

Instrucțiuni de utilizare pentru EZ1[®] DSP Virus Kit (Caracteristici de performanță)

Versiunea 5



A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro
A se utiliza cu EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Caracteristicile de performanță sunt disponibile în format electronic la fila cu resurse de pe pagina produsului la www.qiagen.com.

Introducere generală

EZ1 DSP Virus Kit este destinat purificării acizilor nucleici virali și a ADN-ului bacterian din plasmă, ser, LCR, materii fecale și tampoane nazofaringiene recoltate în Universal Transport Medium™ (mediu de transport universal) (UTM®). Tehnologia cu particule magnetice oferă acizi nucleici de înaltă calitate (AN) adecvați pentru utilizare directă în aplicații din aval, precum PCR și amplificare qPCR. Instrumentele EZ1 și EZ2® Connect MDx efectuează toate etapele procedurii de preparare a probelor, pentru până la 6 probe (utilizând EZ1 Advanced sau BioRobot® EZ1 DSP, ambele scoase din producție), pentru până la 14 probe (utilizând EZ1 Advanced XL) sau până la 24 de probe (utilizând EZ2 Connect MDx) într-o singură testare.

Volumul probei la introducere poate fi selectat dintre 100, 200 sau 400 µl, iar volumul de eluție AN poate fi selectat dintre 60, 90, 120 sau 150 µl.

Performanța sistemului EZ1 DSP Virus Kit a fost stabilită în cadrul studiilor de evaluare a performanței, utilizând plasmă, ser, LCR, materii fecale și tampoane nazofaringiene recoltate în UTM pentru izolarea AN virali și a ADN-ului bacterian. Cu toate acestea, performanța kitului nu este garantată pentru fiecare specie de virus sau bacterie, și trebuie validată de utilizator. Utilizatorul răspunde de validarea performanței sistemului pentru orice proceduri utilizate în laborator care nu fac obiectul studiilor de evaluare a performanței efectuate de QIAGEN®.

Caracteristicile de performanță ale instrumentelor EZ1

Rețineți: Caracteristicile de performanță depind în mare măsură de diverși factori și de aplicația din aval specifică. Performanța EZ1 DSP Virus Kit a fost stabilită prin asociere cu aplicațiile din aval tipice. Cu toate acestea, metodele de izolare a acizilor nucleici din specimene biologice sunt utilizate ca procedură inițială pentru multiple aplicații din aval. Astfel, parametrii de performanță, precum influența substanțelor de interferență exogene, contaminarea încrucișată sau precizia de execuție, trebuie să fie stabiliți pentru orice astfel de flux de lucru ca parte a dezvoltării aplicației din aval. Prin urmare, utilizatorul este responsabil de validarea întregului flux de lucru pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Performanța de bază și compatibilitatea cu diferite aplicații din aval

Se pot utiliza diverse tuburi primare și anticoagulanți pentru a recolta probele de sânge pentru procedura EZ1 DSP Virus. Performanța de bază a EZ1 DSP Virus Kit a fost evaluată utilizând 6 donatori individuali pentru extragerea de AN virali din 4 tuburi diferite de recoltare a sângelui. Tabelul 1 oferă o prezentare generală a tuburilor de recoltare a probelor care au fost utilizate pentru evaluarea sistemului. După prepararea plasmei sau a serului, probele au fost îmbogățite cu titru viral dedicat de hepatită C (HCV) sau hepatită B (HBV). Cu ajutorul unor sisteme qPCR adecvate, s-a determinat titrul viral pentru fiecare probă. Titrul viral mediu utilizând diferite tuburi primare este prezentat în Figura 1.

Tabelul 1. Tuburi de recoltare a sângelui testate cu sistemul EZ1 DSP Virus

Tub primar	Producător	Nr. cat.*	Conservant/anticoagulant
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gel – plasmă
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – plasmă
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Citrat de sodiu – plasmă
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – ser

* Numerele de catalog se pot modifica; vă rugăm să verificați la producător sau la furnizor.

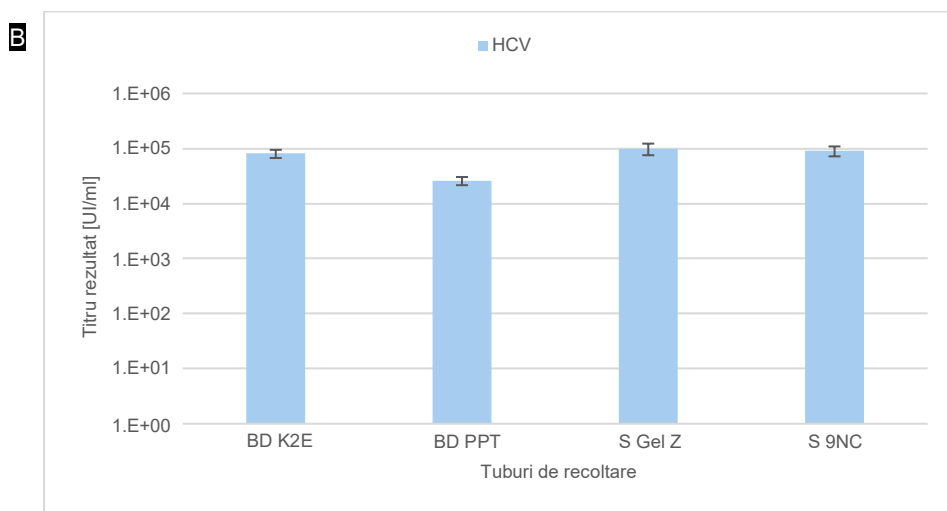
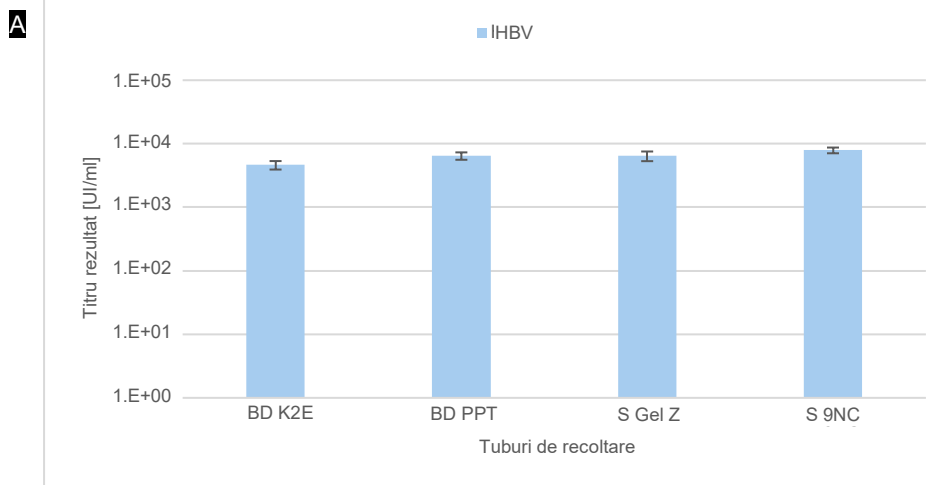


