



Ιούνιος 2022

Οδηγίες χρήσης (Χαρακτηριστικά απόδοσης) για το EZ1[®] DSP DNA Blood Kit

Έκδοση 4



Για in vitro διαγνωστική χρήση
Για χρήση με το EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)



62124



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

R1

Το έντυπο Χαρακτηριστικά απόδοσης διατίθεται ηλεκτρονικά στην καρτέλα πόρων της σελίδας προϊόντος στη διεύθυνση www.qiagen.com.

Γενική εισαγωγή

Το EZ1 DSP DNA Blood Kit προορίζεται για τον καθαρισμό γονιδιωματικού DNA από δείγματα ολικού αίματος. Η τεχνολογία μαγνητικών σωματιδίων παρέχει υψηλής ποιότητας DNA, το οποίο είναι κατάλληλο για απευθείας χρήση σε καθοδικές εφαρμογές, όπως ενίσχυση. Τα όργανα EZ1 και EZ2[®] Connect MDx εκτελούν όλα τα βήματα της διαδικασίας προετοιμασίας δειγμάτων για έως 6 δείγματα (με τη χρήση του EZ1 Advanced ή του BioRobot[®] EZ1 DSP, και τα δύο δεν κυκλοφορούν πλέον στην αγορά), για έως 14 δείγματα (με τη χρήση του EZ1 Advanced XL) ή για έως 24 δείγματα (με τη χρήση του EZ2 Connect MDx) σε μία μόνο εκτέλεση.

Με τη χρήση του BioRobot EZ1 DSP ή του EZ1 Advanced με την κάρτα πρωτοκόλλου V1.0, ο όγκος εισαγωγής δείγματος είναι 350 μl και η έκλυση DNA πραγματοποιείται σε 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκλυσης. Με τη χρήση του EZ1 Advanced XL ή του EZ1 Advanced με την κάρτα πρωτοκόλλου V2.0, ή με τη χρήση του EZ2 Connect MDx, μπορείτε να επιλέξετε όγκο εισαγωγής δείγματος 200 ή 350 μl και όγκο έκλυσης DNA 50, 100 ή 200 μl.

Η απόδοση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood Kit έχει καθοριστεί σε μελέτες αξιολόγησης απόδοσης με τη χρήση δειγμάτων ανθρώπινου ολικού αίματος για απομόνωση γονιδιωματικού DNA. Αυτές οι μελέτες έχουν καθιερωθεί σε συνδυασμό με τη συλλογή αίματος σε υποδειγματικά σωληνάρια συλλογής αίματος. Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επικυρώνει την απόδοση του συστήματος για οποιεσδήποτε διαδικασίες χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο και δεν καλύπτονται από τις μελέτες αξιολόγησης απόδοσης της QIAGEN[®].

Χαρακτηριστικά απόδοσης οργάνων EZ1

Σημείωση: Τα χαρακτηριστικά απόδοσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζονται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Η απόδοση προσδιορίστηκε για το EZ1 DSP DNA Blood Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Ωστόσο, χρησιμοποιούνται μέθοδοι για την απομόνωση των νουκλεϊκών οξέων από βιολογικά δείγματα ως front-end για πολλαπλές καθοδικές εφαρμογές. Συνεπώς, οι παράμετροι απόδοσης, όπως η επίδραση εξωγενών παρεμβαλλόμενων ουσιών, η διασταυρούμενη μόλυνση ή ακρίβεια της εκτέλεσης, πρέπει να καθοριστούν για κάθε ροή εργασιών στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής. Συνεπώς, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Βασική απόδοση και συμβατότητα με διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές

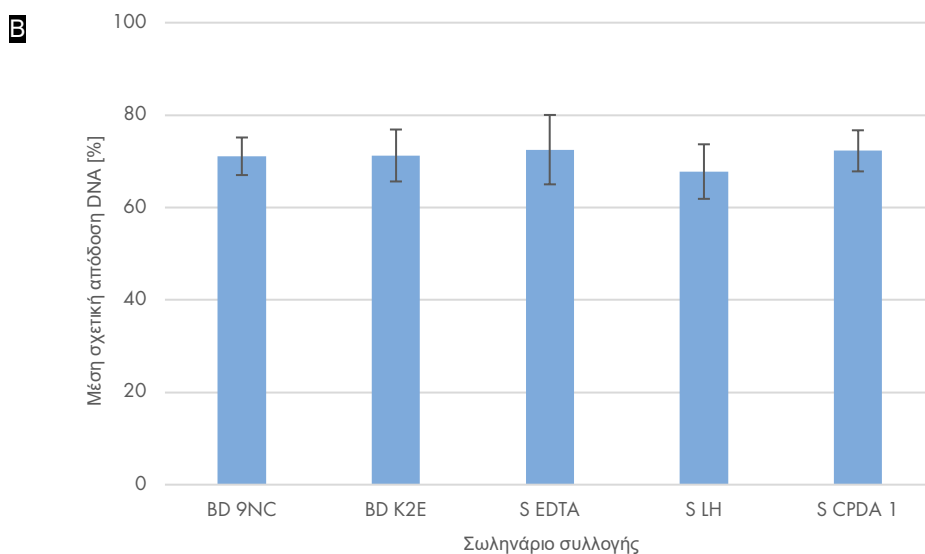
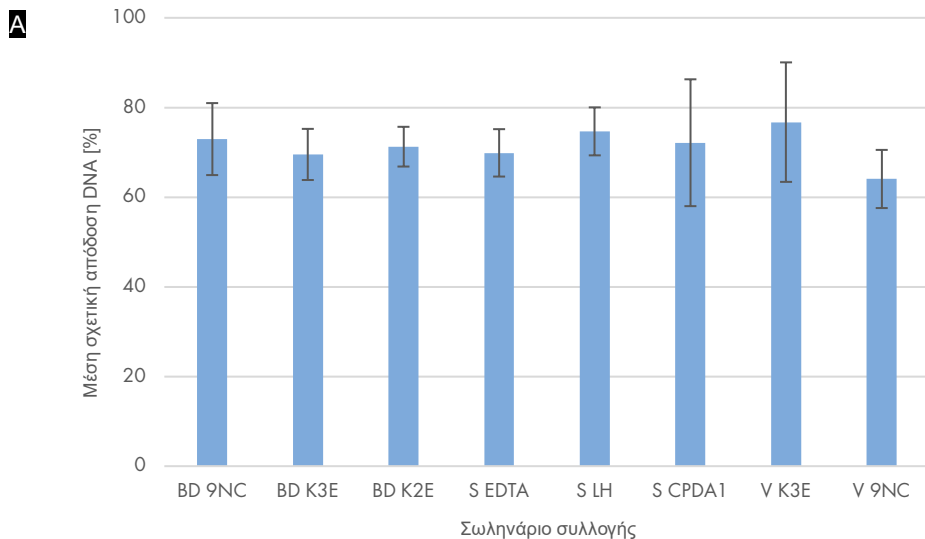
Για τη συλλογή δειγμάτων ανθρώπινου αίματος για τη διαδικασία EZ1 DSP DNA Blood μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα κύρια σωληνάρια και αντιπηκτικά. Η βασική απόδοση του EZ1 DSP DNA Blood Kit αξιολογήθηκε με τη χρήση 6 μεμονωμένων δοτών για εκχύλιση gDNA από 8 διαφορετικά σωληνάρια συλλογής αίματος. Ο Πίνακας 1 παρέχει μια επισκόπηση των σωληναρίων συλλογής δείγματος που χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση του συστήματος. Η συγκέντρωση των λευκοκυττάρων μετρήθηκε για κάθε δείγμα και η θεωρητική απόδοση DNA υπολογίστηκε για κάθε δείγμα. Οι μέσες σχετικές τιμές απόδοσης DNA από δείγματα αίματος με τη χρήση διαφορετικών κύριων σωληναρίων παρουσιάζονται στην Εικόνα 1.

