

Instructions d'utilisation (caractéristiques de performances) de l'EZ1[®] DSP Virus Kit

Version 5

IVD

Pour utilisation diagnostique in vitro
À utiliser avec l'EZ1 DSP Virus Kit (48)

CE

REF

62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne

R1

Les caractéristiques de performances disponibles sous forme électronique sont disponibles sous l'onglet Resource, sur la page du produit, à l'adresse www.qiagen.com.

Introduction générale

L'EZ1 DSP Virus Kit est conçu pour la purification des acides nucléiques viraux et de l'ADN bactérien du plasma, du sérum, du LCR, des selles et des échantillons nasopharyngés sur écouvillon prélevés dans du Universal Transport Medium™ (UTM®). La technologie des particules magnétiques fournit des acides nucléiques (AN) de haute qualité pouvant être utilisés directement dans des applications en aval telles que la PCR et l'amplification par qPCR. Les instruments EZ1 et EZ2® Connect MDx exécutent toutes les étapes de la procédure de préparation d'échantillon jusqu'à 6 échantillons (avec l'EZ1 Advanced ou le BioRobot® EZ1 DSP, tous deux arrêtés), jusqu'à 14 échantillons (avec l'EZ1 Advanced XL) ou jusqu'à 24 échantillons (avec l'EZ2 Connect MDx) en un seul cycle.

Le volume d'entrée d'échantillon peut être sélectionné entre 100, 200 et 400 µl et le volume d'éluion des AN peut être sélectionné entre 60, 90, 120 et 150 µl.

La performance du système EZ1 DSP Virus Kit a été établie dans des études d'évaluation des performances avec du plasma, du sérum, du LCF, des selles et des échantillons nasopharyngés sur écouvillon prélevés en UTM pour l'isolation des AN viraux et de l'ADN bactérien. Cependant, la performance du kit n'est pas garantie pour chaque espèce de virus ou de bactérie et doit être validée par l'utilisateur. Il est de la responsabilité des utilisateurs de valider la performance du système pour toutes les procédures utilisées dans leur laboratoire et non couvertes par les études d'évaluation de la performance QIAGEN®.

Caractéristiques de performances des instruments EZ1

Remarque : Les caractéristiques de performances dépendent fortement de divers facteurs et sont liées à l'application en aval spécifique. Les performances ont été établies pour l'EZ1 DSP Virus Kit en conjonction avec les applications en aval en exemple. Cependant, les méthodes d'isolation des acides nucléiques d'échantillons biologiques sont utilisées initialement pour de multiples applications en aval. Les paramètres de performances tels que l'influence des substances interférentes exogènes, la contamination croisée ou la précision des cycles doivent donc être établis pour tout flux de travail dans le cadre du développement de l'application en aval. L'utilisateur est donc responsable de valider l'ensemble du flux de travail pour établir les paramètres de performances appropriés.

Performances de base et compatibilité avec différentes applications en aval

Divers tubes principaux et anticoagulants peuvent être utilisés afin de prélever des échantillons de sang pour la procédure de l'EZ1 DSP Virus. Les performances de base de l'EZ1 DSP Virus Kit ont été évaluées avec 6 donneurs simples pour l'extraction d'AN viraux de 4 tubes de prélèvement sanguin différents. Le tableau 1 offre une vue d'ensemble des tubes de prélèvement d'échantillons qui ont été utilisés pour l'évaluation du système. Après la préparation du plasma ou du sérum, les échantillons ont été inoculés avec un titre viral spécial d'hépatite C (VHC) ou d'hépatite B (VHB). Des systèmes de qPCR adaptés ont été utilisés pour déterminer le titre viral de chaque échantillon. Les titres viraux moyens avec différents tubes primaires se trouvent dans la figure 1.

Tableau 1. Tubes de prélèvement sanguin testés avec le système EZ1 DSP Virus

Tube primaire	Fabricant	N° de réf.*	Conservateur/anticoagulant
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gel – plasma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – plasma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Cortate de sodium – plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – sérum

* Les numéros de référence sont susceptibles de changer ; veuillez vérifier auprès du fabricant ou du fournisseur.

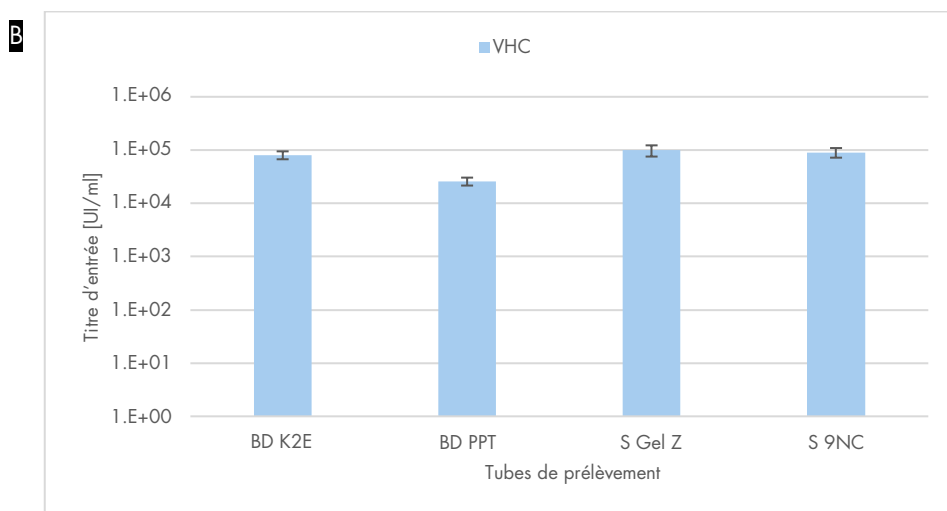
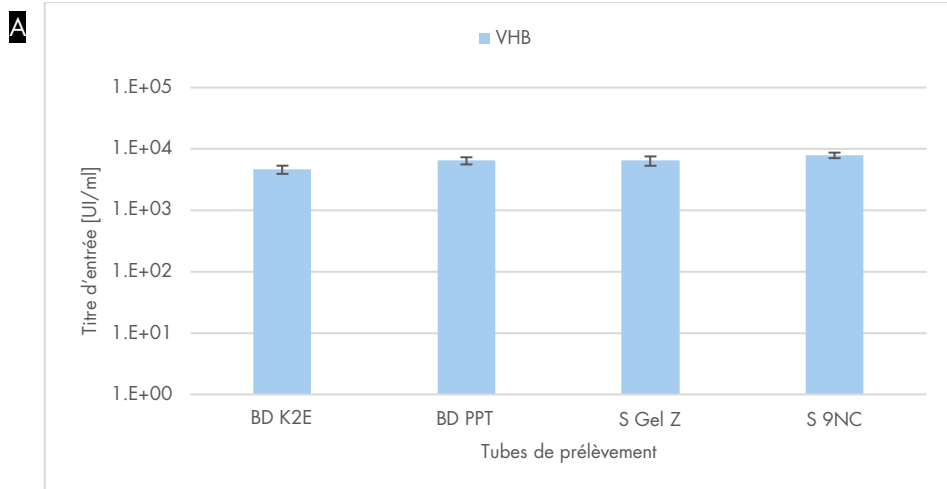


