



2022. gada jūnijs

EZ1[®] DSP DNA Blood Kit komplekta lietošanas instrukcijas (Veiktspējas raksturojums)

Versija 4



Lietošanai in vitro diagnostikā
Izmantošanai ar EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)



62124



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vācija

R1

Veiktspējas raksturojums ir pieejams elektroniski, un tas ir atrodams izstrādājumu lapas resursu cilnē, vietnē www.qiagen.com.

Vispārīgs ievads

EZ1 DSP DNA Blood Kit komplekts ir paredzēts genomiskās DNS izdalīšanai no pilnasiņu paraugiem. Magnētisko daļiņu tehnoloģija nodrošina augstas kvalitātes DNS, kas ir piemērota tiešai izmantošanai pakārtotos lietojumos, piemēram, amplificēšanā. EZ1 un EZ2[®] Connect MDx instrumenti veic visus parauga sagatavošanas procedūras soļus maksimāli 6 paraugiem (izmantojot EZ1 Advanced vai BioRobot[®] EZ1 DSP, abu ražošana ir pārtraukta), maksimāli 14 paraugiem (izmantojot EZ1 Advanced XL) vai maksimāli 24 paraugiem (izmantojot EZ2 Connect MDx) vienā izpildē.

Izmantojot BioRobot EZ1 DSP vai izmantojot EZ1 Advanced ar protokola karti V1.0, parauga ievades tilpums ir 350 µl, un DNS eluēšana notiek 200 µl eluēšanas buferšķīdumā. Izmantojot EZ1 Advanced XL vai izmantojot EZ1 Advanced ar protokola karti V2.0, vai izmantojot EZ2 Connect MDx, var izvēlēties 200 vai 350 µl parauga ievades tilpumu un 50, 100 vai 200 µl DNS eluēšanas tilpumu.

EZ1 DSP DNA Blood Kit sistēmas veikspēja ir noteikta veikspējas novērtējuma pētījumos, izmantojot cilvēka pilnasiņu paraugus genomiskās DNS izolēšanai. Šie pētījumi ir noteikti kopā ar asinīm, kas savāktas tipiskos asins parauga ņemšanas stobriņos. Lietotājs ir atbildīgs par sistēmas veikspējas validēšanu visām lietotāja laboratorijā izmantotajām procedūrām, kuras nav ietvertas QIAGEN[®] veikspējas novērtējuma pētījumos.

EZ1 instrumentu veikspējas raksturojums

Piezīme. Veikspējas raksturojums ir ļoti atkarīgs no dažādiem faktoriem, un tas ir saistīts ar konkrētu pakārtoto lietojumu. Veikspēja ir noteikta EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektam kopā ar tipiskajiem pakārtotajiem lietojumiem. Taču metodes nukleīnskābju izolēšanai no bioloģiskajiem paraugiem tiek izmantotas kā priekšējā apstrāde vairākiem pakārtotajiem lietojumiem. Tādējādi veikspējas parametri, piemēram, eksogēno interferējošo vielu ietekme, krusteniskā kontaminācija vai izpildes precizitāte, ir jānosaka ikkatrai šādi darbpilūsmai, un šāda noteikšana veido daļu no pakārtotā lietojuma izstrādes. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbpilūsma validēšanu, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

Pamata veikspēja un saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem

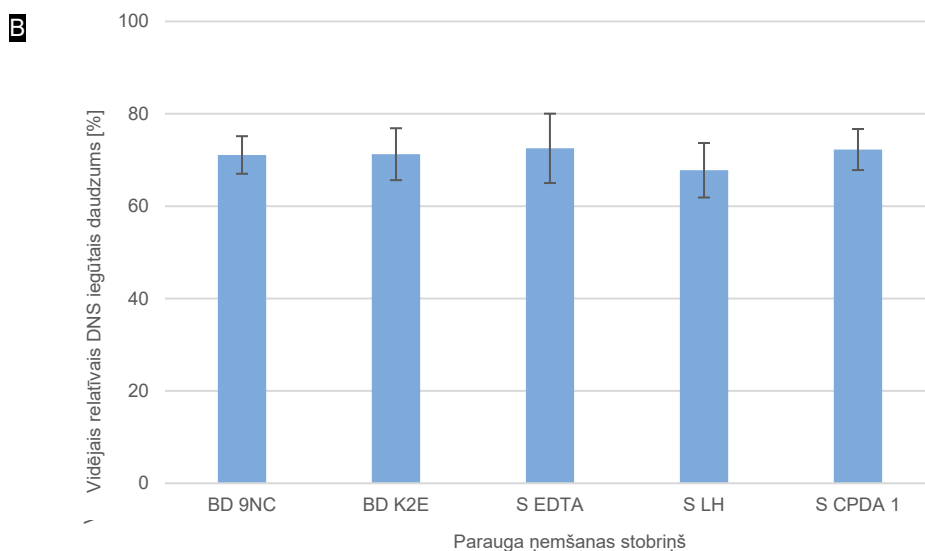
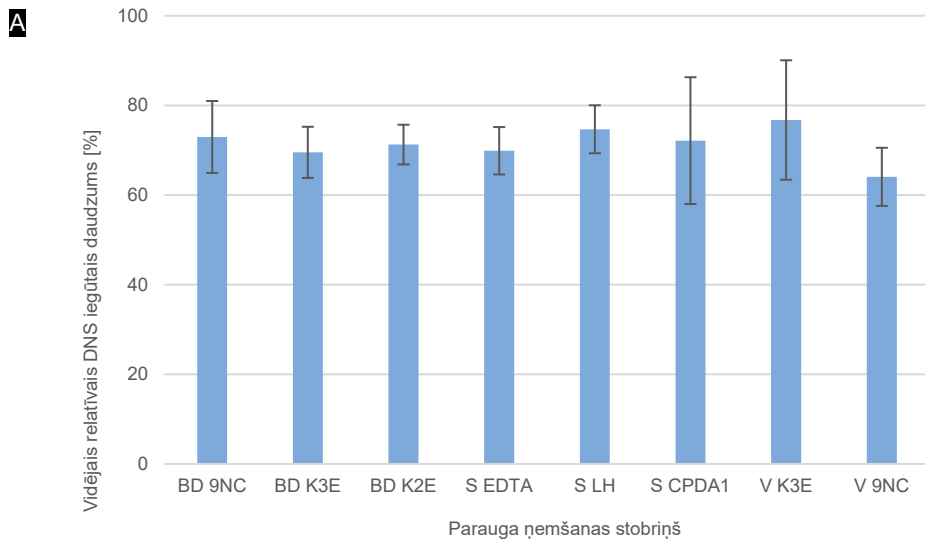
Cilvēka asins paraugu ņemšanai EZ1 DSP DNA Blood procedūras vajadzībām var izmantot dažādus primāros stobriņus un antikoagulantus. EZ1 DSP DNA Blood Kit komplekta pamata veikspēja tika novērtēta, izmantojot 6 atsevišķus donorus gDNA ekstrahēšanai no 8 dažādiem asins parauga ņemšanas stobriņiem. Tabula 1 sniedz sistēmas novērtēšanai izmantoto paraugu ņemšanas stobriņu pārskatu. Balto asins šūnu koncentrācija tika skaitīta katram paraugam, un teorētiskais DNS iegūtais daudzums tika aprēķināts katram paraugam. Vidējais relatīvais DNS iegūtais daudzums no asins paraugiem, izmantojot dažādus primāros stobriņus, ir parādīts šeit: Attēls 1.

