

Istruzioni per l'uso (caratteristiche delle prestazioni) dell'EZ1[®] DSP Virus Kit

Versione 5

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con EZ1 DSP Virus Kit (48)

CE

REF

62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Le caratteristiche delle prestazioni disponibili elettronicamente si possono trovare nella scheda delle risorse della pagina del prodotto, all'indirizzo www.qiagen.com.

Introduzione generale

L'EZ1 DSP Virus Kit è destinato alla purificazione degli acidi nucleici virali e del DNA batterico da plasma, siero, liquido cerebrospinale, feci e tamponi nasofaringei raccolti in Universal Transport Medium™ (UTM®). La tecnologia basata sulle particelle magnetiche fornisce acidi nucleici (Nucleic Acid, NA) di alta qualità, adatti per essere utilizzati direttamente in applicazioni downstream, quali l'amplificazione con PCR e qPCR. Gli strumenti EZ1 ed EZ2® Connect MDx eseguono tutte le fasi della procedura di preparazione dei campioni per un massimo di 6 campioni (utilizzando l'EZ1 Advanced o il BioRobot® EZ1 DSP, entrambi fuori produzione), per un massimo di 14 campioni (utilizzando l'EZ1 Advanced XL) o per un massimo di 24 campioni (utilizzando l'EZ2 Connect MDx), in un singolo processo.

Il volume di ingresso del campione può essere scelto tra 100, 200 o 400 µl e il volume di eluizione NA può essere scelto tra 60, 90, 120 o 150 µl.

Le prestazioni del sistema EZ1 DSP Virus Kit sono state stabilite in studi di valutazione delle prestazioni, utilizzando plasma, siero, CSF, feci e tamponi nasofaringei raccolti in UTM per l'isolamento di NA virale e DNA batterico. Non si garantiscono, tuttavia, le prestazioni dei kit per ogni specie virale o batterica, pertanto l'utente è tenuto a convalidare tali prestazioni. È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia coperta dagli studi di valutazione delle prestazioni QIAGEN®.

Caratteristiche delle prestazioni degli strumenti EZ1

Nota: le caratteristiche delle prestazioni dipendono fortemente da vari fattori e si riferiscono alla specifica applicazione downstream. Le prestazioni sono state stabilite per l'EZ1 DSP Virus Kit in combinazione con tipiche applicazioni downstream. Tuttavia, i metodi per isolare gli acidi nucleici dal campione biologico sono utilizzati come front-end per molteplici applicazioni downstream. Pertanto, è necessario stabilire parametri di prestazione come l'influenza di sostanze interferenti esogene, la contaminazione crociata o la precisione del processo per qualsiasi flusso di lavoro di questo tipo come parte dello sviluppo dell'applicazione downstream. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire parametri di prestazione appropriati.

Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni downstream

Per raccogliere campioni di sangue per la procedura dell'EZ1 DSP Virus si possono utilizzare provette primarie e anticoagulanti diversi. Le prestazioni di base per l'EZ1 DSP Virus Kit sono state valutate utilizzando 6 singoli donatori per l'estrazione di NA virale da 4 diverse provette di raccolta del sangue. La Tabella 1 mostra una panoramica delle provette di raccolta campioni che sono state impiegate per valutare il sistema. Dopo la preparazione del plasma o del siero, ai campioni è stato aggiunto un titolo virale dedicato di epatite C (HCV) o epatite B (HBV). Il titolo virale è stato determinato per ciascun campione utilizzando sistemi qPCR adatti. In Figura 1 viene mostrato il titolo virale medio utilizzando diverse provette primarie.

Tabella 1. Provette di raccolta del sangue testate con il sistema EZ1 DSP Virus

Provetta primaria	Produttore	N. cat.*	Conservante/anticoagulante
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA - gel - plasma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA - plasma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Citrato di sodio - plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel - siero

*I numeri di catalogo sono soggetti a variazione; controllarli con il produttore o con il fornitore.

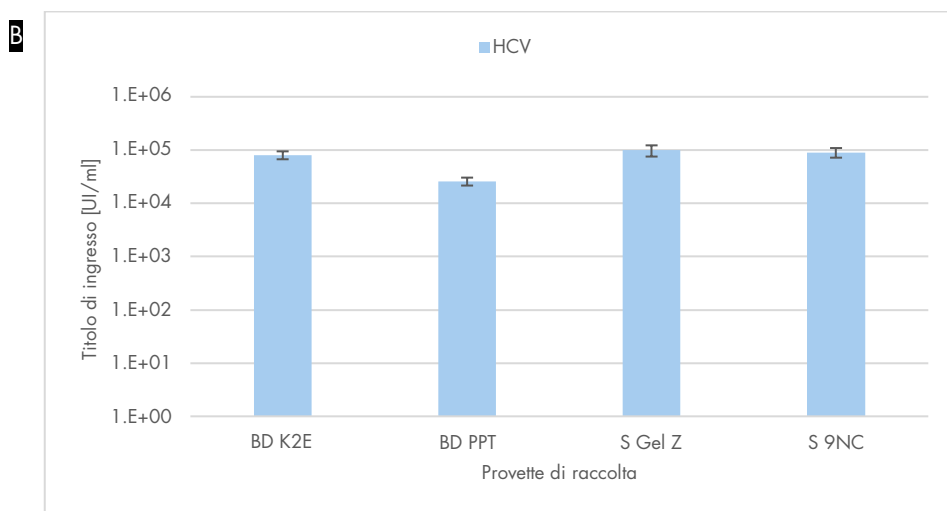
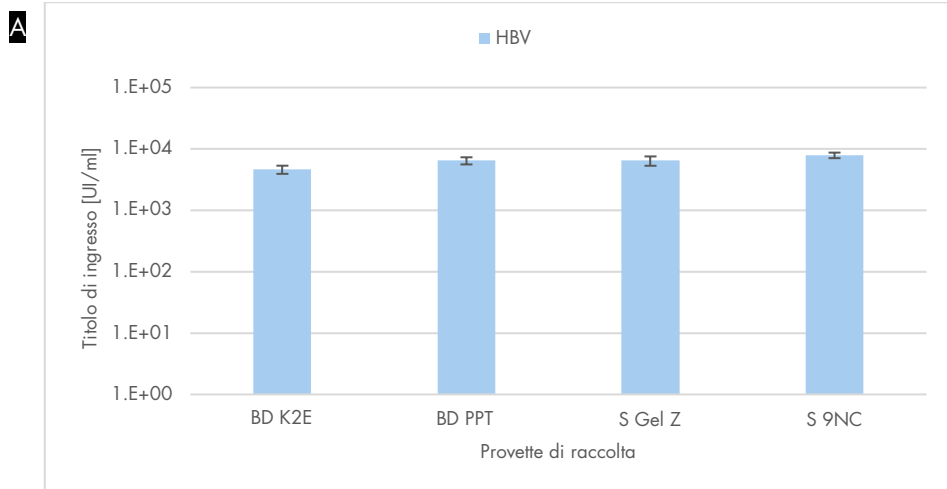


