

EZ1[®] DSP Virus Kit

Návod k použití (Charakteristika funkčních vlastností)

Verze 5



Pro diagnostické použití in vitro
Pro použití se sadou EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Německo

R1

Charakteristika funkčních vlastností je k dispozici v elektronické podobě a naleznete ji na kartě zdrojů na stránce produktu na adrese www.qiagen.com.

Obecný úvod

Sada EZ1 DSP Virus Kit je určena k purifikaci virových nukleových kyselin a bakteriální DNA z plazmy, séra, mozkomíšního moku, stolice nasofaryngeálních tampónů odebraných do přepravního média Universal Transport Medium™ (UTM®). Technologie magnetických částic poskytuje vysoce kvalitní nukleové kyseliny (NA), které jsou vhodné pro přímé použití v navazujících aplikacích, jako je amplifikace PCR a qPCR. Přístroje EZ1 a EZ2® Connect MDx provádějí v jediném cyklu všechny kroky postupu přípravy vzorku až pro 6 vzorků (pomocí zařízení EZ1 Advanced nebo BioRobot® EZ1 DSP, ani jeden se již nevyrábí), až pro 14 vzorků (pomocí zařízení EZ1 Advanced XL) nebo až pro 24 vzorků (pomocí zařízení EZ2 Connect MDx).

Vstupní objem vzorku lze zvolit 100, 200 nebo 400 µl a eluční objem NA lze zvolit 60, 90, 120 nebo 150 µl.

Funkční vlastnosti sady EZ1 DSP Virus Kit byly stanoveny ve studiích hodnotících funkční vlastnosti pomocí plazmy, séra, mozkomíšního moku, stolice a nasofaryngeálních tampónů odebraných do UTM pro izolaci virových NA a bakteriální DNA. Účinnost sady však není pro každý druh viru nebo bakterie garantována a musí být validována. Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkčních vlastností systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích hodnotících funkční vlastnosti výrobků QIAGEN®.

Charakteristika funkčních vlastností přístrojů EZ1

Poznámka: Charakteristika funkčních vlastností do značné míry závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní navazující aplikací. Funkční vlastnosti sady EZ1 DSP Virus Kit byly stanoveny ve spojení s exemplárními aplikacemi. Metody izolace nukleových kyselin z biologického vzorku se však používají jako předstupeň pro více navazujících aplikací. Proto je třeba pro každý takový pracovní postup v rámci vývoje navazující aplikace stanovit parametry funkčních vlastností, jako je vliv exogenních interferujících látek, křížová kontaminace nebo přesnost cyklu. Proto je povinností uživatele validovat celý pracovní postup a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

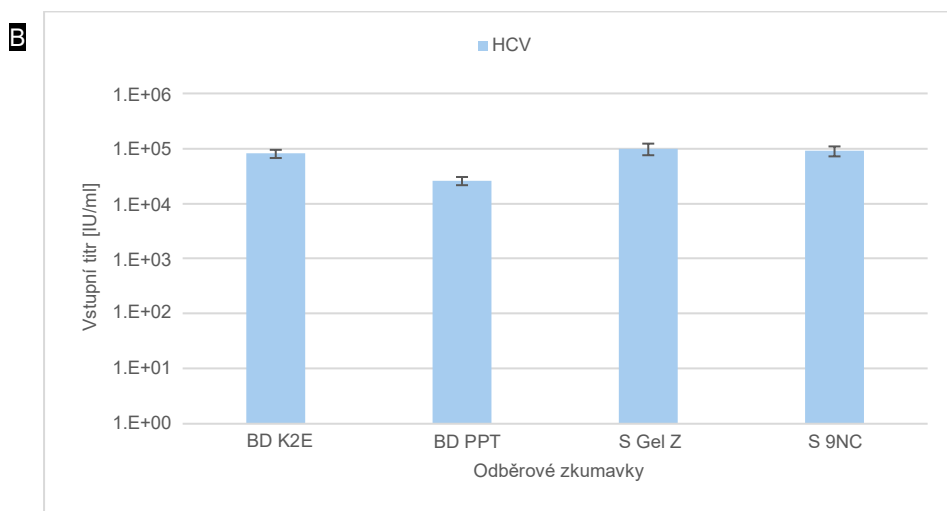
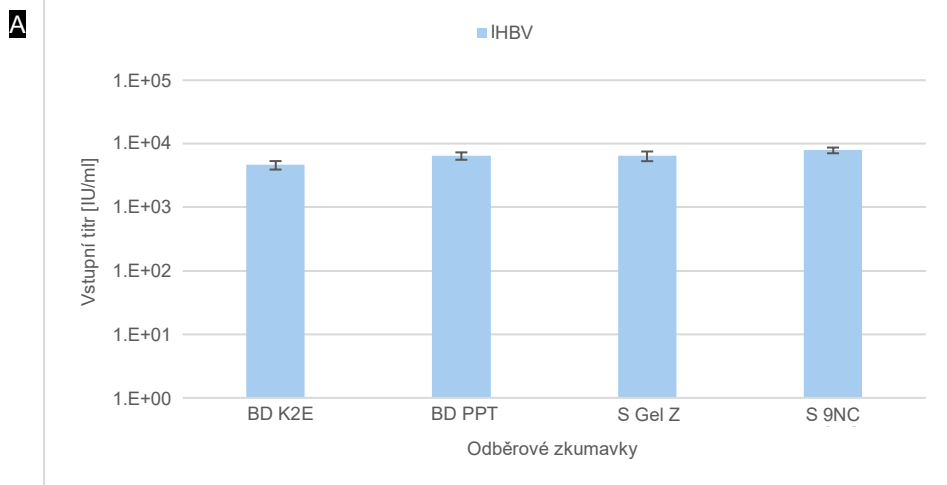
Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými navazujícími aplikacemi

K odběru vzorků krve pro postup EZ1 DSP Virus je možné použít různé odběrové zkumavky a antikoagulační přípravky. Základní funkční vlastnosti sady EZ1 DSP Virus Kit byly hodnoceny s použitím 6 jednotlivých dárců pro extrakci virových NA ze 4 různých zkumavek pro odběr krve. Tabulka 1 uvádí přehled zkumavek pro odběr vzorků, které byly použity pro hodnocení systému. Po přípravě plazmy nebo séra byly vzorky obohaceny speciálním titrem viru hepatitidy C (HCV) nebo hepatitidy B (HBV). Pomocí vhodných systémů qPCR byl u každého vzorku stanoven titr viru. Průměrné titry viru při použití různých odběrových zkumavek jsou uvedeny na Obrázku 1.