Tabula 1. Ar EZ1 DSP DNA Blood sistēmu testētie asins parauga ņemšanas stobriņi

| Primārais stobriņš | Ražotājs | Kat. nr.* | Konservants / antikoagulants |
|---------------------|------------------|-------------|------------------------------------|
| BD® Vacutainer® 9NC | BD | 366007 | Nātrija citrāts |
| BD Vacutainer K3E | BD | 36847 | K3EDTA |
| BD Vacutainer K2E | BD | 367864 | K2EDTA |
| S-Monovette® EDTA | Sarstedt® | 02.1066.001 | K2EDTA |
| S-Monovette LH | Sarstedt | 02.1065.002 | Litija heparīns |
| S-Monovette CPDA1 | Sarstedt | 01.1610.001 | Citrāta fosfāta dekstrozes adenīns |
| Vacurette® K3E | Greiner Bio-One® | 455036 | K3EDTA |
| Vacurette 9NC | Greiner Bio-One | 454382 | Nātrija citrāts |

Genomiskā DNS tika izdalīta no 200 vai 350 µl asins paraugu.

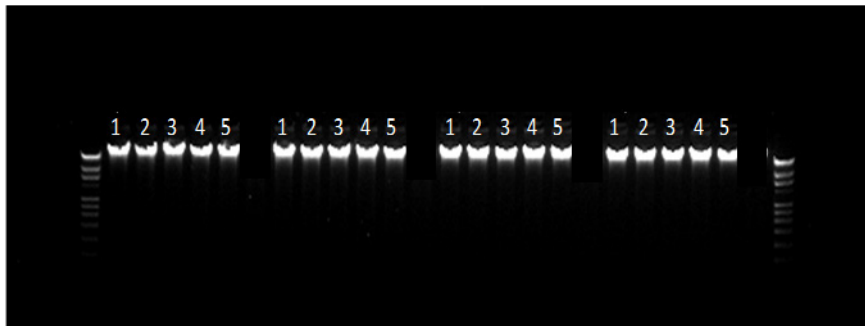
* Kataloga numuri var mainīties; lūdzu, pārbaudiet pie ražotāja vai piegādātāja.



Attēls 1. Pamata veiktspēja, izmantojot dažādus paraugu ņemšanas stobriņus un antikoagulantus. Dažāda veida stobriņos no veselīem donoriem tika paņemti pilnasiņu paraugi ar 3 atkārtojumiem katram donoram un stobriņam. Izmantotie stobriņi ir norādīti šeit: Tabula 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette, V: Vacuette). **A:** Asinis tika ņemtas no 6 donoriem 8 dažāda tipa stobriņos. Genomiskā DNS tika izdalīta no 350 µl paraugiem, eluējot ar 200 µl. **B:** Asinis tika ņemtas no 6 donoriem 5 dažāda tipa stobriņos. Genomiskā DNS tika izdalīta no 200 µl paraugiem, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu EZ1 Advanced XL instrumentā, eluējot ar 200 µl. Teorētisko DNS iegūto daudzumu no katra donora un stobriņa noteica pēc balto asins šūnu skaita. Stobriņos redzams vidējais relatīvais DNS iegūtais daudzums (salīdzinājumā ar teorētisko iegūto daudzumu) ar standartnovirzi.