Figura 1. Prestazioni di base con l'uso di provette di raccolta e anticoagulanti diversi. I campioni di sangue sono stati raccolti da 6 donatori sani in diversi tipi di provette per preparare plasma o siero in replicati di 10 per ciascuna provetta di donatore. Le provette utilizzate sono elencate nella Tabella 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** il DNA virale è stato purificato da campioni di 200 µl, con eluizione in 90 µl. **B:** l'RNA virale è stato purificato da campioni di 200 µl con eluizione in 90 µl. Le rese del NA di ciascun donatore e ciascuna provetta sono state determinate mediante analisi qPCR. Le barre mostrano le determinazioni medie del titolo virale con deviazione standard.

L'intervallo lineare per l'EZ1 DSP Virus Kit è stato stimato utilizzando adenovirus 5 come virus a DNA aggiunto in campioni di feci. I test sono stati eseguiti utilizzando diluizioni seriali 1:10 di supernatante di coltura cellulare in feci negative ad adenovirus. Le serie di diluizioni con 5 diluizioni di virus diverse sono state testate con 10 replicati per ogni serie. Gli acidi nucleici virali sono stati estratti da campioni di 200 µl (1:10 risospesi in Buffer ASL*) ed eluiti in 120 µl. L'intervallo lineare della procedura dell'EZ1 DSP Virus è stato determinato in combinazione con un esame qPCR adatto rispetto a un metodo di estrazione del DNA basato su colonna spin (Figura 2).

* QIAGEN GmbH, n. cat. 190822

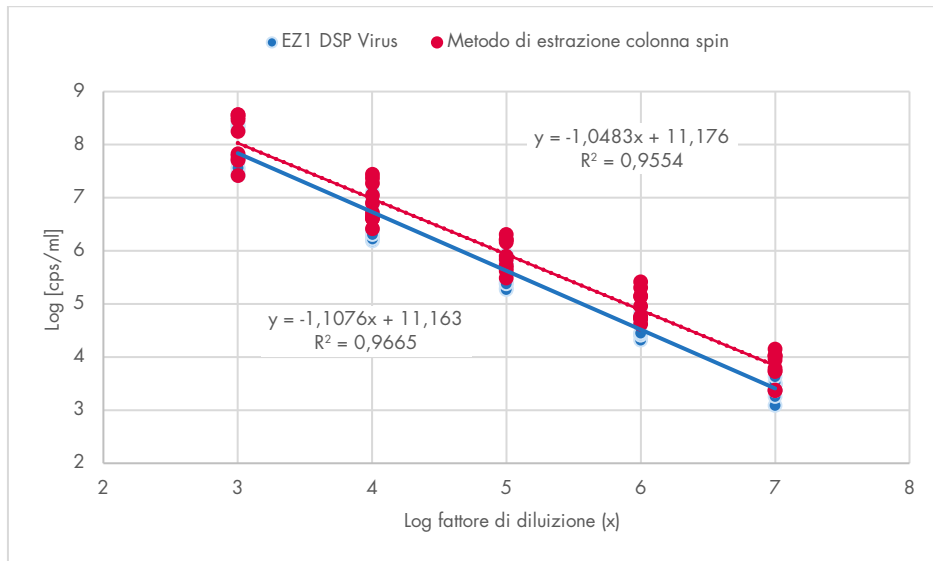


Figura 2. Intervallo lineare del titolo virale mediante protocollo EZ1 DSP Virus. Sono mostrati i risultati di un esame PCR adeguato per adenovirus in combinazione con eluiti dall'estrazione di adenovirus 5 da campioni di feci, utilizzando l'EZ1 DSP Virus Kit o un metodo di estrazione del DNA basato su colonna spin.

Ulteriori dati lineari sono stati generati dall'aggiunta di citomegalovirus (CMV) come virus a DNA in campioni di plasma EDTA preparati da 1 donatore. Le serie di diluizioni con 7 diluizioni di virus diverse sono state testate con 9 replicati per ogni serie. Gli acidi nucleici virali sono stati estratti da campioni di 400 µl ed eluiti in 60 µl sull'EZ1 Advanced XL. L'intervallo lineare è stato determinato in combinazione con un esame PCR idoneo per CMV.