Figure 1. Performances de base avec différents tubes de prélèvement et anticoagulants. Des échantillons sanguins ont été prélevés chez 6 donneurs sains dans différents types de tubes pour préparer du plasma ou du sérum avec 10 réplicats par tube de donneur. Les tubes utilisés sont répertoriés dans le tableau 1 (BD : Becton Dickinson, S : S-Monovette). **A** : L'ADN viral a été purifié à partir d'échantillons de 200 µl, avec une élution dans 90 µl. **B** : L'ARN viral a été purifié à partir d'échantillons de 200 µl avec une élution dans 90 µl. Les rendements d'AN de chaque donneur et tube ont été déterminés par analyse qPCR. Les barres indiquent les résultats de titres viraux moyens avec l'écart-type.

La plage linéaire de l'EZ1 DSP Virus Kit a été évaluée avec l'adénovirus 5 comme virus à ADN inoculé dans des échantillons de selles. Les tests ont été effectués avec des dilutions $\times 10$ en série de surnageant de culture cellulaire dans des selles négatives à l'adénovirus. Des séries de dilutions avec 5 dilutions de virus différentes ont été testées avec 10 réplicats chacune. Les acides nucléiques viraux ont été extraits d'échantillons de 200 µl (remis en suspension à 1:10 dans le Buffer ASL*) et élués dans 120 µl. La plage de linéarité de la procédure de l'EZ1 DSP Virus a été déterminée en combinaison avec un dosage qPCR adapté en comparaison avec une méthode d'extraction d'ADN en colonne de centrifugation (figure 2).

* QIAGEN GmbH, N° de réf. 190822

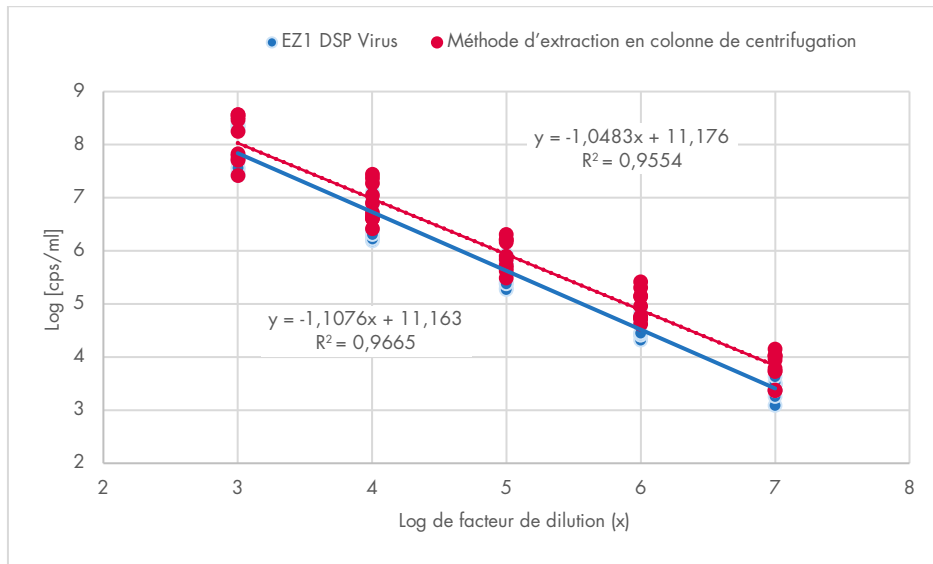


Figure 2. Plage de linéarité des titres viraux avec le protocole de l'EZ1 DSP Virus. Les résultats affichés sont ceux d'un dosage de PCR d'adénovirus adapté en combinaison avec des éluats de l'extraction d'adénovirus 5 d'échantillons de selles, avec l'EZ1 DSP Virus Kit ou une méthode d'extraction d'ADN en colonne de centrifugation.

Des données de plage de linéarité supplémentaires ont été générées en inoculant du cytomégalo virus (Cytomegalovirus, CMV) comme virus à ADN dans des échantillons de plasma EDTA préparés à partir d'un donneur. Des séries de dilutions avec 7 dilutions de virus différentes ont été testées avec 9 réplicats chacune. Les acides nucléiques viraux ont été extraits d'échantillons de 400 µl et élués dans 60 µl sur l'EZ1 Advanced XL. La plage de linéarité a été déterminée en combinaison avec un dosage de PCR CMV adapté.