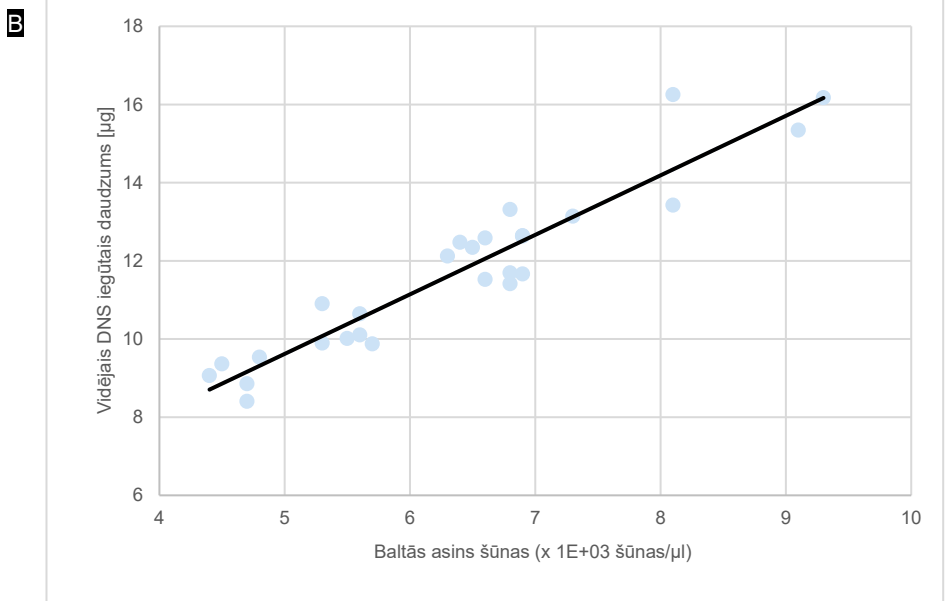
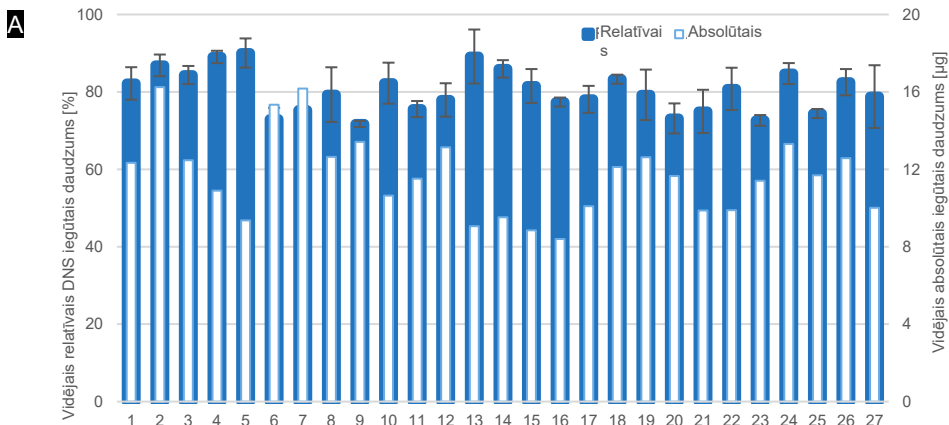
Lai noteiktu genomiskās DNS integritāti, eluāti no dažādiem asins parauga ņemšanas stobriņiem tika analizēti, izmantojot agarozes gela elektroforēzi (Attēls 2).

B2



Attēls 2. Pamata veiktspēja, izmantojot dažādus paraugu ņemšanas stobriņus un antikoagulantus. Eluāti no dažādiem asins parauga ņemšanas stobriņiem tika analizēti, izmantojot agarozes gela elektroforēzi, lai noteiktu genomiskās DNS integritāti. 1: BD K2E, 2: BD 9NC, 3: S EDTA, 4: S LH, 5: S CPDA1. Rādītie rezultāti ir no 4 dažādiem donoriem.

Genomiskā DNS tika izdalīta no 350 μ l asins paraugiem, kas ņemti no veselīgiem donoriem. Ar EZ1 DSP DNA Blood procedūru iegūtais izdalītās DNS daudzums ir atkarīgs no balto asins šūnu satura katrā asins paraugā, un iegūtais daudzums dažādiem donoriem var atšķirties (Attēls 3).

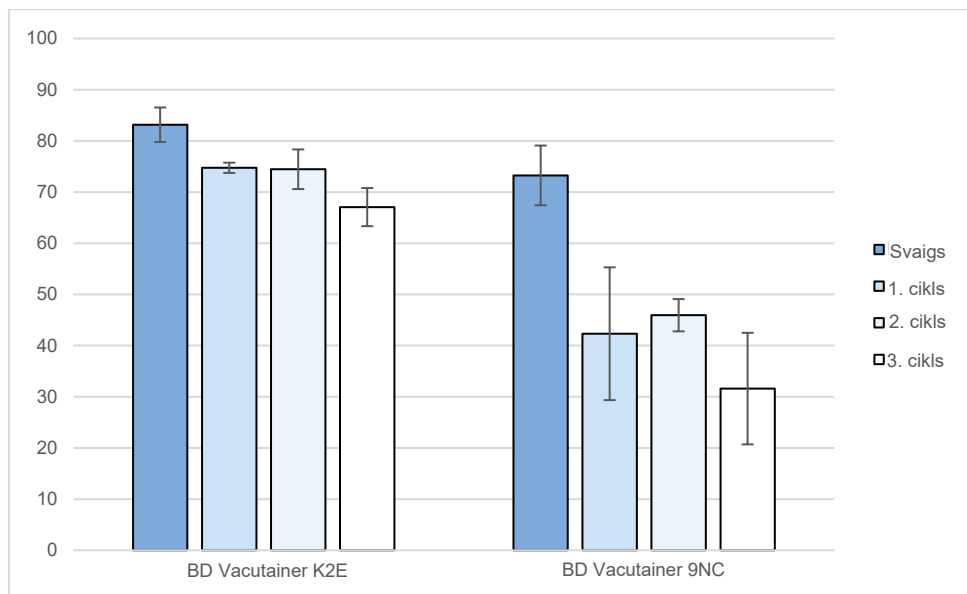


Attēls 3. Vidējais absolūtais un relatīvais DNS iegūtais daudzums no dažādiem donoriem. Pilnāsinis tika paņemtas no 27 donoriem trīs eksemplāros. Genomiskā DNS no katra parauga 350 μ l tika izdalīta, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu. **A:** Teorētisko DNS iegūto daudzumu noteica pēc balto asins šūnu skaita. Katram donoram ir parādīts vidējais absolūtais (Absolūtais) un relatīvais (Relatīvais) (salīdzinājumā ar aprēķināto teorētisko iegūto daudzumu) DNS iegūtais daudzums. **B:** Katram donoram ir parādīti vidējie absolūtie iegūtie daudzumi attiecībā pret balto asins šūnu skaitu.

