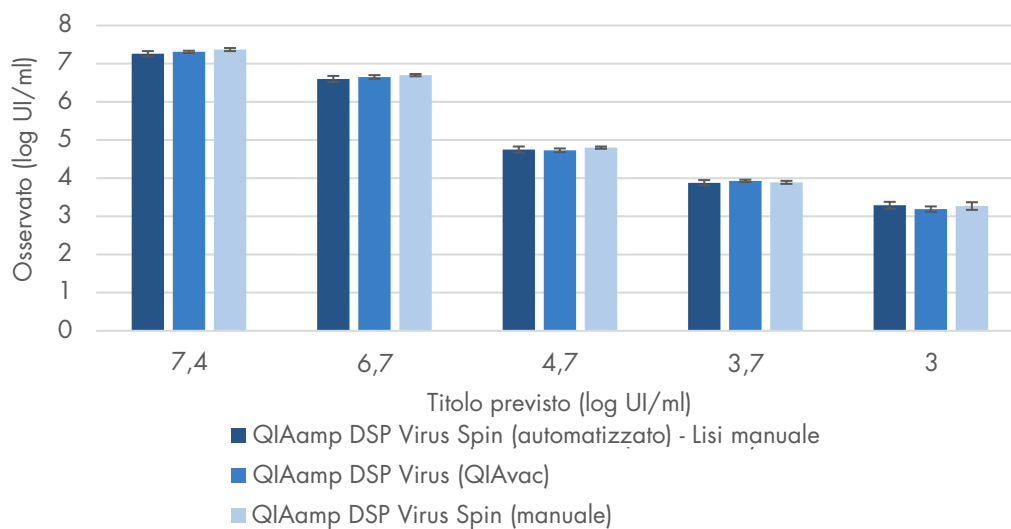


Figura 2. Titoli virali determinati mediante un esame esemplare real-time PCR per l’HCV dopo aver utilizzato il QIAamp DSP Virus Spin Kit per la purificazione manuale e automatizzata di serie di diluizioni virali di HCV da plasma umano e un volume di eluizione di 60 µl.

Inoltre, durante lo sviluppo del kit sono stati utilizzati altri acidi nucleici virali esemplari e diverse applicazioni downstream di qPCR per dimostrare che gli acidi nucleici isolati sono compatibili con diverse applicazioni downstream (vedere capitoli seguenti e Tabella 1).

Portata di inserimento del campione/uscita dell’eluato

Il volume iniziale del campione per la purificazione degli acidi nucleici virali provenienti da campioni di plasma e siero umani utilizzando il QIAamp DSP Virus Spin Kit è pari a 200 µl. Per il flusso di lavoro di centrifugazione manuale è possibile selezionare volumi di eluizione flessibili tra 20 e 150 µl. Per il flusso di lavoro di centrifugazione automatizzato su QIAcube Connect MDx, è possibile selezionare volumi di eluizione di 60–100 µl con incrementi di 5 µl.

Diversi volumi di eluito sono stati analizzati con vari esami di real-time PCR downstream per HBV, HCV e HIV utilizzando il QIAamp DSP Virus Spin Kit.

Precisione

I coefficienti di variazione (CV) sono stati determinati utilizzando il QIAamp DSP Virus Spin Kit sul QIAcube Connect MDx per l'estrazione automatica dell'acido nucleico virale di plasma umano EDTA con materiale standard HBV e HCV (2,5E+03 IU/ml per entrambi). I titoli virali sono stati determinati con esami real-time PCR per HBV e HCV.

Sono state determinate la ripetibilità (variabilità all’interno di un ciclo di purificazione) e la precisione totale. I dati di precisione sono riportati nella Tabella 1. Per l'analisi di precisione, la resa del DNA totale è stata determinata mediante misurazione dell’OD.

Tabella 1. Analisi delle stime di precisione

Esame	Precisione	CV (%)
HBV	Ripetibilità	0,79
	Precisione totale	0,90
HCV	Ripetibilità	0,57
	Precisione totale	0,59

Stabilità degli eluiti

Nota: la stabilità dell'eluato dipende in larga misura da vari fattori ed è correlata alla specifica applicazione downstream. È stata valutata per l'isolamento dell'acido nucleico virale con il QIAamp DSP Virus Kit, che utilizza un sistema chimico identico, in combinazione con applicazioni downstream esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione downstream utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire le condizioni di conservazione appropriate.

La stabilità dell'eluato per il QIAamp DSP Virus Kit è stata valutata utilizzando campioni di plasma EDTA da 500 µl con materiale standard HBV e HCV (1×10^4 UI/ml per entrambi) e un volume di eluizione di 60 µl. La stabilità dell'acido nucleico è stata determinata con esami real-time PCR per HBV e HCV. La stabilità dell'eluato a 2–8°C non è risultata alterata da un periodo di conservazione fino a 2 settimane. Tuttavia, per periodi di conservazione superiori alle 24 ore si consiglia di conservare gli acidi nucleici purificati per un massimo di 6 mesi a -20°C e per un massimo di 12 mesi a -80°C.