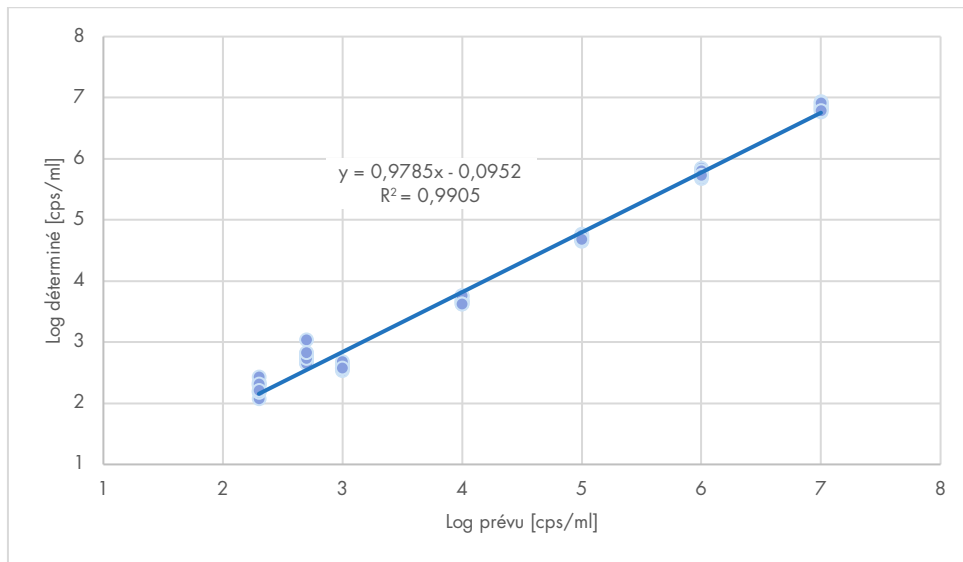


Figure 3. Plage de linéarité des titres viraux avec le protocole de l'EZ1 DSP Virus. Les résultats affichés sont ceux d'un dosage de PCR CMV en combinaison avec des éluats de l'extraction du CMV d'échantillons de plasma EDTA.

Les éluats d'AN purifiés à partir de différents échantillons avec le système EZ1 DSP Virus ont été analysés et ont démontré une compatibilité avec différents dosages de real-time PCR quantitative (qPCR).

Congélation-décongélation des échantillons

Il est déconseillé de recongeler des échantillons décongelés ou de stocker des échantillons pendant plus de 6 heures à une température comprise entre 2 et 8 °C, puisque cela réduit sensiblement les rendements et la qualité d'acides nucléiques viraux ou d'ADN bactérien.

Précision

Des écarts et des CV standard ont été déterminés pour les dilutions du VIH-1 et du CMV dans la plage de linéarité des dosages en aval appropriés. Les AN ont été extraits de 400 µl d'échantillon de plasma inoculé avec le virus respectif et élué dans 120 µl. Au total, 7 cycles de purification par dilution du virus ont été effectués avec un opérateur, sur 3 instruments et 3 jours différents. Les éluats ont été analysés avec un dosage RT-PCR adapté au VIH et un dosage de PCR CMV. Les données de précision intra-cycle sont indiquées en tant qu'écart-type dans la figure 4.

