

Gebruiksaanwijzing (prestatiekenmerken) EZ1[®] DSP Virus Kit

Versie 5



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik
Voor gebruik in combinatie met EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland

R1

De prestatiekenmerken zijn in elektronische vorm beschikbaar. U kunt deze vinden onder het tabblad 'Resources' (Hulpmiddelen) van de productpagina op www.qiagen.com.

Algemene inleiding

De EZ1 DSP Virus Kit is bedoeld voor de zuivering van virale nucleïnezuren en bacterieel DNA uit plasma, serum, CSF, ontlasting en nasofaryngeale uitstrijkjes verzameld in Universal Transport Medium™.(UTM®). Magnetische-deeltjestechnologie levert nucleïnezuren (NZ) van hoge kwaliteit die geschikt zijn voor direct gebruik in latere toepassingen, zoals PCR- en qPCR-amplificatie. De EZ1 en EZ2® Connect MDx-instrumenten voeren alle stappen van de monsterbereidingsprocedure uit voor maximaal 6 monsters (met de EZ1 Advanced of de BioRobot® EZ1 DSP; beide niet meer verkrijgbaar), voor maximaal 14 monsters (met de EZ1 Advanced XL) of voor maximaal 24 monsters (met de EZ2 Connect MDx) in één run.

Het invoervolume van het monster kan worden gekozen uit 100, 200 of 400 µl, en het NZ-elutievolume kan worden gekozen uit 60, 90, 120 of 150 µl.

De prestaties van het EZ1 DSP Virus Kit-systeem werden vastgesteld in prestatiebeoordelingsonderzoeken met behulp van plasma, serum, CSF, ontlasting en nasofaryngeale uitstrijkjes verzameld in UTM voor de isolatie van viraal NZ en bacterieel DNA. De werking van de kit is echter niet voor alle virus- of bacteriesoorten gegarandeerd en moet door de gebruiker worden gevalideerd. Het is de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de werking van het systeem te valideren voor procedures die in het eigen laboratorium worden gebruikt en die niet zijn opgenomen in de prestatiebeoordelingsonderzoeken van QIAGEN®.

Prestatiekenmerken van EZ1-instrumenten

Opmerking: De prestatiekenmerken zijn sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houden verband met de specifieke latere toepassing. De prestaties zijn vastgesteld voor de EZ1 DSP Virus Kit in combinatie met typische latere toepassingen. Methoden voor het isoleren van nucleïnezuren uit biologische specimens worden gebruikt als een front-end voor meerdere latere toepassingen. Daarom moeten prestatieparameters zoals de invloed van interfererende exogene stoffen, kruisbesmetting of runprecisie bepaald worden voor dergelijke workflows als onderdeel van de ontwikkeling van latere toepassingen. Daarom is het de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

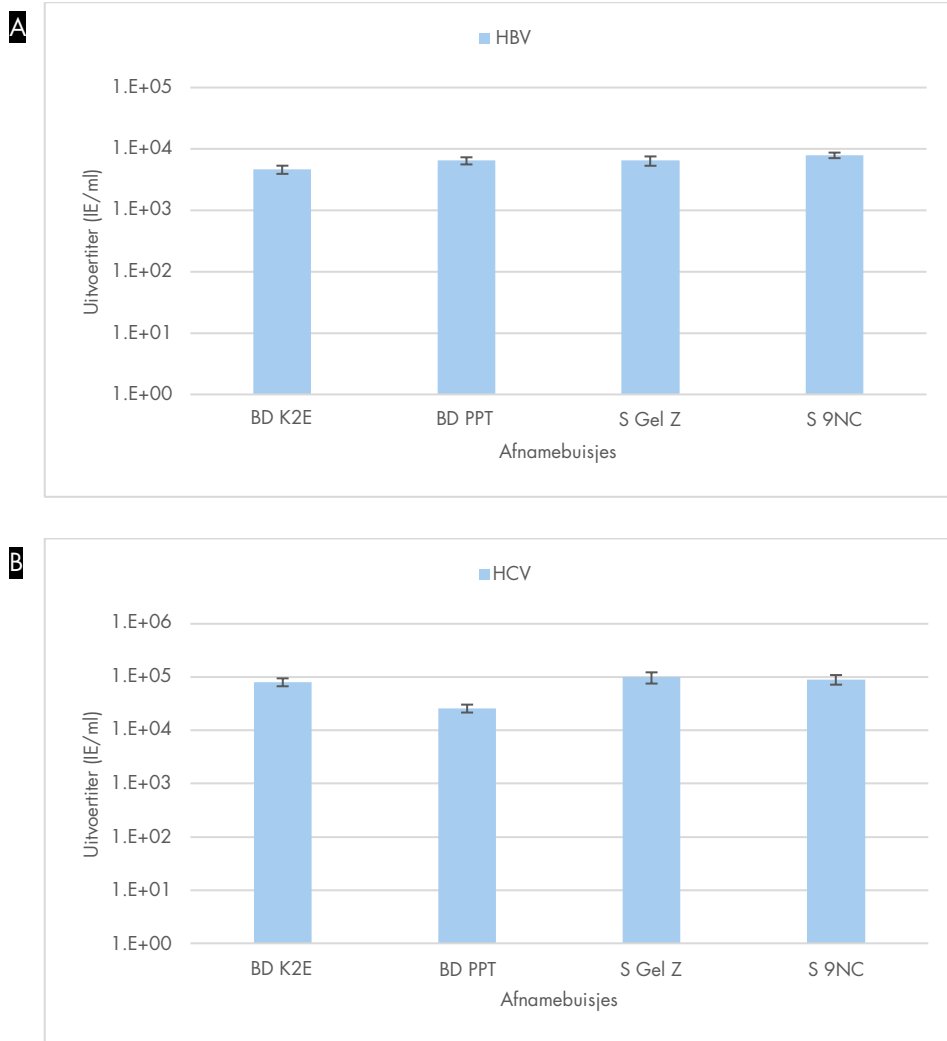
Basiswerking en compatibiliteit met verschillende latere toepassingen