Πίνακας 1. Σωληνάρια συλλογής αίματος που εξετάστηκαν με το σύστημα EZ1 DSP DNA Blood

Κύριο σωληνάριο	Κατασκευαστής	Αρ. κατ.*	Συντηρητικό/αντιπηκτικό
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	Κπρικό νάτριο
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	Λιθιούχος ηπαρίνη
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	Κπρικό-φωσφορικά-δεξτρόζη-αδείνη
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	K3EDTA
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	Κπρικό νάτριο

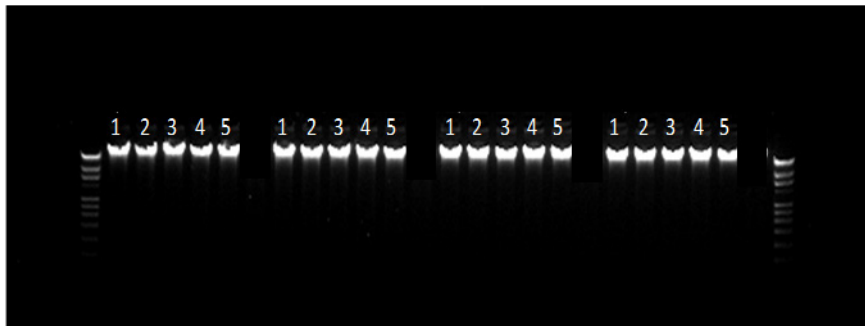
Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 ή 350 μl δειγμάτων αίματος.

* Οι αριθμοί καταλόγου υπόκεινται σε αλλαγή. Απευθυνθείτε στον κατασκευαστή ή στον προμηθευτή.



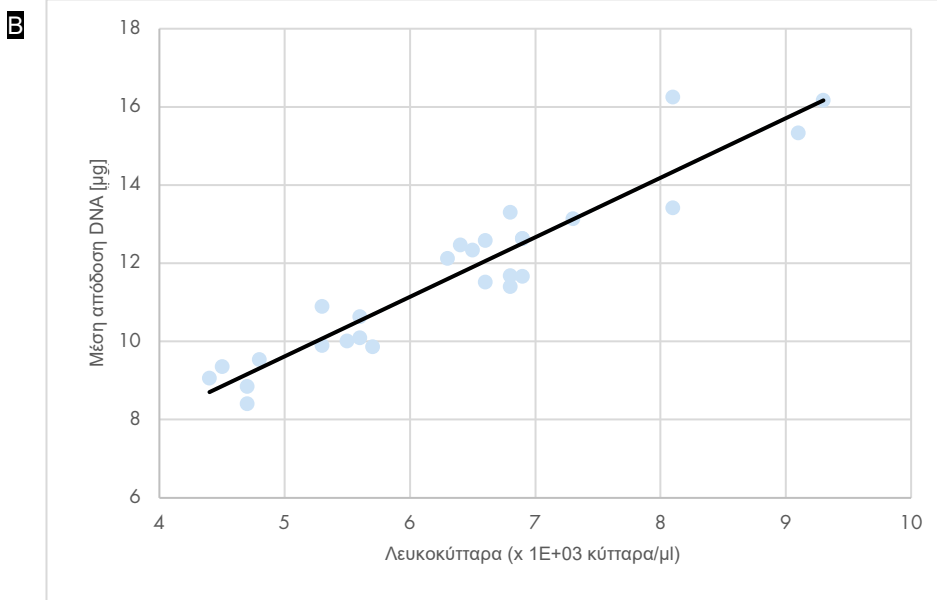
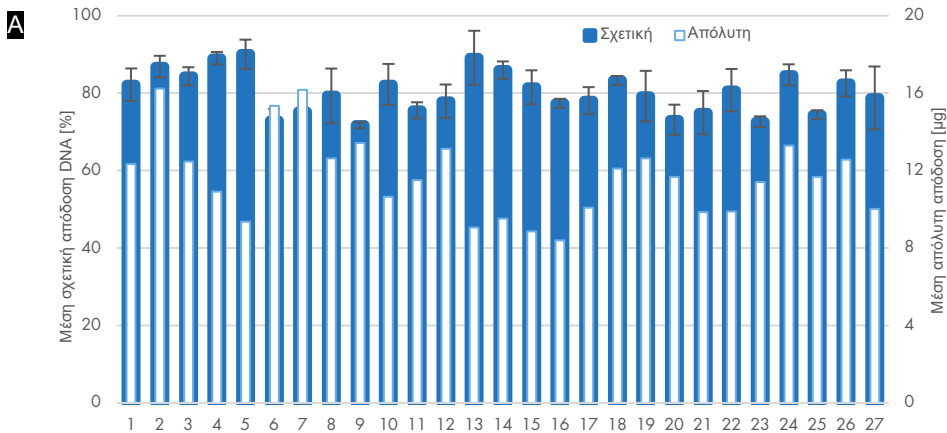
Εικόνα 1. Βασική απόδοση με τη χρήση διαφορετικών σωληναρίων συλλογής και αντιπηκτικών. Συλλέχθηκε ολικό αίμα από υγιείς δότες σε διαφορετικούς τύπους σωληναρίων με 3 επαναληπτικά δείγματα ανά δότη και σωληνάριο. Τα σωληνάκια που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται στον Πίνακα 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette, V: Vacuette). **A:** Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 6 δότες σε 8 διαφορετικούς τύπους σωληναρίων. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 350 μl δειγμάτων, με έκλυση σε 200 μl. **B:** Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 6 δότες σε 5 διαφορετικούς τύπους σωληναρίων. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl δειγμάτων με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood στο EZ1 Advanced XL, με έκλυση σε 200 μl. Οι θεωρητικές αποδόσεις DNA από κάθε δότη και σωληνάριο καθορίστηκαν από τους αριθμούς λευκοκυττάρων. Οι ράβδοι παρουσιάζουν τη μέση σχετική απόδοση DNA (σε σύγκριση με τη θεωρητική απόδοση) με τυπική απόκλιση.