Tabulka 1. Zkumavky pro odběr krve testované se systémem EZ1 DSP Virus

Odběrová zkumavka	Výrobce	Kat. č.*	Konzervační látka/antikoagulant
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gel – plazma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – plazma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Citrát sodný – plazma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – sérum

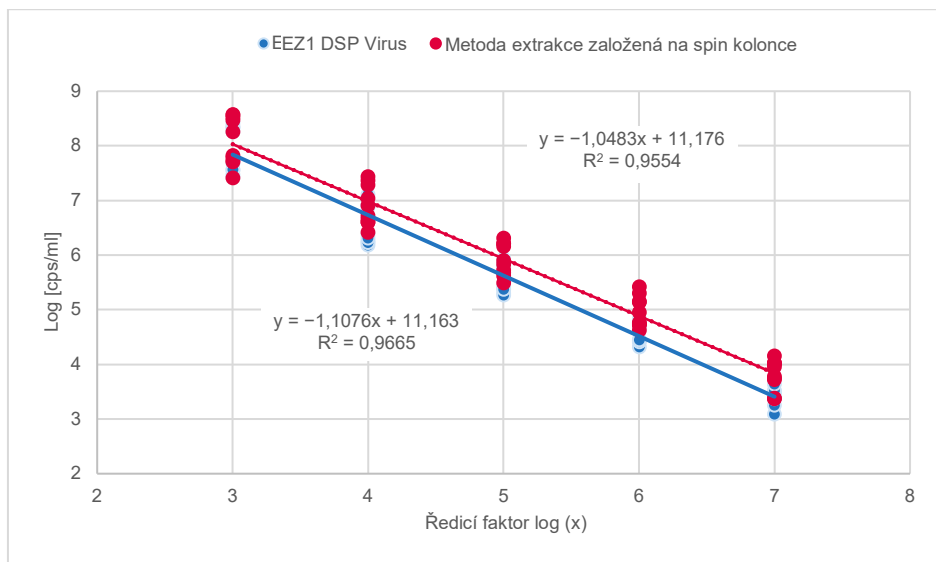
* Katalogová čísla se mohou měnit. Ověřte si je prosím u výrobce nebo dodavatele.



Obrázek 1. Základní funkční vlastnosti při použití různých odběrových zkumavek a antikoagulačních přípravků. Vzorky krve byly odebrány od 6 zdravých dárců do různých typů zkumavek a byla připravena buď plazma nebo sérum pomocí 10 replikátů na každou zkumavku dárce. Použité zkumavky jsou uvedeny v tabulce 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** Virová DNA byla purifikována ze vzorků o objemu 200 μ l s elucí v 90 μ l. **B:** Virová RNA byla purifikována ze vzorků o objemu 200 μ l s elucí v 90 μ l. Výtěžky NA od každého dárce a u každé zkumavky byly stanoveny analýzou qPCR. Sloupce ukazují průměrné výstupy titru viru se směrodatnou odchylkou.

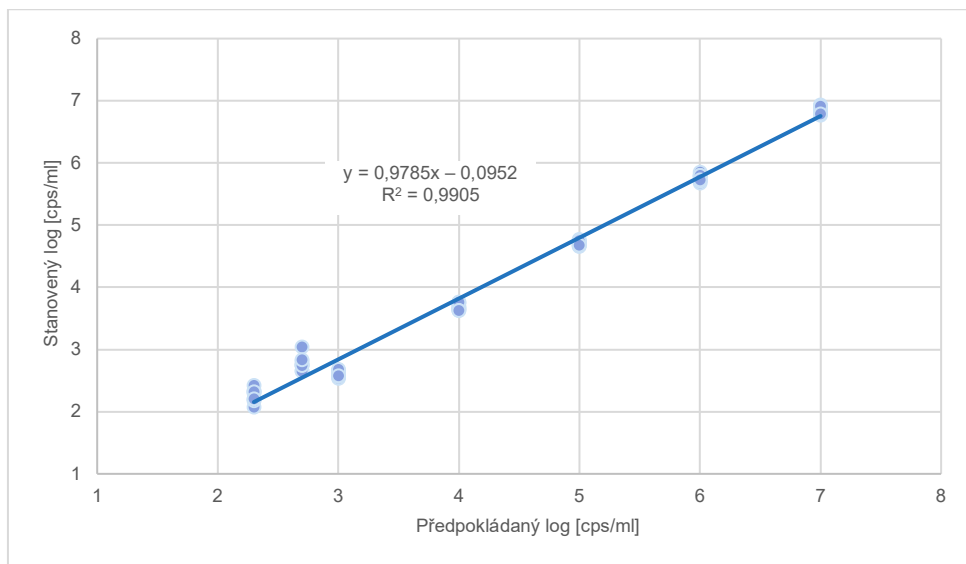
Lineární oblast kvantifikace pro sadu EZ1 DSP Virus Kit byla hodnocena pomocí adenoviru 5 jako DNA viru přidaného do alikvotů stolice. Testy byly provedeny se sériovým 10násobným ředěním supernatantu buněčné kultury ve stolici negativní na adenovir. Testovány byly řady ředění s 5 různými ředěními viru, přičemž v každém bylo 10 replikátů. Virové nukleové kyseliny byly extrahovány z 200 μ l vzorků (resuspendovaných 1 : 10 v Buffer ASL*) a eluovány ve 120 μ l. Lineární rozsah postupu EZ1 DSP Virus byl stanoven v kombinaci s vhodnou analýzou qPCR ve srovnání s metodou extrakce DNA založené na spin kolonce. (obrázek 2).

