

# EZ1<sup>®</sup> DSP DNA Blood Kit — Instrukcja użycia (Parametry skuteczności)

Wersja 4



Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)



62124



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R1

Dokument Parametry skuteczności jest dostępny w wersji elektronicznej na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), na karcie materiałów źródłowych.

## Informacje ogólne

Zestaw EZ1 DSP DNA Blood Kit jest przeznaczony do oczyszczania genomowego DNA z próbek krwi pełnej. Technologia cząstek magnetycznych zapewnia uzyskanie wysokiej jakości DNA, który nadaje się do bezpośredniego wykorzystania w dalszych zastosowaniach, takich jak amplifikacja. W jednym cyklu aparaty EZ1 i EZ2<sup>®</sup> Connect MDx wykonują wszystkie kroki procedury przygotowania próbki dla maksymalnie 6 próbek (w przypadku aparatów EZ1 Advanced lub BioRobot<sup>®</sup> EZ1 DSP; oba wycofano z produkcji), maksymalnie 14 próbek (w przypadku aparatu EZ1 Advanced XL) lub maksymalnie 24 próbek (w przypadku aparatu EZ2 Connect MDx).

Gdy aparaty BioRobot EZ1 DSP lub EZ1 Advanced są używane razem z kartą protokołu w wersji 1.0, wejściowa objętość próbki wynosi 350 µl, a elucja DNA zachodzi w 200 µl buforu do elucji. Gdy aparaty EZ1 Advanced XL lub EZ1 Advanced są używane z kartą protokołu w wersji 2.0 lub gdy używany jest aparat EZ2 Connect MDx, jako wejściową objętość próbki można wybrać 200 lub 350 µl, a jako objętość elucji DNA — 50, 100 lub 200 µl.

Skuteczność systemu EZ1 DSP DNA Blood Kit została ustalona podczas badań oceny skuteczności, w których do izolacji genomowego DNA wykorzystano ludzką krew pełną. Badania te prowadzono przy użyciu krwi pobranej do standardowych probówek do pobierania krwi. Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację skuteczności systemu pod kątem wszelkich stosowanych w danym laboratorium procedur, które nie są objęte badaniami w zakresie oceny skuteczności wykonanymi przez firmę QIAGEN<sup>®</sup>.

# Parametry skuteczności aparatów EZ1

Uwaga: Parametry skuteczności w znacznym stopniu zależą od różnych czynników i są powiązane z określonymi dalszymi zastosowaniami. Skuteczność zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit została ustalona w połączeniu z przykładowymi dalszymi zastosowaniami. Metody izolacji kwasów nukleinowych z próbek biologicznych stanowią jednak etap początkowy dla wielu dalszych procedur analitycznych. Z tego względu parametry skuteczności, takie jak wpływ egzogennych substancji zakłócających, występowanie zanieczyszczenia krzyżowego lub precyzja testu, muszą zostać określone dla całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) jako część procesu opracowywania konkretnej dalszej procedury analitycznej. Dlatego użytkownik jest odpowiedzialny za walidację całego przebiegu pracy w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Podstawowa skuteczność i zgodność z różnymi dalszymi zastosowaniami

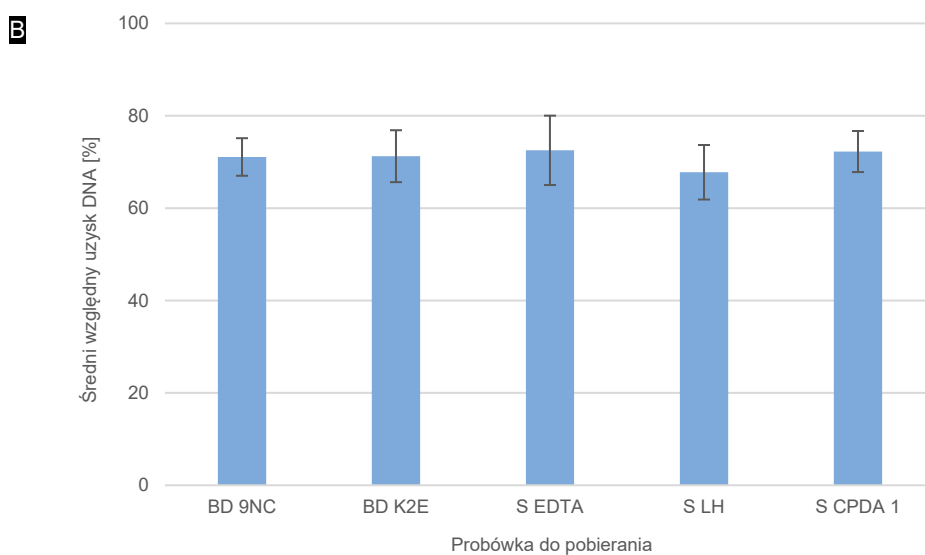
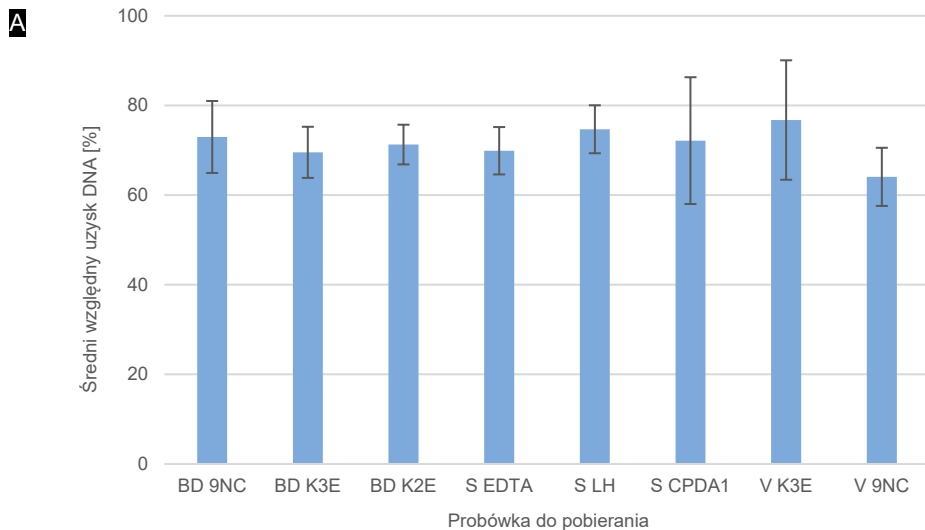
Do pobrania próbek krwi ludzkiej do procedury EZ1 DSP DNA Blood można użyć wielu różnych probówek pierwotnych i antykoagulantów. Podstawowa skuteczność zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit została oceniona przy użyciu próbek pochodzących od 6 pojedynczych dawców w kontekście izolacji gDNA w 8 różnych typach probówek do pobierania krwi. Informacje dotyczące probówek do pobierania próbek wykorzystanych do oceny systemu przedstawiono w Tabeli 1. Dla każdej próbki obliczono stężenie białych krwinek i teoretyczny uzysk DNA. Średnie względne uzyski DNA z próbek krwi uzyskane przy zastosowaniu różnych probówek pierwotnych przedstawiono na Ryc. 1.