Sostanze interferenti

Diverse sostanze potenzialmente interferenti esogene ed endogene presenti nel sangue dei pazienti sono state aggiunte al plasma EDTA con materiale standard del virus per verificarne l'impatto su esami downstream esemplari dopo la purificazione automatica degli acidi nucleici virali con il QIAamp DSP Virus Spin Kit e il QIAamp DSP Virus Kit, che utilizzano un sistema chimico identico.

In alcuni esami esemplari downstream sono state valutate le sostanze potenzialmente interferenti più comuni per l'emolisi (emoglobina umana), la lipemia (trigliceridi) e l'ittero (bilirubina non coniugata). Non è stato osservato alcun impatto negativo significativo relativamente a questi potenziali interferenti e ad altri 30 potenziali interferenti, quali i farmaci tipicamente utilizzati, ad es., per il trattamento di infezioni virali rilevanti o di altre infezioni opportunistiche e, quindi, probabilmente presenti nei campioni dei pazienti.

Nota: i test sono stati eseguiti utilizzando applicazioni downstream esemplari per valutare la qualità degli acidi nucleici estratti. Tuttavia, le diverse applicazioni downstream possono avere requisiti diversi per quanto riguarda la purezza (cioè l'assenza o la concentrazione di potenziali sostanze interferenti), quindi l'identificazione e il test delle sostanze rilevanti e la rispettiva concentrazione devono essere stabiliti come parte dello sviluppo dell'applicazione downstream per qualsiasi flusso di lavoro che coinvolga il QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Tuttavia, è stato possibile rilevare un'interferenza in un esame real-time PCR per il plasma eparinizzato. Questi dati sono in linea con la norma ISO 20186-2:2019(E), in base alla quale l'eparina presente nelle provette per il prelievo di sangue può influire sulla purezza degli acidi nucleici isolati e il possibile carryover negli eluiti può comportare inibizioni in alcune applicazioni downstream. Pertanto, si consiglia di utilizzare campioni di sangue trattati con EDTA o citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma.







Eventuali sostanze potenzialmente interferenti (ad es. farmaci) e la relativa concentrazione sono molto specifiche per l'applicazione downstream e per eventuali trattamenti medici precedenti di un paziente e devono essere analizzate durante la verifica di tale applicazione downstream utilizzando il QIAamp DSP Virus/Virus Spin Kit.

Contaminazione crociata

È stato analizzato il rischio di contaminazione crociata per la purificazione automatica dell'acido nucleico virale tramite il QIAamp DSP Virus Spin Kit, effettuando cinque cicli di 12 campioni con lotti alternati in configurazione a scacchiera (campioni positivi e negativi alternati) per campioni di plasma e siero addizionati con $1,00E+07$ copie/ml di virus HBV. È stata valutata una potenziale contaminazione dei campioni negativi durante i cicli di estrazione, analizzando successivamente gli eluiti con un esame real-time PCR. Non è stata rilevata alcuna contaminazione crociata tra i campioni o il carryover tra i cicli.

Simboli

Nel presente documento compaiono i seguenti simboli. Per un elenco completo dei simboli utilizzati nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichettatura, consultare il manuale:

Simbolo	Definizione del simbolo
	Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro.
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Numero di catalogo
Rn	R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione
	Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Nota importante

Cronologia delle revisioni del documento

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	<p>Versione 2, revisione 1</p> <ul style="list-style-type: none">● Aggiornamento alla versione 2 del per la conformità a IVDR● Trasferimento e aggiornamento delle caratteristiche delle prestazioni dal manuale del kit al presente documento● Aggiunta dei seguenti capitoli:<ul style="list-style-type: none">○ Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni downstream○ Portata di inserimento del campione/uscita dell'eluato○ Precisione○ Aggiunta di Sostanze interferenti○ Contaminazione crociata○ Simboli○ Cronologia delle revisioni del documento

Contratto di licenza limitata per il QIAamp® DSP Virus Spin Kit

L'uso di questo prodotto implica l'accordo di qualsiasi acquirente o utente del prodotto ai seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e alle presenti Istruzioni per l'uso e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, le presenti Istruzioni per l'uso e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di fuori delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non garantisce che questo pannello e/o il suo utilizzo non violino i diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello accettano di non prendere o permettere a chiunque altro di prendere misure che potrebbero portare o facilitare qualsiasi atto vietato sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo pannello e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.

06/2022 HB-3031-D01-001 © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