Er kunnen verschillende soorten primaire buisjes en anticoagulantia worden gebruikt om bloed af te nemen voor de procedures met de EZ1 DSP Virus-procedure. De basisprestaties van de EZ1 DSP Virus Kit zijn geëvalueerd met 6 afzonderlijke donoren voor de extractie van virale NZ uit 4 verschillende bloedafnamebuisen. Tabel 1 geeft een overzicht van de monsterafnamebuisen die zijn gebruikt voor de evaluatie van het systeem. Na bereiding van plasma of serum werden de monsters verrijkt met een specifieke virustiter van hepatitis C (HCV) of hepatitis B (HBV). Met behulp van geschikte qPCR-systemen werd de virustiter voor elk monster bepaald. De gemiddelde virustiter met verschillende primaire buisjes is weergegeven in Figuur 1.

Tabel 1. Bloedafnamebuisen getest met het EZ1 DSP Virus-systeem

Primair buisje	Fabrikant	Cat.nr.*	Conserveermiddel/antistollingsmiddel
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA - gel - plasma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA - plasma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Natriumcitraat - plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel - serum

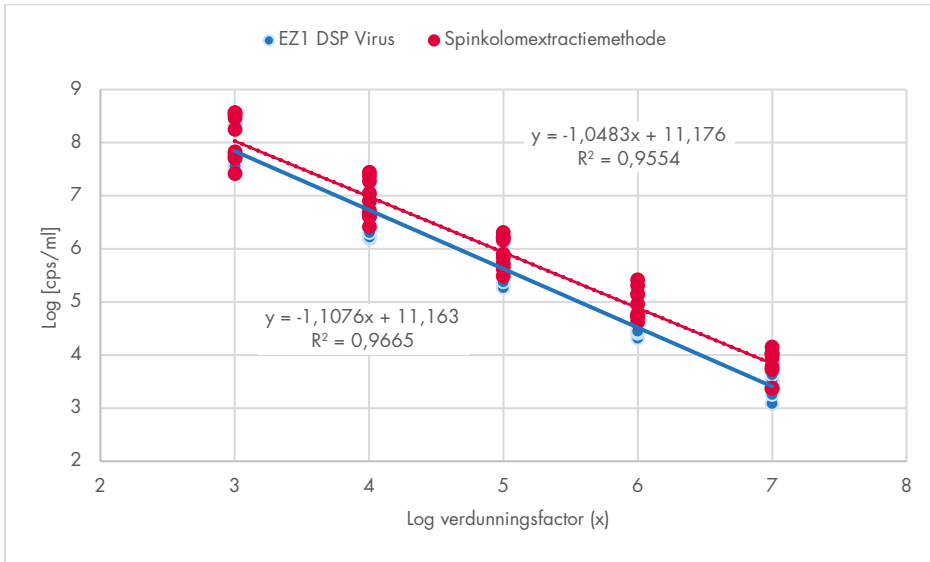
* Catalogusnummers kunnen veranderen; neem contact op met de fabrikant of leverancier.



Figuur 1. Basisprestaties bij gebruik van verschillende afnamebuisen en antistollingsmiddelen. Bij 6 gezonde donors werden bloedmonsters afgenomen in verschillende soorten buisjes om ofwel plasma ofwel serum te bereiden, met herhalingen van 10 per donorbuisje. De gebruikte buisjes staan vermeld in Tabel 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** Viraal DNA werd gezuiverd uit monsters van 200 µl, met elutie in 90 µl. **B:** Viraal RNA werd gezuiverd uit 200 µl monsters, met elutie in 90 µl. De NZ-opbrengsten van elke donor en buis werden bepaald door qPCR-analyse. De balken tonen de gemiddelde virustiteruitkomsten met standaardafwijking.

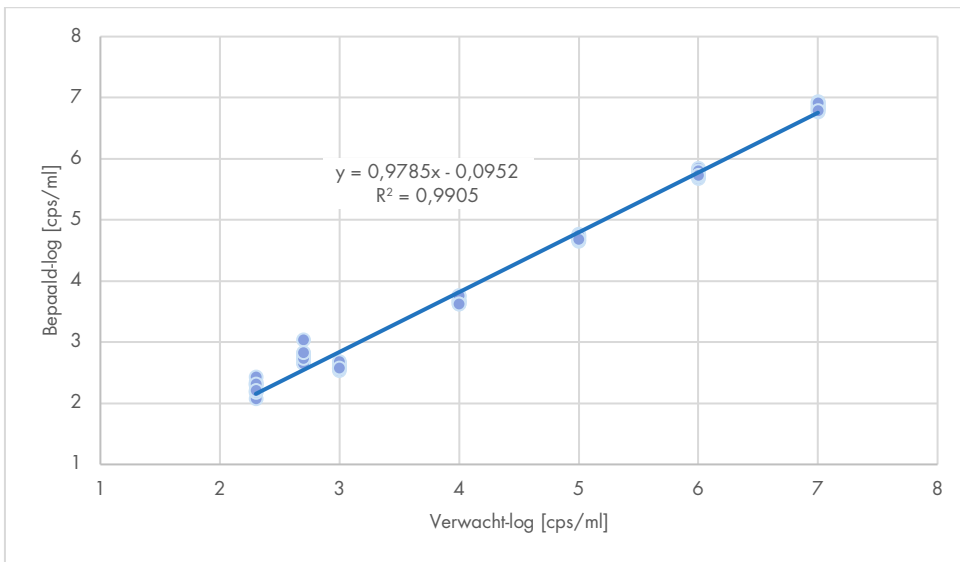
Het lineaire bereik van de EZ1 DSP Virus Kit is geëvalueerd met Adenovirus 5 als een DNA-virus verrijkt tot ontlastingsmonsters. De tests werden uitgevoerd met seriële 10-voudige verdunningen van supernatant van celcultuur in Adenovirus-negatieve ontlasting. Verdunningsreeksen met 5 verschillende virusverdunningen werden getest met elk 10 herhalingen. Virale nucleïne-zuren werden geëxtraheerd uit monsters van 200 µl (1:10 geresuspendeerd in Buffer ASL*) en geëluëerd in 120 µl. Het lineaire bereik van de EZ1 DSP Virus-procedure is bepaald in combinatie met een geschikte qPCR-assay in vergelijking met een op een spinkolom gebaseerde DNA-extractiemethode (Figuur 2).

