

# EZ1<sup>®</sup> DSP Virus Kit komplekta lietošanas instrukcijas (veiktspējas raksturojums)

Versija 5



Lietošanai in vitro diagnostikā  
Izmantošanai ar EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vācija

R1

Veiktspējas raksturojums ir pieejams elektroniski, un tas ir atrodams produkta lapas cilnē Resources (Resursi), vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Vispārīgs ievads

EZ1 DSP Virus Kit ir paredzēts vīrusu nukleīnskābju un baktēriju DNS izdalīšanai no plazmas, seruma, cerebrospinālā šķidrums (cerebrospinal fluid, CSF), fēču un nazofaringeālo uztriepju paraugiem, kas savākti vidē Universal Transport Medium™ (UTM®). Magnētisko daļiņu tehnoloģija nodrošina augstas kvalitātes nukleīnskābes (Nucleic Acid, NA), kas ir piemērotas tiešai izmantošanai pakārtotos lietojumos, piemēram, PCR un qPCR amplificēšanā. EZ1 un EZ2® Connect MDx instrumenti veic visus parauga sagatavošanas procedūras soļus maksimāli 6 paraugiem (izmantojot EZ1 Advanced vai the BioRobot® EZ1 DSP, abu ražošana ir pārtraukta), maksimāli 14 paraugiem (izmantojot EZ1 Advanced XL) vai maksimāli 24 paraugiem (izmantojot EZ2 Connect MDx) vienā izpildē.

Paraugu ievades tilpumu var izvēlēties kā 100, 200 vai 400 µl, un NA eluēšanas tilpumu var izvēlēties kā 60, 90, 120 vai 150 µl.

EZ1 DSP Virus Kit sistēmas veiktspēja ir noteikta veiktspējas pētījumos, izmantojot plazmas, seruma, CSF, fēču un nazofaringeālo uztriepju paraugus, kas savākti vidē UTM un paredzēti vīrusu NA un baktēriju DNS izolēšanai. Tomēr komplekta veiktspēja nav garantēta attiecībā uz katru vīrusu vai baktēriju sugu, un lietotājam tas ir jāapstiprina. Lietotājs ir atbildīgs par sistēmas veiktspējas validēšanu visām lietotāja laboratorijā izmantotajām procedūrām, kuras nav ietvertas QIAGEN® veiktspējas novērtējuma pētījumos.

# EZ1 instrumentu veikspējas raksturojums

**Piezīme.** Veikspējas raksturojums ir ļoti atkarīgs no dažādiem faktoriem, un tas ir saistīts ar konkrētu pakārtoto lietojumu. Veikspēja ir noteikta EZ1 DSP Virus Kit komplektam kopā ar tipiskajiem pakārtotajiem lietojumiem. Taču metodes nukleīnskābju izolēšanai no bioloģiskajiem paraugiem tiek izmantotas kā priekšējā apstrāde vairākiem pakārtotajiem lietojumiem. Tādējādi veikspējas parametri, piemēram, eksogēno interferējošo vielu ietekme, krusteniskā kontaminācija vai izpildes precizitāte, ir jānosaka ikkatrai šādai darbplūsmai, un šāda noteikšana veido daļu no pakārtotā lietojuma izstrādes. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

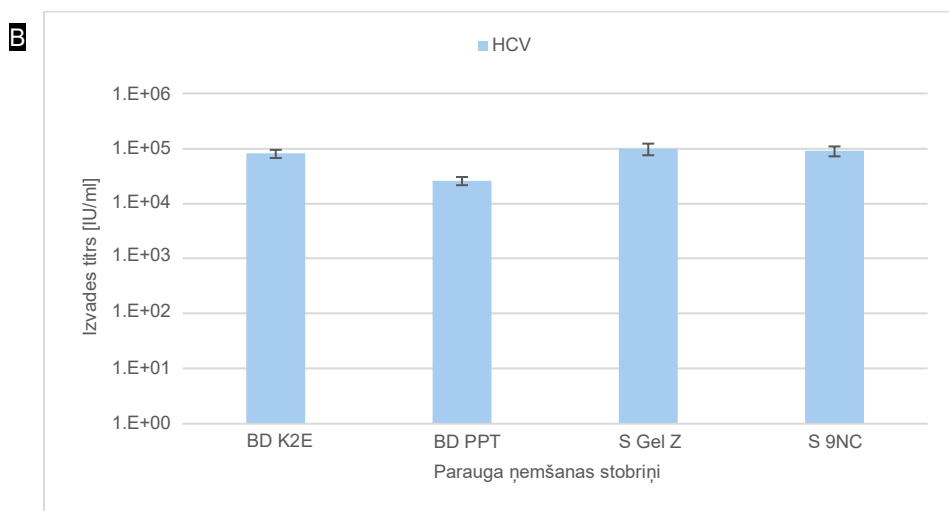
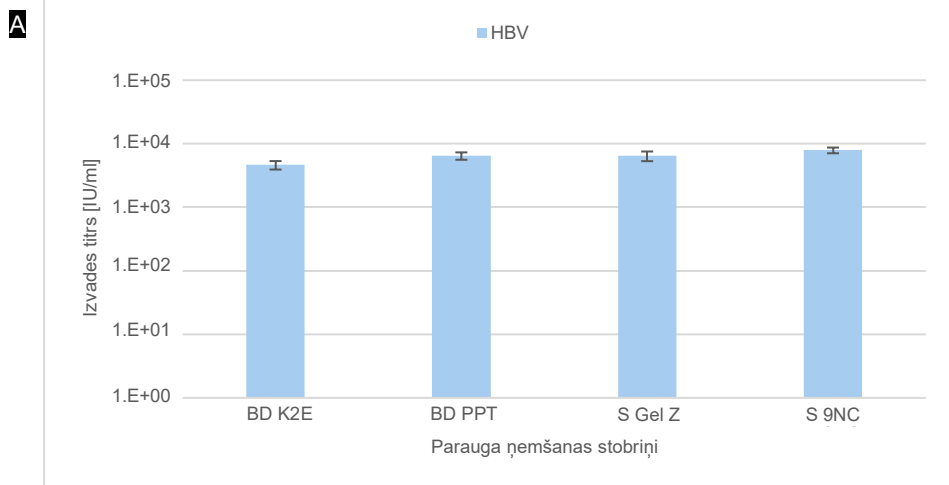
## Pamata veikspēja un saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem

Asins paraugu ņemšanai EZ1 DSP Virus procedūras vajadzībām var izmantot dažādus primāros stobriņus un antikoagulantus. EZ1 DSP Virus Kit komplekta pamata veikspēja tika novērtēta, izmantojot 6 atsevišķus donorus vīrusa NA ekstrahēšanai no 4 dažādiem asins parauga ņemšanas stobriņiem. Tabulā 1 ir sniegts sistēmas novērtēšanai izmantoto paraugu ņemšanas stobriņu pārskats. Pēc plazmas vai seruma sagatavošanas paraugi tika papildināti ar atvēlētu hepatīta C (HCV) vai hepatīta B (HBV) vīrusa titru. Izmantojot piemērotas qPCR sistēmas, vīrusa titrs tika noteikts katram paraugam. Vidējais vīrusa titrs, izmantojot dažādus primāros stobriņus, ir parādīts šeit: Attēls 1.

**Tabula 1. Ar EZ1 DSP Virus sistēmu testētie asins parauga ņemšanas stobriņi**

Primārais stobriņš	Ražotājs	Kat. nr.*	Konservants / antikoagulants
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gels – plazma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – plazma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Nātrija citrāts – plazma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gels – serums

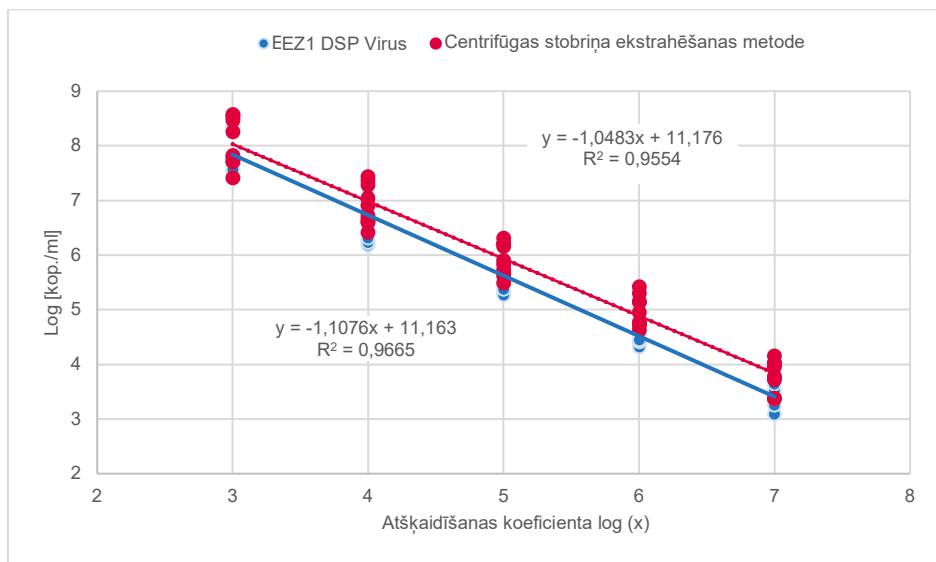
\* Kataloga numuri var mainīties; lūdzu, pārbaudiet pie ražotāja vai piegādātāja.