Για να καθοριστεί η ακεραιότητα του γονιδιωματικού DNA, εκλούσματα από διαφορετικά σωληνάκια συλλογής αίματος αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης (Εικόνα 2).

B2

Εικόνα 2. Βασική απόδοση με τη χρήση διαφορετικών σωληναρίων συλλογής και αντιπηκτικών. Τα εκλούσματα από διαφορετικά σωληνάρια συλλογής αίματος αναλύθηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης για να καθορισθεί η ακεραιότητα του γονιδιωματικού DNA. 1: BD K2E, 2: BD 9NC, 3: S EDTA, 4: S LH, 5: S CPDA1. Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα 4 διαφορετικών δοτών.

Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 350 μl δειγμάτων αίματος από υγιείς δότες. Η ποσότητα DNA που καθαρίστηκε με τη χρήση της διαδικασίας EZ1 DSP DNA Blood εξαρτάται από το περιεχόμενο λευκοκυττάρων σε κάθε δείγμα αίματος, και οι αποδόσεις μπορεί να διαφέρουν από δότη σε δότη (Εικόνα 3).

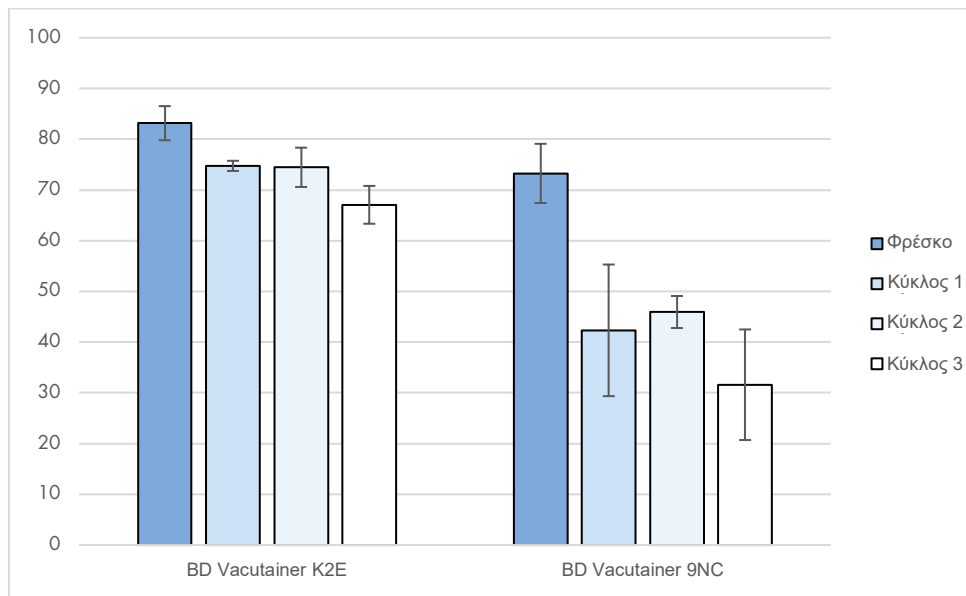


Εικόνα 3. Μέση απόλυτη και σχετική απόδοση DNA από διαφορετικούς δότες. Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 27 δότες εις τριπλούν. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 350 μl κάθε δείγματος με τη χρήση του EZ1 DSP DNA Blood. **A:** Η θεωρητική απόδοση DNA καθορίστηκε από τον αριθμό λευκοκυττάρων. Παρουσιάζεται η μέση απόλυτη (Απόλυτη) και σχετική (Σχετική) απόδοση DNA (σε σύγκριση με την υπολογισμένη θεωρητική απόδοση) για κάθε δότη. **B:** Παρουσιάζεται η μέση απόλυτη απόδοση για κάθε δότη σε σχέση με τους αριθμούς λευκοκυττάρων.

Αναλύθηκαν τα εκλούσματα γονιδιωματικού DNA που καθαρίζονται από δείγματα ολικού αίματος με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood και έδειξαν συμβατότητα με διάφορες καθοδικές εφαρμογές, όπως PCR τελικού σημείου, ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αгарόζης, καθώς και φωτομετρική μέτρηση και ποσοτική real-time PCR (qPCR) (ανατρέξτε στην ενότητα Διασταυρούμενη μόλυνση, σελίδα 9).

Κατάψυξη–απόψυξη δειγμάτων

Με το σύστημα EZ1 DSP DNA Blood μπορούν να χρησιμοποιηθούν φρέσκα ή κατεψυγμένα δείγματα ολικού αίματος. Οι επιδράσεις της κατάψυξης και απόψυξης των δειγμάτων αίματος κατά τον καθαρισμό του DNA έχουν προσδιοριστεί (βλ. Εικόνα 4).