Figura 1. Performanța de bază utilizând tuburi de recoltare și anticoagulanți diferiți. S-au recoltat probe de sânge de la 6 donatori sănătoși în diferite tipuri de tuburi pentru a pregăti plasmă sau ser, cu câte 10 duplicate pentru fiecare tub de donator. Tuburile utilizate sunt enumerate în Tabelul 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** ADN-ul viral a fost purificat din probe de 200 μ l, cu eluție în 90 μ l. **B:** ARN-ul viral a fost purificat din probe de 200 μ l cu eluție în 90 μ l. Randamentele AN de la fiecare donator și din fiecare tub au fost determinate prin analiză qPCR. Coloanele indică rezultatele medii ale titrului viral cu abaterea standard.

Intervalul liniar pentru EZ1 DSP Virus Kit a fost evaluat utilizând Adenovirus 5 ca virus ADN adăugat la probele de materii fecale. Testările au fost efectuate cu diluții 10x în serie ale supernatantului din cultură de celule în materii fecale negative la Adenovirus. S-au testat serii de diluții cu 5 diluții diferite de virus, a câte 10 duplicate fiecare. Acizii nucleici virali au fost extrași din probe de 200 μ l (1:10 resuspendate în Buffer ASL*) și eluați în 120 μ l. Intervalul liniar al procedurii EZ1 DSP Virus a fost determinat în combinație cu un test qPCR adecvat în comparație cu o metodă de extracție a ADN-ului pe bază de coloană rotativă (Figura 2).

* QIAGEN GmbH, nr. cat. 190822

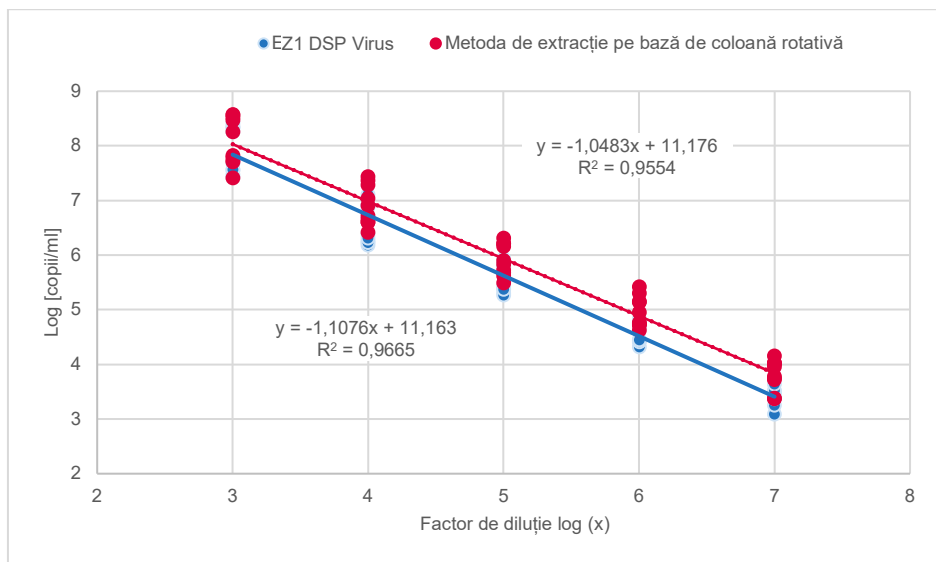


Figura 2. Intervalul liniar al titrului viral utilizând protocolul EZ1 DSP Virus. Sunt prezentate rezultatele unui test PCR adecvat pentru Adenovirus în combinație cu eluații din extracția Adenovirusului 5 din probe de materii fecale, utilizând fie EZ1 DSP Virus Kit, fie o metodă de extracție a ADN-ului pe bază de coloană rotativă.

Au fost generate date suplimentare privind intervalul liniar prin adăugarea de citomegalovirus (CMV) ca virus ADN în probele de plasmă EDTA pregătite de la 1 donator. S-au testat serii de diluții cu 7 diluții diferite de virus, a câte 9 duplicate fiecare. S-au extras acizii nucleici virali din probe de 400 μl și au fost eluați în 60 μl pe EZ1 Advanced XL. Intervalul liniar a fost determinat în combinație cu un test PCR adecvat pentru CMV.