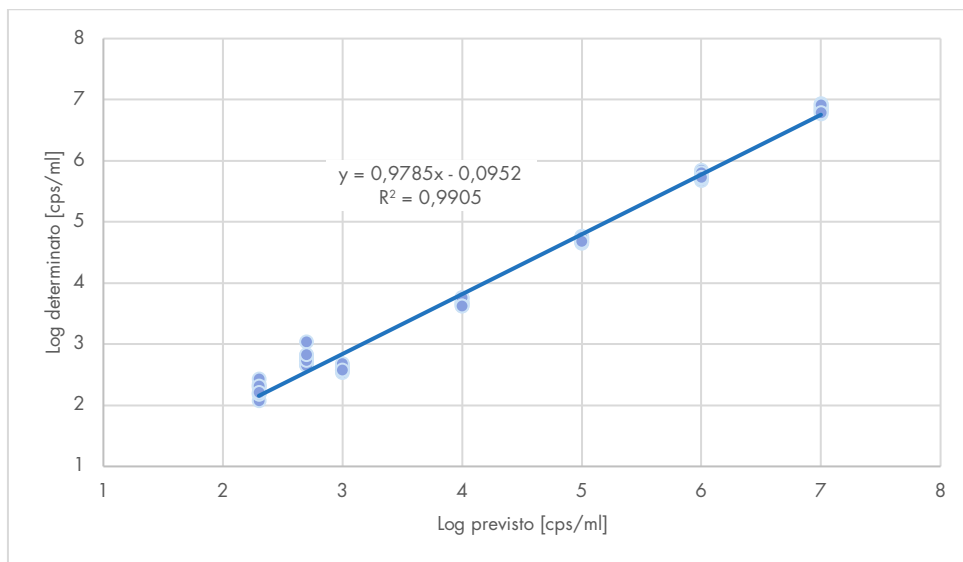


Figura 3. Intervallo lineare del titolo virale mediante protocollo EZ1 DSP Virus. Sono mostrati i risultati di un esame PCR idoneo per CMV in combinazione con eluiti dall'estrazione di CMV da campioni di plasma con EDTA.

Gli eluiti di NA purificati da diversi materiali campione utilizzando il sistema EZ1 DSP Virus sono stati analizzati e hanno mostrato compatibilità con diversi esami quantitativi di real-time PCR (qPCR).

Congelamento-scongelamento di campioni

Si sconsiglia di ricongelare i campioni scongelati oppure di conservare i campioni per oltre 6 ore a 2-8°C, perché ciò comporta rese e qualità significativamente ridotte degli acidi nucleici virali o del DNA batterico.

Precisione

Sono stati determinati deviazioni standard e CV per le diluizioni di HIV-1 e CMV nell'intervallo lineare degli esami downstream idonei. L'NA è stato estratto da un campione di plasma di 400 µl con il rispettivo materiale virale ed eluito in 120 µl. In totale, sono stati eseguiti 7 processi di purificazione per diluizione di virus con un operatore, su 3 strumenti e in 3 giorni diversi. Gli eluiti sono stati analizzati utilizzando un esame RT-PCR adatto all'HIV e un esame PCR per CMV. I dati di precisione intra-processo vengono mostrati come deviazione standard in Figura 4.