Genomiskās DNS eluāti, kas izdalīti no pilnasiņu paraugiem, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu, tika analizēti un uzrādīja saderīgumu ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem, piemēram, galapunkta PCR, agarozes gela elektroforēzi, kā arī fotometrisko mērījumu un kvantitatīvo real-time PCR (qPCR) (skatiet sadaļu Krusteniskā kontaminācija, 9. lpp.).

Paraugu sasaldēšana un atkausēšana

Ar EZ1 DSP DNA Blood sistēmu var izmantot svaigus vai sasaldētus cilvēka pilnasiņu paraugus. Ietekme, kādu uz DNS izdalīšanu atstāj asins paraugu sasaldēšana un atkausēšana, ir noteikta (skatiet šeit: Attēls 4).



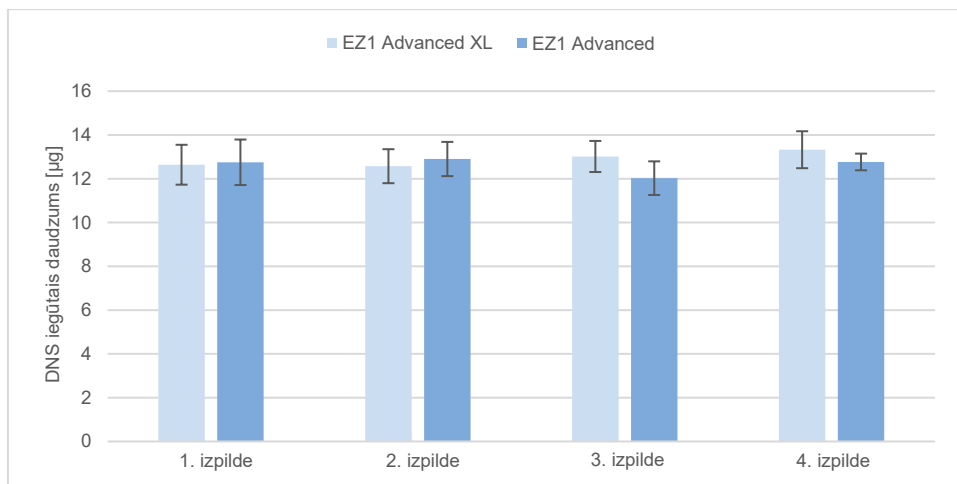
Attēls 4. Sasaldēšanas-atkausēšanas ciklu ietekme uz DNS iegūto daudzumu. Pilnasinis tika paņemtas no 3 veselīgiem donoriem norādītajos stobriņos ar 6 atkārtotajiem katram. Izmantotie stobriņi ir uzskaitīti šeit: Tabula 1. Genomiskā DNS tika izdalīta no katra parauga 350 µl, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu, un relatīvā DNS iegūtā daudzuma (Svaigs) vidējās vērtības tika aprēķinātas katram donoram un stobriņam. Stobriņi ar asins paraugiem tika sasaldēti un atkausēti 3 reizes. Genomiskā DNS tika izdalīta pēc katra sasaldēšanas-atkausēšanas cikla (1. cikls–3. cikls).

Var izmantot pilnasiņu paraugus, kas apstrādāti ar EDTA, ACD (citrāts) vai heparīnu, un tie var būt svaigi vai sasaldēti. Pirms procedūras sākšanas sasaldētie paraugi jāatkausē istabas temperatūrā (15–25 °C), nedaudz saskalinot. Izdalītās DNS iegūtais daudzums un kvalitāte var būt atkarīgi no asiņu glabāšanas apstākļiem. No svaigiem asiņu paraugiem var iegūt labākus rezultātus. Asins paraugus nedrīkst atkārtoti sasaldēt vairāk par 2 reizēm, jo tas var samazināt DNS iegūto daudzumu.

Sasaldēšanu–atkausēšanu ieteicams veikt stobriņos, kur kā antikoagulants tiek izmantota EDTA.

Precizitāte

DNS iegūtais daudzums no 350 µl cilvēka pilnasinim un 200 µl eluāta tika salīdzināts dažādām izpildēm, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu EZ1 Advanced un EZ1 Advanced XL instrumentos. Kopā tika veiktas 8 izdalīšanas izpildes ar vienu operatoru, vienā ierīcē (uz katru instrumenta tipu) un divās dažādās dienās. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā DNS iegūtā daudzuma standartnovirzes (Attēls 5).



Attēls 5. Precizitāte tajā pašā izpildē, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu. Asinis tika ņemtas BD K2E stobriņos no veselīgiem donoriem un pirms lietošanas apkopotas. Genomiskā DNS tika izdalīta no 350 µl alikvotajām daļām 4 izpildēs, katru veicot 6 atkārtojumus EZ1 Advanced instrumentā, un 4 izpildēs, katru veicot 14 atkārtojumus EZ1 Advanced XL instrumentā, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu. Vidējais kopējais DNS iegūtais daudzums un standartnovirze ir parādīti katrai izpildei.

Variācijas koeficienti (CV, Coefficient of variation) tika noteikti cilvēka DNS ekstrahēšanai no pilnasinīm. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 2.

Tabula 2. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē

| Precizitāte | CV (%) (EZ1 Advanced XL) | CV (%) (EZ1 Advanced) |
|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Tajā pašā izpildē (1. izpilde) | 7,21 | 8,15 |
| Tajā pašā izpildē (2. izpilde) | 6,18 | 6,06 |
| Tajā pašā izpildē (3. izpilde) | 5,45 | 6,39 |
| Tajā pašā izpildē (4. izpilde) | 6,33 | 2,99 |

Izmantojot EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, mainīgums tajā pašā izpildē EZ1 Advanced XL instrumentam tika noteikts kā līdzvērtīgs mainīgumam tajā pašā izpildē EZ1 Advanced instrumentam.