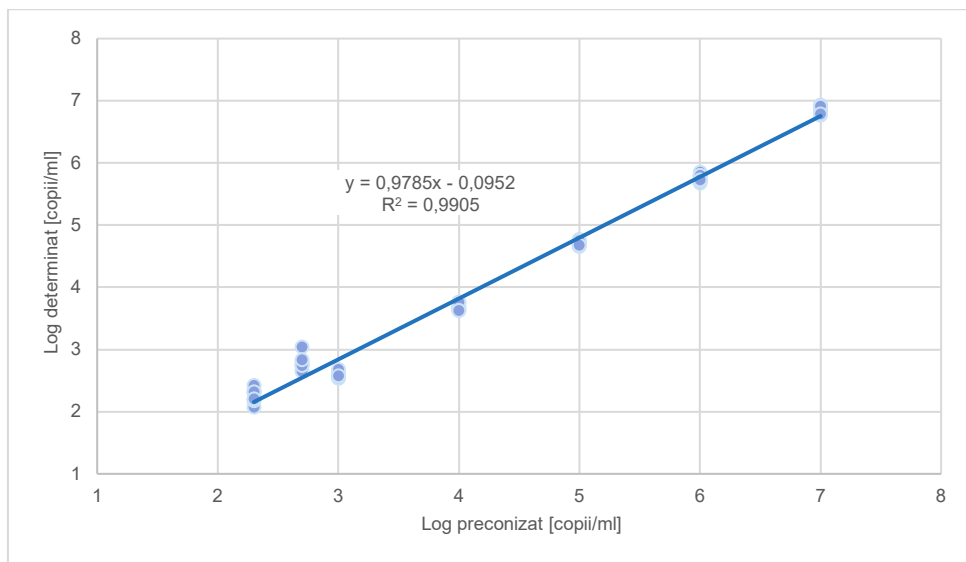


Figura 3. Intervalul liniar al titrului viral utilizând protocolul EZ1 DSP Virus. Sunt prezentate rezultatele unui test PCR adecvat pentru CMV în combinație cu eluații de la extracția CMV din probele de plasmă EDTA.

S-au analizat eluații AN purificați din diferite materiale de probă utilizând sistemul EZ1 DSP Virus, aceștia demonstrând compatibilitate cu diferite teste real-time PCR cantitative (qPCR).

Congelarea și decongelarea probelor

Nu se recomandă recongelarea probelor decongelate sau depozitarea probelor mai mult de 6 ore la o temperatură de 2-8°C, deoarece aceste acțiuni duc la randamente și calitate semnificativ reduse ale acizilor nucleici virali sau ale ADN-ului bacterian.

Precizie

Abaterile standard și CV au fost determinate pentru diluții HIV-1 și CMV în intervalul linear al testelor din aval corespunzătoare. AN au fost extrași din proba de plasmă de 400 μl îmbogățită cu materialul viral respectiv și au fost eluați în 120 μl. În total, s-au efectuat 7 serii de purificare pentru fiecare diluție virală cu un singur operator, pe 3 instrumente și în 3 zile diferite. Eluații au fost analizați utilizând un test RT-PCR adecvat pentru HIV și un test PCR pentru CMV. Datele de precizie intra-testare sunt prezentate ca abatere standard în Figura 4.