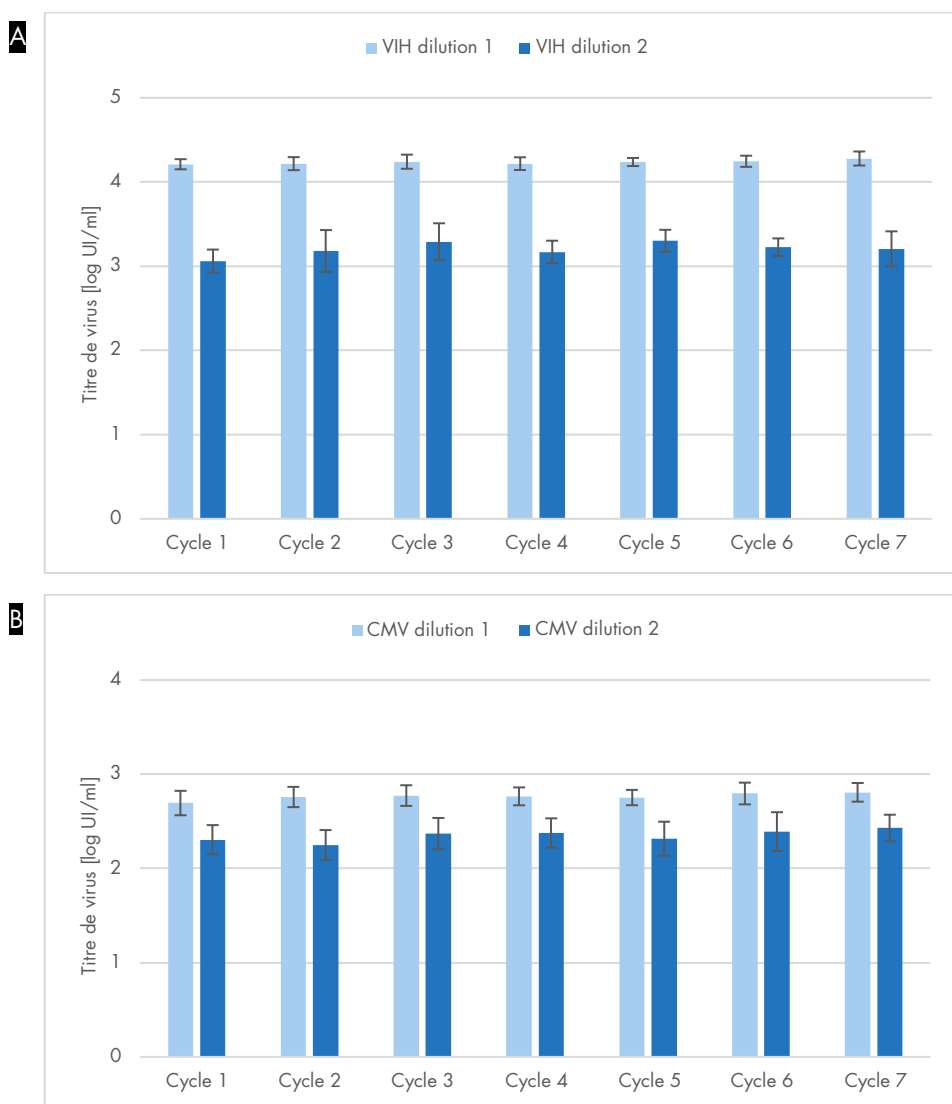


Figure 4. Précision intra-cycle avec le système EZ1 DSP Virus. Le plasma a été prélevé, poolé et préparé avec le titre viral respectif avant l'utilisation (A : VIH ; B : CMV). Les AN ont été purifiés à partir de 400 µl d'aliquotes dans 7 cycles de 14 répliquats chacun sur l'EZ1 Advanced XL avec le système EZ1 DSP Virus. Le titre viral moyen et l'écart-type sont représentés pour chaque cycle.

Les ET ont été déterminés pour l'extraction d'AN à partir d'échantillons de plasma. Les données de précision figurent dans le tableau 2 et le tableau 3.

Tableau 2. Analyse des estimations de la précision – variabilité intra-cycle (VIH)

Précision (VIH)	CV (%) (dilution 1)	CV (%) (dilution 2)
Intra-cycle (cycle 1)	1,43	4,45
Intra-cycle (cycle 2)	1,83	7,82
Intra-cycle (cycle 3)	1,98	6,64
Intra-cycle (cycle 4)	1,79	4,21
Intra-cycle (cycle 5)	1,13	3,92
Intra-cycle (cycle 6)	1,56	3,27
Intra-cycle (cycle 7)	1,95	6,46

Tableau 3. Analyse des estimations de la précision – variabilité intra-cycle (CMV)

Précision (CMV)	CV (%) (dilution 1)	CV (%) (dilution 2)
Intra-cycle (cycle 1)	4,81	6,71
Intra-cycle (cycle 2)	3,90	7,03
Intra-cycle (cycle 3)	3,95	7,01
Intra-cycle (cycle 4)	3,44	6,54
Intra-cycle (cycle 5)	2,96	7,81
Intra-cycle (cycle 6)	4,13	8,60
Intra-cycle (cycle 7)	3,53	5,79

En outre, la variabilité inter-cycles a été déterminée pour les deux dilutions de virus (tableau 4).

Tableau 4. Analyse des estimations de la précision – variabilité inter-cycles (VIH, CMV)

Précision (CMV)	CV (%) (dilution 1)	CV (%) (dilution 2)
Inter-cycle (cycle 1-7) VIH	1,72	5,81
Inter-cycle (cycle 1-7) CMV	3,92	7,30

Les écarts-types et les coefficients de variation (Coefficients of variations, CV) pour les selles ont été déterminés pour l'adénovirus 5 avec un dosage de PCR compatible avec l'adénovirus. Des selles négatives à l'adénovirus ont été inoculés avec du surnageant de culture cellulaire d'adénovirus 5. De l'ADN viral a été extrait d'échantillons de 200 µl (remise en suspension 1:10 dans le Buffer ASL*) et élué dans 120 µl. Au total, 7 cycles de purification ont été effectués avec un opérateur, sur trois instruments EZ1 Advanced XL, lors de 3 jours différents et avec 3 combinaisons de lot EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Tous les échantillons ont été analysés dans le même cycle de PCR. Les données de précision intra-cycle sont indiquées en tant qu'écart-type dans la figure 5.

* QIAGEN GmbH, N° de réf. 19082

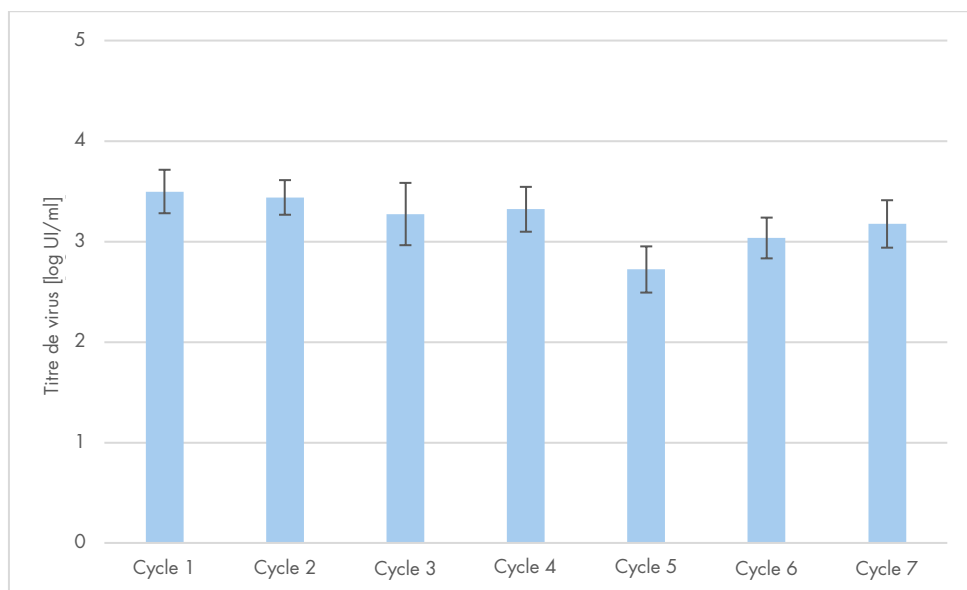


Figure 5. Précision intra-cycle avec le système EZ1 DSP Virus. Les échantillons de selles ont été prélevés, poolés et préparés avec le titre viral respectif avant l'utilisation. Les AN ont été purifiés à partir d'aliquotes de 200 µl en 7 cycles de 9/10 réplicats chacun sur l'EZ1 Advanced XL. Le titre viral moyen et l'écart-type sont représentés pour chaque cycle.