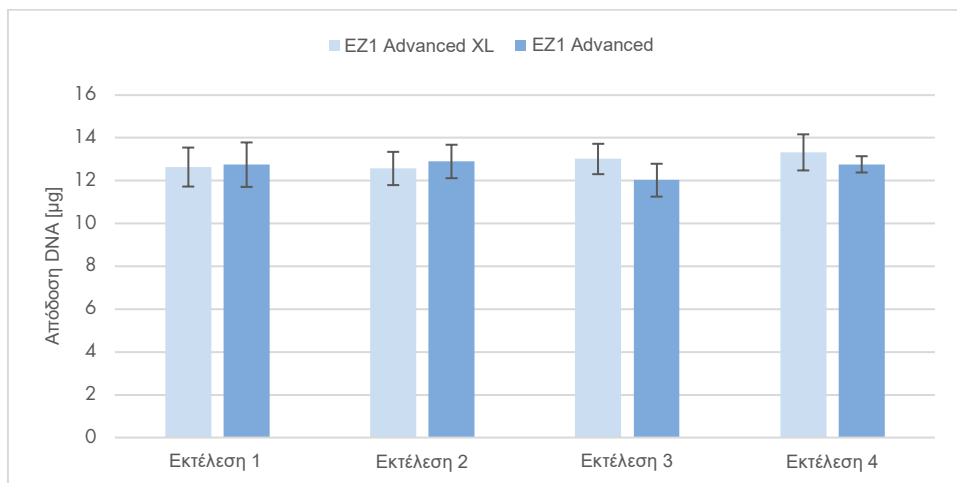
Εικόνα 4. Επίδραση κύκλων κατάψυξης-απόψυξης στις αποδόσεις DNA. Ολικό αίμα συλλέχθηκε από 3 υγιείς δότες στα σωληνάρια που αναφέρονται με 6 επαναληπτικά δείγματα το καθένα. Τα σωληνάρια που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται στον Πίνακα 1. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 350 μl κάθε δείγματος με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood και οι μέσες τιμές σχετικής απόδοσης (φρέσκου) DNA υπολογίστηκαν για κάθε δότη και σωληνάριο. Τα σωληνάρια που περιείχαν το αίμα καταψύχθηκαν και αποψύχθηκαν 3 φορές. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε μετά από κάθε κύκλο κατάψυξης–απόψυξης (Κύκλος 1 – Κύκλος 3).

Μπορούν να χρησιμοποιηθούν φρέσκα ή κατεψυγμένα δείγματα ολικού αίματος με EDTA, ACD (κιτρικά) ή ηπαρίνη. Τα κατεψυγμένα δείγματα πρέπει να αποψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C) με ήπια ανακίνηση πριν από την έναρξη της διαδικασίας. Η απόδοση και η ποιότητα του καθαρισμένου DNA μπορεί να εξαρτώνται από τις συνθήκες φύλαξης του αίματος. Τα φρέσκα δείγματα αίματος μπορεί να αποφέρουν καλύτερα αποτελέσματα. Μην καταψύχετε εκ νέου τα δείγματα αίματος περισσότερες από 2 φορές καθώς μπορεί να προκληθεί μείωση της απόδοσης DNA.

Για κατάψυξη–απόψυξη, συνιστώνται σωληνάρια με EDTA ως αντιπηκτικό.

Ακρίβεια

Οι αποδόσεις DNA από 350 μl ανθρώπινου ολικού αίματος και 200 μl έκλουσης συγκρίθηκαν για διαφορετικές εκτελέσεις με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood στο EZ1 Advanced και στο EZ1 Advanced XL. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν 8 εκτελέσεις καθαρισμού με έναν χειριστή, σε μια συσκευή (ανά τύπο οργάνου) και σε δύο διαφορετικές ημέρες. Τα δεδομένα ακρίβειας εντός της εκτέλεσης παρουσιάζονται ως τυπικές αποκλίσεις των αποδόσεων DNA (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Ακρίβεια εντός της εκτέλεσης με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood. Αίμα από υγιή δότη συλλέχθηκε σε σωληνάρια BD K2E και δεξαμενοποιήθηκε πριν από τη χρήση. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 350 μl κλασμάτων σε 4 εκτελέσεις με 6 επαναληπτικά δείγματα η καθεμία στο EZ1 Advanced και σε 4 εκτελέσεις με 14 επαναληπτικά δείγματα η καθεμία στο EZ1 Advanced XL με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood. Παρουσιάζεται η μέση συνολική απόδοση DNA και η τυπική απόκλιση για κάθε εκτέλεση.

Καθορίστηκαν οι συντελεστές μεταβλητότητας (CV) για την εκχύλιση ανθρώπινου DNA από ολικό αίμα. Τα δεδομένα ακρίβειας παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Ανάλυση εκτιμήσεων ακρίβειας – μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης

Ακρίβεια	CV (%) (EZ1 Advanced XL)	CV (%) (EZ1 Advanced)
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 1)	7,21	8,15
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 2)	6,18	6,06
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 3)	5,45	6,39
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 4)	6,33	2,99

Η μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης για το όργανο EZ1 Advanced XL προσδιορίστηκε ως ισοδύναμη με τη μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης στο όργανο EZ1 Advanced όταν χρησιμοποιήθηκε το EZ1 DSP DNA Blood kit.

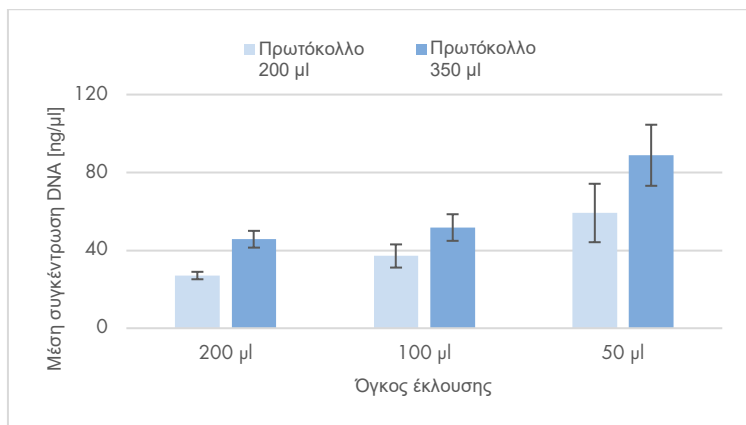
Επιπρόσθετα, καθορίστηκε η μεταβλητότητα μεταξύ των εκτελέσεων και για τα δύο όργανα (Πίνακας 3).