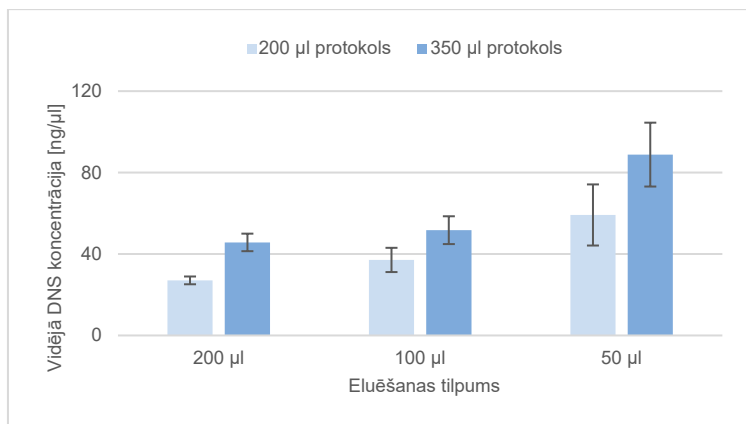
Turklāt abiem instrumentiem tika noteikts mainīgums dažādās izpildēs (Tabula 3).

Tabula 3. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs

| Precizitāte | CV (%) (EZ1 Advanced XL) | CV (%) (EZ1 Advanced) |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Dažādās izpildēs (1–4. izpilde) | 6,58 | 6,39 |

Parauga ievade/eluāta izvade

Genomiskā DNS tika izdalīta no 200 un 350 µl pilnasiņu paraugiem, kas iegūti no veselīgiem donoriem, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood procedūru EZ1 Advanced XL instrumentā ar trīs dažādiem eluēšanas tilpumiem. Eluātu DNS koncentrācijas atšķirības ir parādītas šeit: Attēls 6.



Attēls 6. Vidējā DNS koncentrācija, kas iegūta ar dažādiem eluēšanas tilpumiem. Pilnasinis tika paņemtas no 3 donoriem. Genomiskā DNS tika izdalīta no 200 un 350 μl katra parauga un eluēta ar 200, 100 un 50 μl, katru trīs eksemplāros, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu EZ1 Advanced XL instrumentā. Vidējā DNS koncentrācija ir parādīta katram protokolam un katram eluēšanas tilpumam.



Eluēšanas buferšķīduma mazā tilpuma dēļ un tādēļ, ka eluēšanas buferšķīdums procesa gaitā sasilst, eluēšanā ar 50 μl galīgais eluāta tilpums var būt mazāks par 50 μl.

Atkarībā no pilnās darbplūsmas (parauga sagatavošana kombinācijā ar konkrētu pakārtoto lietojumu), var pastāvēt visnoderīgākā parauga ievades un eluēšanas tilpuma kombinācija, kura palīdz optimizēt, piemēram, galīgo DNS iegūto daudzumu un koncentrāciju, vai palīdz labāk minimizēt atlikušo interferējošo vielu potenciālo ietekmi. Dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (pat tam pašam parauga materiālam) var būt nepieciešamas dažādas parauga ievades/eluāta izvades kombinācijas. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.

Eluāta stabilitāte

Eluāta stabilitāte EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektam tika novērtēta, izmantojot ekstrahēto genomisko DNS no pilnasiņu paraugiem, kas savākti BD Vacutainer K2E stobriņos. Eluāti tika glabāti dažādā temperatūrā un dažādus laika periodus un tika testēti attiecībā uz integritāti (agarozes gela elektroforēze) un piemērotību PCR (iestādes analīze) veikšanai.

Rezultāti uzrādīja genomiskās DNS stabilitāti EZ1 eluātos 24 mēnešus, glabājot 2–8 °C vai –20 °C temperatūrā, un 36 mēnešus, glabājot –20 °C vai –80 °C temperatūrā.

Interferējošas vielas

Paraugā esošajām interferējošajām vielām ir ļoti liela nozīme, jo tās var ietekmēt automatizētās nukleīnskābju izolēšanas veiktspēju. Turklāt arī ekstrahēšanas metode pati var dažādos līmeņos pievienot eluātam interferējošas vielas, kuras var ietekmēt eluātu tīrību un saderību pakārtotajos lietojumos. Tādēļ pilnasiņu paraugiem tika pievienotas potenciāli interferējošas vielas, lai testētu to ietekmi uz EZ1 DSP DNA Blood procedūru un turpmāko saderību ar tipiskajām pakārtotajām analīzēm. Eluāti tika testēti attiecībā uz integritāti (agarozes gela elektroforēze), piemērotību PCR (iestādes analīze) veikšanai un tīrību (fotometrisks mērījums).

Tabula 4. Potenciāli interferējošu vielu testa koncentrācijas

| Interferējošas vielas | Galīgā testa koncentrācija |
|-----------------------|----------------------------|
| Bilirubīns | 200 mg/l |
| Hemoglobīns | 200 g/l |
| Albumīns (BSA) | 120 g/l |
| Triglicerīdi | 30 g/l |

Neviena no uzskaitītajām vielām (Tabula 4) neuzrādīja nekādu interferenci ar izmantotajiem pakārtotajiem lietojumiem.

Piezīme. Testēšana tika veikta, izmantojot tipiskus pakārtotos lietojumus ekstrahēto nukleīnskābju kvalitātes novērtēšanai. Taču dažādiem pakārtotajiem lietojumiem var atšķirties prasības attiecībā uz tīrību (t.i., potenciāli interferējošu vielu neesamību), tāpēc pakārtoto lietojumu izstrādes gaitā ir jānosaka arī attiecīgo vielu identificēšana un testēšana ikvienai darbplūsmai, kur iesaistīts EZ1 DSP DNA Blood Kit komplekts.