Les ET ont été déterminés pour l'extraction d'AN d'échantillons de selles. Le tableau 5 détaille les données de précision.

Tableau 5. Analyse des estimations de la précision (adénovirus 5) – variabilité intra-cycle

Précision (CMV)	CV (%)
Intra-cycle (cycle 1)	6,56
Intra-cycle (cycle 2)	5,31
Intra-cycle (cycle 3)	10,05
Intra-cycle (cycle 4)	7,13
Intra-cycle (cycle 5)	8,96
Intra-cycle (cycle 6)	7,09
Intra-cycle (cycle 7)	7,84

La variabilité inter-cycles a également été déterminée (tableau 6).

Tableau 6. Analyse des estimations de la précision – variabilité inter-cycles

Précision	CV (%)
Inter-cycles (cycle 1-7)	10,54

Les écarts-types et CV pour le milieu de transport ont été déterminés pour HSV-1 et *Chlamydia trachomatis* avec un dosage de PCR HSV1 et un dosage de PCR *C. trachomatis* adapté. L'ADN viral et bactérien a été extrait de 400 µl d'UTM et élué dans 60 µl. Au total, 6 cycles de purification ont été effectués par un opérateur, sur 3 jours avec 3 lots d'EZ1 DSP Virus Kit. Tous les échantillons ont été analysés dans le même cycle de PCR. Les données de précision intra-cycle sont indiquées en tant qu'écarts-types dans la figure 6.

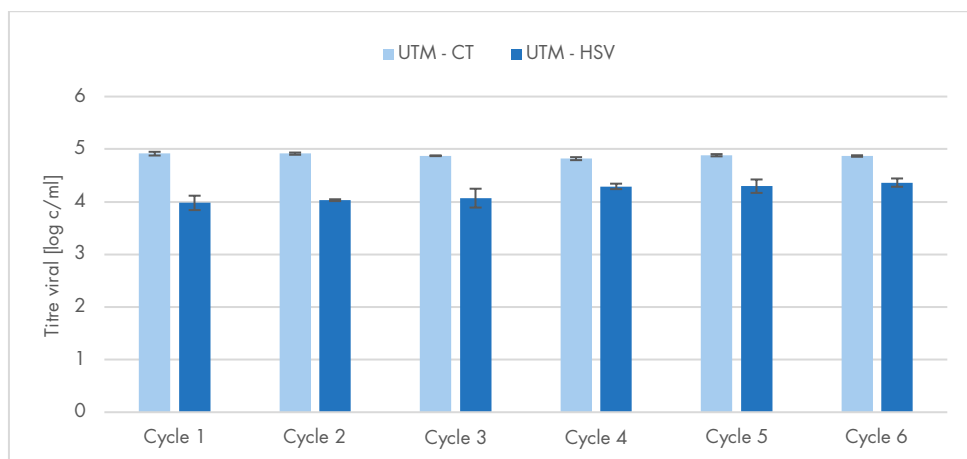


Figure 6. Précision intra-cycle avec le système EZ1 DSP Virus. L'UTM a été préparé avec le titre viral respectif avant l'utilisation. Les AN ont été purifiés à partir d'aliquotes de 400 µl en 6 cycles de 2 réplicats chacun sur l'EZ1 Advanced XL. Le titre viral moyen et l'écart-type sont représentés pour chaque cycle.

Les ET ont été déterminés pour l'extraction des AN d'échantillons d'UTM. Le tableau 7 détaille les données de précision.

Tableau 7. Analyse des estimations de la précision – variabilité intra-cycle (CT et HSV)

Précision (CMV)	CV (%) CT	CV (%) HSV
Intra-cycle (cycle 1)	0,72	3,44
Intra-cycle (cycle 2)	0,43	0,43
Intra-cycle (cycle 3)	0,15	4,40
Intra-cycle (cycle 4)	0,59	1,21
Intra-cycle (cycle 5)	0,43	2,97
Intra-cycle (cycle 6)	0,29	1,81

La variabilité inter-cycles a également été déterminée (tableau 8).

Tableau 8. Analyse des estimations de la précision – variabilité inter-cycles

Précision	CV (%) CT	CV (%) HSV
Inter-cycles (cycle 1-6)	0,77	4,25

Entrée d'échantillons/sortie d'éluat

Le système EZ1 DSP Virus sur la gamme d'instruments EZ1 permet de combiner différents volumes d'entrée d'échantillon (100, 200 ou 400 µl) avec différents volumes de sortie d'éluat (60, 90, 120 ou 150 µl). La performance globale des procédures d'extraction utilisées sur la gamme d'instruments EZ1 a été vérifiée en utilisant différentes combinaisons d'entrée d'échantillon et de sortie d'éluat possibles.

Les données de différentes études ont démontré que le rendement des AN est maximal avec des volumes d'entrée d'échantillon élevés en combinaison avec des volumes de sortie d'éluat élevés. La concentration d'AN est maximale avec des volumes d'entrée d'échantillon élevés et des volumes de sortie d'éluat faibles. En fonction du flux de travail complet (préparation des échantillons en combinaison avec l'application en aval spécifique), il peut y avoir une combinaison plus bénéfique de volume d'entrée d'échantillon et d'éluat pouvant aider à optimiser, par exemple, le rendement d'AN final et la concentration ou de réduire davantage l'influence potentielle des substances interférentes résiduelles. Différentes applications en aval, même pour le même échantillon, peuvent nécessiter différentes combinaisons d'entrée d'échantillon/de sortie d'éluat. L'utilisateur est donc responsable de valider l'ensemble du flux de travail dans son application spécifique pour établir les paramètres de performances adaptés.