* QIAGEN GmbH, kat. č. 190822



Obrázek 2. Lineární oblast kvantifikace virového titru při použití protokolu EZ1 DSP Virus. Zobrazeny jsou výsledky vhodné analýzy PCR na adenoviry v kombinaci s eluáty z extrakce adenoviru z 5 alikvotů stolice, a to buď pomocí sady EZ1 DSP Virus Kit, nebo metodou extrakce DNA založené na spin kolonce.

Další údaje o lineárním rozsahu byly získány doplněním cytomegaloviru (CMV) jako DNA viru do vzorků plazmy EDTA připravených od 1 dárce. Testovány byly řady ředění s 7 různými ředěními viru, přičemž v každém bylo 9 replikátů. Virové nukleové kyseliny byly extrahovány ze 400 µl alikvotů a eluovány v 60 µl na přístroji EZ1 Advanced XL. Lineární rozsah byl stanoven v kombinaci s vhodnou analýzou CMV PCR.



Obrázek 3. Lineární oblast kvantifikace virového titru při použití protokolu EZ1 DSP Virus. Zobrazeny jsou výsledky vhodné analýzy CMV PCR v kombinaci s eluáty z extrakce CMV ze vzorků plazmy EDTA.

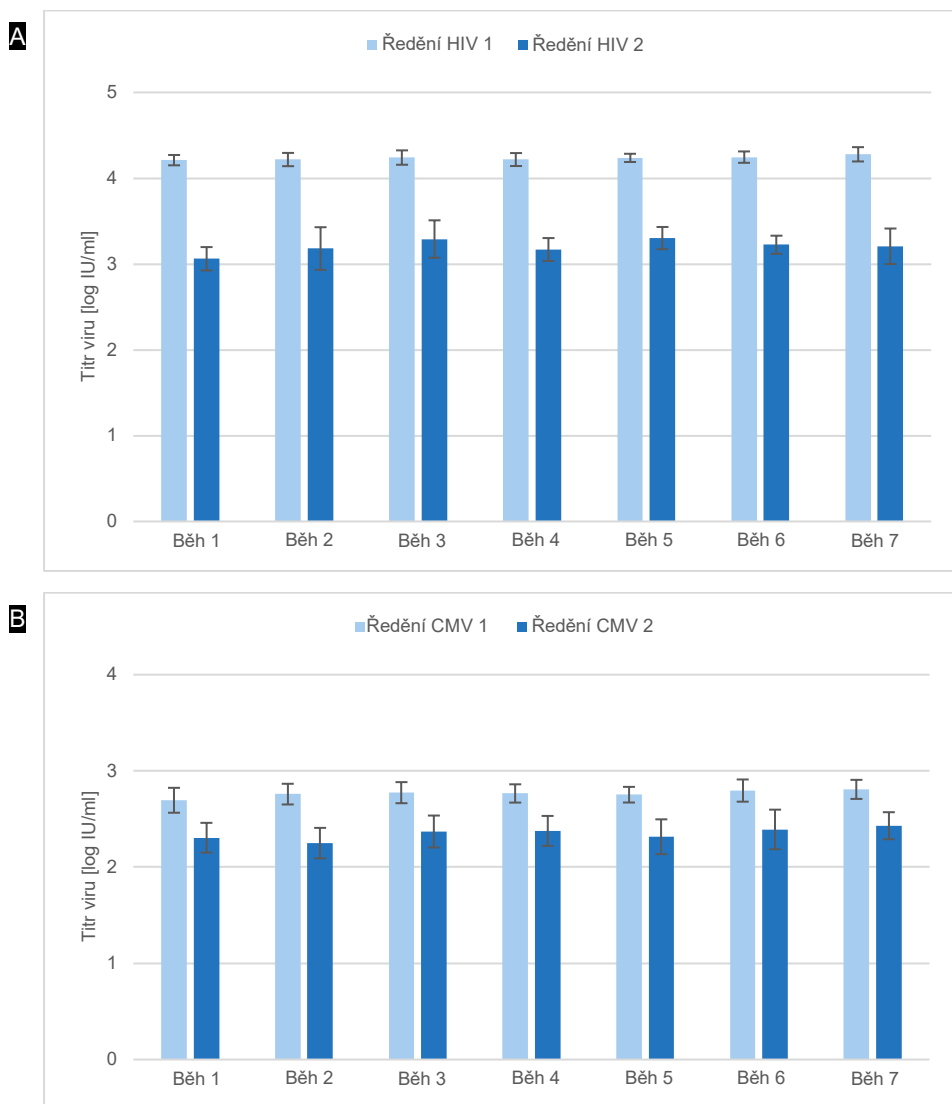
Byly analyzovány eluáty NA purifikované z různých vzorků pomocí systému EZ1 DSP Virus a byla prokázána kompatibilita s různými kvantitativními analýzami real-time PCR (qPCR).

Zmrazování a rozmrazování vzorků

Rozmrazené vzorky se nedoporučuje znovu zmrazovat, ani je uchovávat déle než 6 hodin při teplotě 2–8 °C. Způsobuje to významně nižší výtěžky a kvalita virových nukleových kyselin nebo bakteriální DNA.