**Tabela 1. Probówki do pobierania krwi testowane z systemem EZ1 DSP DNA Blood**

Probówka pierwotna	Producent	Nr kat.*	Konserwant/antykoagulant
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	Cytrynian sodu
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	Heparyna litowa
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	CPDA (cytrynian, fosforan, dekstroza, adenina)
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	K3EDTA
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	Cytrynian sodu

Genomowy DNA został oczyszczony z próbek krwi o objętości 200 lub 350 µl.

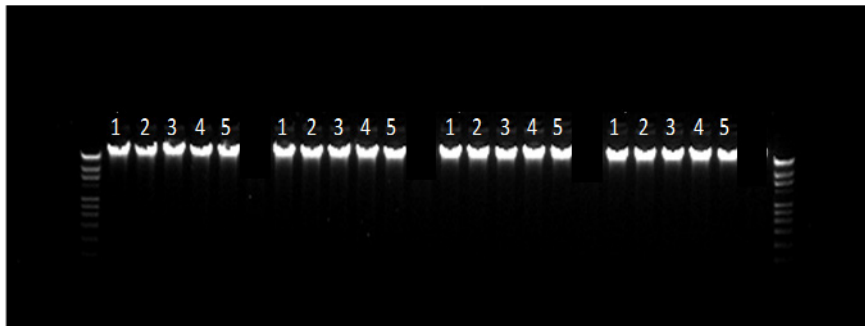
\* Numery katalogowe mogą ulec zmianie; należy je sprawdzić u producenta lub dostawcy.



**Ryc. 1. Skuteczność podstawowa przy wykorzystaniu różnych probówek do pobierania i antykoagulantów.** Krew pełną pobrano od zdrowych dawców do różnych typów probówek. Pobrano po 3 powtórzenia próbki na dawcę i probówkę. Użyte probówki przedstawiono w Tabeli 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette, V: Vacuette). **A:** Krew pobrano od 6 dawców do 8 różnych typów probówek. Genomowy DNA został oczyszczony z próbek o objętości 350 µl przy zastosowaniu objętości elucji wynoszącej 200 µl. **B:** Krew pobrano od 6 dawców do 5 różnych typów probówek. Genomowy DNA został oczyszczony z próbek o objętości 200 µl przy zastosowaniu objętości elucji wynoszącej 200 µl oraz systemu EZ1 DSP DNA Blood w aparacie EZ1 Advanced XL. Teoretyczne uzyski DNA dla poszczególnych dawców i typów probówek określono na podstawie liczby białych krwinek. Słupki przedstawiają średni względny uzysk DNA (w porównaniu z uzyskiem teoretycznym) z odchyleniem standardowym.

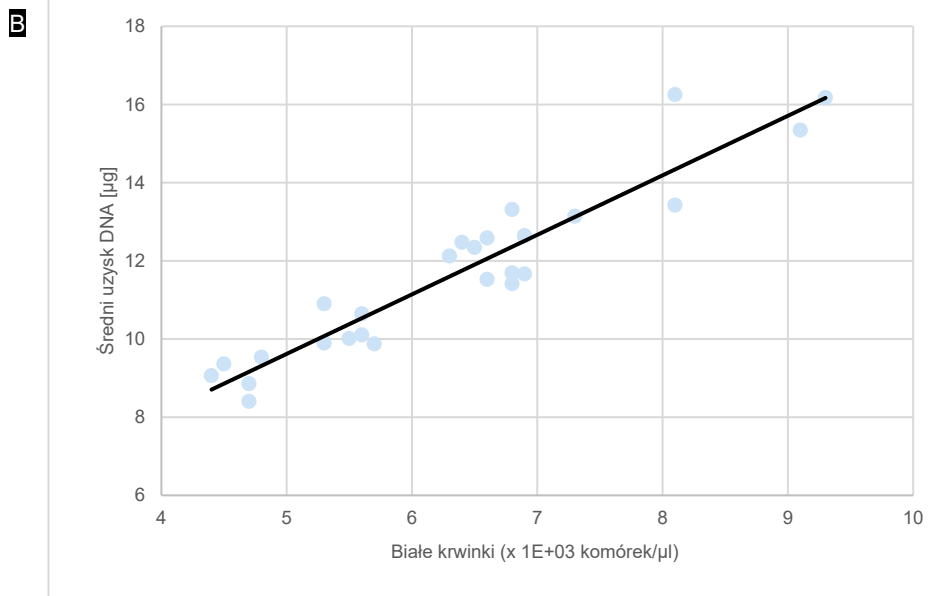
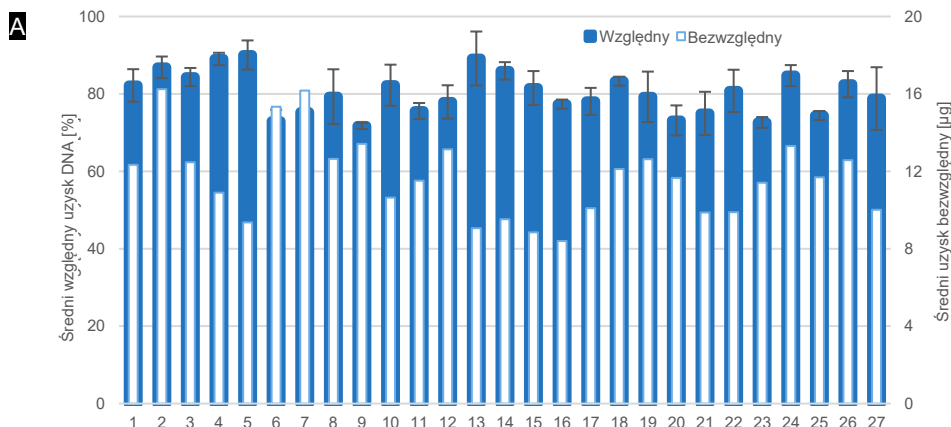
Aby określić integralność genomowego DNA, eluaty z różnych probówek do pobierania krwi analizowano metodą elektroforezy w żelu agarozowym (Ryc. 2).