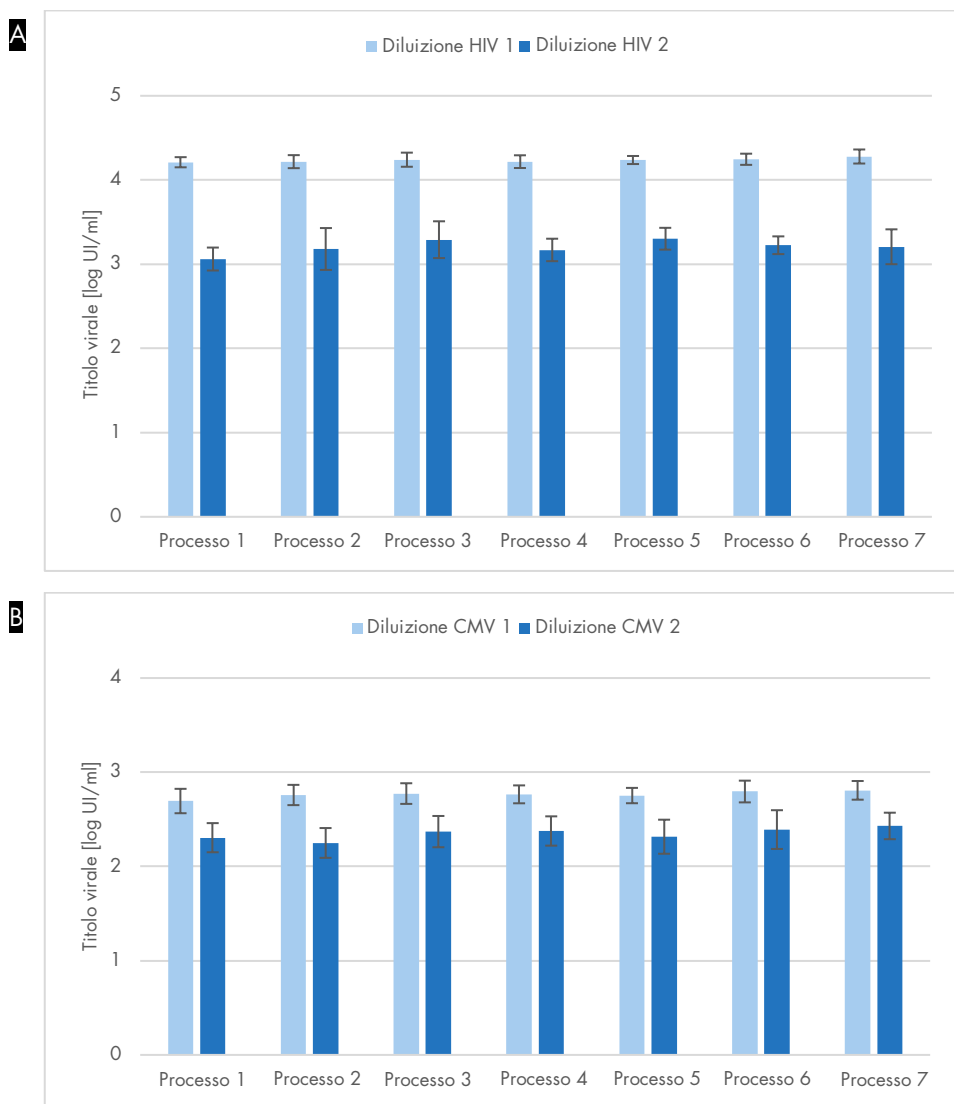


Figura 4. Precisione intra-processo mediante il sistema EZ1 DSP Virus. Prima dell'uso, il plasma è stato raccolto, raggruppato in pool e preparato con il rispettivo titolo virale (A: HIV; B: CMV). L'NA è stato purificato da aliquote di 400 µl in 7 processi di 14 replicati ciascuno sull'EZ1 Advanced XL utilizzando il sistema EZ1 DSP Virus. Per ogni processo vengono mostrati il titolo virale medio e la deviazione standard.

Sono stati determinati i CV per l'estrazione di NA da campioni di plasma. Nella Tabella 2 e nella Tabella 3 vengono mostrati i dati di precisione.

Tabella 2. Analisi delle stime di precisione – variabilità intra-processo (HIV)

Precisione (HIV)	CV (%) (Diluizione 1)	CV (%) (Diluizione 2)
Intra-processo (Processo 1)	1,43	4,45
Intra-processo (Processo 2)	1,83	7,82
Intra-processo (Processo 3)	1,98	6,64
Intra-processo (Processo 4)	1,79	4,21
Intra-processo (Processo 5)	1,13	3,92
Intra-processo (Processo 6)	1,56	3,27
Intra-processo (Processo 7)	1,95	6,46

Tabella 3. Analisi delle stime di precisione – variabilità intra-processo (CMV)

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

Inoltre, è stata determinata la variabilità intra-processo per entrambe le diluizioni del virus (Tabella 4).

Tabella 4. Analisi delle stime di precisione – variabilità inter-processo (HIV, CMV)

Precisione (CMV)	CV (%) (Diluizione 1)	CV (%) (Diluizione 2)
Inter-processo (Processo 1-7) HIV	1,72	5,81
Inter-processo (Processo 1-7) CMV	3,92	7,30

Le deviazioni standard e i coefficienti di variazione (CV) per le feci sono stati determinati per l'adenovirus 5 utilizzando un esame PCR compatibile per adenovirus. Feci negative ad adenovirus sono state caricate con il supernatante di coltura cellulare di adenovirus 5. Il DNA virale è stato estratto da campioni di 200 µl (risospensione 1:10 in Buffer ASL*) ed eluito in 120 µl. In totale, sono stati eseguiti 7 processi di purificazione con un operatore, su tre strumenti EZ1 Advanced XL, in 3 giorni diversi e 3 combinazioni di lotti di EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Tutti i campioni sono stati analizzati nello stesso processo di PCR. I dati di precisione intra-processo vengono mostrati come deviazioni standard in Figura 5.

* QIAGEN GmbH, n. cat. 19082

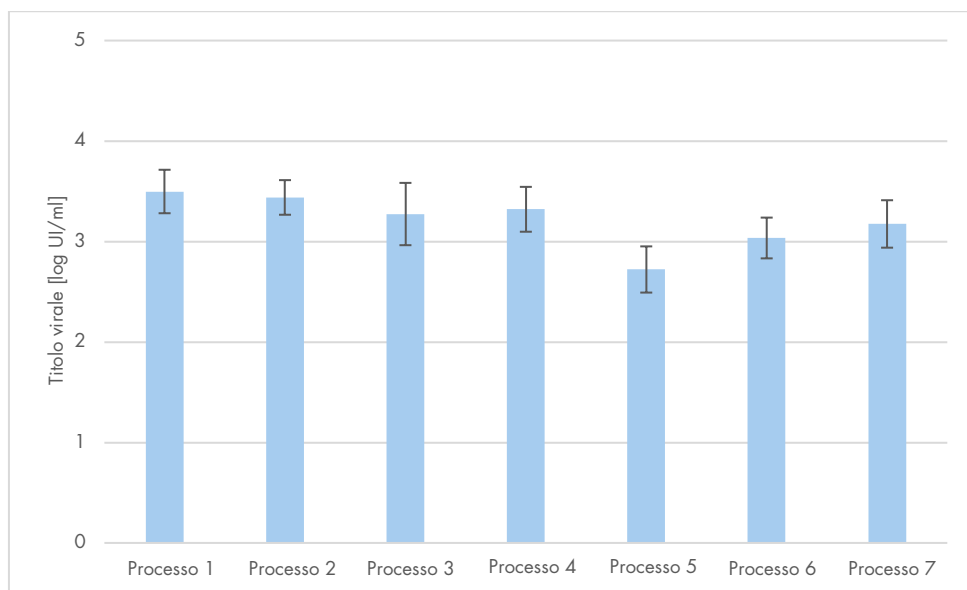


Figura 5. Precisione intra- processo mediante il sistema EZ1 DSP Virus. Prima dell'uso i campioni di feci sono stati raccolti, raggruppati in pool e preparati con il rispettivo titolo virale. L'NA è stato purificato da aliquote di 200 µl in 7 processi di 9/10 replicati ciascuno sull'EZ1 Advanced XL. Per ogni processo vengono mostrati il titolo virale medio e la deviazione standard.