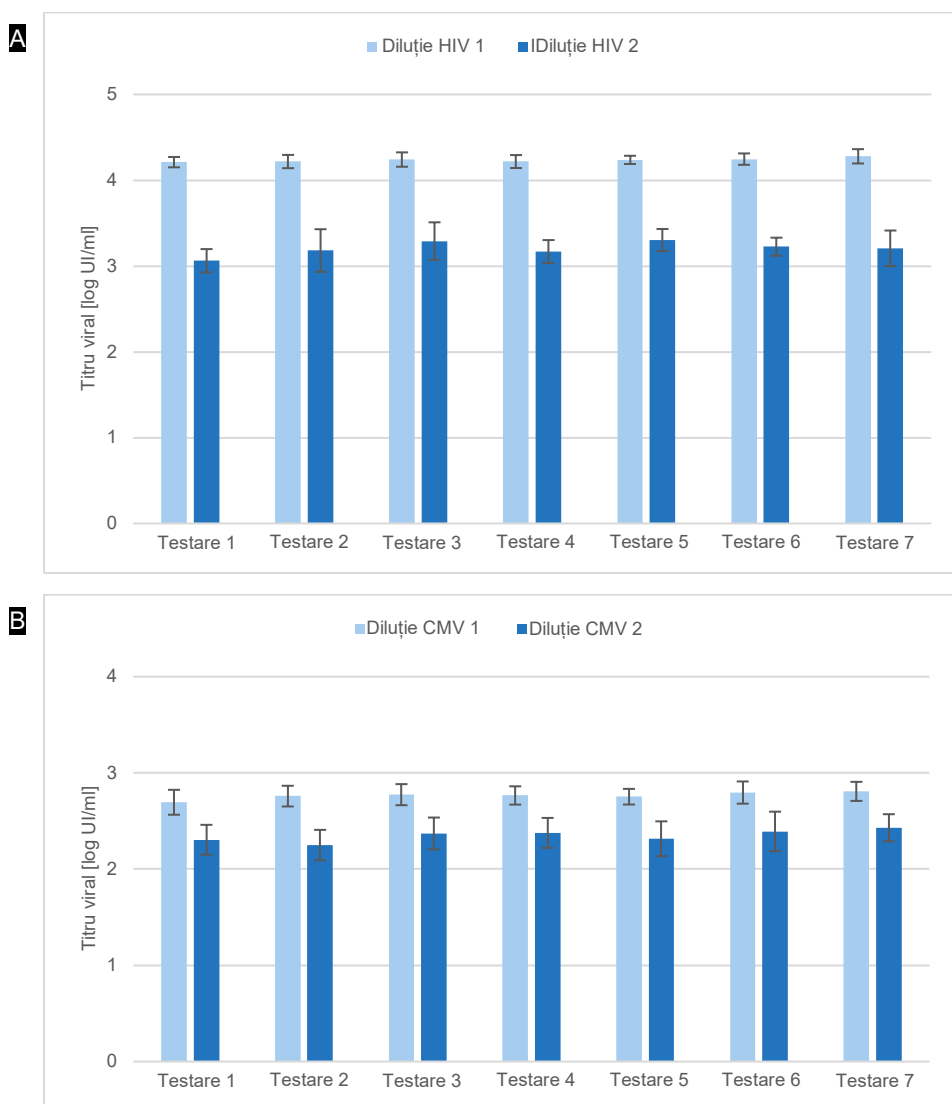


Figura 4. Precizia intra-testare utilizând sistemul EZ1 DSP Virus. Plasma a fost recoltată, comasată și preparată cu titrul viral respectiv înainte de utilizare (**A**: HIV; **B**: CMV). AN au fost purificați din alicote de 400 μl în cadrul a 7 testări a câte 14 duplicate fiecare, pe instrumentul EZ1 Advanced XL și utilizând sistemul EZ1 DSP Virus. Titrul viral mediu și abaterea standard sunt indicate pentru fiecare testare.

S-au determinat CV pentru extracția AN din probele de plasmă. Datele de precizie sunt prezentate în Tabelul 2 și Tabelul 3.

Tabelul 2. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate intra-testare (HIV)

Precizie (HIV)	CV (%) (Diluția 1)	CV (%) (Diluția 2)
Intra-testare (Testarea 1)	1,43	4,45
Intra-testare (Testarea 2)	1,83	7,82
Intra-testare (Testarea 3)	1,98	6,64
Intra-testare (Testarea 4)	1,79	4,21
Intra-testare (Testarea 5)	1,13	3,92
Intra-testare (Testarea 6)	1,56	3,27
Intra-testare (Testarea 7)	1,95	6,46

Tabelul 3. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate intra-testare (CMV)

Precizie (CMV)	CV (%) (Diluția 1)	CV (%) (Diluția 2)
Intra-testare (Testarea 1)	4,81	6,71
Intra-testare (Testarea 2)	3,90	7,03
Intra-testare (Testarea 3)	3,95	7,01
Intra-testare (Testarea 4)	3,44	6,54
Intra-testare (Testarea 5)	2,96	7,81
Intra-testare (Testarea 6)	4,13	8,60
Intra-testare (Testarea 7)	3,53	5,79

În plus, s-a determinat variabilitatea inter-testări pentru ambele diluții virale (Tabelul 4).

Tabelul 4. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate inter-testări (HIV, CMV)

Precizie (CMV)	CV (%) (Diluția 1)	CV (%) (Diluția 2)
Inter-testări (Testarea 1-7) HIV	1,72	5,81
Inter-testări (Testarea 1-7) CMV	3,92	7,30

S-au determinat abaterile standard și coeficienții de variație (CV) pentru materii fecale pentru Adenovirus 5 utilizând testul PCR compatibil cu Adenovirus. Materiile fecale negative la Adenovirus au fost îmbogățite cu supernatant din cultură de celule de Adenovirus 5. ADN-ul viral a fost extras din probe de 200 μl (resuspensie 1:10 în Buffer ASL*) și eluat în 120 μl. În total, s-au efectuat 7 serii de purificare cu un operator, pe trei instrumente EZ1 Advanced XL, în 3 zile diferite și în 3 combinații de loturi de EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Toate probele au fost analizate în cadrul aceleiași testări PCR. Datele de precizie intra-testare sunt prezentate ca abatere standard în Figura 5.

* QIAGEN GmbH, nr. cat. 19082

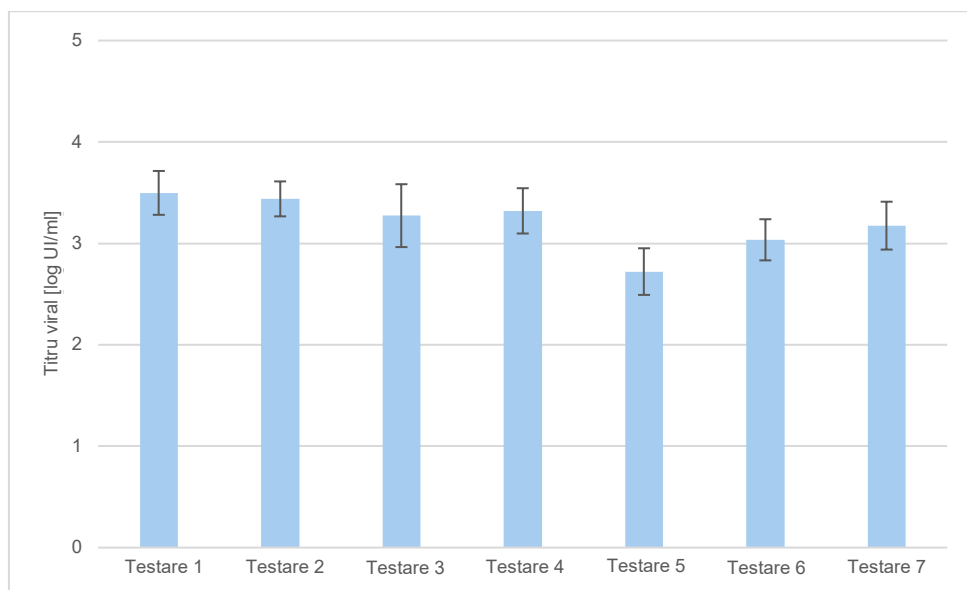


Figura 5. Precizia intra-testare utilizând sistemul EZ1 DSP Virus. Probele de materii fecale au fost recoltate, comasate și preparate cu titrul viral respectiv înainte de utilizare. AN au fost purificați din alicote de 200 μ l în cadrul a 7 testări a câte 9/10 duplicate fiecare, pe instrumentul EZ1 Advanced XL. Titrul viral mediu și abaterea standard sunt indicate pentru fiecare testare.