B2



**Ryc. 2. Skuteczność podstawowa przy wykorzystaniu różnych probówek do pobierania i antykoagulantów.** Eluaty z różnych probówek do pobierania krwi zostały przeanalizowane metodą elektroforezy w żelu agarozowym w celu określenia integralności genomowego DNA. 1: BD K2E, 2: BD 9NC, 3: S EDTA, 4: S LH, 5: S CPDA1. Przedstawiono wyniki uzyskane dla 4 różnych dawców.

Genomowy DNA oczyszczono z pobranych od zdrowych dawców próbek krwi o objętości 350  $\mu$ l. Ilość DNA oczyszczonego przy użyciu procedury EZ1 DSP DNA Blood zależy od zawartości białych krwinek w poszczególnych próbkach krwi, dlatego uzysk może się różnić w zależności od dawcy (Ryc. 3).

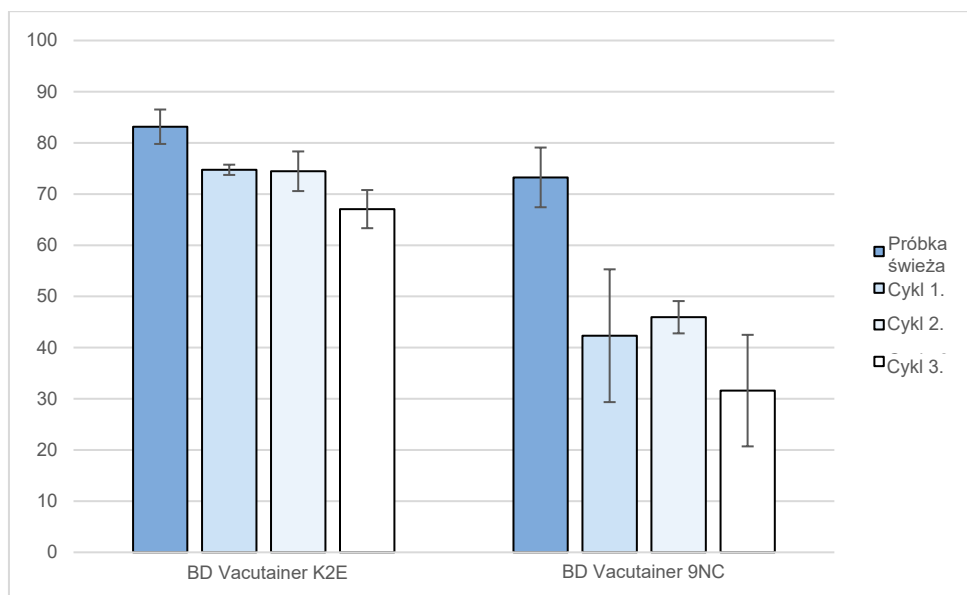


**Ryc. 3. Średni bezwzględny i względny uzysk DNA w przypadku różnych dawców.** Krew pełną pobrano od 27 dawców. Każdą próbkę pobrano w trzech powtórzeniach. Genomowy DNA został oczyszczony z próbek o objętości po 350  $\mu$ l przy zastosowaniu systemu EZ1 DSP DNA Blood. **A:** Teoretyczny uzysk DNA określono na podstawie liczby białych krwinek. Przedstawiono średnią wartość bezwzględną i względną (w porównaniu do obliczonego uzysku teoretycznego) uzysku DNA dla każdego dawcy. **B:** Średnią wartość bezwzględną uzysku dla każdego dawcy przedstawiono w odniesieniu do liczby białych krwinek.

Eluaty genomowego DNA oczyszczone z próbek krwi pełnej przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood zostały przeanalizowane i wykazały zgodność z różnymi dalszymi zastosowaniami, takimi jak reakcja PCR z pomiarem w punkcie końcowym (endpoint PCR), elektroforeza w żelu agarozowym, pomiary fotometryczne oraz ilościowa reakcja real-time PCR (qPCR) (patrz sekcja Zanieczyszczenie krzyżowe na stronie 9).