Krusteniskā kontaminācija

EZ1 DSP DNA Blood sistēmas krusteniskās kontaminācijas risks tika analizēts, veicot 12 izpildes ar EZ1 Advanced instrumentu (2.0 protokols, 350 µl ievade, 200 µl eluēšana) un 9 izpildes ar EZ1 Advanced XL instrumentu (200 µl ievade, 200 µl eluēšana) pamīšus šaha galdiņa izkārtojumos. Lai noteiktu pārnese no parauga uz paraugu, izpildes tika veiktas ar vīriešu (pozitīviem) un sievietēm (negatīviem) asins paraugiem pamīšus pozīcijās. Katru trešo izpildi veica, izmantojot tikai sievietes asins paraugus. Visi eluāti tika testēti attiecībā uz Y hromosomai raksturīgā vienas kopijas gēna SRY 78 bp fragmenta amplifikāciju, izmantojot QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kit komplektu.

EZ2 Connect MDx veikspējas raksturojums

EZ2 Connect MDx veikspējas raksturojums ir noteikts salīdzinājumā ar EZ1 Advanced XL, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu. Ar komplektu saistītais veikspējas raksturojums, piemēram, eluāta stabilitāte vai pamata veikspēja, attiecas uz visām instrumentu sistēmām, kas uzskaitītas EZ1 DSP DNA Blood Kit komplekta lietošanas instrukcijās, jo komplekts, kurš veido daļu no sistēmas, dažādajām automatizētajām platformām nemainās.

Piezīme. Veikspējas raksturojums ir ļoti atkarīgs no dažādiem faktoriem, un tas ir saistīts ar konkrētu pakārtoto lietojumu. Veikspēja ir noteikta EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektam kopā ar tipiskajiem pakārtotajiem lietojumiem. Taču metodes nukleīnskābju izolēšanai no bioloģiskajiem paraugiem tiek izmantotas kā priekšējā apstrāde vairākiem pakārtotajiem lietojumiem. Tādējādi veikspējas parametri, piemēram, eksogēno interferējošo vielu ietekme, krusteniskā kontaminācija vai izpildes precizitāte, ir jānosaka ikkatrai šādai darbplūsmai, un šāda noteikšana veido daļu no pakārtotā lietojuma izstrādes. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

Pamata veikspēja un saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem

Pamata veikspējas dati, kas ģenerēti, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentus, attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 3. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, parauga sastāvs un komplekts ir identiski. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas pamata veikspēja ir līdzvērtīga vai labāka. Līdzvērtīguma testēšanas laikā tika apstiprināta arī saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (tostarp qPCR).

Taču, tā kā tika izmantotas tikai tipiskās pakārtotās metodes, lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savā konkrētajā lietojumā, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.

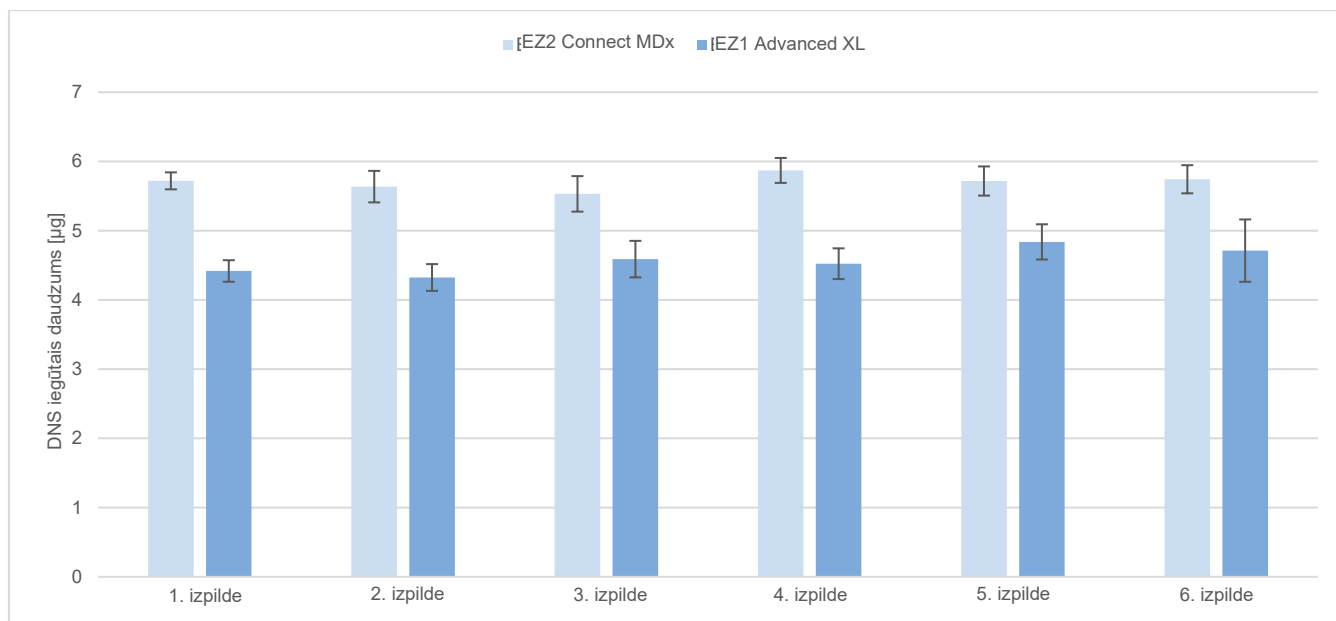
Paraugu sasaldēšana un atkausēšana

Sasaldēšanas–atkausēšanas dati parauga materiālam, kas ģenerēts, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentus, attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 6. lpp.). Paraugu sasaldēšana–atkausēšana tiek veikta pirms nukleīnskābju ekstrahēšanas, un saistītā parauga sadalīšanās pakāpe tādējādi ir neatkarīga no pakārtotās ekstrahēšanas procedūras. Turklāt instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, parauga sastāvs un komplekta ķīmiskās īpašības ir identiski. Tika testēta arī EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas veiktspēja ir līdzvērtīga vai labāka. Instrukcijas par apiešanos ar paraugiem attiecas uz visām automatizētajām sistēmām, kuras paredzēts izmantot ar šo komplektu.