Přesnost

Směrodatné odchylky a VK byly stanoveny pro ředění HIV-1 a CMV v lineární oblasti kvantifikace příslušných následných analýz. NA byla extrahována ze 400 µl vzorku plazmy s příměsí příslušného virového materiálu a eluována ve 120 µl. Celkem bylo provedeno 7 purifikačních cyklů pro každé ředění viru s jedním operátorem, na 3 přístrojích a ve 3 různých dnech. Eluáty byly analyzovány pomocí analýzy RT-PCR vhodného pro HIV a analýzy CMV PCR. Údaje o přesnosti v rámci cyklu jsou uvedeny jako směrodatná odchylka na obrázku 4.



Obrázek 4. Přesnost v rámci cyklu pomocí systému EZ1 DSP Virus. Plazma byla před použitím odebrána, sdužena a připravena s příslušným titrem viru (**A**: HIV; **B**: CMV). NA byla purifikována ze 400 µl alikvotů v 7 cyklech po 14 replikátech na přístroji EZ1 Advanced XL pomocí systému EZ1 DSP Virus. Pro každý cyklus je uveden střední titr viru a směrodatná odchylka.

VK byly stanoveny pro extrakci NA ze vzorků plazmy. Údaje o přesnosti jsou uvedeny v tabulce 2 a v tabulce 3.

Tabulka 2. Analýza odhadů přesnosti - variabilita v rámci cyklu (HIV)

Přesnost (HIV)	VK (%) (ředění 1)	VK (%) (ředění 2)
V rámci cyklu (cyklus 1)	1,43	4,45
V rámci cyklu (cyklus 2)	1,83	7,82
V rámci cyklu (cyklus 3)	1,98	6,64
V rámci cyklu (cyklus 4)	1,79	4,21
V rámci cyklu (cyklus 5)	1,13	3,92
V rámci cyklu (cyklus 6)	1,56	3,27
V rámci cyklu (cyklus 7)	1,95	6,46

Tabulka 3. Analýza odhadů přesnosti - variabilita v rámci cyklu (CMV)

Přesnost (CMV)	VK (%) (ředění 1)	VK (%) (ředění 2)
V rámci cyklu (cyklus 1)	4,81	6,71
V rámci cyklu (cyklus 2)	3,90	7,03
V rámci cyklu (cyklus 3)	3,95	7,01
V rámci cyklu (cyklus 4)	3,44	6,54
V rámci cyklu (cyklus 5)	2,96	7,81
V rámci cyklu (cyklus 6)	4,13	8,60
V rámci cyklu (cyklus 7)	3,53	5,79

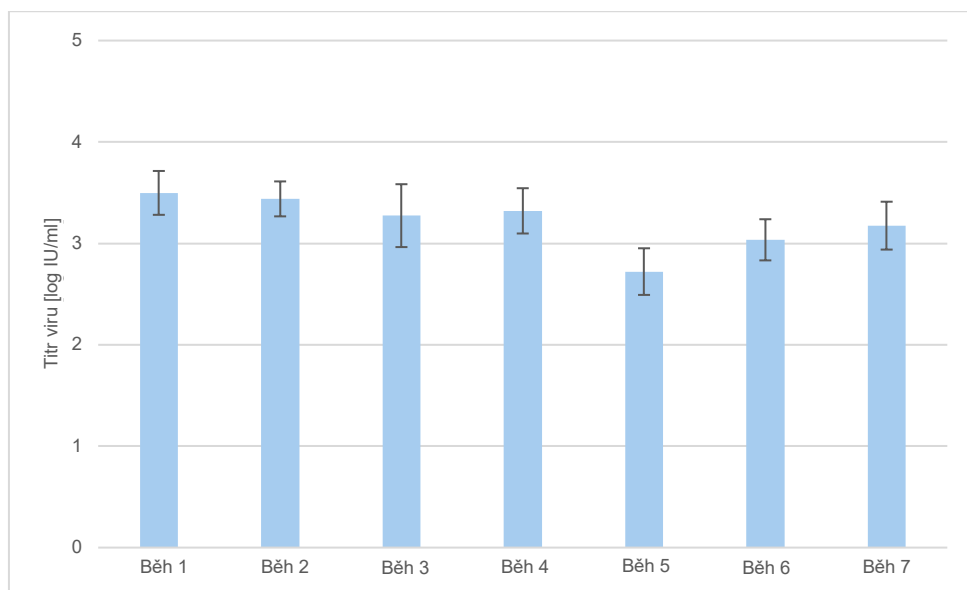
Kromě toho byla pro obě ředění viru stanovena variabilita mezi cykly (tabulka 4).

Tabulka 4. Analýza odhadů přesnosti - variabilita mezi cykly (HIV, CMV)

Přesnost (CMV)	VK (%) (ředění 1)	VK (%) (ředění 2)
Mezi cykly (cyklus 1–7) HIV	1,72	5,81
Mezi cykly (cyklus 1–7) CMV	3,92	7,30

Směrodatné odchylky a variační koeficienty (VK) pro stolici byly pro adenovirus 5 stanoveny pomocí analýzy PCR kompatibilního s adenovirem. Stolice negativní na adenovirus byla doplněna o supernatant buněčné kultury Adenovirus 5. Virová DNA byla extrahována z 200µl vzorků (resuspendovaných 1 : 10 v Bufferu ASL*) a eluována ve 120 µl. Celkem bylo provedeno 7 purifikačních cyklů s jedním operátorem, na třech přístrojích EZ1 Advanced XL, ve 3 různých dnech a 3 kombinacích šarží EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Všechny vzorky byly analyzovány ve stejném cyklu PCR. Údaje o přesnosti v rámci cyklu jsou uvedeny jako směrodatná odchylka na obrázku 5.