Πίνακας 3. Ανάλυση εκτιμήσεων ακρίβειας – μεταβλητότητα μεταξύ εκτελέσεων

Ακρίβεια	CV (%) (EZ1 Advanced XL)	CV (%) (EZ1 Advanced)
Μεταξύ εκτελέσεων (Εκτέλεση 1-4)	6,58	6,39

Εισαγωγής δείγματος/εξαγωγή εκλούσματος

Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 και 350 μl δειγμάτων ολικού αίματος από υγιείς δότες με τη χρήση της διαδικασίας EZ1 DSP DNA Blood στο EZ1 Advanced XL με τρεις διαφορετικούς όγκους έκλουσης. Οι διαφορές στη συγκέντρωση DNA των εκλουσμάτων παρουσιάζονται στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6. Μέση συγκέντρωση DNA που προέκυψε με διαφορετικούς όγκους έκλουσης. Συλλέχθηκε ολικό αίμα από 3 δότες. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 και 350 μl κάθε δείγματος και υποβλήθηκε σε έκλουση σε 200, 100 και 50 μl, εις τριπλούν το καθένα, με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood στο EZ1 Advanced XL. Παρουσιάζεται η μέση συγκέντρωση DNA για κάθε πρωτόκολλο και όγκο έκλουσης.



Λόγω του χαμηλού όγκου του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης και της θέρμανσης του ρυθμιστικού διαλύματος έκλουσης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας, η έκλουση με 50 μl μπορεί να οδηγήσει σε τελικό όγκο εκλούσματος μικρότερο από 50 μl.

Ανάλογα με την πλήρη ροή εργασιών (προετοιμασία δείγματος σε συνδυασμό με ειδική καθοδική εφαρμογή), μπορεί να υπάρχει ένας βέλτιστος συνδυασμός όγκου εισαγωγής δείγματος και έκλουσης που μπορεί να βοηθήσει στη βελτιστοποίηση, για παράδειγμα, της τελικής απόδοσης και συγκέντρωσης DNA ή στην περαιτέρω ελαχιστοποίηση της πιθανής επίδρασης των υπολειπόμενων παρεμβαλλόμενων ουσιών. Διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές ακόμη και για το ίδιο υλικό δείγματος μπορεί να απαιτούν διαφορετικούς συνδυασμούς εισαγωγής δείγματος/εξαγωγή εκλούσματος. Συνεπώς, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Σταθερότητα εκλουσμάτων

Η σταθερότητα εκλουσμάτων για το EZ1 DSP DNA Blood Kit αξιολογήθηκε με τη χρήση εκχυλισμένου γονιδιωματικού DNA από δείγματα ολικού αίματος που συλλέχθηκαν σε σωληνάρια BD Vacutainer K2E. Τα εκλούσματα αποθηκεύτηκαν σε διαφορετικές θερμοκρασίες και διαφορετικά χρονικά διάστημα και υποβλήθηκαν σε εξέταση για ακεραιότητα (ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης) και καταλληλότητα για PCR (εσωτερικός προσδιορισμός).

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν σταθερότητα του γονιδιωματικού DNA σε εκλούσματα EZ1 για 24 μήνες όταν αποθηκεύονται στους 2–8 °C ή στους -20 °C και για 36 μήνες όταν αποθηκεύονται στους -20 °C ή -80 °C.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Οι παρεμβαλλόμενες ουσίες που υπάρχουν στο δείγμα είναι ιδιαίτερα σημαντικές, καθώς μπορεί να επηρεάσουν την απόδοση της αυτοματοποιημένης απομόνωσης των νουκλεϊκών οξέων. Επίσης, η ίδια η μέθοδος εκχύλισης μπορεί να μεταφέρει τις παρεμβαλλόμενες ουσίες σε διαφορετικό επίπεδο στο έκλουσμα, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει την καθαρότητα και τη συμβατότητα των εκλουσμάτων στις καθοδικές εφαρμογές. Συνεπώς, δυνητικά παρεμβαλλόμενες ουσίες εμβολιάστηκαν σε δείγματα ολικού αίματος για να ελεγχθεί η επίδρασή τους στη διαδικασία EZ1 DSP DNA Blood και η μετέπειτα συμβατότητα με υποδειγματικούς καθοδικούς προσδιορισμούς. Τα εκλούσματα υποβλήθηκαν σε εξέταση για ακεραιότητα (ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης), ικανότητα για PCR (εσωτερικός προσδιορισμός) και καθαρότητα (φωτομετρική μέτρηση).

Πίνακας 4. Συγκεντρώσεις εξέτασης δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών

Παρεμβαλλόμενες ουσίες	Τελική συγκέντρωση εξέτασης
Χολερυθρίνη	200 mg/l
Αιμοσφαιρίνη	200 g/l
Λευκωματίνη (BSA)	120 g/l
Τριγλυκερίδια	30 g/l

Καμία από τις ουσίες που αναφέρονται στον Πίνακα 4 δεν παρουσίασε παρεμβολές στις καθοδικές εφαρμογές που χρησιμοποιήθηκαν.

Σημείωση: Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση υποδειγματικών καθοδικών εφαρμογών για αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμένων νουκλεϊκών οξέων. Ωστόσο, διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις σε ό,τι αφορά την καθαρότητα (δηλ. απουσία δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών) και επομένως η ταυτοποίηση και η εξέταση των σχετικών ουσιών πρέπει επίσης να καθοριστούν στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής για κάθε ροή εργασιών με το EZ1 DSP DNA Blood Kit.

Διασταυρούμενη μόλυνση

Ο κίνδυνος διασταυρούμενης μόλυνσης του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood αναλύθηκε με την πραγματοποίηση 12 εκτελέσεων στο EZ1 Advanced (πρωτόκολλο 2,0, 350 μl όγκου εισαγωγής, 200 μl όγκου έκλουσης) και 9 εκτελέσεων στο EZ1 Advanced XL (200 μl όγκου εισαγωγής, 200 μl όγκου έκλουσης) με εναλλασσόμενη διάταξη τύπου σκακιέρας. Για να ανιχνευτεί επιμόλυνση από δείγμα σε δείγμα, οι εκτελέσεις πραγματοποιήθηκαν με (θετικά) δείγματα αίματος ανδρών και (αρνητικά) δείγματα αίματος γυναικών σε εναλλασσόμενες θέσεις. Κάθε τρίτη εκτέλεση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μόνο δειγμάτων αίματος γυναικών. Όλα τα εκλούσματα υποβλήθηκαν σε εξέταση για ενίσχυση θραύσματος 78 bp του ειδικού για το χρωμόσωμα Y γονιδίου SRY μονού αντιγράφου με τη χρήση του QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kit.