Sono stati determinati i CV per l'estrazione di NA da campioni di feci. Nella Tabella 5 sono riportati i dati di precisione.

Tabella 5. Analisi delle stime di precisione (Adenovirus 5) - variabilità intra-processo

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

Inoltre, è stata determinata la variabilità inter-processo (Tabella 6).

Tabella 6. Analisi delle stime di precisione - variabilità inter-processo

Precisione	CV (%)
Inter-processo (Processo 1-7)	10,54

Deviazioni standard e CV per i terreni di trasporto sono stati determinati per HSV-1 e *Chlamydia trachomatis* utilizzando un esame PCR per HSV1 e un esame PCR per *C. trachomatis* idonei. Il DNA virale e batterico è stato estratto da 400 µl di UTM ed eluito in 60 µl. In totale, sono stati eseguiti 6 processi di purificazione da un operatore, in 3 giorni con 3 lotti di EZ1 DSP Virus Kit. Tutti i campioni sono stati analizzati nello stesso processo di PCR. I dati di precisione inter-processo vengono mostrati come deviazione standard in Figura 6.

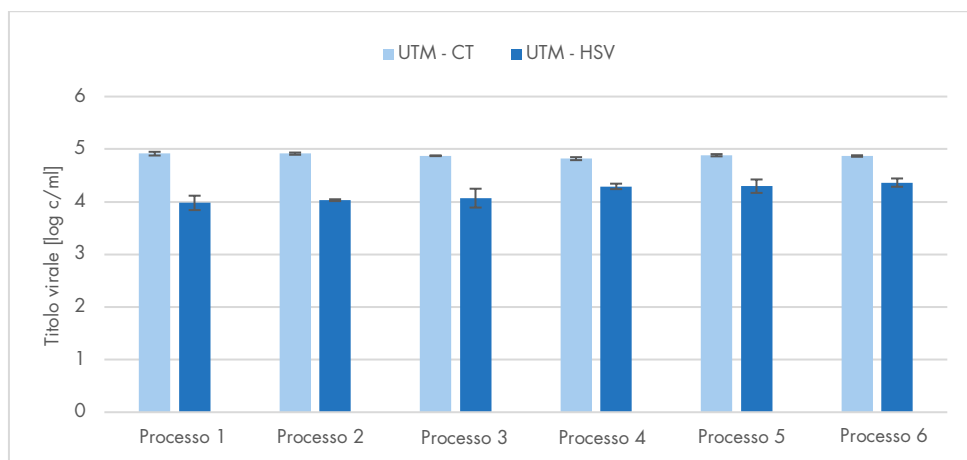


Figura 6. Precisione intra- processo mediante il sistema EZ1 DSP Virus. Prima dell'uso è stato preparato l'UTM con il rispettivo titolo virale. L'NA è stato purificato da aliquote di 400 µl in 6 processi di 2 replicati ciascuno sull'EZ1 Advanced XL. Per ogni processo vengono mostrati il titolo virale medio e la deviazione standard.

Sono stati determinati i CV per l'estrazione di NA da campioni di UTM. Nella Tabella 7 sono riportati i dati di precisione.

Tabella 7. Analisi delle stime di precisione - variabilità intra-processo (CT e HSV)

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

Inoltre, è stata determinata la variabilità inter-processo (Tabella 8).

Tabella 8. Analisi delle stime di precisione - variabilità inter-processo

Precisione	CV (%) CT	CV (%) HSV
Inter-processo (Processo 1-6)	0,77	4,25

Campione in ingresso/eluito in uscita

Il sistema EZ1 DSP Virus sulla famiglia di strumenti EZ1 offre la possibilità di combinare diversi volumi di campione in ingresso (100, 200 o 400 µl) con diversi volumi di eluito in uscita (60, 90, 120 o 150 µl). Le prestazioni complessive delle procedure di estrazione utilizzate sulla famiglia di strumenti EZ1 sono state verificate utilizzando diverse combinazioni di campione in ingresso ed eluito in uscita possibili.

I dati dei diversi studi hanno dimostrato che la resa di NA è più elevata con elevati volumi di campione in ingresso in combinazione con elevati volumi di eluito in uscita. La concentrazione di NA è più alta con elevati volumi di campione in ingresso e bassi volumi di eluito in uscita. A seconda del flusso di lavoro completo (preparazione dei campioni in combinazione con una specifica applicazione downstream), può esserci una combinazione molto vantaggiosa di campione in ingresso e volume di eluzione che può aiutare a ottimizzare, ad esempio, la resa e la concentrazione di NA finali o a ridurre ulteriormente al minimo la potenziale influenza delle sostanze interferenti residue. Diverse applicazioni downstream anche per lo stesso materiale campione potrebbero richiedere diverse combinazioni di campione in ingresso/eluito in uscita. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro all'interno della propria applicazione specifica per stabilire parametri di prestazioni appropriati.

Stabilità degli eluiti

La stabilità degli eluiti per l'EZ1 DSP Virus Kit è stata valutata utilizzando l'RNA e il DNA virali estratti da campioni di plasma EDTA umano. Gli eluiti sono stati conservati a temperature e in periodi di tempo diversi, e sono stati analizzati per la stabilità utilizzando un esame PCR interno convalidato.

I risultati hanno dimostrato la stabilità degli acidi nucleici fino a 24 ore, se conservati a 2-8°C, fino a 12 settimane, se conservati a -20°C, e fino a 12 mesi se conservati a -80°C.