* QIAGEN GmbH, cat.nr. 190822



Figuur 2. Lineair bereik van virustiter met behulp van het EZ1 DSP Virus-protocol. Getoond worden de resultaten van een geschikt Adenovirus PCR-assay in combinatie met eluaten van de extractie van Adenovirus 5 uit ontlastingmonsters, hetzij met de EZ1 DSP Virus Kit, hetzij met een op een spinkolom gebaseerde DNA-extractiemethode.

Aanvullende gegevens over het lineaire bereik werden verkregen door cytomegalovirus (CMV) als DNA-virus te verrijken in EDTA-plasmamonsters die van 1 donor waren bereid. Verdunningsreeksen met 7 verschillende virusverduningen werden getest met elk 9 herhalingen. Virale nucleïne-zuren werden geëxtraheerd uit monsters van 400 µl en verdund in 60 µl op de EZ1 Advanced XL. Het lineaire bereik is bepaald in combinatie met een geschikt CMV PCR-assay.



Figuur 3. Lineair bereik van virustiter met behulp van het EZ1 DSP Virus-protocol. Weergegeven zijn de resultaten van een geschikt CMV PCR-assay in combinatie met eluaten van de extractie van CMV uit EDTA-plasmamonsters.

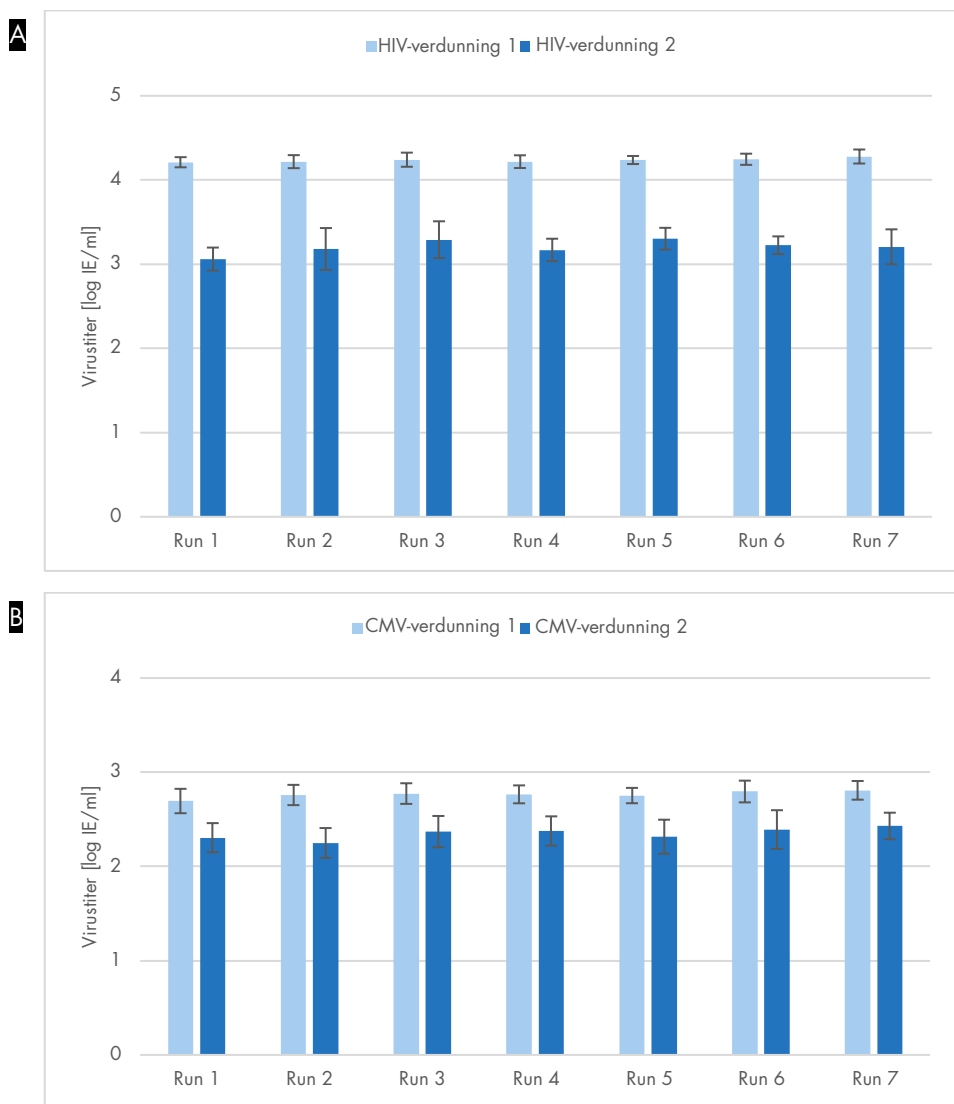
NZ-eluaten gezuiverd uit verschillende monstermaterialen met behulp van het EZ1 DSP Virus-systeem werden geanalyseerd en toonden compatibiliteit met verschillende kwantitatieve real-time PCR (qPCR)-assays.

Invriezen en ontdooien van monsters

Het wordt niet aanbevolen om ontdooide monsters opnieuw in te vriezen of monsters langer dan 6 uur bij 2-8 °C te bewaren, aangezien dit leidt tot veel lagere opbrengsten en kwaliteit van virale nucleïnezuren of bacterieel DNA.