Taču lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.

Precizitāte

DNS iegūtais daudzums no 200 µl cilvēka pilnasinīm un 100 µl eluāta tilpuma tika salīdzināts dažādām izpildēm, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu EZ2 Connect MDx un EZ1 Advanced XL instrumentos. Kopā tika veiktas 12 izdalīšanas izpildes ar trīs dažādiem operatoriem, trīs dažādas ierīcēs (uz katru instrumenta tipu) un trīs dažādās dienās. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā DNS iegūtā daudzuma standartnovirzes (Attēls 7).



Attēls 7. Precizitāte tajā pašā izpildē, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu. Asinis tika ņemtas BD K2E stobriņos no veselīgiem donoriem un pirms lietošanas apkopotas. Genomiskā DNS tika izdalīta no 200 µl alikvotajām daļām 6 izpildēs, katru veicot 14 atkārtojumos EZ1 Advanced XL instrumentā, un no 200 µl alikvotajām daļām 6 izpildēs, katru veicot 24 atkārtojumos EZ2 Connect MDx instrumentā, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu. Vidējais kopējais DNS iegūtais daudzums un standartnovirze ir parādīti katrai izpildei.

Variācijas koeficienti (CV, Coefficient of variation) tika noteikti cilvēka DNS ekstrahēšanai no pilnasinīm. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 5.

Tabula 5. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē

| Precizitāte | CV (%) (EZ2 Connect MDx) | CV (%) (EZ1 Advanced XL) |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Tajā pašā izpildē (1. izpilde) | 2,14 | 3,52 |
| Tajā pašā izpildē (2. izpilde) | 4,04 | 4,47 |
| Tajā pašā izpildē (3. izpilde) | 4,64 | 5,75 |
| Tajā pašā izpildē (4. izpilde) | 3,06 | 4,91 |
| Tajā pašā izpildē (5. izpilde) | 3,69 | 5,26 |
| Tajā pašā izpildē (6. izpilde) | 3,54 | 9,55 |

Līdzvērtīguma testos izmantojot EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, mainīgums tajā pašā izpildē EZ2 Connect MDx instrumentam tika noteikts kā līdzvērtīgs mainīgumam tajā pašā izpildē EZ1 Advanced XL instrumentam.

Turklāt mainīgums dažādās izpildēs tika noteikts EZ2 Connect MDx instrumentam (Tabula 6).

Tabula 6. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs

| Precizitāte | CV (%) (EZ2 Connect MDx) | CV (%) (EZ1 Advanced XL) |
|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Dažādās izpildēs (1–6. izpilde) | 4,02 | 7,07 |

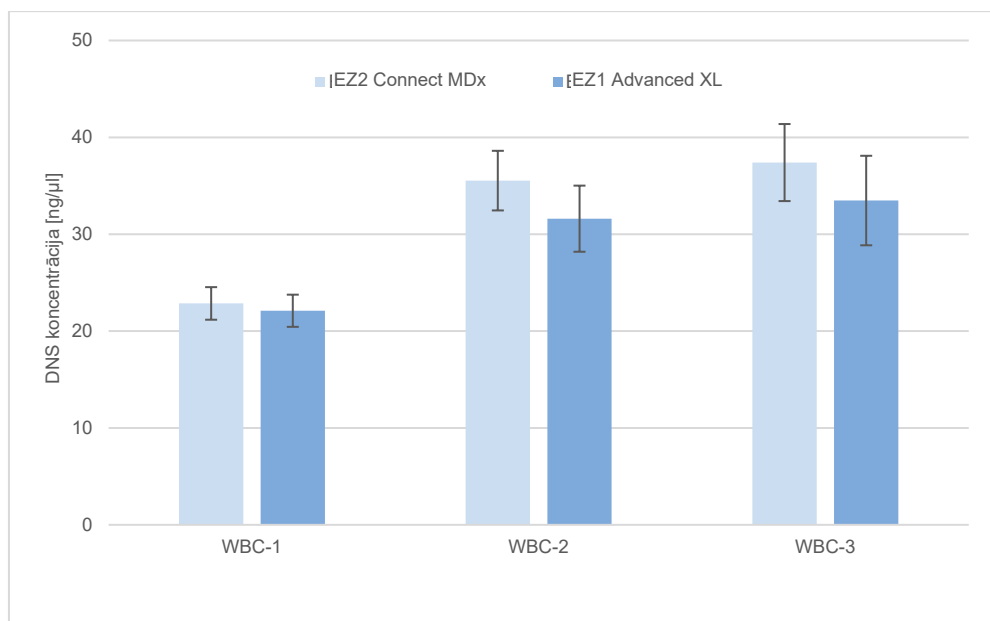
Parauga ievade/eluāta izvade

EZ1 DSP DNA Blood sistēma EZ2 Connect MDx instrumentā sniedz iespēju dažādus parauga ievades tilpumus (200 vai 350 µl) kombinēt ar dažādiem eluāta izvades tilpumiem (50, 100 vai 200 µl). EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru vispārējās veiktspējas testēšana uzrādīja līdzvērtīgu vai labāku sistēmas veiktspēju, salīdzinot ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

Atkarībā no pilnās darbplūsmas (parauga sagatavošana kombinācijā ar konkrētu pakārtoto lietojumu), var pastāvēt visnoderīgākā parauga ievades un eluēšanas tilpuma kombinācija, kura palīdz optimizēt, piemēram, galīgo DNS iegūto daudzumu un koncentrāciju, vai palīdz labāk minimizēt atlikušo interferējošo vielu potenciālo ietekmi. Dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (pat tam pašam parauga materiālam) var būt nepieciešamas dažādas parauga ievades/eluāta izvades kombinācijas. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.