La stabilità degli acidi nucleici potrebbe essere diversa per la specifica applicazione downstream utilizzata e deve essere autoconvalidata dall'utente.

Sostanze interferenti

L'influenza di sostanze interferenti esogene sul sistema EZ1 DSP Virus è stata analizzata testando concentrazioni definite (3 volte la concentrazione di picco acuta dopo il trattamento farmacologico terapeutico, come raccomandato nelle linee guida CLSI EP7-A2) di diverse sostanze (Tabella 9). Queste sono state inserite in campioni di plasma EDTA positivi a CMV o negativi a CMV, e confrontati con il plasma negativo a interferenti. Gli eluiti di NA sono stati analizzati utilizzando un esame PCR per CMV adatto.

Nota: i test sono stati effettuati utilizzando tipiche applicazioni downstream per una valutazione della qualità degli acidi nucleici estratti. Tuttavia, diverse applicazioni downstream possono avere requisiti diversi per quanto riguarda la purezza (cioè l'assenza di potenziali sostanze interferenti), quindi devono essere stabiliti anche l'identificazione e i test relativi alle sostanze pertinenti come parte dello sviluppo dell'applicazione downstream per qualsiasi flusso di lavoro che coinvolga l'EZ1 DSP Virus Kit.

Tabella 9. Concentrazioni di test di potenziali sostanze interferenti aggiunte in plasma EDTA

Sostanze interferenti	Concentrazione finale del test
Sulfametossazolo	200 mg/l
Trimetoprim	5,2 mg/l
Claforan (cefotaxime)	1 g/l
Tazobac (piperacillina+tazobactam)	Piperacillina: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcillina	1 g/l
Augmentin (amoxicillina + acido clavulanico)	Amoxicillina: 125 mg/l Acido clavulanico: 25 mg/l
Vancomicina	125 mg/l
Fluconazolo	1 mg/l
Rapamicina	100 mg/l
Micofenolato sodico	80 mg/l

Tutte le concentrazioni di sostanze interferenti testate non hanno mostrato nessuna influenza significativa sulle prestazioni dell'esame PCR per CMV in combinazione con il sistema EZ1 DSP Virus per quanto riguarda la specificità, la sensibilità e la quantificazione affidabile.

Ulteriori test sulle sostanze interferenti esogene utilizzando il sistema EZ1 DSP Virus sono stati effettuati aumentando concentrazioni definite di diverse sostanze (Tabella 10) in tamponi nasofaringei raccolti in UTM. Al materiale campione sono stati aggiunti ceppi di influenza A e influenza B e gli eluiti di NA sono stati analizzati utilizzando un adeguato esame RT-PCR per l'influenza A/B.

Tabella 10. Concentrazioni di test di potenziali sostanze interferenti che vengono aggiunte a tamponi nasofaringei raccolti in UTM

Sostanze interferenti	Concentrazione finale del test
Sangue umano	5% v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl con conservanti	10% v/v di campione
Fenilefrina	10% v/v di campione
Ossimetazolina	10% v/v di campione
Budesonide	40 µg/ml
Fluticasone propionato	2,5% v/v di campione
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Zolfo	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Cloridrato di istamina	4,5 mg/ml
Beclometasone dipropionato	61,73 µg/ml
Flunisolide	25 µg/ml
Triamcinolone acetonide	27,5 µg/ml
Guaifenesina	1,33 mg/ml
Difenidramina cloridrato	0,5 mg/ml
Destrometorfano bromidrato	1 mg/ml
Pseudoefedrina cloridrato	20 µg/ml
Benzocaina	1,44 mg/ml
Mentolo	5 mg/ml
Tobramicina	0,3 mg/ml
Mupirocina	2 mg/ml
Amoxicillina	1 mg/ml
Desametasone	1,53 µmol/l

Tutte le concentrazioni di sostanze interferenti testate non hanno mostrato nessuna influenza significativa sulle prestazioni dell'esame RT-PCR per infl. A/B in combinazione con il sistema EZ1 DSP Virus.

Contaminazione crociata

Il rischio di contaminazione crociata del sistema EZ1 DSP Virus è stato analizzato eseguendo 9 processi su EZ1 Advanced con schemi a scacchiera. Per rilevare il carryover da campione a campione, i processi sono stati eseguiti con campioni di plasma positivi a ParvoB19/CMV e campioni di plasma negativi a ParvoB19/CMV in posizioni alternate. Un processo ogni tre è stato eseguito utilizzando solo campioni di plasma negativi. Tutti gli eluiti sono stati testati utilizzando un esame PCR per CMV adatto e un esame PCR per Parvo B19 adatto.

Tutti i campioni positivi a ParvoB19/CMV sono risultati positivi nella PCR e tutti i campioni negativi a ParvoB19/CMV sono risultati negativi. Non è stata rilevata nessuna contaminazione crociata per un carryover da campione a campione o da processo a processo.

Caratteristiche delle prestazioni di EZ2 Connect MDx

Le caratteristiche delle prestazioni per EZ2 Connect MDx sono state stabilite in studi di equivalenza con l'EZ1 Advanced XL utilizzando l'EZ1 DSP Virus Kit. Le caratteristiche delle prestazioni relative al kit, come la stabilità dell'eluato o le prestazioni di base, sono valide per tutti i sistemi di strumenti elencati nelle istruzioni per l'uso dell'EZ1 DSP Virus Kit, poiché il kit come parte del sistema non cambia per le diverse piattaforme automatizzate.