Precisie

De standaardafwijkingen en variatiecoëfficiënten (Coefficients of Variations; CV's) werden bepaald voor HIV-1-, HCV- en CMV-verdunningen in het lineaire bereik van de betreffende vervolggassays. NZ werd geëxtraheerd uit 400 µl plasmamonster verrijkt met het respectieve virusmateriaal was toegevoegd en geëluëerd in 120 µl. In totaal werden 7 zuiveringsruns per virusverdunding uitgevoerd met één operator, op 3 instrumenten en op 3 verschillende dagen. De eluaten werden geanalyseerd met een HIV-geschikte RT-PCR-assay en een CMV PCR-assay. De precisiegegevens binnen één run worden weergegeven als standaardafwijking in Figuur 4.



Figuur 4. Precisie binnen één run met het EZ1 DSP Virus-systeem. Plasma werd verzameld, gegroeped en vóór gebruik bereid met de respectieve virusstiter (A: HIV; B: CMV). NZ werd gezuiverd uit aliquots van 400 µl in 7 runs van elk 14 herhalingen op de EZ1 Advanced XL met behulp van het EZ1 DSP Virus systeem. De gemiddelde virusstiter en de standaardafwijking zijn voor elke run weergegeven.

Er zijn CV's bepaald voor de extractie van NZ uit plasmamonsters. De precisiegegevens zijn vermeld in Tabel 2 en Tabel 3.

Tabel 2. Analyse van precieschattingen - variabiliteit binnen één run (HIV)

Precisie (HIV)	CV (%) (Verdunning 1)	CV (%) (Verdunning 2)
Binnen één run (Run 1)	1,43	4,45
Binnen één run (Run 2)	1,83	7,82
Binnen één run (Run 3)	1,98	6,64
Binnen één run (Run 4)	1,79	4,21
Binnen één run (Run 5)	1,13	3,92
Binnen één run (Run 6)	1,56	3,27
Binnen één run (Run 7)	1,95	6,46

Tabel 3. Analyse van precieschattingen - variabiliteit binnen één run (CMV)

Precisie (CMV)	CV (%) (Verdunning 1)	CV (%) (Verdunning 2)
Binnen één run (Run 1)	4,81	6,71
Binnen één run (Run 2)	3,90	7,03
Binnen één run (Run 3)	3,95	7,01
Binnen één run (Run 4)	3,44	6,54
Binnen één run (Run 5)	2,96	7,81
Binnen één run (Run 6)	4,13	8,60
Binnen één run (Run 7)	3,53	5,79

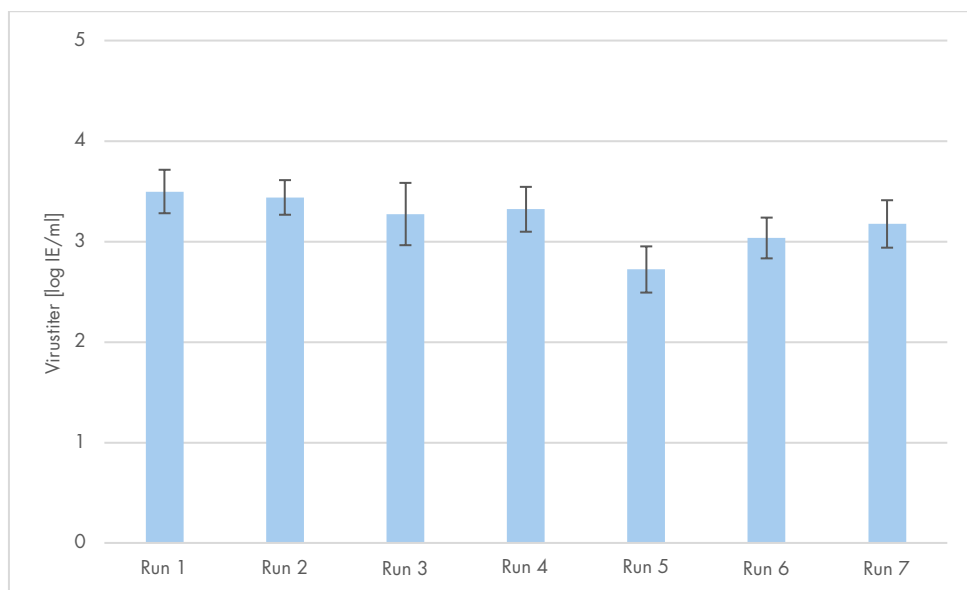
Daarnaast werd de variabiliteit binnen één run bepaald voor beide virusverdunningen (Tabel 4).

Tabel 4. Analyse van precieschattingen - inter-run-variabiliteit (HIV, CMV)

Precisie (CMV)	CV (%) (Verdunning 1)	CV (%) (Verdunning 2)
Inter-run (Run 1-7) HIV	1,72	5,81
Inter-run (Run 1-7) CMV	3,92	7,30

Standaarddeviaties en variatiecoëfficiënten (CV's) voor ontlasting werden bepaald voor Adenovirus 5 met behulp van een Adenovirus-compatibel PCR-assay. Aan Adenovirus-negatieve ontlasting werd Adenovirus 5-cel-supernatant toegevoegd. Viraal DNA werd geëxtraheerd uit 200 µl monsters (1:10 resuspensie in buffer ASL*) en geëluëerd in 120 µl. In totaal werden 7 zuiveringsruns uitgevoerd met één operator, op drie EZ1 Advanced XL-instrumenten, op 3 verschillende dagen en 3 partijcombinaties EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Alle monsters werden geanalyseerd in dezelfde PCR-run. De precisiegegevens binnen één run worden weergegeven als standaardafwijking in Figuur 5.

* QIAGEN GmbH, cat.nr. 19082



Figuur 5. Precisie binnen één run met het EZ1 DSP Virus-systeem. Ontlastingsmonsters werden verzameld, gegroepeerd en voor gebruik geprepareerd met de respectieve virusstiter. NZ werd gezuiverd uit aliquots van 400 µl in 6 runs van elk 2 herhalingen op de EZ1 Advanced XL. De gemiddelde virusstiter en de standaardafwijking zijn voor elke run weergegeven.