* QIAGEN GmbH, kat. č. 19082



Obrázek 5. Přesnost v rámci cyklu pomocí systému EZ1 DSP Virus. Alikvoty stolice byly před použitím odebrány, sdruženy a připraveny s příslušným titrem viru. NA byla purifikována ze 200 μ l alikvotů v 7 cyklech po 9/10 replikátech na přístroji EZ1 Advanced XL. Pro každý cyklus je uveden střední titř viru a směrodatná odchylka.

Pro extrakci NA z alikvotů stolice byly stanoveny VK. Údaje o přesnosti jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5. Analýza odhadů přesnosti (Adenovirus 5) - variabilita v rámci cyklu

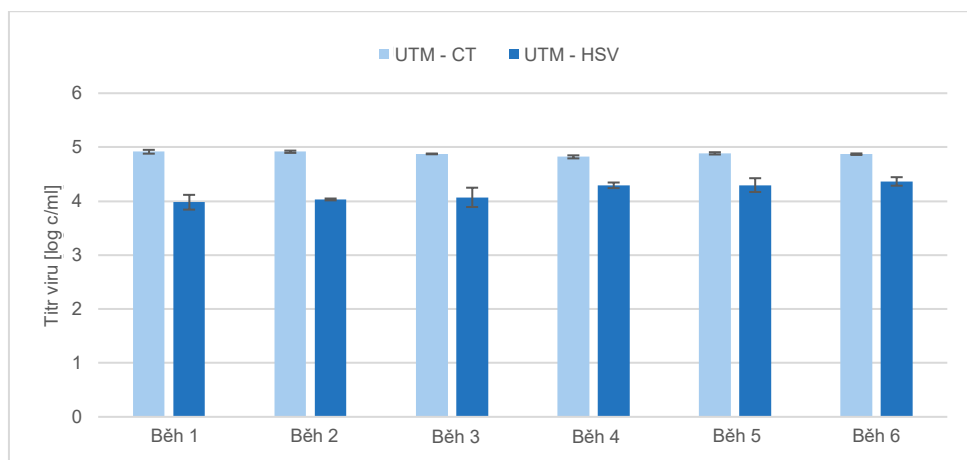
Přesnost (CMV)	VK (%)
V rámci cyklu (cyklus 1)	6,56
V rámci cyklu (cyklus 2)	5,31
V rámci cyklu (cyklus 3)	10,05
V rámci cyklu (cyklus 4)	7,13
V rámci cyklu (cyklus 5)	8,96
V rámci cyklu (cyklus 6)	7,09
V rámci cyklu (cyklus 7)	7,84

Kromě toho byla stanovena variabilita mezi cykly (tabulka 6).

Tabulka 6. Analýza odhadů přesnosti - variabilita mezi cykly

Přesnost	VK (%)
Mezi cykly (cyklus 1–7)	10,54

Směrodatné odchylky a VK pro přepravní médium byly stanoveny na HSV-1 a *Chlamydia trachomatis* pomocí vhodné HSV1 PCR a vhodné analýzy *C. trachomatis* PCR. Virová a bakteriální DNA byla extrahována ze 400 μ l UTM a eluována v 60 μ l. Celkem bylo provedeno 6 purifikačních cyklů od jednoho operátora, ve 3 dnech a se 3 šaržemi EZ1 DSP Virus Kit. Všechny vzorky byly analyzovány ve stejném cyklu PCR. Údaje o přesnosti v rámci cyklu jsou uvedeny jako směrodatné odchylky na obrázku 6.



Obrázek 6. Přesnost v rámci cyklu pomocí systému EZ1 DSP Virus. UTM byla před použitím připravena s příslušným titrem viru. NA byla purifikována ze 400 µl alikvotů v 6 cyklech po 2 replikátech na přístroji EZ1 Advanced XL. Pro každý cyklus je uveden střední titer viru a směrodatná odchylka.

VK byly stanoveny pro extrakci NA ze vzorků UTM. Údaje o přesnosti jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7. Analýza odhadů přesnosti - variabilita v rámci cyklu (CT a HSV)

Přesnost (CMV)	VK (%) CT	VK (%) HSV
V rámci cyklu (cyklus 1)	0,72	3,44
V rámci cyklu (cyklus 2)	0,43	0,43
V rámci cyklu (cyklus 3)	0,15	4,40
V rámci cyklu (cyklus 4)	0,59	1,21
V rámci cyklu (cyklus 5)	0,43	2,97
V rámci cyklu (cyklus 6)	0,29	1,81

Kromě toho byla stanovena variabilita mezi cykly (tabulka 8).

Tabulka 8. Analýza odhadů přesnosti - variabilita mezi cykly

Přesnost	VK (%) CT	VK (%) HSV
Mezi cykly (cyklus 1–6)	0,77	4,25

Vstup vzorku/výstup eluátu

Systém EZ1 DSP Virus na přístrojích řady EZ1 nabízí možnost kombinovat různé vstupní objemy vzorků (100, 200 nebo 400 µl) s různými výstupními objemy eluátu (60, 90, 120 nebo 150 µl). Celková výkonnost extrakčních postupů používaných na přístrojích řady EZ1 byla ověřena použitím různých možných kombinací vstupů vzorku a výstupů eluátu.

Údaje z různých studií ukázaly, že výtěžek NA je nejvyšší při vysokých vstupních objemech vzorku v kombinaci s vysokými výstupními objemy eluátu. Koncentrace NA je nejvyšší při vysokých vstupních objemech vzorku a nízkých výstupních objemech eluátu. V závislosti na kompletním pracovním postupu (příprava vzorku v kombinaci s konkrétní navazující aplikací) může existovat nejvýhodnější kombinace vstupu vzorku a elučního objemu, která může pomoci optimalizovat například konečný výtěžek a koncentraci NA nebo dále minimalizovat potenciální vliv zbytkových interferujících látek. Různé navazující aplikace i pro stejný materiál vzorku mohou vyžadovat různé kombinace vstupu vzorku/výstupu eluátu. Proto je povinností uživatele validovat celý pracovní postup v rámci konkrétní aplikace a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

Stabilita eluátu

Stabilita eluátu pro sadu EZ1 DSP Virus Kit byla hodnocena pomocí extrahované virové RNA a DNA ze vzorků lidské plazmy EDTA. Eluáty byly skladovány při různých teplotách a po různou dobu a jejich stabilita byla analyzována pomocí validované interní analýzy PCR.