Χαρακτηριστικά απόδοσης του EZ2 Connect MDx

Καθορίστηκαν τα χαρακτηριστικά απόδοσης για το EZ2 Connect MDx σε σύγκριση με το EZ1 Advanced XL με τη χρήση του EZ1 DSP DNA Blood Kit. Τα σχετιζόμενα με το kit χαρακτηριστικά απόδοσης, όπως σταθερότητα εκλουσμάτων ή βασική απόδοση, είναι έγκυρα για όλα τα συστήματα οργάνων που αναφέρονται στις οδηγίες χρήσης του EZ1 DSP DNA Blood Kit, καθώς το kit ως μέρος του συστήματος δεν αλλάζει για διαφορετικές αυτοματοποιημένες πλατφόρμες.

Σημείωση: Τα χαρακτηριστικά απόδοσης εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζονται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Η απόδοση προσδιορίστηκε για το EZ1 DSP DNA Blood Kit σε συνδυασμό με υποδειγματικές καθοδικές εφαρμογές. Ωστόσο, χρησιμοποιούνται μέθοδοι για την απομόνωση των νουκλεϊκών οξέων από βιολογικά δείγματα ως front-end για πολλαπλές καθοδικές εφαρμογές. Συνεπώς, οι παράμετροι απόδοσης, όπως η επίδραση εξωγενών παρεμβαλλόμενων ουσιών, η διασταυρούμενη μόλυνση ή ακρίβεια της εκτέλεσης, πρέπει να καθοριστούν για κάθε ροή εργασιών στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής. Συνεπώς, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Βασική απόδοση και συμβατότητα με διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές

Τα δεδομένα βασικής απόδοσης που δημιουργήθηκαν με τη χρήση του EZ1 Advanced XL, του EZ1 Advanced ή του BioRobot EZ1 ισχύουν επίσης για το όργανο EZ2 Connect MDx (ανατρέξτε στη σελίδα 3). Η σύνθεση των δειγμάτων και του kit είναι πανομοιότυπη για τα συστήματα οργάνων για χρήση με το EZ1 DSP DNA Blood Kit. Επίσης, εξετάστηκε η ισοδυναμία των διαδικασιών εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα EZ2 Connect MDx, ώστε να καταδειχθεί ίδια ή βελτιωμένη βασική απόδοση του συστήματος. Κατά την εξέταση ισοδυναμίας, επιβεβαιώθηκε επίσης η συμβατότητα με διάφορες καθοδικές εφαρμογές (συμπεριλαμβανομένης της qPCR).

Ωστόσο, επειδή χρησιμοποιήθηκαν μόνο υποδειγματικές καθοδικές μέθοδοι, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

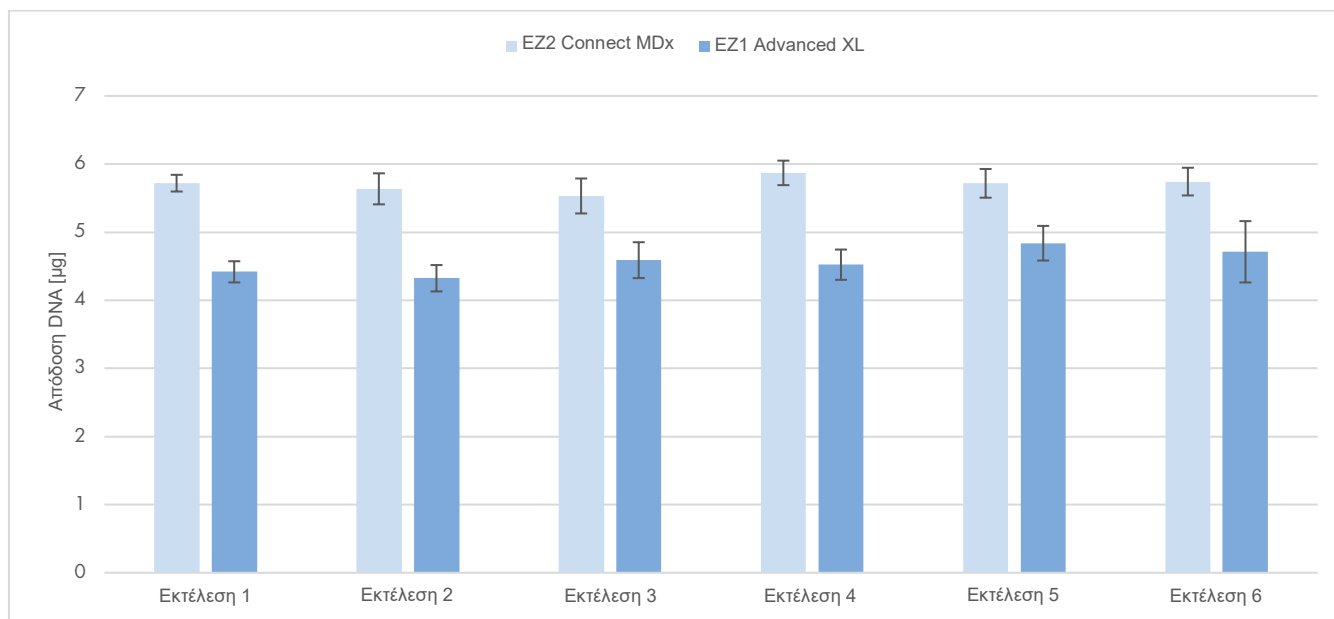
Κατάψυξη–απόψυξη δειγμάτων

Τα δεδομένα κατάψυξης–απόψυξης του υλικού δείγματος που δημιουργήθηκαν με τη χρήση του EZ1 Advanced XL, του EZ1 Advanced ή του BioRobot EZ1 ισχύουν επίσης για το όργανο EZ2 Connect MDx (ανατρέξτε στη σελίδα 6). Η κατάψυξη–απόψυξη δειγμάτων πραγματοποιείται πριν από την εκχύλιση νουκλεϊκών οξέων και επομένως ο σχετικός βαθμός αποδόμησης των δειγμάτων είναι ανεξάρτητος από τη διαδικασία καθοδικής εκχύλισης. Επίσης, η σύνθεση των δειγμάτων και οι χημικές ουσίες του κιτ είναι πανομοιότυπες για τα συστήματα οργάνων για χρήση με το EZ1 DSP DNA Blood Kit. Επίσης, εξετάστηκε η ισοδυναμία των διαδικασιών εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα EZ2 Connect MDx, ώστε να καταδειχθεί ίδια ή βελτιωμένη απόδοση του συστήματος. Οι οδηγίες χειρισμού των δειγμάτων ισχύουν για όλα τα αυτοματοποιημένα συστήματα για χρήση με το κιτ.