De CV's werden bepaald voor de extractie van NZ uit ontlastingsmonsters. De precisiegegevens zijn weergegeven in tabel 5.

Tabel 5. Analyse van precisieschattingen (Adenovirus 5) - variabiliteit binnen één run

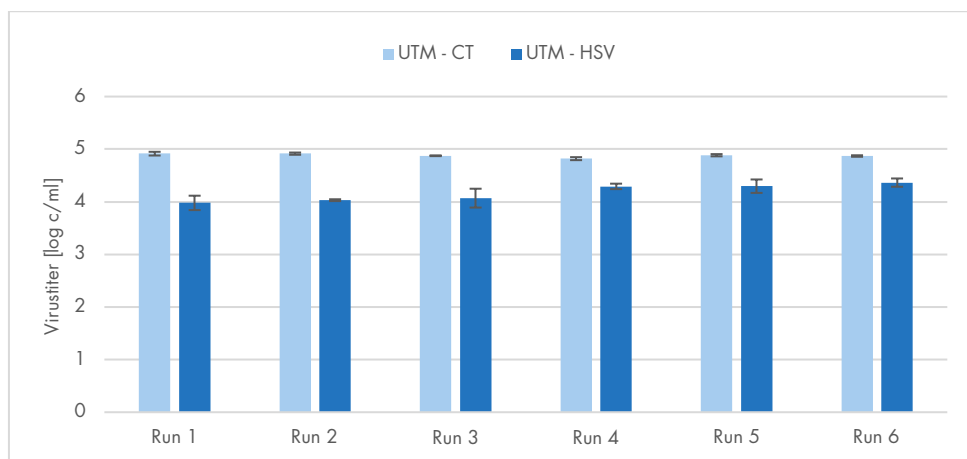
Precisie (CMV)	VC (%)
Binnen één run (Run 1)	6,56
Binnen één run (Run 2)	5,31
Binnen één run (Run 3)	10,05
Binnen één run (Run 4)	7,13
Binnen één run (Run 5)	8,96
Binnen één run (Run 6)	7,09
Binnen één run (Run 7)	7,84

Daarnaast werd de inter-run-variabiliteit bepaald (Tabel 6).

Tabel 6. Analyse van precisieschattingen - inter-run-variabiliteit

Precisie	VC (%)
Inter-run (Run 1-7)	10,54

Standaarddeviaties en CV's voor transportmedia werden bepaald voor HSV-1 en *Chlamydia trachomatis* met behulp van een geschikt HSV1 PCR-assay en een geschikt *C. trachomatis* PCR-assay. Viraal en bacterieel DNA werd geëxtraheerd uit 400 µl UTM en geëluëerd in 60 µl. In totaal werden 6 zuiveringsruns uitgevoerd door één operator, op 3 dagen met 3 partijen EZ1 DSP Virus Kit. Alle monsters werden geanalyseerd in dezelfde PCR-run. De precisiegegevens binnen één run zijn weergegeven als standaardafwijkingen in Figuur 6.



Figuur 6. Precisie binnen één run met het EZ1 DSP Virus-systeem. UTM werd vóór gebruik bereid met de respectieve viruslaster. NZ werd gezuiverd uit aliquots van 400 µl in 6 runs van elk 2 herhalingen op de EZ1 Advanced XL. De gemiddelde viruslaster en de standaardafwijking zijn voor elke run weergegeven.

Er werden CV's bepaald voor de extractie van NZ uit UTM-monsters. De precisiegegevens zijn weergegeven in tabel 7.

Tabel 7. Analyse van precisieschattingen - variabiliteit binnen één run (CT en HSV)

Precisie (CMV)	VC (%) CT	VC (%) HSV
Binnen één run (Run 1)	0,72	3,44
Binnen één run (Run 2)	0,43	0,43
Binnen één run (Run 3)	0,15	4,40
Binnen één run (Run 4)	0,59	1,21
Binnen één run (Run 5)	0,43	2,97
Binnen één run (Run 6)	0,29	1,81

Daarnaast werd de inter-run-variabiliteit bepaald (Tabel 8).

Tabel 8. Analyse van precisieschattingen - inter-run-variabiliteit

Precisie	VC (%) CT	VC (%) HSV
Inter-run (Run 1-6)	0,77	4,25

Monsterinvoer/eluatuutvoer

Het EZ1 DSP Virus-systeem op de EZ1-instrumentfamilie biedt de mogelijkheid om verschillende monsterinvoervolumes (100, 200, of 400 µl) te combineren met verschillende eluatuutvoervolumes (60, 90, 120, of 150 µl). De algemene prestaties van de op de EZ1-serie gebruikte extractieprocedures zijn geverifieerd door gebruik te maken van verschillende mogelijke combinaties van monsterinvoer en eluatuutvoer.

Uit de gegevens van de verschillende onderzoeken is gebleken dat de opbrengst van NZ het hoogst is bij een hoog invoervolume van het monster in combinatie met een hoog uitvoervolume van het eluaat. De concentratie van NZ is het hoogst bij hoge monsterinvoervolumes en lage eluatuutvoervolumes. Afhankelijk van de volledige workflow (monsterbereiding in combinatie met specifieke latere toepassing) kan er een zeer gunstige combinatie zijn van monsterinvoer en elutievolume die kan helpen om bijvoorbeeld de uiteindelijke NZ-opbrengst en -concentratie te optimaliseren of om de mogelijke invloed van residuele interfererende stoffen verder te minimaliseren. Verschillende daaropvolgende toepassingen kunnen, zelfs voor hetzelfde monstermateriaal, verschillende combinaties van monsterinvoer en -uitvoer vereisen. Daarom is het de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de hele workflow binnen zijn specifieke toepassing te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Stabiliteit van het eluaat

De stabiliteit van het eluaat voor de EZ1 DSP Virus Kit werd geëvalueerd met behulp van geëxtraheerd viraal RNA en DNA uit menselijke EDTA-plasmamonsters. Eluaten werden bewaard bij verschillende temperaturen en gedurende verschillende perioden en werden geanalyseerd op stabiliteit met behulp van een gevalideerde intern PCR-assay.