S-au determinat CV pentru extracția AN din probele de materii fecale. Datele de precizie sunt prezentate în Tabelul 5.

Tabelul 5. Analiza estimărilor de precizie (Adenovirus 5) – variabilitate intra-testare

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

În plus, s-a determinat variabilitatea inter-testări (Tabelul 6).

Tabelul 6. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate inter-testări

Precizie	CV (%)
Inter-testări (Testarea 1-7)	10,54

S-au determinat abaterile standard și CV pentru mediile de transport pentru HSV-1 și *Chlamydia trachomatis* utilizând un test PCR adecvat pentru HSV1 și un test PCR adecvat pentru *C. trachomatis*. S-a extras ADN-ul viral și bacterian dintr-un UTM de 400 μ l și s-a eluat în 60 μ l. În total, s-au efectuat 6 serii de purificare cu un operator, în 3 zile diferite, cu 3 loturi de EZ1 DSP Virus Kit. Toate probele au fost analizate în cadrul aceleiași testări PCR. Datele de precizie intra-testare sunt prezentate ca abateri standard în Figura 6.

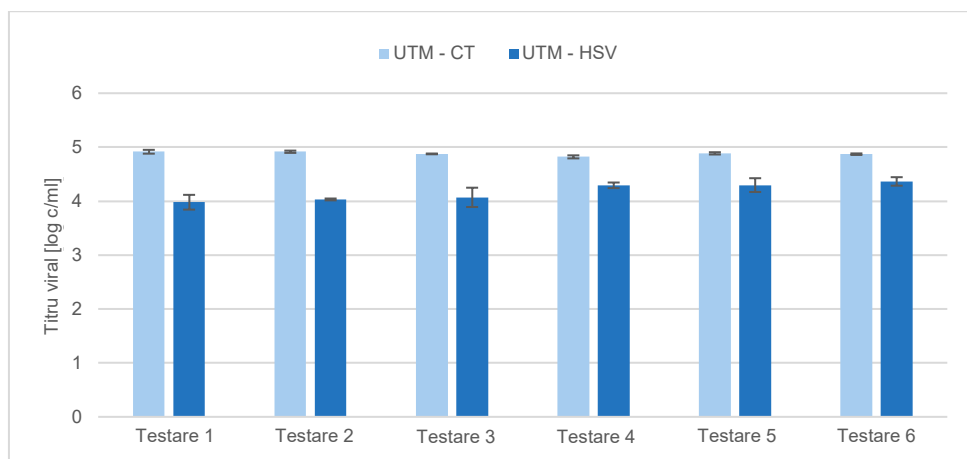


Figura 6. Precizia intra-testare utilizând sistemul EZ1 DSP Virus. UTM-ul a fost preparat cu titrul viral respectiv înainte de utilizare. AN au fost purificați din alicote de 400 µl în cadrul a 6 testări a câte 2 duplicate fiecare, pe instrumentul EZ1 Advanced XL. Titrul viral mediu și abaterea standard sunt indicate pentru fiecare testare.

S-au determinat CV pentru extracția AN din probele UTM. Datele de precizie sunt prezentate în Tabelul 7.

Tabelul 7. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate intra-testare (CT și HSV)

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

În plus, s-a determinat variabilitatea inter-testări (Tabelul 8).

Tabelul 8. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate inter-testări

Precizie	CV (%) CT	CV (%) HSV
Inter-testări (Testarea 1-6)	0,77	4,25

Introducere probă/ieșire eluat

Sistemul EZ1 DSP Virus de pe familia de instrumente EZ1 oferă posibilitatea de a combina diferite volume ale probei la introducere (100, 200 sau 400 µl) cu diferite volume ale eluatului la ieșire (60, 90, 120 sau 150 µl). Performanța generală a procedurilor de extracție utilizate pe familia de instrumente EZ1 a fost verificată utilizând diferite combinații posibile de introducere a probei și de ieșire a eluatului.

Datele diferitelor studii au demonstrat că randamentul AN este cel mai ridicat când se combină volume mari ale probei la introducere cu volume mari ale eluatului la ieșire. Cea mai ridicată concentrație de AN se înregistrează cu volume mari ale probei la introducere și volume mici ale eluatului la ieșire. În funcție de fluxul de lucru complet (pregătirea probei în combinație cu o aplicație specifică din aval), poate exista cea mai benefică combinație între introducerea probei și volumul de eluție care poate contribui la optimizarea, de exemplu, a randamentului și a concentrației finale a AN sau la minimizarea potențialei influențe a substanțelor de interferență reziduale. Aplicațiile în aval diferite, chiar și pentru același material de probă, pot necesita combinații diferite de introducere a probei/de ieșire a eluatului. Prin urmare, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru în cadrul aplicației specifice pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Stabilitatea eluatului

Stabilitatea eluatului pentru EZ1 DSP Virus Kit a fost evaluată utilizând ARN și ADN viral extras din probe de plasmă EDTA umană. Eluații au fost depozitați la temperaturi diferite și pe perioade de timp diferite și au fost analizați din punct de vedere al stabilității cu ajutorul unui test PCR intern validat.