## Zamrażanie i rozmrażanie próbek

Z systemem EZ1 DSP DNA Blood można używać świeżych i mrożonych próbek ludzkiej krwi pełnej. Oceniono wpływ zamrażania i rozmrażania próbek krwi na oczyszczanie DNA (patrz Ryc. 4).



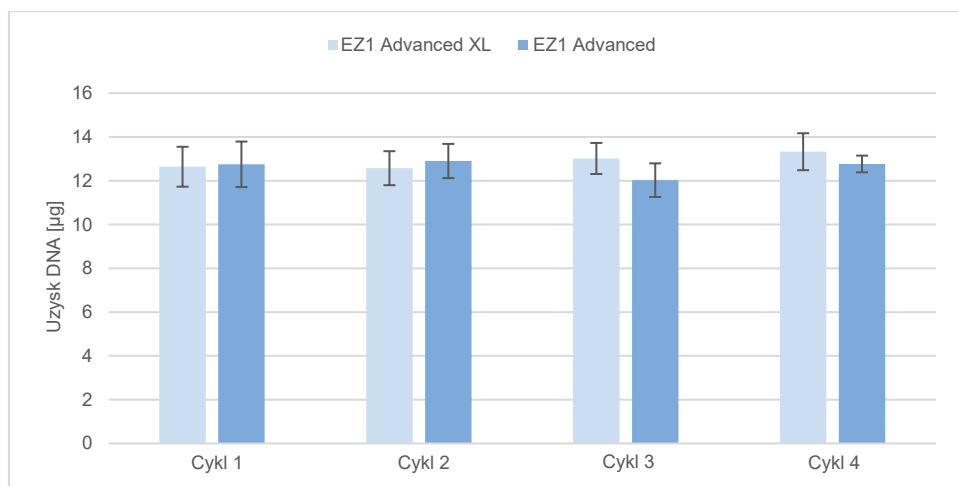
**Ryc. 4. Wpływ cykli zamrażania-rozmrażania na uzysk DNA.** Krew pełną pobrano od 3 zdrowych dawców do wskazanych próbek. Każdą próbkę pobrano w 6 powtórzeniach. Użyte próbki przedstawiono w Tabeli 1. Genomowy DNA został oczyszczony z próbek o objętości po 350 µl przy zastosowaniu systemu EZ1 DSP DNA Blood. Dla każdego dawcy i typu próbki obliczono średnią wartość względnego uzysku DNA (z próbki świeżej). Probówki z krwią zamrożono i rozmrożono 3 razy. Genomowy DNA oczyszczano po każdym cyklu zamrażania-rozmrażania (cykle 1–3).

Można używać świeżych lub zamrożonych próbek krwi pełnej z dodatkiem EDTA, ACD (cytrynianu) lub heparyny. Zamrożone próbki przed rozpoczęciem procedury należy rozmrozić w temperaturze pokojowej (15–25°C), delikatnie nimi wstrząsając. Uzysk i jakość oczyszczonego DNA mogą zależeć od warunków przechowywania krwi. Dla świeżych próbek krwi można otrzymać lepsze wyniki. Próbek krwi nie należy zamrażać ponownie więcej niż 2 razy, ponieważ może to doprowadzić do obniżenia uzysku DNA.

W przypadku zamrażania i rozmrażania zalecane jest stosowanie próbek z dodatkiem antykoagulantu w formie EDTA.

## Precyzja

Uzysk DNA z próbki ludzkiej krwi pełnej o objętości 350 µl przy zastosowaniu objętości elucji 200 µl porównano między różnymi cyklami wykonanymi przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood w aparatach EZ1 Advanced i EZ1 Advanced XL. Jeden operator przeprowadził łącznie 8 cykli oczyszczania, korzystając z jednego urządzenia (na każdy typ aparatu) w dwóch różnych dniach. Dane dotyczące precyzji w ramach cyklu przedstawiono z uwzględnieniem odchylenia standardowego uzysków DNA (Ryc. 5).



**Ryc. 5. Precyzja w ramach cyklu przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood.** Krew pobrano od zdrowego dawcy do próbek BD K2E. Przed użyciem z pobranych próbek utworzono próbkę zbiorczą (pułę). Genomowy DNA został oczyszczony z porcji o objętości 350 µl w ramach 4 cykli 6 powtórzeń wykonanych na aparacie EZ1 Advanced oraz 4 cykli 14 powtórzeń wykonanych na aparacie EZ1 Advanced XL przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood. Dla każdego cyklu przedstawiono średnią całkowitą wartość uzysku DNA oraz odchylenie standardowe.

Współczynniki zmienności (coefficient of variation, CV) zostały określone dla DNA wyizolowanego z ludzkich próbek krwi pełnej. Dane dotyczące precyzji przedstawiono w Tabeli 2.

**Tabela 2. Analiza oszacowań wartości precyzji — zmienność w ramach cyklu**

Precyzja	CV (%) (EZ1 Advanced XL)	CV (%) (EZ1 Advanced)
W ramach cyklu (cykl 1)	7,21	8,15
W ramach cyklu (cykl 2)	6,18	6,06
W ramach cyklu (cykl 3)	5,45	6,39
W ramach cyklu (cykl 4)	6,33	2,99

Stwierdzono, że zmienność w ramach cyklu dla aparatu EZ1 Advanced XL jest równoważna zmienności w ramach cyklu dla aparatu EZ1 Advanced podczas stosowania zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit.