De resultaten toonden stabiliteit van de nucleïnezuren aan tot 24 uur bij opslag bij 2-8 °C, tot 12 weken bij opslag bij -20 °C en tot 12 maanden bij opslag bij -80 °C.

De stabiliteit van nucleïnezuren kan verschillen voor de specifieke verdere toepassing die wordt gebruikt en moet door de gebruiker zelf worden geverifieerd.

Interfererende stoffen

De invloed van exogene interfererende stoffen op het EZ1 DSP Virus-systeem werd geanalyseerd door het testen van gedefinieerde concentraties (3 maal de acute piekconcentratie na medicamenteuze behandeling, zoals aanbevolen in de CLSI-richtlijn EP7-A2) van verschillende stoffen (Tabel 9). Deze werden toegevoegd aan EDTA-plasmamonsters die CMV-positief of CMV-negatief waren, en vergeleken met interferent-negatief plasma. De NZ-eluaten werden geanalyseerd met een geschikt CMV PCR-assay.

Opmerking: de testen werden uitgevoerd met gebruik van typische latere toepassingen, waarbij de kwaliteit van de geëxtraheerde nucleïnezuren werd beoordeeld. Verschillende latere toepassingen kunnen echter verschillende eisen met betrekking tot zuiverheid hebben (d.w.z. afwezigheid van potentieel interfererende stoffen), zodat het bepalen en testen van relevante stoffen ook plaats moet vinden als onderdeel van de ontwikkeling van latere stoffen voor elke workflow waarvoor de EZ1 DSP Virus Kit gebruikt wordt.

Tabel 9. Testconcentraties van potentiële interfererende stoffen in EDTA-plasma

Interfererende stoffen	Uiteindelijke testconcentratie
Sulfamethoxazol	200 mg/l
Trimethoprim	5,2 mg/l
Claforan (Cefotaxime)	1 g/l
Tazobac (Piperacilline + Tazobactam)	Piperacilline: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcilline	1 g/l
Augmentin (Amoxicilline + Clavulaanzuur)	Amoxicilline: 125 mg/l Clavulaanzuur: 25 mg/l
Vancomycine	125 mg/l
Fluconazol	1 mg/l
Rapamycine	100 mg/l
Mycofenolaatnatrium	80 mg/l

Alle geteste concentraties van interfererende stoffen vertoonden geen significante invloed op de prestaties van het CMV PCR-assay in combinatie met het EZ1 DSP Virus-systeem met betrekking tot specificiteit, gevoeligheid en betrouwbare kwantificering.

Aanvullende tests van exogene interfererende stoffen met het EZ1 DSP Virus-systeem werden uitgevoerd door bepaalde concentraties van verschillende stoffen (Tabel 10) te verrijken in nasofaryngeale uitstrijkjes die in UTM waren verzameld. Aan het monstermateriaal werden influenza A- en influenza B-stammen toegevoegd en de NZ-eluaten werden geanalyseerd met een geschikt influenza A/B RT-PCR-assay.

Tabel 10. Testconcentraties van mogelijke interfererende stoffen die worden toegevoegd aan nasofaryngeale uitstrijkjes verzameld in UTM

Interfererende stoffen	Uiteindelijke testconcentratie
Menselijk bloed	5% vol.
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl met conserveermiddelen	10% vol./vol. van monster
Fenylefrine	10% vol./vol. van monster
Oxymetazoline	10% vol./vol. van monster
Budesonide	40 µg/ml
Fluticasonpropionaat	2,5% vol./vol. van monster
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Zwavel	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Beclomethasondipropionaat	61,73 µg/ml
Flunisolide	25 µg/ml
Triamcinolone acetonide	27,5 µg/ml
Guaifenesine	1,33 mg/ml
Diphenhydramine hydrochloride	0,5 mg/ml
Dextromethorphydrobromide	1 mg/ml
Pseudo-efedrinehydrochloride	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
Dexamethason	1,53 µmol/l

Alle geteste interfererende stofconcentraties vertoonden geen significante invloed op de prestaties van het Infl A/B RT-PCR-assay in combinatie met het EZ1 DSP Virus-systeem.

Kruisbesmetting

Het risico van kruisbesmetting van het EZ1 DSP Virus-systeem werd geanalyseerd door 9 runs op de EZ1 Advanced uit te voeren met afwisselende dambordpatronen. Om carry-over van monster naar monster te detecteren werden de runs uitgevoerd met ParvoB19/CMV-positieve plasmamonsters en ParvoB19/CMV-negatieve plasmamonsters in afwisselende posities. Elke derde run werd uitgevoerd met alleen negatieve plasmamonsters. Alle eluaten werden getest met een geschikt CMV PCR-assay en een geschikt Parvo B19 PCR-assay.

Alle ParvoB19/CMV-positieve monsters testten positief in de PCR en alle ParvoB19/CMV-negatieve monsters testten negatief. Er werd geen kruisbesmetting gedetecteerd door carry-over van monster op monster of run op run.

Prestatiekenmerken van EZ2 Connect MDx

De prestatiekenmerken van de EZ2 Connect MDx zijn vastgesteld in gelijkwaardigheidsstudies met de EZ1 Advanced XL met behulp van de EZ1 DSP Virus Kit. Kit-gerelateerde prestatiekenmerken zoals eluatastabiliteit of basisprestaties zijn geldig voor alle in de gebruiksaanwijzing van de EZ1 DSP Virus Kit vermelde instrumentsystemen, aangezien de kit als onderdeel van het systeem niet verandert voor de verschillende geautomatiseerde platforms.