Rezultatele au demonstrat stabilitatea acizilor nucleici timp de până la 24 de ore atunci când sunt depozitați la 2-8°C, timp de până la 12 săptămâni atunci când sunt depozitați la -20°C și timp de până la 12 luni atunci când sunt depozitați la -80°C.

Stabilitatea acizilor nucleici poate fi diferită pentru aplicația specifică din aval utilizată și necesită autovalidarea de către utilizator.

Substanțe de interferență

Influența substanțelor de interferență exogene asupra sistemului EZ1 DSP Virus a fost analizată prin testarea unor concentrații definite (de 3 ori mai mare decât concentrația maximă acută în urma tratamentului medicamentos terapeutic, conform recomandărilor din Ghidul CLSI EP7-A2) de diferite substanțe (Tabelul 9). Acestea au fost adăugate în probe de plasmă EDTA, fie pozitive, fie negative la CMV, și au fost comparate cu plasma negativă la substanțe de interferență. Eluații AN au fost analizați utilizând un test PCR adecvat pentru CMV.

Rețineți: Testele au fost efectuate utilizând aplicații tipice din aval pentru evaluarea calității acizilor nucleici extrași. Cu toate acestea, diferitele aplicații din aval pot avea cerințe diferite în ceea ce privește puritatea (și anume absența potențialelor substanțe de interferență), astfel că identificarea și testarea substanțelor relevante trebuie, de asemenea, să fie stabilite ca parte a dezvoltării aplicației din aval pentru orice flux de lucru care implică EZ1 DSP Virus Kit.

Tabelul 9. Concentrațiile de testare ale potențialelor substanțe de interferență adăugate în plasma EDTA

Substanțe de interferență	Concentrație de testare finală
Sulfametoxazol	200 mg/l
Trimetoprim	5,2 mg/l
Claforan (Cefotaxim)	1 g/l
Tazobac (Piperacilină + Tazobactam)	Piperacilină: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcilină	1 g/l
Augmentin (Amoxicilină + Acid clavulanic)	Amoxicilină: 125 mg/l Acid clavulanic: 25 mg/l
Vancomicină	125 mg/l
Fluconazol	1 mg/l
Rapamicină	100 mg/l
Micofenolat de sodiu	80 mg/l

Niciuna dintre concentrațiile substanțelor de interferență testate nu a prezentat nicio influență semnificativă asupra performanței testului PCR CMV în combinație cu sistemul EZ1 DSP Virus în ceea ce privește specificitatea, sensibilitatea și cuantificarea fiabilă.

Testarea suplimentară a substanțelor de interferență exogene cu sistemul EZ1 DSP Virus a fost efectuată prin adăugarea unor concentrații definite de diferite substanțe (Tabelul 10) în tampoanele nazofaringiene recoltate în UTM. Materialul de probă a fost îmbogățit cu tulpini de gripă de tip A și B, iar eluații AN au fost analizați utilizând un test RT-PCR adecvat pentru gripa de tip A/B.

Tabelul 10. Concentrații de testare ale potențialelor substanțe de interferență adăugate la tamponale nazofaringiene recoltate în UTM

Substanțe de interferență	Concentrație de testare finală
Sânge uman	5% v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl cu conservanți	10% v/v din probă
Fenilefrină	10% v/v din probă
Oximetazolină	10% v/v din probă
Budesonidă	40 µg/ml
Propionat de fluticazonă	2,5% v/v din probă
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Sulf	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Dipropionat de beclometazonă	61,73 µg/ml
Flunisolidă	25 µg/ml
Acetonidă de triamcinolon	27,5 µg/ml
Guaifenesin	1,33 mg/ml
Clorhidrat de difenhidramină	0,5 mg/ml
Bromhidrat de dextrometorfan	1 mg/ml
Clorhidrat de pseudoefedrină	20 µg/ml
Benzocaină	1,44 mg/ml
Mentol	5 mg/ml
Tobramycin	0,3 mg/ml
Mupirocin	2 mg/ml
Amoxicilină	1 mg/ml
Dexametazonă	1,53 µmol/l

Niciuna dintre concentrațiile substanțelor de interferență testate nu a prezentat nicio influență semnificativă asupra performanței testului RT-PCR pentru gripă de tip A/B în combinație cu sistemul EZ1 DSP Virus.

Contaminare încrucișată

Riscul de contaminare încrucișată a sistemului EZ1 DSP Virus a fost analizat prin efectuarea a 9 testări pe instrumentul EZ1 Advanced cu tipare alternative de tablă de șah. Pentru a detecta transferul de la o probă la alta, testările au fost efectuate cu probe de plasmă pozitive la ParvoB19/CMV și probe de plasmă negative la ParvoB19/CMV în poziții alternative. Una din trei testări a fost efectuată utilizând numai probe de plasmă negative. Toți eluații au fost testați utilizând un test PCR adecvat pentru CMV, precum și un test PCR adecvat pentru Parvo B19.

Toate probele pozitive la ParvoB19/CMV au fost pozitive cu testul PCR și toate probele negative la ParvoB19/CMV au fost negative. Nu s-a detectat contaminare încrucișată în cazul unui transfer de la o probă la alta sau de la o testare la alta.

Caracteristici de performanță ale EZ2 Connect MDx

Caracteristicile de performanță pentru EZ2 Connect MDx au fost stabilite în cadrul unor studii de echivalență cu EZ1 Advanced XL utilizând EZ1 DSP Virus Kit. Caracteristicile de performanță ale kitului, precum stabilitatea eluatului sau performanța de bază, sunt valabile pentru toate sistemele de instrumente enumerate în instrucțiunile de utilizare ale EZ1 DSP Virus Kit, deoarece kitul, ca parte a sistemului, este același pentru diferitele platforme automate.