Stabilité des éluats

La stabilité de l'éluat pour l'EZ1 DSP Virus Kit a été évaluée avec l'ADN et l'ARN viral extrait d'échantillons de plasma EDTA humain. Les éluats ont été conservés à des températures différentes et pour des durées différentes et leur stabilité a été analysée avec un dosage de PCR interne validé.

Les résultats ont démontré la stabilité des acides nucléiques jusqu'à 24 heures en cas de stockage entre 2 et 8 °C, jusqu'à 12 semaines à -20 °C, jusqu'à 12 mois à -80 °C.

La stabilité des acides nucléiques peut être différente pour l'application en aval spécifique utilisée et doit être auto-validée par l'utilisateur.

Substances interférentes

L'influence des substances interférentes exogènes sur le système EZ1 DSP Virus a été analysée en testant des concentrations définies (3 fois la concentration max aiguë après un traitement thérapeutique, selon les recommandations de la directive CLSI EP7-A2) de différentes substances (tableau 9). Celles-ci ont été inoculées dans des échantillons de plasma EDTA positifs ou négatifs au CMV et comparées à du plasma négatif aux interférents. Les éluats d'AN ont été analysés avec un dosage de PCR CMV adapté.

Remarque : le test a été effectué avec des applications en aval exemplaires pour une évaluation de la qualité des acides nucléiques extraits. Cependant, différentes applications en aval peuvent avoir différentes exigences en matière de pureté (c.-à-d. l'absence de substances potentiellement interférentes), l'identification et le test des substances pertinentes doivent également être établis dans le cadre du développement de l'application en aval pour tout flux de travail impliquant l'EZ1 DSP Virus Kit.

Tableau 9. Concentrations de test des substances potentiellement interférentes inoculées dans du plasma EDTA

Substances interférentes	Concentration de test finale
Sulfaméthoxazole	200 mg/l
Triméthoprim	5,2 mg/l
Claforan (céfotaxime)	1 g/l
Tazobac (pipéracilline + tazobactam)	Pipéracilline : 1 g/l Tazobactam : 125 mg/l
Ticarcilline	1 g/l
Augmentin (amoxicilline + acide clavulanique)	Amoxicilline : 125 mg/l Acide clavulanique : 25 mg/l
Vancomycine	125 mg/l
Fluconazole	1 mg/l
Rapamycine	100 mg/l
Mycophénolate sodique	80 mg/l

Toutes les concentrations de substance interférente testées n'ont pas montré d'influence significative sur la performance du dosage de PCR CMV en combinaison avec le système EZ1 DSP Virus concernant la spécificité, la sensibilité et la fiabilité de la quantification.

Des tests supplémentaires de substances interférentes exogènes avec le système EZ1 DSP Virus ont été effectués en inoculant des concentrations définies de différentes substances (tableau 10) dans des échantillons nasopharyngés sur écouvillon prélevés dans l'UTM. L'échantillon a été inoculé avec des souches de grippe A et de grippe B et les éluats d'AN ont été analysés avec un dosage RT-PCR de grippe A/B adapté.

Tableau 10. Concentrations test de substances potentiellement interférentes inoculées dans des échantillons nasopharyngés sur écouvillon prélevées en UTM

Substances interférentes	Concentration de test finale
Sang humain	5 % v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl avec conservateurs	10 % v/v d'échantillon
Phényléphrine	10 % v/v d'échantillon
Oxymétazoline	10 % v/v d'échantillon
Budésonide	40 µg/ml
Propionate de fluricasone	2,5 % v/v d'échantillon
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Sulfure	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Dipropionate de béclométhasone	61,73 µg/ml
Flunisolide	25 µg/ml
Triamcinolone acétonide	27,5 µg/ml
Guaifénésine	1,33 mg/ml
Hydrochlorure de diphénhydramide	0,5 mg/ml
Hydrobromide de dextrométhorphan	1 mg/ml
Hydrochlorure de pseudoéphédrine	20 µg/ml
Benzocaïne	1,44 mg/ml
Menthol	5 mg/ml
Tobramycine	0,3 mg/ml
Mupirocine	2 mg/ml
Amoxicilline	1 mg/ml
Dexaméthasone	1,53 µmol/l

Toutes les concentrations de substance interférente testées n'ont montré aucune influence significative sur les performances du dosage RT-PCR de grippe A/B en combinaison avec le système EZ1 DSP Virus.

Contamination croisée

Le risque de contamination croisée du système EZ1 DSP Virus a été analysé en effectuant 9 cycles sur l'EZ1 Advanced avec des modèles en damier alternatifs. Pour détecter le transfert d'un échantillon à l'autre, les cycles ont été exécutés avec des échantillons de plasma positifs CMV/ParvoB19 et des échantillons de plasma négatifs CMV/ParvoB19 dans des positions alternatives. Chaque troisième cycle a été exécuté uniquement avec des échantillons de plasma négatifs. Tous les éluats ont été testés avec un dosage de PCR CMV adapté ainsi qu'un dosage de PCR Parvo B19.

Tous les échantillons positifs CMV/ParvoB19 ont été positifs en PCR et tous les échantillons négatifs CMV/ParvoB19 ont été négatifs. Aucune contamination croisée n'a été détectée pour un transfert d'un échantillon à l'autre ou d'un cycle à l'autre.

Caractéristiques des performances de l'EZ2 Connect MDx

Les caractéristiques de performances de l'EZ2 Connect MDx ont été établies dans des études d'équivalence avec l'EZ1 Advanced XL en utilisant l'EZ1 DSP Virus Kit. Les caractéristiques des performances liées au kit telles que la stabilité de l'éluat ou les performances de base sont valides pour tous les systèmes de l'instrument répertoriés dans les instructions d'utilisation de l'EZ1 DSP Virus Kit, car le kit du système ne change pas pour les différentes plateformes automatiques.