Nota: le caratteristiche delle prestazioni dipendono fortemente da vari fattori e si riferiscono alla specifica applicazione downstream. Le prestazioni sono state stabilite per l'EZ1 DSP Virus Kit in combinazione con tipiche applicazioni downstream. Tuttavia, i metodi per isolare gli acidi nucleici dal campione biologico sono utilizzati come front-end per molteplici applicazioni downstream. Pertanto, è necessario stabilire parametri di prestazione come l'influenza di sostanze interferenti esogene, la contaminazione crociata o la precisione del processo per qualsiasi flusso di lavoro di questo tipo come parte dello sviluppo dell'applicazione downstream. È quindi responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire parametri di prestazione appropriati.

Prestazioni di base e compatibilità con diverse applicazioni downstream

Dati di base sulle prestazioni generati utilizzando l'EZ1 Advanced XL, l'EZ1 Advanced o il BioRobot EZ1 si applicano anche allo strumento EZ2 Connect MDx (vedere pagina 2). La composizione del campione e il kit sono identici per i sistemi di strumenti da utilizzare con l'EZ1 DSP DNA Blood Kit. Inoltre, per mostrare prestazioni di base uguali o migliorate del sistema è stata testata l'equivalenza delle procedure di estrazione utilizzate sul sistema EZ2 Connect MDx. Durante i test di equivalenza, è stata confermata inoltre la compatibilità con diverse applicazioni downstream (inclusa qPCR).

Tuttavia, poiché sono stati utilizzati solo metodi downstream tipici, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro all'interno della propria applicazione specifica per stabilire parametri di prestazione appropriati.

Congelamento-scongelo di campioni

Si sconsiglia di ricongelare i campioni scongelati oppure di conservare i campioni per oltre 6 ore a 2-8°C, perché ciò comporta rese e qualità significativamente ridotte degli acidi nucleici virali o del DNA batterico.

Precisione

L'NA è stato estratto da un campione di plasma di 200 µl con l'aggiunta di HCV a una concentrazione di 1E+04 UI/ml ed eluito in 150 µl. In totale, sono stati eseguiti 12 processi di purificazione con tre operatori diversi, su 3 dispositivi diversi (per tipo di strumento) e in 3 giorni diversi. I dati di precisione intra-processo sono mostrati come deviazioni standard dei valori CT (Figura 7).

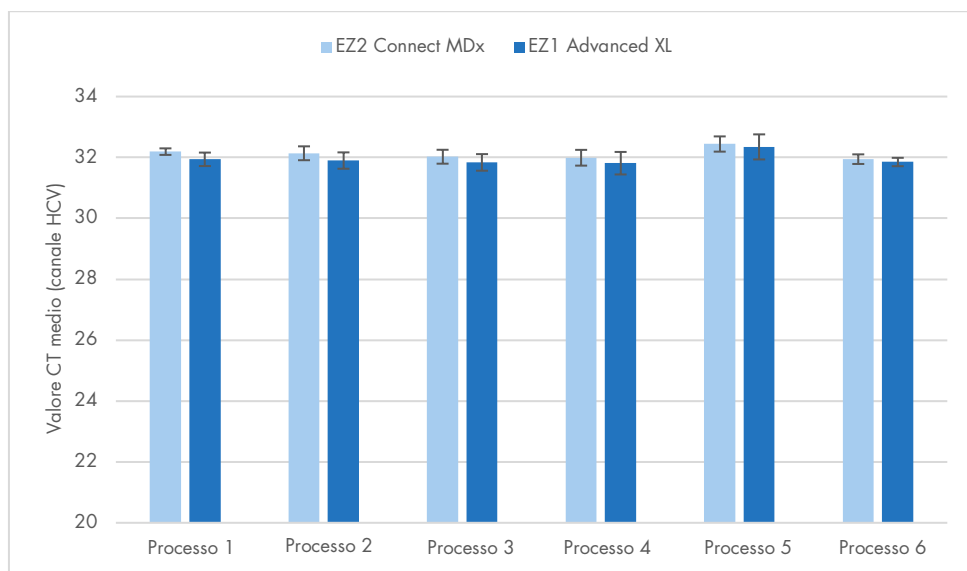


Figura 7. Valori medi di Ct di tutti i processi utilizzando un esame RT-PCR per HCV. Prima dell'uso, il plasma è stato raccolto, raggruppato in pool e preparato con il rispettivo titolo virale. L'NA è stato purificato da aliquote di 200 µl in 6 processi di 12 replicati ciascuno su EZ1 Advanced XL ed EZ2 Connect MDx utilizzando il sistema EZ1 DSP Virus. Per ogni processo sono mostrati i valori medi di CT e le deviazioni standard.

Sono stati determinati i CV per l'estrazione di NA dal plasma. Nella Tabella 11 sono riportati i dati di precisione.

Tabella 11. Analisi delle stime di precisione – variabilità intra-processo

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

È stato determinato che la variabilità intra-processo dello strumento EZ2 Connect MDx è equivalente alla variabilità intra-processo sullo strumento EZ1 Advanced XL quando si utilizza il kit EZ1 DSP Virus Kit in test di equivalenza.

Inoltre, è stata determinata la variabilità inter-processo per lo strumento EZ2 Connect MDx (Tabella 12).

Tabella 12. Analisi delle stime di precisione – variabilità inter-processo

Precisione	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-processo (processo 1-6)	0,82	1,06

L'analisi statistica ha mostrato parità di prestazioni dello strumento EZ2 Connect MDx rispetto allo strumento EZ1 Advanced XL.

Campione in ingresso/eluito in uscita

Il sistema EZ1 DSP Virus su EZ2 Connect MDx offre la possibilità di combinare diversi volumi di campione in ingresso (100, 200 o 400 µl) con diversi volumi di eluito in uscita (60, 90, 120 o 150 µl). I test sulle prestazioni complessive delle procedure di estrazione utilizzate sul sistema EZ2 Connect MDx hanno mostrato prestazioni uguali a quelle del sistema EZ1 Advanced XL.