Ωστόσο, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Ακρίβεια

Οι αποδόσεις DNA από 200 μl ανθρώπινου ολικού αίματος και 100 μl όγκου έκλουσης συγκρίθηκαν για διαφορετικές εκτελέσεις με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood στο EZ2 Connect MDx και στο EZ1 Advanced XL. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν 12 εκτελέσεις καθαρισμού με τρεις διαφορετικούς χειριστές, σε τρεις διαφορετικές συσκευές (ανά τύπο οργάνου) και σε τρεις διαφορετικές ημέρες. Τα δεδομένα ακρίβειας εντός της εκτέλεσης παρουσιάζονται ως τυπικές αποκλίσεις των αποδόσεων DNA (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Ακρίβεια εντός της εκτέλεσης με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood. Αίμα από υγιή δότη συλλέχθηκε σε σωληνάρια BD K2E και δεξαμενοποιήθηκε πριν από τη χρήση. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl κλασμάτων σε 6 εκτελέσεις με 14 επαναληπτικά δείγματα η καθεμία στο EZ1 Advanced XL και από 200 μl κλασμάτων σε 6 εκτελέσεις με 24 επαναληπτικά δείγματα η καθεμία στο EZ2 Connect MDx με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood. Παρουσιάζεται η μέση συνολική απόδοση DNA και η τυπική απόκλιση για κάθε εκτέλεση.

Καθορίστηκαν οι συντελεστές μεταβλητότητας (CV) για την εκχύλιση ανθρώπινου DNA από ολικό αίμα. Τα δεδομένα ακρίβειας παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.

Πίνακας 5. Ανάλυση εκτιμήσεων ακρίβειας – μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης

Ακρίβεια	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 1)	2,14	3,52
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 2)	4,04	4,47
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 3)	4,64	5,75
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 4)	3,06	4,91
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 5)	3,69	5,26
Εντός της εκτέλεσης (Εκτέλεση 6)	3,54	9,55

Η μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης για το όργανο EZ2 Connect MDx προσδιορίστηκε ως ισοδύναμη με τη μεταβλητότητα εντός της εκτέλεσης στο όργανο EZ1 Advanced XL όταν χρησιμοποιήθηκε το EZ1 DSP DNA Blood kit σε εξετάσεις ισοδυναμίας.

Επιπρόσθετα, καθορίστηκε η μεταβλητότητα μεταξύ των εκτελέσεων για το όργανο EZ2 Connect MDx (Πίνακας 6).

Πίνακας 6. Ανάλυση εκτιμήσεων ακρίβειας – μεταβλητότητα μεταξύ εκτελέσεων

Ακρίβεια	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Μεταξύ εκτελέσεων (Εκτέλεση 1-6)	4,02	7,07

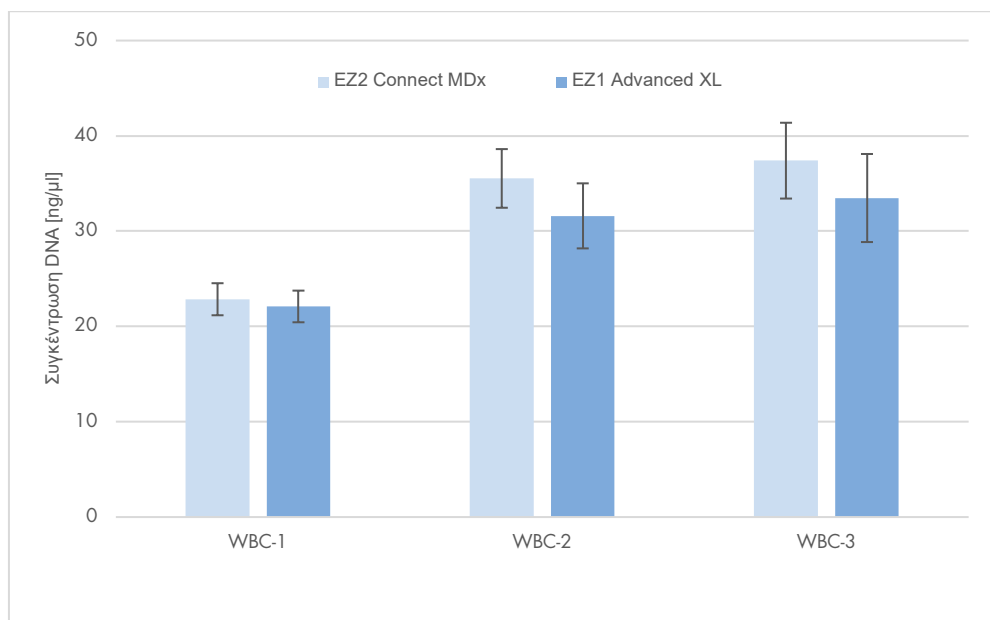
Εισαγωγής δείγματος/εξαγωγή εκλούσματος

Το σύστημα EZ1 DSP DNA Blood στο EZ2 Connect MDx προσφέρει τη δυνατότητα συνδυασμού διαφορετικών όγκων εισαγωγής δείγματος (είτε 200 είτε 350 µl) με διαφορετικούς όγκους εξαγωγής εκλούσματος (50, 100 ή 200 µl). Η εξέταση συνολικής απόδοσης των διαδικασιών εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκε στο σύστημα EZ2 Connect MDx κατέδειξε ίδια ή βελτιωμένη απόδοση του συστήματος σε σχέση με το EZ1 Advanced XL.

Ανάλογα με την πλήρη ροή εργασιών (προετοιμασία δείγματος σε συνδυασμό με ειδική καθοδική εφαρμογή), μπορεί να υπάρχει ένας βέλτιστος συνδυασμός όγκου εισαγωγής δείγματος και έκλυσης που μπορεί να βοηθήσει στη βελτιστοποίηση, για παράδειγμα, της τελικής απόδοσης και συγκέντρωσης DNA ή στην περαιτέρω ελαχιστοποίηση της πιθανής επίδρασης των υπολειπόμενων παρεμβαλλόμενων ουσιών. Διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές ακόμη και για το ίδιο υλικό δείγματος μπορεί να απαιτούν διαφορετικούς συνδυασμούς εισαγωγής δείγματος/εξαγωγή εκλούσματος. Συνεπώς, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Ακρίβεια

Πραγματοποιήθηκαν 6 εκτελέσεις καθαρισμού στο EZ2 Connect MDx και στο EZ1 Advanced XL με τη χρήση τριών διαφορετικών συγκεντρώσεων λευκοκυττάρων (White Blood Cells, WBC). Οι αποδόσεις DNA από 200 µl δείγματος εισαγωγής και 200 µl όγκου έκλυσης καθορίστηκαν με φασματοφωτομετρική μέτρηση και συγκρίθηκαν μεταξύ διαφορετικών οργάνων.