Výsledky prokázaly stabilitu nukleových kyselin po dobu až 24 hodin při skladování při 2–8 °C, po dobu až 12 týdnů při skladování při –20 °C a po dobu až 12 měsíců při skladování při –80 °C.

Stabilita nukleových kyselin se může lišit pro konkrétní použitou navazující aplikaci a uživatel si musí sám provést validaci.

Interferující látky

Vliv exogenních interferujících látek na systém EZ1 DSP Virus byl analyzován testováním definovaných koncentrací (trojnásobek akutní vrcholové koncentrace po léčebném ošetření lékem, jak je doporučeno ve směrnici CLSI EP7-A2) různých látek (tabulka 9). Ty byly přidány do vzorků plazmy EDTA buď CMV pozitivních nebo CMV negativních a porovnány s interferentně negativní plazmou. Eluáty NA byly analyzovány pomocí vhodné analýzy CMV PCR.

Poznámka: Testování bylo provedeno pomocí exemplárních navazujících aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé navazující aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování příslušných látek musí být rovněž stanoveny při vývoji navazující aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující sadu EZ1 DSP Virus Kit.

Tabulka 9. Testovací koncentrace potenciálních interferujících látek doplněných do plazmy EDTA

Interferující látky	Konečná testovací koncentrace
Sulfamethoxazol	200 mg/l
Trimethoprim	5,2 mg/l
Claforan (cefotaxim)	1 g/l
Tazobac (piperacilin + tazobaktam)	Piperacilin: 1 g/l Tazobaktam: 125 mg/l
Ticarcillin	1 g/l
Augmentin (amoxicillin + kyselina klavulanová)	Amoxicilin: 125 mg/l Kyselina klavulanová: 25 mg/l
Vankomycin	125 mg/l
Flukonazol	1 mg/l
Rapamycin	100 mg/l
Mykofenolát sodný	80 mg/l

Všechny testované koncentrace interferujících látek nevykazovaly žádný významný vliv na výkonnost analýzy CMV PCR v kombinaci se systémem EZ1 DSP Virus, pokud jde o specifčnost, citlivost a spolehlivou kvantifikaci.

Další testování exogenních rušivých látek pomocí systému EZ1 DSP Virus bylo provedeno doplněním definovaných koncentrací různých látek (tabulka 10) do nasofaryngeálních tampónů odebraných do UTM. Vzorek materiálu byl obohacen kmeny chřipky A a chřipky B a eluáty NA byly analyzovány pomocí vhodné analýzy RT-PCR pro chřipku A/B.

Tabulka 10. Testovací koncentrace potenciálních interferujících látek, které byly doplněny do nasofaryngeálních tampónů odebraných do UTM

Interferující látka	Konečná testovací koncentrace
Lidská krev	5 % obj./obj.
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl s konzervačními látkami	10 % obj./obj. vzorku
Fenylefrin	10 % obj./obj. vzorku
Oxymetazolin	10 % obj./obj. vzorku
Budesonid	40 µg/ml
Flutikason propionát	2,5 % obj./obj. vzorku
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Síra	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Beklometason dipropionát	61,73 µg/ml
Flunisolid	25 µg/ml
Triamcinolon acetonid	27,5 µg/ml
Guaifenesin	1,33 mg/ml
Difenhydramin hydrochlorid	0,5 mg/ml
Dextrometorfan hydrobromid	1 mg/ml
Pseudoefedrin hydrochlorid	20 µg/ml
Benzokain	1,44 mg/ml
Mentol	5 mg/ml
Tobramycin	0,3 mg/ml
Mupirocin	2 mg/ml
Amoxicilin	1 mg/ml
Dexametazon	1,53 µmol/l

Všechny testované koncentrace interferujících látek nevykazovaly žádný významný vliv na výkonnost analýzy Infl A/B RT-PCR v kombinaci se systémem EZ1 DSP Virus.

Křížová kontaminace

Riziko křížové kontaminace systému EZ1 DSP Virus bylo analyzováno provedením 9 cyklů na přístroji EZ1 Advanced se střídavými šachovnicovými vzory. Za účelem zjištění přenosu mezi vzorky byly provedeny cykly se vzorky plazmy pozitivními na ParvoB19/CMV a vzorky plazmy negativními na ParvoB19/CMV ve střídavých pozicích. Každý třetí cyklus byl proveden pouze s negativními vzorky plazmy. Všechny eluáty byly testovány pomocí vhodné analýzy CMV PCR a vhodné analýzy Parvo B19 PCR.

Všechny vzorky pozitivní na ParvoB19/CMV byly při PCR testovány jako pozitivní a všechny vzorky negativní na ParvoB19/CMV byly testovány jako negativní. Nebyla zjištěna žádná křížová kontaminace při přenosu mezi vzorky nebo mezi cykly.

Charakteristika funkčních vlastností přístroje EZ2 Connect MDx

Charakteristika funkčních vlastností přístroje EZ2 Connect MDx byla stanovena ve studiích ekvivalence pomocí přístroje EZ1 Advanced XL s použitím sady EZ1 DSP Virus Kit. Charakteristika funkčních vlastností sady, jako je stabilita eluátu nebo základní výkon, jsou platné pro všechny přístrojové systémy uvedené v návodu k použití sady EZ1 DSP Virus Kit, protože sada jako součást systému se pro různé automatické platformy nemění.