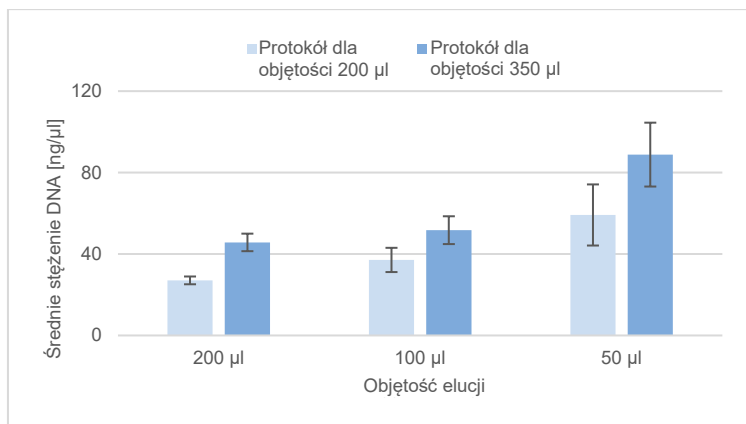
Ponadto określono zmienność między cyklami dla obu aparatów (Tabela 3).

**Tabela 3. Analiza oszacowań wartości precyzji — zmienność między cyklami**

Precyzja	CV (%) (EZ1 Advanced XL)	CV (%) (EZ1 Advanced)
Między cyklami (cykle 1–4)	6,58	6,39

## Wejściowa objętość próbki / wyjściowa objętość eluatu

Genomowy DNA został oczyszczony z pobranych od zdrowych dawców próbek krwi pełnej o objętości 200 lub 350 µl przy zastosowaniu procedury EZ1 DSP DNA Blood, aparatu EZ1 Advanced XL i trzech różnych objętości elucji. Różnice w stężeniach DNA w eluatach przedstawiono na Ryc. 6.



**Ryc. 6. Średnie stężenie DNA uzyskanego z zastosowaniem różnych objętości elucji.** Krew pełną pobrano od 3 dawców. Genomowy DNA został oczyszczony z 200 i 350 μl każdej próbki i poddany elucji w 200, 100 i 50 μl (w każdym przypadku w trzech powtórzeniach) przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood w aparacie EZ1 Advanced XL. Dla każdego protokołu i każdej objętości elucji przedstawiono średnie stężenie DNA.



Ze względu na małą objętość buforu do elucji i ogrzewanie buforu do elucji podczas procesu, elucja z zastosowaniem objętości 50 μl może prowadzić do uzyskania końcowej objętości eluatu mniejszej niż 50 μl.

W zależności od całościowego przebiegu pracy (przygotowania próbki w połączeniu z konkretnym dalszym zastosowaniem) może istnieć najkorzystniejsza kombinacja wejściowej objętości próbki i objętości elucji, która mogłaby zoptymalizować np. końcowy uzysk i stężenie DNA lub dodatkowo zminimalizować potencjalny wpływ pozostałości substancji zakłócających. Różne dalsze zastosowania, nawet wykorzystujące ten sam materiał próbki, mogą wymagać różnych kombinacji wejściowej objętości próbki i wyjściowej objętości eluatu. Z tego względu obowiązkiem użytkownika jest zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Stabilność eluatu

Stabilność eluatu dla zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit została oceniona przy użyciu genomowego DNA wyizolowanego z próbek krwi pełnej pobranych do probówek BD Vacutainer K2E. Eluaty były przechowywane w różnych temperaturach i przez różny czas, a następnie testowane pod kątem integralności (metodą elektroforezy w żelu agarozowym) i przydatności do reakcji PCR (przy użyciu oznaczenia wewnętrznego).

Wyniki wykazały stabilność genomowego DNA w eluatach EZ1 przez 24 miesiące przy przechowywaniu w temperaturze 2–8°C lub -20°C i przez 36 miesięcy przy przechowywaniu w temperaturze -20°C lub -80°C.

## Substancje zakłócające

Substancje zakłócające obecne w próbce mają duże znaczenie, ponieważ mogą wpływać na skuteczność automatycznej izolacji kwasów nukleinowych. Dodatkowo sama metoda izolacji może w różnym stopniu być przyczyną przedostania się substancji zakłócających do eluatu, co może wpłynąć na czystość i zgodność eluatów w kontekście danego dalszego zastosowania. Z tego względu w celu zbadania wpływu substancji potencjalnie zakłócających na procedurę EZ1 DSP DNA Blood i zgodność z przykładowymi dalszymi oznaczeniami substancje te dodano do próbek krwi pełnej. Eluaty zostały zbadane pod kątem integralności (metodą elektroforezy w żelu agarozowym), możliwości wykorzystania w reakcji PCR (przy użyciu oznaczenia wewnętrznego) i czystości (metodą fotometryczną).



**Tabela 4. Stężenia wykorzystywane w badaniu wpływu potencjalnych substancji zakłócających**

Substancje zakłócające	Końcowe badane stężenie
Bilirubina	200 mg/l
Hemoglobina	200 g/l
Albumina (BSA)	120 g/l
Trójglicerydy	30 g/l

Żadna z substancji wymienionych w Tabeli 4 nie wykazywała jakichkolwiek właściwości zakłócających podczas dalszych zastosowań.

Uwaga: W celu oceny jakości wyizolowanych kwasów nukleinowych przeprowadzono testy przy użyciu przykładowych procedur. Wymagania w zakresie stopnia czystości (braku potencjalnych substancji zakłócających) mogą jednak różnić się między procedurami, dlatego w ramach opracowywania procedur na potrzeby dalszych zastosowań, w których stosowany jest zestaw EZ1 DSP DNA Blood Kit, należy zidentyfikować i przetestować odpowiednie substancje.

## Zanieczyszczenie krzyżowe

Ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego podczas używania systemu EZ1 DSP DNA Blood przeanalizowano, przeprowadzając 12 cykli w aparacie EZ1 Advanced (protokół 2.0, objętość wejściowa 350 µl, 200 µl elucji) i 9 cykli w aparacie EZ1 Advanced XL (objętość wejściowa 200 µl, 200 µl elucji). Próbki o różnym statusie były testowane w ramach jednej partii, w której układano je w układzie „szachownicy” (naprzemiennie). W celu wykrycia zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem między próbkami podczas cyklu próbki męskie (dodatnie) i żeńskie (ujemne) były układane naprzemiennie. Co trzeci cykl był wykonywany wyłącznie przy użyciu żeńskich próbek krwi. Wszystkie eluaty przetestowano pod kątem amplifikacji fragmentu o długości 78 pb specyficznego dla chromosomu Y pojedynczego genu SRY przy użyciu zestawu QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kit.