Rețineți: Caracteristicile de performanță depind în mare măsură de diverși factori și de aplicația din aval specifică. Performanța EZ1 DSP Virus Kit a fost stabilită prin asociere cu aplicațiile din aval tipice. Cu toate acestea, metodele de izolare a acizilor nucleici din specimene biologice sunt utilizate ca procedură inițială pentru multiple aplicații din aval. Astfel, parametrii de performanță, precum influența substanțelor de interferență exogene, contaminarea încrucișată sau precizia de execuție, trebuie să fie stabiliți pentru orice astfel de flux de lucru ca parte a dezvoltării aplicației din aval. Prin urmare, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Performanța de bază și compatibilitatea cu diferite aplicații din aval

Datele de performanță de bază generate utilizând EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced sau BioRobot EZ1 se aplică și instrumentului EZ2 Connect MDx (consultați pagina 2). Compoziția probei și kitul sunt identice pentru sistemele de instrumente care se utilizează cu EZ1 DSP DNA Blood Kit. În plus, s-a testat echivalența procedurilor de extracție utilizate pe sistemul EZ2 Connect MDx pentru a demonstra o performanță de bază egală sau superioară a sistemului. În cursul testelor de echivalență, s-a confirmat și compatibilitatea cu diferite aplicații din aval (inclusiv qPCR).

Cu toate acestea, întrucât s-au utilizat numai metode tipice din aval, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru în cadrul aplicației specifice pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Congelarea și decongelarea probelor

Nu se recomandă recongelarea probelor decongelate sau depozitarea probelor mai mult de 6 ore la o temperatură de 2-8°C, deoarece aceste acțiuni duc la randamente și calitate semnificativ reduse ale acizilor nucleici virali sau ale ADN-ului bacterian.

Precizie

AN au fost extrași din proba de plasmă de 200 μl îmbogățită cu HCV la o concentrație de 1E+04 UI/ml și au fost eluați în 150 μl. În total, s-au efectuat 12 serii de purificare cu trei operatori diferiți, pe 3 dispozitive diferite (pentru fiecare tip de instrument) și în 3 zile diferite. Datele de precizie intra-testare sunt prezentate ca abateri standard ale valorilor CT (Figura 7).

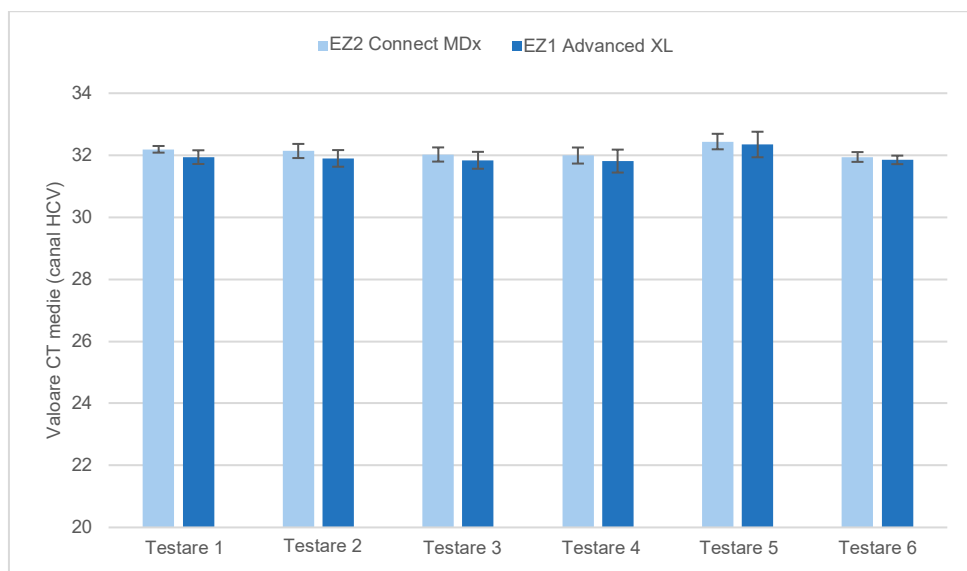


Figura 7. Valori CT ale tuturor testărilor utilizând un test RT-PCR pentru HCV. Plasma a fost recoltată, comasată și preparată cu titrul viral respectiv înainte de utilizare. AN au fost purificați din alicote de 200 μ l în cadrul a 6 testări a câte 12 duplicate fiecare, pe EZ1 Advanced XL și EZ2 Connect MDx, utilizând sistemul EZ1 DSP Virus. Valorile CT medii și abaterile standard sunt indicate pentru fiecare testare.

S-au determinat CV pentru extracția AN din plasmă. Datele de precizie sunt prezentate în Tabelul 11.

Tabelul 11. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate intra-testare

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

S-a stabilit că variabilitatea intra-testare pentru instrumentul EZ2 Connect MDx este echivalentă cu variabilitatea intra-testare a instrumentului EZ1 Advanced XL, atunci când se utilizează EZ1 DSP Virus Kit în testele de echivalență.

În plus, s-a determinat variabilitatea inter-testări pentru instrumentul EZ2 Connect MDx (Tabelul 12).

Tabelul 12. Analiza estimărilor de precizie – variabilitate inter-testări

Precizie	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-testări (Testarea 1-6)	0,82	1,06

Analiza statistică a demonstrat o performanță egală a instrumentului EZ2 Connect MDx în comparație cu instrumentul EZ1 Advanced XL.