Opmerking: De prestatiekenmerken zijn sterk afhankelijk van verschillende factoren, en houden verband met de specifieke latere toepassing. De prestaties zijn vastgesteld voor de EZ1 DSP Virus Kit in combinatie met typische latere toepassingen. Methoden voor het isoleren van nucleïnezuren uit biologische specimens worden gebruikt als een front-end voor meerdere latere toepassingen. Daarom moeten prestatieparameters zoals de invloed van interfererende exogene stoffen, kruisbesmetting of runprecisie bepaald worden voor dergelijke workflows als onderdeel van de ontwikkeling van latere toepassingen. Het is dan ook de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Basiswerking en compatibiliteit met verschillende latere toepassingen

Gegevens over de basisprestaties die met de EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced of BioRobot EZ1 zijn gegenereerd, zijn ook van toepassing op het EZ2 Connect MDx-instrument (zie pagina 2). De samenstelling van het monster en de kit zijn identiek voor de instrumentsystemen voor gebruik met de EZ1 DSP DNA Blood Kit. Bovendien is de gelijkwaardigheid van de op het EZ2 Connect MDx systeem gebruikte extractieprocedures getest om gelijke of verbeterde basisprestaties van het systeem aan te tonen. Tijdens de gelijkwaardigheidstests werd ook de compatibiliteit met verschillende latere toepassingen (waaronder qPCR) bevestigd.

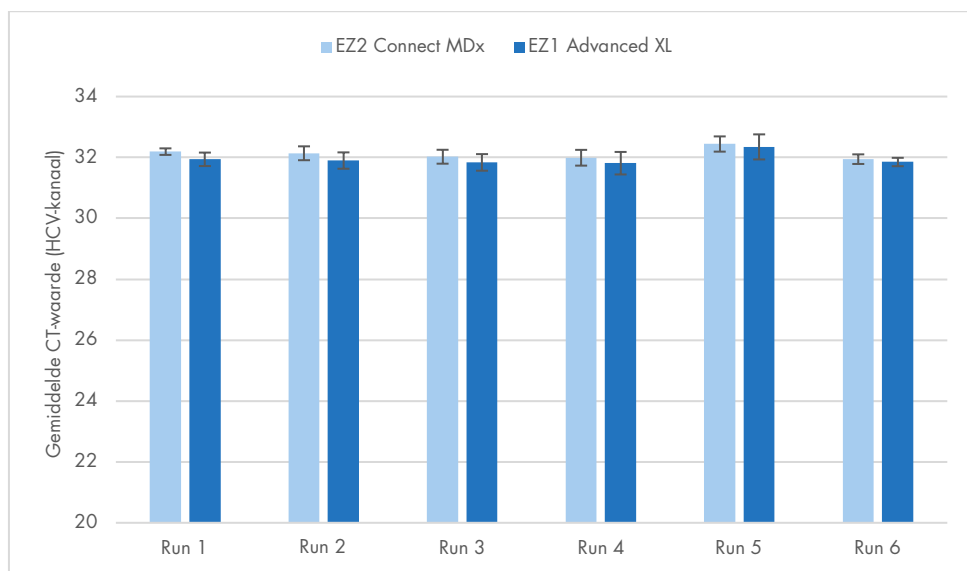
Aangezien echter alleen typische latere toepassingsmethoden zijn gebruikt, is het de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de hele workflow binnen zijn specifieke toepassing te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Invriezen en ontdooien van monsters

Het wordt niet aanbevolen om ontdooide monsters opnieuw in te vriezen of monsters langer dan 6 uur bij 2-8 °C te bewaren, aangezien dit leidt tot veel lagere opbrengsten en kwaliteit van virale nucleïnezuren of bacterieel DNA.

Precisie

NZ werd geëxtraheerd uit 200 µl plasmamonster waaraan HCV was toegevoegd tot een concentratie van 1E+04 IE/ml en geëluëerd in 150 µl. In totaal werden 12 zuiveringsruns uitgevoerd met drie verschillende operators, op drie verschillende apparaten (per instrumenttype) en op drie verschillende dagen. De precisiegegevens binnen één run worden weergegeven als standaardafwijkingen van de CT-waarden (Figuur 7).



Figuur 7. Gemiddelde CT-waarden van alle runs met een HCV RT-PCR-assay. Plasma werd verzameld, gegroepeerd en vóór gebruik bereid met de respectieve virustiter. NZ werd gezuiverd uit 200 µl aliquots in 6 runs van elk 12 herhalingen op de EZ1 Advanced XL en de EZ2 Connect MDx met behulp van het EZ1 DSP Virus-systeem. De gemiddelde CT-waarden en standaardafwijkingen worden voor elke run weergegeven.

Er zijn CV's bepaald voor de extractie van NZ uit plasma. De precisiegegevens zijn weergegeven in tabel 11.

Tabel 11. Analyse van precisieschattingen - variabiliteit binnen één run

Precisie	VC (%) (EZ2 Connect MDx)	VC (%) (EZ1 Advanced XL)
Binnen één run (Run 1)	0,33	0,69
Binnen één run (Run 2)	0,71	0,84
Binnen één run (Run 3)	0,71	0,86
Binnen één run (Run 4)	0,81	1,16
Binnen één run (Run 5)	0,77	1,27
Binnen één run (Run 6)	0,49	0,43

De variabiliteit binnen één run voor het EZ2 Connect MDx-instrument werd gelijkgesteld aan de variabiliteit binnen één run op het EZ1 Advanced XL-instrument bij gebruik van de EZ1 DSP Virus Kit in gelijkwaardigheidstests.

Bovendien werd de inter-run-variabiliteit bepaald voor het EZ2 Connect MDx-instrument (Tabel 12).

Tabel 12. Analyse van precisieschattingen - inter-run-variabiliteit

Precisie	VC (%) (EZ2 Connect MDx)	VC (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-run (Run 1-6)	0,82	1,06

Uit de statistische analyse bleek dat de EZ2 Connect MDx even goed presteert als het EZ1 Advanced XL-instrument.