## Parametry skuteczności aparatu EZ2 Connect MDx

Parametry skuteczności aparatu EZ2 Connect MDx zostały ustalone w porównaniu do aparatu EZ1 Advanced XL przy użyciu zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit. Parametry skuteczności związane z zestawem, takie jak stabilność eluatu lub podstawowa skuteczność, obowiązują dla wszystkich systemów aparatów wymienionych w instrukcji użycia zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit, ponieważ zestaw, jako część systemu, jest taki sam dla różnych zautomatyzowanych platform.

Uwaga: Parametry skuteczności w znacznym stopniu zależą od różnych czynników i są powiązane z określonymi dalszymi zastosowaniami. Skuteczność zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit została ustalona w połączeniu z przykładowymi dalszymi zastosowaniami. Metody izolacji kwasów nukleinowych z próbek biologicznych stanowią jednak etap początkowy dla wielu dalszych procedur analitycznych. Z tego względu parametry skuteczności, takie jak wpływ egzogennych substancji zakłócających, występowanie zanieczyszczenia krzyżowego lub precyzja testu, muszą zostać określone dla całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) jako część procesu opracowywania konkretnej dalszej procedury analitycznej. Dlatego użytkownik jest odpowiedzialny za walidację całego przebiegu pracy w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Podstawowa skuteczność i zgodność z różnymi dalszymi zastosowaniami

Dane dotyczące podstawowej skuteczności uzyskane przy użyciu aparatu EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced lub BioRobot EZ1 odnoszą się również do aparatu EZ2 Connect MDx (patrz strona 3). Skład próbek i zestaw są takie same w przypadku systemów aparatów przeznaczonych do użycia z zestawem EZ1 DSP DNA Blood Kit. Ponadto przetestowano równoważność procedur izolacji stosowanych w systemie EZ2 Connect MDx w celu wykazania tej samej lub lepszej skuteczności podstawowej systemu. Podczas testów równoważności potwierdzono również zgodność z różnymi dalszymi zastosowaniami (w tym z reakcją qPCR).

Ponieważ jednak uwzględniono jedynie przykładowe dalsze zastosowania, obowiązkiem użytkownika jest zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

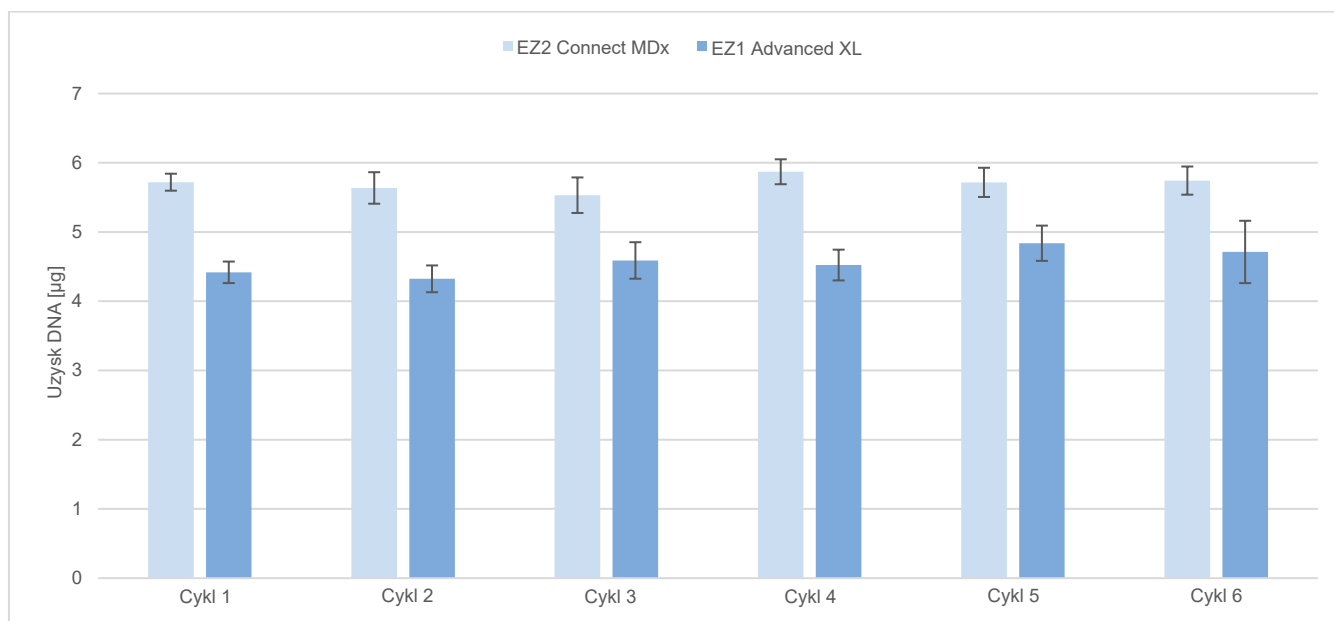
## Zamrażanie i rozmrażanie próbek

Dane dotyczące zamrażania i rozmrażania materiału próbek uzyskane przy użyciu aparatu EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced lub BioRobot EZ1 odnoszą się również do aparatu EZ2 Connect MDx (patrz strona 6). Zamrażanie i rozmrażanie próbek jest wykonywane przed izolacją kwasów nukleinowych, a zatem związany z nimi stopień degradacji próbki jest niezależny od dalszej procedury izolacji. Ponadto skład próbki i zestawu są takie same w przypadku systemów aparatów przeznaczonych do użycia z zestawem EZ1 DSP DNA Blood Kit. Przetestowano również równoważność procedur izolacji stosowanych w systemie EZ2 Connect MDx w celu wykazania tej samej lub lepszej skuteczności systemu. Instrukcje dotyczące postępowania z próbkami odnoszą się do wszystkich zautomatyzowanych systemów przeznaczonych do użycia z zestawem.