Remarque : les caractéristiques de performances dépendent fortement de divers facteurs et sont liées à l'application en aval spécifique. Les performances ont été établies pour l'EZ1 DSP Virus Kit en conjonction avec les applications en aval en exemple. Cependant, les méthodes d'isolation des acides nucléiques d'échantillons biologiques sont utilisées initialement pour de multiples applications en aval. Les paramètres de performances tels que l'influence des substances interférentes exogènes, la contamination croisée ou la précision des cycles doivent donc être établis pour tout flux de travail dans le cadre du développement de l'application en aval. L'utilisateur est donc responsable de valider l'ensemble du flux de travail pour établir les paramètres de performances appropriés.

Performances de base et compatibilité avec différentes applications en aval

Les performances de base générées avec l'EZ1 Advanced XL, l'EZ1 Advanced ou le BioRobot EZ1 s'appliquent également à l'instrument EZ2 Connect MDx (voir page 2). La composition de l'échantillon et le kit sont identiques pour tous les systèmes de l'instrument à utiliser avec l'EZ1 DSP DNA Blood Kit. En outre, l'équivalence des procédures d'extraction utilisées sur le système EZ2 Connect MDx a été testée pour démontrer les performances de base égales ou améliorées du système. Pendant le test d'équivalence, la compatibilité avec différentes applications en aval (y compris qPCR) a également été confirmée.

Cependant, seules des méthodes en aval exemplaires ayant été utilisées, l'utilisateur est responsable de valider l'ensemble du flux de travail dans son application spécifique pour établir les paramètres de performances appropriés.

Congélation-décongélation des échantillons

Il est déconseillé de recongeler des échantillons décongelés ou de stocker des échantillons pendant plus de 6 heures à une température comprise entre 2 et 8 °C, puisque cela réduit sensiblement les rendements et la qualité d'acides nucléiques viraux ou d'ADN bactérien.

Précision

Les AN ont été extraits de 200 µl d'échantillon de plasma inoculés de VHC à une concentration de 1E+04 Ui/ml et élués dans 150 µl. Au total, 12 cycles de purification ont été exécutés avec trois opérateurs différents, sur 3 dispositifs différents (par type d'instrument) et 3 jours différents. Les données de précision intra-cycle sont indiquées en tant qu'écarts-types des valeurs CT (figure 7).

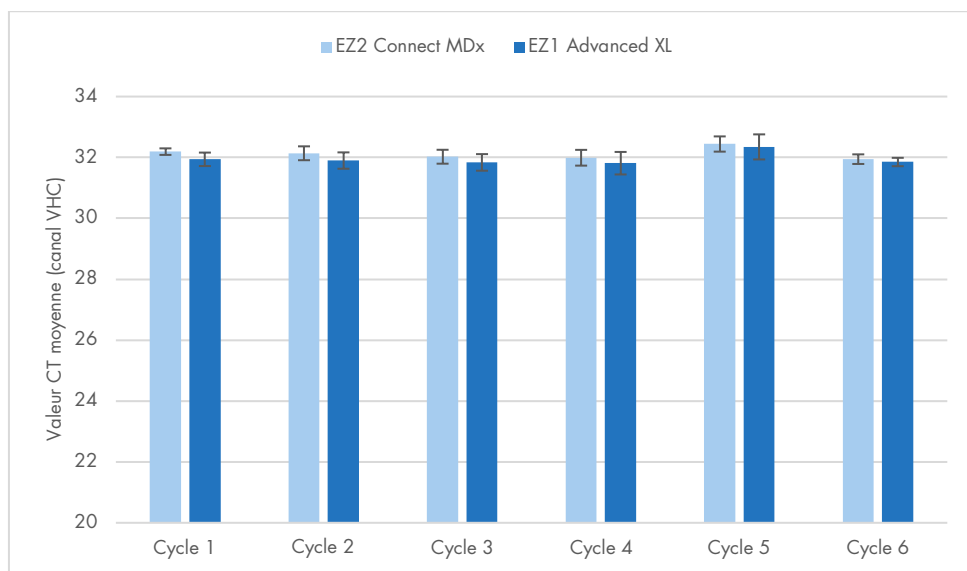


Figure 7. Valeurs Ct moyennes de tous les cycles avec un dosage RT-PCR VHC. Le plasma a été prélevé, poolé et préparé avec le titre viral respectif avant l'utilisation. Les AN ont été purifiés à partir de 200 µl d'aliquotes dans 6 cycles de 12 réplicats chacun sur l'EZ1 Advanced XL et l'EZ2 Connect MDx avec le système EZ1 DSP Virus. Les valeurs de Ct moyennes et les écarts-types sont représentés pour chaque cycle.

Les CV ont été déterminés pour l'extraction d'AN du plasma. Le tableau 11 détaille les données de précision.

Tableau 11. Analyse des estimations de la précision – variabilité intra-cycle

Précision	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Intra-cycle (cycle 1)	0,33	0,69
Intra-cycle (cycle 2)	0,71	0,84
Intra-cycle (cycle 3)	0,71	0,86
Intra-cycle (cycle 4)	0,81	1,16
Intra-cycle (cycle 5)	0,77	1,27
Intra-cycle (cycle 6)	0,49	0,43

Il a été déterminé que la variabilité intra-cycle de l'instrument EZ2 Connect MDx était équivalente à la variabilité intra-cycle sur l'instrument EZ1 Advanced XL, en cas d'utilisation de l'EZ1 DSP Virus Kit dans les tests d'équivalence.

En outre, la variabilité inter-cycles a été déterminée pour l'instrument EZ2 Connect MDx (tableau 12).

Tableau 12. Analyse des estimations de la précision – variabilité inter-cycles

Précision	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-cycles (cycle 1-6)	0,82	1,06

L'analyse statistique a montré une performance égale de l'EZ2 Connect MDx par rapport à l'instrument EZ1 Advanced XL.