A seconda del flusso di lavoro completo (preparazione dei campioni in combinazione con una specifica applicazione downstream), può esserci una combinazione molto vantaggiosa di campione in ingresso e volume di eluizione che può aiutare a ottimizzare, ad esempio, la resa e la concentrazione di NA finali o a ridurre ulteriormente al minimo la potenziale influenza delle sostanze interferenti residue. Diverse applicazioni downstream anche per lo stesso materiale campione potrebbero richiedere diverse combinazioni di campione in ingresso/eluito in uscita. Pertanto, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro nell'ambito della propria applicazione specifica per stabilire i parametri di prestazione appropriati.

Sensibilità

Utilizzando campioni di plasma con una concentrazione di HBV vicina al limite di sensibilità (circa 18 UI/ml), sono stati eseguiti 18 processi di purificazione su EZ2 Connect MDx ed EZ1 Advanced XL da un operatore su tre dispositivi diversi (per tipo di strumento) in 3 giorni, utilizzando 400 µl di campione in ingresso e 90 µl di volume di eluizione. Tutti gli eluiti sono stati sottoposti ad analisi qualitativa utilizzando un esame PCR per HBV idoneo a rilevare o meno il target. Essendo vicini al limite di sensibilità, non ci si aspetta che tutti i replicati siano determinati come positivi. È stato tuttavia possibile confermare che il numero di replicati positivi è statisticamente equivalente.

Tabella 13. Riepilogo dei risultati del test di sensibilità di tutti i processi di EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx – Successi di campioni HBV positivi									
N. di successi	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% di successi	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabella 14. Riepilogo dei risultati del test di sensibilità di tutti i processi di EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL – Successi di campioni HBV positivi									
N. di successi	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% di successi	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabella 15. Riepilogo della sensibilità con i risultati del test esatto di Fisher

Classificazioni corrette EZ2	Classificazioni corrette EZ1	Valore P del test esatto di Fisher (2 code)
91,55%	94,44%	0,532

L'analisi statistica ha mostrato parità di prestazioni dello strumento EZ2 Connect MDx rispetto allo strumento EZ1 Advanced XL.

Stabilità degli eluiti

I dati sulla stabilità degli eluiti generati utilizzando l'EZ1 Advanced XL, l'EZ1 Advanced o il BioRobot EZ1 si applicano anche allo strumento EZ2 Connect MDx (vedere pagina 2). La composizione del campione e del kit è identica per i sistemi di strumenti da utilizzare con l'EZ1 DSP Virus Kit. Inoltre, per mostrare prestazioni uguali del sistema è stata testata l'equivalenza delle procedure di estrazione utilizzate sul sistema EZ2 Connect MDx. Le istruzioni per la manipolazione dell'eluito si applicano a tutti i sistemi automatici da utilizzare con il kit.

Tuttavia, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro nell'ambito della propria applicazione specifica per stabilire i parametri di prestazione appropriati.

Sostanze interferenti

L'influenza delle sostanze interferenti è stata determinata utilizzando l'EZ1 Advanced XL. Questi dati sono validi anche per lo strumento EZ2 Connect MDx (vedere pagina 12). La composizione del campione e del kit è identica per i sistemi di strumenti da utilizzare con l'EZ1 DSP Virus Kit. I volumi di ingresso del campione e di uscita dell'eluato sono identici, per cui non si prevede nessun impatto sul tipo o sulla concentrazione delle sostanze interferenti negli eluiti. Inoltre, per mostrare prestazioni uguali del sistema è stata testata l'equivalenza delle procedure di estrazione utilizzate sul sistema EZ2 Connect MDx. Le istruzioni per la manipolazione del campione e dell'eluato si applicano a tutti i sistemi automatici da utilizzare con il kit.

Tuttavia, è responsabilità dell'utente convalidare l'intero flusso di lavoro nell'ambito della propria applicazione specifica per stabilire i parametri di prestazione appropriati.






Contaminazione crociata

Il rischio di contaminazione crociata dell'EZ1 DSP Virus Kit utilizzato su EZ2 Connect MDx è stato analizzato eseguendo dieci processi (400 µl in ingresso, 60 µl di eluizione) con schemi a scacchiera alternati in 2 giorni da un operatore. Per rilevare il carryover da campione a campione, i processi sono stati eseguiti con campioni di plasma positivi (con aggiunta di HBV) e negativi (senza aggiunta di HBV) in posizione alternata. Un processo ogni due è stato eseguito utilizzando solo campioni di plasma negativi all'HBV. Tutti gli eluiti sono stati analizzati con un esame PCR per HBV adeguato.

Tutti i campioni positivi a HBV sono risultati positivi nella PCR e tutti i campioni di plasma negativi a HBV sono risultati negativi. Non è stata rilevata nessuna contaminazione crociata per un carryover da campione a campione o da processo a processo.

Simboli

Nel presente documento compaiono i seguenti simboli. Per un elenco completo dei simboli utilizzati nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichettatura, consultare il manuale.

Simbolo	Definizione del simbolo
	Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro.
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Numero di catalogo
Rn	R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione
	Produttore
	Nota importante

Cronologia delle revisioni

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	<p>Versione 5, revisione 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Generazione del documento per la nuova versione del kit. Aggiunta di dati per EZ2 Connect MDx• Rimozione del materiale campione sangue intero, urine, tamponi asciutti, espettorato dall'uso previsto

Per informazioni aggiornate sulle licenze e sulle esclusioni di responsabilità specifiche del prodotto, vedere il manuale del kit QIAGEN o il manuale utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (gruppo QIAGEN); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