Monsterinvoer/eluaatuitvoer

Het EZ1 DSP Virus-systeem op de EZ2 Connect MDx biedt de mogelijkheid om verschillende monsterinvoervolumes (100, 200 of 400 µl) te combineren met verschillende eluaatuitvoervolumes (60, 90, 120 of 150 µl). Uit algemene prestatietests van de op het EZ2 Connect MDx-systeem gebruikte extractieprocedures bleek dat het systeem even goed presteert als de EZ1 Advanced XL.

Afhankelijk van de volledige workflow (monsterbereiding in combinatie met specifieke latere toepassing) kan er een zeer gunstige combinatie zijn van monsterinvoer en elutievolume die kan helpen om bijvoorbeeld de uiteindelijke NZ-opbrengst en -concentratie te optimaliseren of om de mogelijke invloed van residuele interfererende stoffen verder te minimaliseren. Verschillende daaropvolgende toepassingen kunnen, zelfs voor hetzelfde monstermateriaal, verschillende combinaties van monsterinvoer en -uitvoer vereisen. Daarom is het de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow binnen zijn specifieke toepassing te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Gevoeligheid

Met behulp van plasmamonsters waaraan een HBV-concentratie was toegevoegd die dicht bij de detectielimiet lag (ongeveer 18 IE/ml), werden 18 zuiveringsruns op de EZ2 Connect MDx en EZ1 Advanced XL uitgevoerd door één operator op drie verschillende apparaten (per instrumenttype) op 3 dagen met 400 µl monsterinvoer en 90 µl elutievolume. Alle eluaten werden onderworpen aan een kwalitatieve analyse met een geschikt HBV PCR-assay, om vast te stellen of het doel al dan niet kan worden gedetecteerd. Aangezien zij dicht bij de detectielimiet liggen, wordt niet verwacht dat alle replicaten positief zijn. Wel kon worden bevestigd dat het aantal positieve replicaten statistisch gelijkwaardig is.

Tabel 13. Samenvatting van de resultaten van de gevoeligheidstests van alle EZ2 Connect MDx-runs

EZ2 Connect MDx - Hits van positieve HBV-monsters									
Aantal hits	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% hits	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabel 14. Samenvatting van de resultaten van gevoeligheidstests van alle EZ1 Advanced XL-runs

EZ1 Advanced XL - Hits van positieve HBV-monsters									
Aantal hits	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% hits	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabel 15. Overzicht gevoeligheid met Fisher's Exact Test-resultaten

Correcte resultaten EZ2	Correcte resultaten EZ1	Fisher's Exact Test P waarde (2-staart)
91,55%	94,44%	0,532

Uit de statistische analyse bleek dat de EZ2 Connect MDx even goed presteert als het EZ1 Advanced XL-instrument.

Stabiliteit van het eluaat

Eluaatstabiliteitsgegevens die zijn gegenereerd met de EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced of BioRobot EZ1 zijn ook van toepassing op het EZ2 Connect MDx-instrument (zie pagina 2). De samenstelling van het monster en de kit zijn identiek voor de instrumentsystemen voor gebruik met de EZ1 DSP Virus Kit. Bovendien is de gelijkwaardigheid van de op het EZ2 Connect MDx-systeem gebruikte extractieprocedures getest om gelijke prestaties van het systeem aan te tonen. De instructies voor de behandeling van het eluaat gelden voor alle geautomatiseerde systemen voor gebruik met de kit.

Het is echter de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow in hun specifieke toepassing te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.

Interfererende stoffen

De invloed van interfererende stoffen werd bepaald met de EZ1 Advanced XL. Deze gegevens gelden ook voor het EZ2 Connect MDx-instrument (zie pagina 12). De samenstelling van het monster en de kit zijn identiek voor de instrumentsystemen voor gebruik met de EZ1 DSP Virus Kit. De volumes van monsterinvoer en eluaatuitvoer zijn identiek, zodat geen invloed op het type of de concentratie van interfererende stoffen in de eluaten wordt verwacht. Bovendien is de gelijkwaardigheid van de op het EZ2 Connect MDx-systeem gebruikte extractieprocedures getest om gelijke prestaties van het systeem aan te tonen. De instructies voor de behandeling van monsters en eluaten gelden voor alle geautomatiseerde systemen die met de kit worden gebruikt.

Het is echter de verantwoordelijkheid van de gebruiker om de gehele workflow in hun specifieke toepassing te valideren om de juiste prestatieparameters vast te stellen.






Kruisbesmetting

Het risico van kruisbesmetting van de EZ1 DSP Virus Kit gebruikt op de EZ2 Connect MDx werd geanalyseerd door tien runs (400 µl input, 60 µl elutie) uit te voeren met afwisselende dambordpatronen op 2 dagen door één operator. Om carry-over van monster naar monster te detecteren, werden de runs uitgevoerd met positieve (met HBV verrijkte) en negatieve (niet verrijkte) plasmamonsters op afwisselende posities. Elke tweede run werd uitgevoerd met alleen HBV-negatieve plasmamonsters. Alle eluaten werden geanalyseerd met een geschikt HBV PCR-assay.

Alle HBV-positieve monsters testten positief in de PCR en alle HBV-negatieve plasmamonsters testten negatief. Er werd geen kruisbesmetting gedetecteerd door carry-over van monster op monster of run op run.

Symbolen

Dit document bevat de volgende symbolen. Raadpleeg de handleiding voor een volledige lijst met symbolen die worden gebruikt in de gebruiksaanwijzing, op de verpakking of op de labels.

Symbol	Symboldefinitie
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Fabrikant
	Belangrijke opmerking

Revisiegeschiedenis

Revisie	Beschrijving
R1, juni 2022	<p>Versie 5, revisie 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aanmaak van document voor nieuwe kitversie. Gegevens voor EZ2 Connect MDx toegevoegd• Verwijdering van monstermateriaal volbloed, urine, gedroogde swabs, sputum uit beoogd gebruik

Raadpleeg de handleiding of gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Gedeponeerde namen, handelsmerken enz. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.
06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