Entrée d'échantillons/sortie d'éluat

Le système EZ1 DSP Virus sur l'EZ2 Connect MDx permet de combiner différents volumes d'entrée d'échantillon (100, 200 ou 400 µl) avec différents volumes de sortie d'éluat (60, 90, 120 ou 150 µl). Le test de performance globale des procédures d'extraction utilisées sur le système EZ2 Connect MDx a démontré une performance égale du système par rapport à l'EZ1 Advanced XL.

En fonction du flux de travail complet (préparation des échantillons en combinaison avec l'application en aval spécifique), il peut y avoir une combinaison plus bénéfique de volume d'entrée d'échantillon et d'éluat pouvant aider à optimiser, par exemple, le rendement d'AN final et la concentration ou de réduire davantage l'influence potentielle des substances interférentes résiduelles. Différentes applications en aval, même pour le même échantillon, peuvent nécessiter différentes combinaisons d'entrée d'échantillon/de sortie d'éluat. L'utilisateur est donc responsable de valider l'ensemble du flux de travail dans son application spécifique pour établir les paramètres de performances appropriés.

Sensibilité

En utilisant des échantillons de plasma inoculés avec une concentration de VHB proche de la limite de détection (env. 18 UI/ml), 18 cycles de purification ont été effectués sur l'EZ2 Connect MDx et l'EZ1 Advanced XL par un opérateur sur trois dispositifs différents (par type d'instrument) sur 3 jours avec 400 µl d'entrée d'échantillon et 90 µl de volume d'éluat. Tous les éluats ont été soumis à une analyse qualitative avec un dosage de PCR VHB adapté, que la cible puisse être détectée ou non. En raison de la proximité à la limite de détection, tous les réplicats ne devraient pas être déterminés positifs. Cependant, il pourrait être confirmé que le nombre de réplicats positifs est statistiquement équivalent.

Tableau 13. Résumé des résultats du test de sensibilité de tous les cycles de l'EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx – Résultats d'échantillons de VHB positifs									
Nombre de résultats	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% de résultats	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tableau 14. Résumé des résultats du test de sensibilité de tous les cycles de l'EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL – Résultats d'échantillons de VHB positifs									
Nombre de résultats	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% de résultats	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tableau 15. Résumé de sensibilité présentant les résultats de test exacts de Fisher

Détections correctes EZ2	Détections correctes EZ1	Valeur P du test exact de Fisher (2-Tail)
91,55%	94,44%	0,532

L'analyse statistique a montré une performance égale de l'EZ2 Connect MDx par rapport à l'instrument EZ1 Advanced XL.

Stabilité des éluats

Les données de stabilité des éluats générées avec l'EZ1 Advanced XL, l'EZ1 Advanced ou le BioRobot EZ1 s'appliquent également à l'instrument EZ2 Connect MDx (voir page 2). La composition de l'échantillon et du kit est identique pour tous les systèmes de l'instrument à utiliser avec l'EZ1 DSP Virus Kit. En outre, l'équivalence des procédures d'extraction utilisées sur le système EZ2 Connect MDx a été testée pour démontrer les performances égales du système. Les instructions de manipulation de l'éluat s'appliquent à tous les systèmes automatiques à utiliser avec le kit.

Cependant, l'utilisateur est responsable de valider l'ensemble du flux de travail dans son application spécifique pour établir les paramètres de performances appropriés.

Substances interférentes

L'influence des substances interférentes a été déterminée avec l'EZ1 Advanced XL. Ces données s'appliquent aussi à l'instrument EZ2 Connect MDx (voir page 12). La composition de l'échantillon et du kit est identique pour tous les systèmes de l'instrument à utiliser avec l'EZ1 DSP Virus Kit. Les volumes d'entrée d'échantillon/de sortie d'éluat sont identiques, aucun impact n'est donc attendu sur le type ou la concentration de substances interférentes dans les éluats. En outre, l'équivalence des procédures d'extraction utilisées sur le système EZ2 Connect MDx a été testée pour démontrer les performances égales du système. Les instructions de manipulation de l'échantillon et de l'éluat s'appliquent à tous les systèmes automatiques à utiliser avec le kit.

Cependant, l'utilisateur est responsable de valider l'ensemble du flux de travail dans son application spécifique pour établir les paramètres de performances appropriés.






Contamination croisée

Le risque de contamination croisée de l'EZ1 DSP Virus Kit utilisé sur l'EZ2 Connect MDx a été analysé en exécutant dix cycles (entrée 400 µl, élution 60 µl) avec des modèles en damier alternatifs sur 2 jours effectués par un opérateur. Pour détecter le transfert d'un échantillon à l'autre, les cycles ont été exécutés avec des échantillons de plasma positifs (inoculés par du VHB) et négatifs (non inoculés) dans des positions alternantes. Un cycle sur deux a été exécuté uniquement avec des échantillons de plasma négatifs au VHB. Tous les éluats ont été analysés avec un dosage de PCR VHB adapté.

Tous les échantillons positifs au VHB ont été positifs par PCR et tous les échantillons de plasma négatifs au VHB ont été négatifs. Aucune contamination croisée n'a été détectée pour un transfert d'un échantillon à l'autre ou d'un cycle à l'autre.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans cette documentation. Pour une liste complète des symboles utilisés dans les instructions d'utilisation ou sur l'emballage et l'étiquetage, veuillez consulter le manuel.

Symbole	Définition du symbole
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Numéro de référence
Rn	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Fabricant
	Remarque importante

Historique des révisions

Révision	Description
R1, juin 2022	<p>Version 5, révision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Création de document pour la nouvelle version du kit. Données de l'EZ2 Connect MDx ajoutées• Suppression des échantillons de sang total, urine, écouvillons séchés, crachats de l'utilisation prévue

Pour connaître les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (groupe QIAGEN) ; BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company) ; Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.) ; Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