Akurātums

Izmantojot balto asins šūnu (WBC, white blood cells) trīs dažādas koncentrācijas, tika veiktas 6 izdalīšanas izpildes EZ2 Connect MDx un EZ1 Advanced XL instrumentos. DNS iegūtais daudzums no 200 µl parauga ievades un 200 µl eluēšanas tilpuma tika noteikts, izmantojot spektrofotometrisku mērījumu, un salīdzināts starp dažādajiem instrumentiem.



Attēls 8. Vidējā DNS koncentrācija, kas iegūta ar dažādām WBC koncentrācijām Pilnasinis tika ņemtas no dažādiem donoriem, apkopotas un koriģētas atbilstoši nepieciešamajām WBC koncentrācijām, izmantojot centrifugāta slāni. Genomiskā DNS tika izdalīta no katra parauga 200 μl un eluēta ar 200 μl, izmantojot EZ1 DSP DNA Blood sistēmu EZ1 Advanced XL un EZ2 Connect MDx instrumentus. Vidējā DNS koncentrācija ir parādīta katrai WBC koncentrācijai.

Tabula 7. Akurātuma testa rezultātu kopsavilkums

| WBC | Instrumenti | Diena | DNS koncentrācija | | | |
|-------|-------------|-------|-------------------|------------------|-------|-------|
| | | | Vidējā (ng/μl) | Mediānas (ng/μl) | SD | % CV |
| WBC-1 | EZ1 | 1 | 21,92 | 22,50 | 1,662 | 7,58 |
| | | 2 | 22,28 | 22,05 | 1,785 | 8,01 |
| | EZ2 | 1 | 23,00 | 23,00 | 1,490 | 6,48 |
| | | 2 | 22,71 | 22,45 | 1,975 | 8,70 |
| WBC-2 | EZ1 | 1 | 33,23 | 33,30 | 3,565 | 10,73 |
| | | 2 | 29,98 | 31,03 | 2,635 | 8,79 |
| | EZ2 | 1 | 35,75 | 36,05 | 3,066 | 8,58 |
| | | 2 | 35,32 | 35,15 | 3,341 | 9,46 |
| WBC-3 | EZ1 | 1 | 34,48 | 34,70 | 3,418 | 9,91 |
| | | 2 | 32,47 | 31,35 | 5,717 | 17,61 |
| | EZ2 | 1 | 38,04 | 37,50 | 4,260 | 11,20 |
| | | 2 | 36,76 | 36,63 | 3,935 | 10,70 |

Statistiskā analīze uzrādīja līdzvērtīgu EZ2 Connect MDx instrumenta veiktspēju, salīdzinot ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

Eluāta stabilitāte

Eluāta stabilitātes dati, kas ģenerēti, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentus, attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 8. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, parauga un komplekta sastāvi ir identiski. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas veiktspēja ir līdzvērtīga vai labāka. Instrukcijas par apiešanos ar eluātiem attiecas uz visām automatizētajām sistēmām, kuras paredzēts izmantot ar šo komplektu.

Taču lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.

Interferējošas vielas

Interferējošo vielu ietekme tika noteikta, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentu. Šie dati attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 8. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, parauga un komplekta sastāvi ir identiski. Parauga ievades/eluāta izvades tilpumi ir identiski, tāpēc nekāda ietekme uz interferējošo vielu tipu vai koncentrāciju eluātos nav gaidāma. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas veiktspēja ir līdzvērtīga vai labāka. Instrukcijas par apiešanos ar paraugiem un eluātiem attiecas uz visām automatizētajām sistēmām, kuras paredzēts izmantot ar šo komplektu.

Taču lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.






Krusteniskā kontaminācija

EZ2 Connect MDx instrumentā izmantota EZ1 DSP DNA Blood Kit komplekta krusteniskās kontaminācijas risks tika analizēts, veicot 10 izpildes (350 µl ievade, 50 µl eluēšana) pamīšus šaha galdiņa izkārtojumos. Lai noteiktu pārnesei no parauga uz paraugu, izpildes tika veiktas ar vīriešu (pozitīviem) un sievietes (negatīviem) asins paraugiem pamīšus pozitīvajās. Katru otro izpildi veica, izmantojot tikai sievietes asins paraugus. Visi eluāti tika testēti attiecībā uz Y hromosomai raksturīgā vienas kopijas gēna SRY 78 bp fragmenta amplifikāciju, izmantojot QIAGEN QuantiTect Probe PCR Kit komplektu.

Visi vīriešu asins paraugi PCR testā uzrādījās kā pozitīvi, un visi sievietes asins paraugi testā uzrādījās kā negatīvi. Netika konstatēta krusteniskā kontaminācija pārnesei starp paraugiem vai starp izpildēm.

Simboli

Šajā dokumentā ir redzami tālāk aprakstītie simboli. Pilnu sarakstu ar lietošanas instrukcijās un uz iepakojuma un marķējuma izmantotajiem simboliem, lūdzu, skatiet rokasgrāmatā.

| Simbols | Simbola definīcija |
|---|--|
|  | Šis produkts atbilst prasībām, ko nosaka Eiropas Regula 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskajām ierīcēm. |
|  | In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce |
|  | Kataloga numurs |
| Rn | R apzīmē lietošanas instrukciju redakciju, bet n ir redakcijas numurs |
|  | Ražotājs |
|  | Svarīga piezīme |

Redakciju vēsture

Versija

Apraksts

R1, 2022. gada jūnijs

Versija 4, redakcija 1

- Dokumenta izveidošana jaunai komplekta versijai. Pievienoti dati EZ2 Connect MDx instrumentam

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktiem specifiskās atrunas skatiet attiecīgajā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, un tās var pieprasīt arī no QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta vai vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ2®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes utt. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

06/2022 HB-3025-D01-001 © 2022 QIAGEN, visas tiesības paturētas.