Poznámka: Charakteristika funkčních vlastností do značné míry závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní navazující aplikací. Funkční vlastnosti sady EZ1 DSP Virus Kit byly stanoveny ve spojení s exemplárními aplikacemi. Metody izolace nukleových kyselin z biologického vzorku se však používají jako předstupeň pro více navazujících aplikací. Proto je třeba pro každý takový pracovní postup v rámci vývoje navazující aplikace stanovit parametry funkčních vlastností, jako je vliv exogenních interferujících látek, křížové kontaminace nebo přesnost cyklu. Proto je povinností uživatele validovat celý pracovní postup a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

Základní funkční vlastnosti a kompatibilita s různými navazujícími aplikacemi

Základní údaje o funkčních vlastnostech získané pomocí přístrojů EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced nebo BioRobot EZ1 platí i pro přístroj EZ2 Connect MDx (viz strana 2). Složení vzorku a sada jsou pro přístrojové systémy pro použití se sadou EZ1 DSP DNA Blood Kit identické. Dále byla testována ekvivalence postupů extrakce používaných na systému EZ2 Connect MDx, aby se prokázaly stejné nebo lepší základní funkční vlastnosti systému. Během testování ekvivalence byla potvrzena také kompatibilita s různými navazujícími aplikacemi (včetně qPCR).

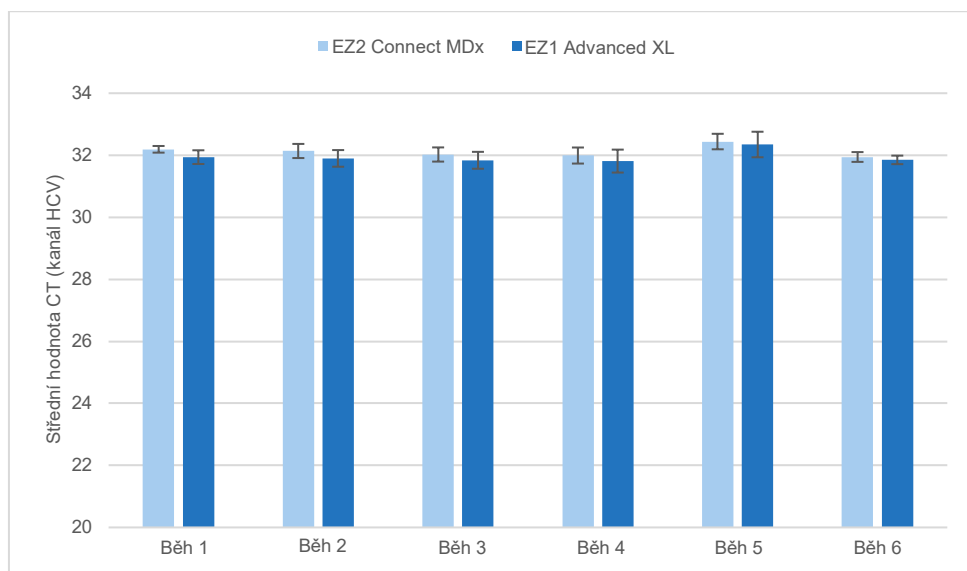
Vzhledem k tomu, že jsou použity pouze exemplární navazující metody, je povinností uživatele validovat celý pracovní postup v rámci konkrétní aplikace a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

Zmrazování a rozmrazování vzorků

Rozmrazené vzorky se nedoporučuje znovu zmrazovat, ani je uchovávat déle než 6 hodin při teplotě 2–8 °C. Způsobuje to významně nižší výtěžky a kvalita virových nukleových kyselin nebo bakteriální DNA.

Přesnost

NA byla extrahována ze 200 µl vzorku plazmy s přidáním HCV až do koncentrace 1E+04 IU/ml a eluována ve 150 µl. Celkem bylo provedeno 12 purifikačních cyklů se třemi různými operátory, na 3 různých zařízeních (pro každý typ přístroje) a ve 3 různých dnech. Údaje o přesnosti v rámci cyklu jsou uvedeny jako směrodatné odchytky hodnot CT (obrázek 7).



Obrázek 7. Průměrné hodnoty Ct všech cyklů s použitím analýzy HCV RT-PCR. Plazma byla před použitím odebrána, sdružena a připravena s příslušným titrem viru. NA byla purifikována ze 200 µl alikvotů v 6 cyklech po 12 replikátech na přístroji EZ1 Advanced XL a EZ2 Connect MDx pomocí systému EZ1 DSP Virus. Pro každý cyklus je uveden střední Ct a směrodatná odchylka.

VK byly stanoveny pro extrakci NA z plazmy. Údaje o přesnosti jsou uvedeny v tabulce 11.

Tabulka 11. Analýza odhadů přesnosti - variabilita v rámci cyklu

Přesnost	VK (%) (EZ2 Connect MDx)	VK (%) (EZ1 Advanced XL)
V rámci cyklu (cyklus 1)	0,33	0,69
V rámci cyklu (cyklus 2)	0,71	0,84
V rámci cyklu (cyklus 3)	0,71	0,86
V rámci cyklu (cyklus 4)	0,81	1,16
V rámci cyklu (cyklus 5)	0,77	1,27
V rámci cyklu (cyklus 6)	0,49	0,43

Při použití soupravy EZ1 DSP Virus Kit v testech ekvivalence byla variabilita v rámci série u přístroje EZ2 Connect MDx stanovena jako ekvivalentní variabilitě v rámci série na přístroji EZ1 Advanced XL.

Kromě toho byla pro přístroj EZ2 Connect MDx stanovena variabilita mezi cykly (tabulka 12).

Tabulka 12. Analýza odhadů přesnosti - variabilita mezi cykly

Přesnost	VK (%) (EZ2 Connect MDx)	VK (%) (EZ1 Advanced XL)
Mezi cykly (cyklus 1–6)	0,82	1,06

Statistická analýza prokázala stejné funkční vlastnosti přístroje EZ2 Connect MDx ve srovnání s přístrojem EZ1 Advanced XL.