Introducere probă/ieșire eluat

Sistemul EZ1 DSP Virus pe EZ2 Connect MDx oferă posibilitatea de a combina diferite volume ale probei la introducere (100, 200 sau 400 µl) cu diferite volume ale eluatului la ieșire (60, 90, 120 sau 150 µl). Testarea performanței generale a procedurilor de extracție utilizate pe EZ2 Connect MDx a demonstrat o performanță egală a sistemului în raport cu EZ1 Advanced XL.

În funcție de fluxul de lucru complet (pregătirea probei în combinație cu o aplicație specifică din aval), poate exista cea mai benefică combinație între introducerea probei și volumul de eluție care poate contribui la optimizarea, de exemplu, a randamentului și a concentrației finale a AN sau la minimizarea potențialei influențe a substanțelor de interferență reziduale. Aplicațiile în aval diferite, chiar și pentru același material de probă, pot necesita combinații diferite de introducere a probei/de ieșire a eluatului. Prin urmare, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru în cadrul aplicației specifice pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Sensibilitate

Utilizând probe de plasmă îmbogățite cu o concentrație HBV apropiată de limita de detecție (aproximativ 18 UI/ml), un operator a efectuat 18 serii de purificare pe EZ2 Connect MDx și EZ1 Advanced XL pe trei dispozitive diferite (pentru fiecare tip de instrument) în 3 zile, utilizând 400 µl de probă la introducere și un volum de eluție de 90 µl. Toți eluații au fost supuși unei analize calitative utilizând un test PCR adecvat pentru HBV pentru a stabili dacă ținta poate fi sau nu detectată. Fiind aproape de limita de detecție, nu se preconizează ca toate duplicatele să fie determinate ca fiind pozitive. S-a putut însă confirma că numărul de duplicate pozitive este echivalent din punct de vedere statistic.

Tabelul 13. Rezumatul rezultatelor testelor de sensibilitate pentru toate testările cu EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx – Rezultatele probelor pozitive la HBV									
Nr. de rezultate	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% din rezultate	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabelul 14. Rezumatul rezultatelor testelor de sensibilitate pentru toate testările cu EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL – Rezultatele probelor pozitive la HBV									
Nr. de rezultate	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% din rezultate	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabelul 15. Rezumatul sensibilității ilustrând rezultatele testului de exactitate Fisher

Rezultate corecte cu EZ2	Rezultate corecte cu EZ1	Valoarea P a testului de exactitate Fisher (Coadă 2)
91,55%	94,44%	0,532

Analiza statistică a demonstrat o performanță egală a instrumentului EZ2 Connect MDx în comparație cu instrumentul EZ1 Advanced XL.

Stabilitatea eluatului

Datele de stabilitate a eluatului utilizând EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced sau BioRobot EZ1 se aplică și instrumentului EZ2 Connect MDx (consultați pagina 2). Compoziția probei și a kitului sunt identice pentru sistemele de instrumente care se utilizează cu EZ1 DSP Virus Kit. În plus, s-a testat echivalența procedurilor de extracție utilizate pe sistemul EZ2 Connect MDx pentru a demonstra performanța egală a sistemului. Instrucțiunile de manipulare a eluatului se aplică tuturor sistemelor automate care se utilizează cu kitul.

Cu toate acestea, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru în cadrul aplicației specifice pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.

Substanțe de interferență

Influența substanțelor de interferență a fost determinată utilizând EZ1 Advanced XL. Aceste date se aplică și instrumentului EZ2 Connect MDx (consultați pagina 12). Compoziția probei și a kitului sunt identice pentru sistemele de instrumente care se utilizează cu EZ1 DSP Virus Kit. Volumele de introducere a probei/ieșire a eluatului sunt identice, astfel că nu se preconizează niciun impact asupra tipului sau concentrației de substanțe de interferență în eluați. În plus, s-a testat echivalența procedurilor de extracție utilizate pe sistemul EZ2 Connect MDx pentru a demonstra performanța egală a sistemului. Instrucțiunile de manipulare a probei și eluatului se aplică tuturor sistemelor automate care se utilizează cu kitul.

Cu toate acestea, utilizatorul răspunde de validarea întregului flux de lucru în cadrul aplicației specifice pentru a stabili parametrii de performanță corespunzători.






Contaminare încrucișată

Riscul de contaminare încrucișată a EZ1 DSP Virus Kit utilizat pe EZ2 Connect MDx a fost analizat prin efectuarea a zece testări (400 μl la introducere, 60 μl de eluție) cu tipare de tablă de șah alternative în 2 zile de către un operator. Pentru a detecta transferul de la o probă la alta, testările au fost efectuate cu probe de plasmă pozitive (îmbogățite cu HBV) și negative (neîmbogățite) în poziții alternative. Una din două testări a fost efectuată utilizând numai probe de plasmă negative la HBV. Toți eluații au fost analizați utilizând un test PCR adecvat pentru HBV.

Toate probele pozitive la HBV au fost pozitive cu testul PCR și toate probele de plasmă negative la HBV au fost negative. Nu s-a detectat contaminare încrucișată în cazul unui transfer de la o probă la alta sau de la o testare la alta.

Simboluri

În prezentul document apar următoarele simboluri. Pentru o listă completă a simbolurilor folosite în instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și etichete, vă rugăm să consultați manualul.

Simbol	Definiția simbolului
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 pentru dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr catalog
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii
	Producător
	Notă importantă

Istoricul revizuirilor

Ediție	Descriere
R1, iunie 2022	Versiunea 5, ediția 1 <ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="619 395 1437 459">• Generarea documentului pentru noua versiune a kitului. Se adaugă date pentru EZ2 Connect MDx<li data-bbox="619 480 1437 532">• Se elimină materialul de probă sânge integral, urină, tamponate uscate și spută de la domeniul de aplicare

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: 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.). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