Εικόνα 8. Μέση συγκέντρωση DNA που προέκυψε με διαφορετικές συγκεντρώσεις WBC Συλλέχθηκε ολικό αίμα από διαφορετικούς δότες, δεξαμενοποιήθηκε και προσαρμόστηκε στις απαιτούμενες συγκεντρώσεις WBC με λευκοκρίτη. Γονιδιωματικό DNA καθαρίστηκε από 200 μl κάθε δείγματος και υποβλήθηκε σε έκλουση σε 200 μl με τη χρήση του συστήματος EZ1 DSP DNA Blood στο EZ1 Advanced XL και στο EZ2 Connect MDx. Παρουσιάζεται η μέση συγκέντρωση DNA για κάθε συκέντρωση WBC.

Πίνακας 7. Σύνοψη αποτελεσμάτων εξέτασης ακρίβειας

WBC	Όργανο	Ημέρα	Συγκέντρωση DNA			
			Μέση (ng/μl)	Διάμεση (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

Η στατιστική ανάλυση κατέδειξε ίδια απόδοση του EZ2 Connect MDx σε σύγκριση με το όργανο EZ1 Advanced XL.

Σταθερότητα εκλουσμάτων

Τα δεδομένα σταθερότητας εκλουσμάτων που δημιουργήθηκαν με τη χρήση του EZ1 Advanced XL, του EZ1 Advanced ή του BioRobot EZ1 ισχύουν επίσης για το όργανο EZ2 Connect MDx (ανατρέξτε στη σελίδα 8). Η σύνθεση των δειγμάτων και του κιτ είναι πανομοιότυπη για τα συστήματα οργάνων για χρήση με το EZ1 DSP DNA Blood Kit. Επίσης, εξετάστηκε η ισοδυναμία των διαδικασιών εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα EZ2 Connect MDx, ώστε να καταδειχθεί ίδια ή βελτιωμένη απόδοση του συστήματος. Οι οδηγίες χειρισμού των εκλουσμάτων ισχύουν για όλα τα αυτοματοποιημένα συστήματα για χρήση με το κιτ.

Ωστόσο, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Η επίδραση των παρεμβαλλόμενων ουσιών καθορίστηκε με τη χρήση του EZ1 Advanced XL, του EZ1 Advanced ή του BioRobot EZ1. Αυτά τα δεδομένα ισχύουν επίσης για το όργανο EZ2 Connect MDx (ανατρέξτε στη σελίδα 8). Η σύνθεση των δειγμάτων και του κιτ είναι πανομοιότυπη για τα συστήματα οργάνων για χρήση με το EZ1 DSP DNA Blood Kit. Οι όγκοι εισαγωγής δείγματος/εξαγωγής εκλουσματος είναι πανομοιότυποι, ώστε να μην αναμένεται επίδραση στον τύπο ή στη συγκέντρωση των παρεμβαλλόμενων ουσιών στα εκλούσματα. Επίσης, εξετάστηκε η ισοδυναμία των διαδικασιών εκχύλισης που χρησιμοποιήθηκαν στο σύστημα EZ2 Connect MDx, ώστε να καταδειχθεί ίδια ή βελτιωμένη απόδοση του συστήματος. Οι οδηγίες χειρισμού των δειγμάτων και των εκλουσμάτων ισχύουν για όλα τα αυτοματοποιημένα συστήματα για χρήση με το κιτ.

Ωστόσο, ο χρήστης οφείλει να επικυρώσει τη συνολική ροή εργασιών στη συγκεκριμένη εφαρμογή του για τον καθορισμό των κατάλληλων παραμέτρων απόδοσης.






Διασταυρούμενη μόλυνση

Ο κίνδυνος διασταυρούμενης μόλυνσης του EZ1 DSP DNA Blood Kit που χρησιμοποιήθηκε στο EZ2 Connect MDx αναλύθηκε με την πραγματοποίηση 10 εκτελέσεων (350 μl όγκου εισαγωγής, 50 μl όγκου έκλυσης) με εναλλασσόμενη διάταξη τύπου σκακιέρας. Για να ανιχνευτεί επιμόλυνση από δείγμα σε δείγμα, οι εκτελέσεις πραγματοποιήθηκαν με (θετικά) δείγματα αίματος ανδρών και (αρνητικά) δείγματα αίματος γυναικών σε εναλλασσόμενες θέσεις. Κάθε δεύτερη εκτέλεση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μόνο δειγμάτων αίματος γυναικών. Όλα τα εκλούσματα υποβλήθηκαν σε εξέταση για ενίσχυση θραύσματος 78 bp του ειδικού για το χρωμόσωμα Y γονιδίου SRΥ μονού αντιγράφου με τη χρήση του QIAGEN QuantiTect Probe PCR Kit.

Όλα τα δείγματα αίματος ανδρών ήταν θετικά στην εξέταση PCR και όλα τα δείγματα αίματος γυναικών ήταν αρνητικά. Δεν ανιχνεύτηκε διασταυρούμενη μόλυνση για μεταφορά από δείγμα σε δείγμα ή εκτέλεση σε εκτέλεση.

Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα περιλαμβάνονται στο παρόν έγγραφο. Για μια πλήρη λίστα των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και στην επισήμανση, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο.

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
Rn	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Κατασκευαστής
	Σημαντική σημείωση

Ιστορικό αναθεώρησης

Αναθεώρηση	Περιγραφή
R1, Ιούνιος 2022	Έκδοση 4, Αναθεώρηση 1 <ul style="list-style-type: none">Δημιουργία εγγράφου για νέα έκδοση kit. Προσθήκη δεδομένων για EZ2 Connect MDx

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. το αντίστοιχο εγχειρίδιο kit ή εγχειρίδιο χρήστη της QIAGEN. Τα εγχειρίδια kit και τα εγχειρίδια χρήστη της QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ2®, EZ1®, QuantiTect® (Όμιλος QIAGEN), BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company), Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH), Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα, κ.λπ., που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.
06/2022 HB-3025-D01-001 © 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