Obowiązkiem użytkownika jest jednak zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Precyzja

Uzysk DNA z próbki ludzkiej krwi pełnej o objętości 200 µl przy zastosowaniu objętości elucji 100 µl porównano między różnymi cyklami wykonanymi przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood w aparatach EZ2 Connect MDx i EZ1 Advanced XL. Trzech różnych operatorów przeprowadziło łącznie 12 cykli oczyszczania, korzystając z trzech różnych urządzeń (na każdy typ aparatu) w trzech różnych dniach. Dane dotyczące precyzji w ramach cyklu przedstawiono z uwzględnieniem odchylenia standardowego uzysków DNA (Ryc. 7).



**Ryc. 7. Precyzja w ramach cyklu przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood.** Krew pobrano od zdrowego dawcy do próbek BD K2E. Przed użyciem z pobranych próbek utworzono próbkę zbiorczą (pułę). Genomowy DNA został oczyszczony z porcji o objętości 200 µl w ramach 6 cykli 14 powtórzeń wykonanych na aparacie EZ1 Advanced XL oraz z porcji o objętości 200 µl w ramach 6 cykli 24 powtórzeń wykonanych na aparacie EZ2 Connect MDx przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood. Dla każdego cyklu przedstawiono średnią całkowitą wartość uzysku DNA oraz odchylenie standardowe.

Współczynniki zmienności (coefficient of variation, CV) zostały określone dla DNA wyizolowanego z ludzkich próbek krwi pełnej. Dane dotyczące precyzji przedstawiono w Tabeli 5.

**Tabela 5. Analiza oszacowań wartości precyzji — zmienność w ramach cyklu**

Precyzja	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
W ramach cyklu (cykl 1)	2,14	3,52
W ramach cyklu (cykl 2)	4,04	4,47
W ramach cyklu (cykl 3)	4,64	5,75
W ramach cyklu (cykl 4)	3,06	4,91
W ramach cyklu (cykl 5)	3,69	5,26
W ramach cyklu (cykl 6)	3,54	9,55

Podczas testów równoważności stwierdzono, że zmienność w ramach cyklu dla aparatu EZ2 Connect MDx jest równoważna zmienności w ramach cyklu dla aparatu EZ1 Advanced XL przy stosowaniu zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit.

Ponadto określono zmienność między cyklami dla aparatu EZ2 Connect MDx (Tabela 6).

**Tabela 6. Analiza oszacowań wartości precyzji — zmienność między cyklami**

Precyzja	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Między cyklami (cykle 1–6)	4,02	7,07

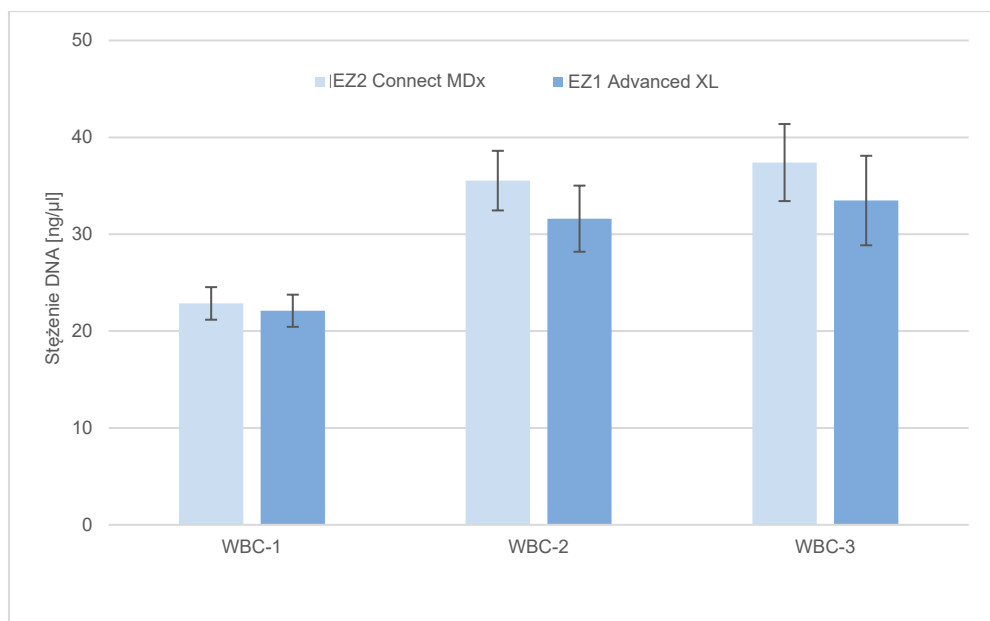
## Wejściowa objętość próbki / wyjściowa objętość eluatu

System EZ1 DSP DNA Blood stosowany w aparacie EZ2 Connect MDx oferuje możliwość łączenia różnych wejściowych objętości próbek (200 lub 350 µl) z różnymi wyjściowymi objętościami eluatów (50, 100 lub 200 µl). Podczas testów ogólnej skuteczności procedur izolacji stosowanych w systemie EZ2 Connect MDx wykazano taką samą lub lepszą skuteczność systemu w porównaniu do aparatu EZ1 Advanced XL.