Vstup vzorku/výstup eluátu

Systém EZ1 DSP Virus na přístrojích EZ2 Connect MDx nabízí možnost kombinovat různé vstupní objemy vzorků (100, 200 nebo 400 µl) s různými výstupními objemy eluátu (60, 90, 120 nebo 150 µl). Celkové testování funkčních vlastností postupů extrakce použitých na systému EZ2 Connect MDx ukázalo stejné funkční vlastnosti systému ve srovnání s přístrojem EZ1 Advanced XL.

V závislosti na kompletním pracovním postupu (příprava vzorku v kombinaci s konkrétní navazující aplikací) může existovat nejvýhodnější kombinace vstupu vzorku a elučního objemu, která může pomoci optimalizovat například konečný výtěžek a koncentraci NA nebo dále minimalizovat potenciální vliv zbytkových interferujících látek. Různé navazující aplikace i pro stejný materiál vzorku mohou vyžadovat různé kombinace vstupu vzorku/výstupu eluátu. Proto je povinností uživatele validovat celý pracovní postup v rámci konkrétní aplikace a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

Citlivost

S použitím vzorků plazmy doplněných koncentrací HBV blízko limitu detekce (přibližně 18 IU/ml) bylo provedeno 18 purifikačních cyklů na systémech EZ2 Connect MDx a EZ1 Advanced XL jedním operátorem na třech různých zařízeních (pro každý typ přístroje) ve třech dnech za použití 400 µl vstupu vzorku a 90 µl elučního objemu. Všechny eluáty byly podrobeny kvalitativní analýze pomocí vhodného testu HBV PCR bez ohledu na to, zda lze detekovat cíl. Vzhledem k tomu, že se blíží limitu detekce, neočekává se, že by všechny replikáty byly stanoveny jako pozitivní. Bylo však možné potvrdit, že počet pozitivních replikátů je statisticky ekvivalentní.

Tabulka 13. Souhrn výsledků testů citlivosti ze všech cyklů EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx – Zásahy pozitivních vzorků HBV									
Počet zásahů	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% zásahů	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabulka 14. Souhrn výsledků testů citlivosti ze všech cyklů EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL – Zásahy pozitivních vzorků HBV									
Počet zásahů	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% zásahů	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabulka 15. Souhrn citlivosti s výsledky Fisherova přesného testu

Správné výsledky EZ2	Správné výsledky EZ1	Hodnota P Fisherova přesného testu (2-konec)
91,55%	94,44%	0,532

Statistická analýza prokázala stejné funkční vlastnosti přístroje EZ2 Connect MDx ve srovnání s přístrojem EZ1 Advanced XL.

Stabilita eluátu

Údaje o stabilitě eluátu získané pomocí přístrojů EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced nebo BioRobot EZ1 platí i pro přístroj EZ2 Connect MDx (viz strana 2). Složení vzorku a sady jsou pro přístrojové systémy pro použití se sadou EZ1 DSP Virus Kit identické. Dále byla testována ekvivalence postupů extrakce používaných na systému EZ2 Connect MDx, aby se prokázaly stejné základní funkční vlastnosti systému. Pokyny pro manipulaci s eluátem platí pro všechny automatizované systémy používané se sadou.

Povinností uživatele je však validovat celý pracovní postup v rámci konkrétní aplikace a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.

Interferující látky

Vliv interferujících látek byl stanoven pomocí přístroje EZ1 Advanced XL. Tyto údaje platí i pro přístroj EZ2 Connect MDx (viz strana 12). Složení vzorku a sady jsou pro přístrojové systémy pro použití se sadou EZ1 DSP Virus Kit identické. Objem vstupu vzorku/výstupu eluátu je identický, takže se neočekává žádný vliv na typ nebo koncentraci interferujících látek v eluátech. Dále byla testována ekvivalence postupů extrakce používaných na systému EZ2 Connect MDx, aby se prokázaly stejné základní funkční vlastnosti systému. Pokyny pro manipulaci se vzorkem a eluátem platí pro všechny automatizované systémy používané se sadou.

Povinností uživatele je však validovat celý pracovní postup v rámci konkrétní aplikace a stanovit vhodné parametry funkčních vlastností.






Křížová kontaminace

Riziko křížové kontaminace sady EZ1 DSP Virus Kit použité na přístroji EZ2 Connect MDx bylo analyzováno provedením deseti cyklů (400 µl vstup, 60 µl eluce) se střídavými šachovnicovými vzory ve dvou dnech jedním operátorem. Za účelem zjištění přenosu mezi vzorky byly provedeny cykly se vzorky plazmy pozitivními (po přidání HBV) i negativními (bez přidání) ve střídavých pozicích. Každý druhý cyklus byl proveden pouze s HBV negativními vzorky plazmy. Všechny eluáty byly analyzovány pomocí vhodné analýzy HBV PCR.

Všechny HBV pozitivní vzorky dopadly při PCR pozitivně a všechny HBV negativní vzorky dopadly negativně. Nebyla zjištěna žádná křížová kontaminace při přenosu mezi vzorky nebo mezi cykly.

Symbole

V tomto dokumentu se objevují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce.

Symbol	Definice symbolu
	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro.
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Katalogové číslo
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce
	Důležitá poznámka

Historie revizí

Revize	Popis
R1, červen 2022	<p>Verze 5, revize 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Vygenerování dokumentu pro novou verzi sady. Přidány údaje pro EZ2 Connect MDx• Odstranění materiálu vzorku plné krve, moči, sušených stěrů, sputa z určeného použití

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro soupravu QIAGEN nebo v uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na webových stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technické podpory společnosti QIAGEN či místního distributora.

Ochranné známky: 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.). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.
06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