W zależności od całościowego przebiegu pracy (przygotowania próbki w połączeniu z konkretnym dalszym zastosowaniem) może istnieć najkorzystniejsza kombinacja wejściowej objętości próbki i objętości elucji, która mogłaby zoptymalizować np. końcowy uzysk i stężenie DNA lub dodatkowo zminimalizować potencjalny wpływ pozostałości substancji zakłócających. Różne dalsze zastosowania, nawet wykorzystujące ten sam materiał próbki, mogą wymagać różnych kombinacji wejściowej objętości próbki i wyjściowej objętości eluatu. Z tego względu obowiązkiem użytkownika jest zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Dokładność

W aparatach EZ2 Connect MDx i EZ1 Advanced XL wykonano 6 cykli oczyszczania przy użyciu trzech różnych stężeń białych krwinek (white blood cell, WBC). Uzysk DNA z próbek o wejściowej objętości 200 µl przy zastosowaniu objętości elucji 200 µl został określony poprzez pomiar spektrofotometryczny i porównany między różnymi aparatami.



**Ryc. 8. Średnie stężenie DNA uzyskane dla różnych stężeń WBC.** Krew pełną pobierano od różnych dawców, łączono, a następnie dostosowywano do wymaganych stężeń WBC za pomocą kożuszka leukocyтарно-platekowego. Genomowy DNA został oczyszczony z 200 μl każdej próbki i poddany elucji w 200 μl przy użyciu systemu EZ1 DSP DNA Blood w aparatach EZ1 Advanced XL oraz EZ2 Connect MDx. Dla każdego stężenia WBC przedstawiono średnie stężenie DNA.

**Tabela 7. Podsumowanie wyników testów dokładności**

WBC	Aparat	Dzień	Stężenie DNA			
			Średnia (ng/μl)	Mediana (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

Analiza statystyczna wykazała, że wydajność aparatu EZ2 Connect MDx jest taka sama w porównaniu z aparatem EZ1 Advanced XL.

## Stabilność eluatu

Dane dotyczące stabilności eluatu uzyskane przy użyciu aparatu EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced lub BioRobot EZ1 odnoszą się również do aparatu EZ2 Connect MDx (patrz strona 8). Skład próbki i zestawu są takie same w przypadku systemów aparatów przeznaczonych do użycia z zestawem EZ1 DSP DNA Blood Kit. Ponadto przetestowano równoważność procedur izolacji stosowanych w systemie EZ2 Connect MDx w celu wykazania tej samej lub lepszej skuteczności systemu. Instrukcje dotyczące postępowania z eluatami odnoszą się do wszystkich zautomatyzowanych systemów przeznaczonych do użycia z zestawem.

Obowiązkiem użytkownika jest jednak zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.

## Substancje zakłócające

Wpływ substancji zakłócających określono przy użyciu aparatu EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced lub BioRobot EZ1. Dane te odnoszą się również do aparatu EZ2 Connect MDx (patrz strona 8). Skład próbki i zestawu są takie same w przypadku systemów aparatów przeznaczonych do użycia z zestawem EZ1 DSP DNA Blood Kit. Wejściowa objętość próbki oraz wyjściowa objętość eluatu są takie same, dlatego nie przewiduje się wpływu w odniesieniu do typu lub stężenia substancji zakłócających w eluatach. Ponadto przetestowano równoważność procedur izolacji stosowanych w systemie EZ2 Connect MDx w celu wykazania tej samej lub lepszej skuteczności systemu. Instrukcje dotyczące postępowania z próbkami i eluatami odnoszą się do wszystkich zautomatyzowanych systemów przeznaczonych do użycia z zestawem.

Obowiązkiem użytkownika jest jednak zwalidowanie całego przebiegu pracy w ramach konkretnego zastosowania w celu ustalenia odpowiednich parametrów do oceny skuteczności.






## Zanieczyszczenie krzyżowe

Ryzyko wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego podczas używania zestawu EZ1 DSP DNA Blood Kit w aparacie EZ2 Connect MDx przeanalizowano, przeprowadzając 10 cykli (objętość wejściowa 350 µl, 50 µl elucji). Próbki o różnym statusie były testowane w ramach jednej partii, w której układano je w układzie „szachownicy” (naprzemiennie). W celu wykrycia zanieczyszczenia spowodowanego przeniesieniem między próbkami podczas cyklu próbki męskie (dodatnie) i żeńskie (ujemne) były układane naprzemiennie. Co drugi cykl był wykonywany wyłącznie przy użyciu żeńskich próbek krwi. Wszystkie eluaty przetestowano pod kątem amplifikacji fragmentu o długości 78 pz specyficznego dla chromosomu Y pojedynczego genu SRY przy użyciu zestawu QIAGEN QuantiTect Probe PCR Kit.

Wszystkie męskie próbki krwi dały dodatni wynik w teście PCR, natomiast wszystkie żeńskie próbki krwi dały wynik ujemny. Nie wykryto zanieczyszczenia krzyżowego spowodowanego przeniesieniem między próbkami oraz między cyklami przetwarzania.

## Symbole

W niniejszym dokumencie pojawiają się poniższe symbole. Pełna lista symboli stosowanych w instrukcji użycia lub na opakowaniu i oznaczeniach znajduje się w instrukcji obsługi.

Symbol	Definicja symbolu
	Ten produkt spełnia wymogi rozporządzenia europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
Rn	R oznacza wydanie Instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Producent
	Ważna uwaga

## Historia zmian

### Wydanie

R1, czerwiec 2022 r.

### Opis

Wersja 4, wydanie 1

- Wygenerowanie dokumentu dla nowej wersji zestawu. Dodano dane dotyczące aparatu EZ2 Connect MDx

Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika odpowiedniego zestawu firmy QIAGEN. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawów QIAGEN są dostępne pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: 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.). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.  
06/2022 HB-3025-D01-001 © 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