**Attēls 1. Pamata veiktspēja, izmantojot dažādus paraugu ņemšanas stobriņus un antikoagulantus.** Asins paraugi tika ņemti no 6 veselīgiem donoriem dažāda tipa stobriņos, lai sagatavotu vai nu plazmu, vai serumu ar 10 atkārtojumiem katram donora stobriņam. Izmantotie stobriņi ir norādīti šeit: Tabula 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** Vīrusa DNS tika izdalīta no 200 µl paraugiem, eluējot ar 90 µl. **B:** Vīrusa RNS tika izdalīta no 200 µl paraugiem, eluējot ar 90 µl. NA iegūtais daudzums no katra donora un stobriņa tika noteikts ar qPCR analīzi. Stabiņi attēlo vidējās vīrusa titra izvades ar standartnovirzi.

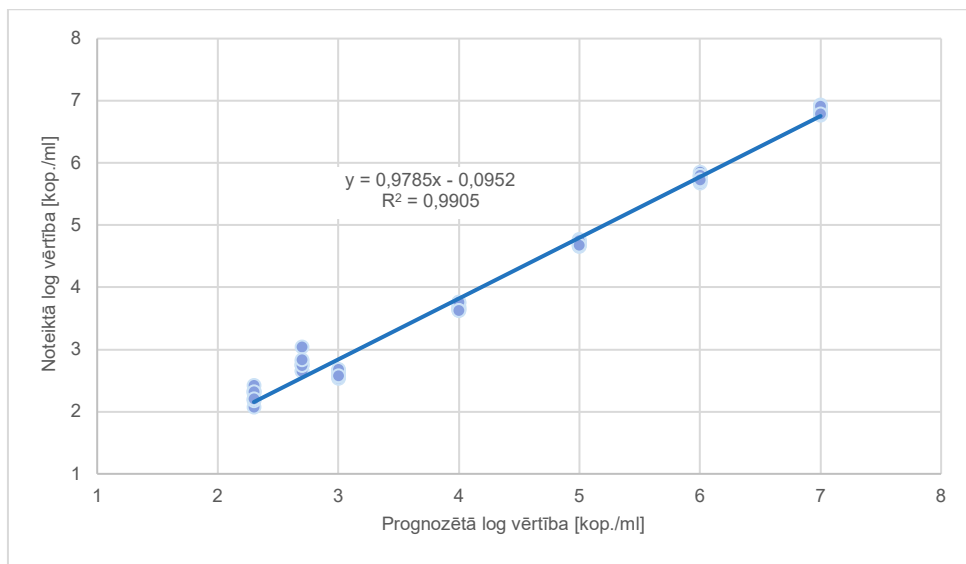
EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika novērtēts, kā izmantojot 5. tipa adenovīrusu DNS vīrusu, kas pievienots fēcū paraugiem. Testi tika veikti ar šūnu kultūras supernatanta desmitkārtīgiem sērījveida atšķaidījumiem adenovīrusa negatīvās fēcēs. Atšķaidījumu sērijas ar 5 dažādiem vīrusu atšķaidījumiem tika testētas, veicot 10 atkārtojumus katrai. Vīrusu nukleīnskābes tika ekstrahētas no 200 µl paraugiem (resuspendējot 1:10 buferšķīdumā Buffer ASL\*) un eluētas 120 µl tilpumā. EZ1 DSP Virus procedūras lineārais diapazons ir noteikts kombinācijā ar piemērotu qPCR analīzi, salīdzinājumam izmantojot uz centrifūgas stobriņu balstītu DNS ekstrahēšanas metodi (Attēls 2).

\* QIAGEN GmbH, kat. nr. 190822



**Attēls 2. Vīrusa titra lineārais diapazons, izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu.** Šeit parādīti rezultāti no piemērotas adenovīrusa PCR analīzes kombinācijā ar eluātiem no 5. tipa adenovīrusa ekstrakcijas no fēču paraugiem, izmantojot vai nu EZ1 DSP Virus Kit komplektu, vai uz centrifūgas stobriņu balstītu DNS ekstrakcijas metodi.

Lineārā diapazona papildu dati tika ģenerēti, no 1 donora sagatavotiem EDTA plazmas paraugiem kā DNS vīrusu pievienojot citomegalovīrusu (cytomegalovirus, CMV). Atšķaidījumu sērijas ar 7 dažādiem vīrusu atšķaidījumiem tika testētas, veicot 9 atkātojumus katrai. Vīrusu nukleīnskābes tika ekstrahētas no 400 µl paraugiem un eluētas 60 µl tilpumā EZ1 Advanced XL instrumentā. Lineārais diapazons ir noteikts kombinācijā ar piemērotu CMV PCR analīzi.



**Attēls 3. Vīrusa titra lineārais diapazons, izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu.** Šeit parādīti rezultāti no piemērotas CMV PCR analīzes kombinācijā ar eluātiem no CMV ekstrakcijas no EDTA plazmas paraugiem.

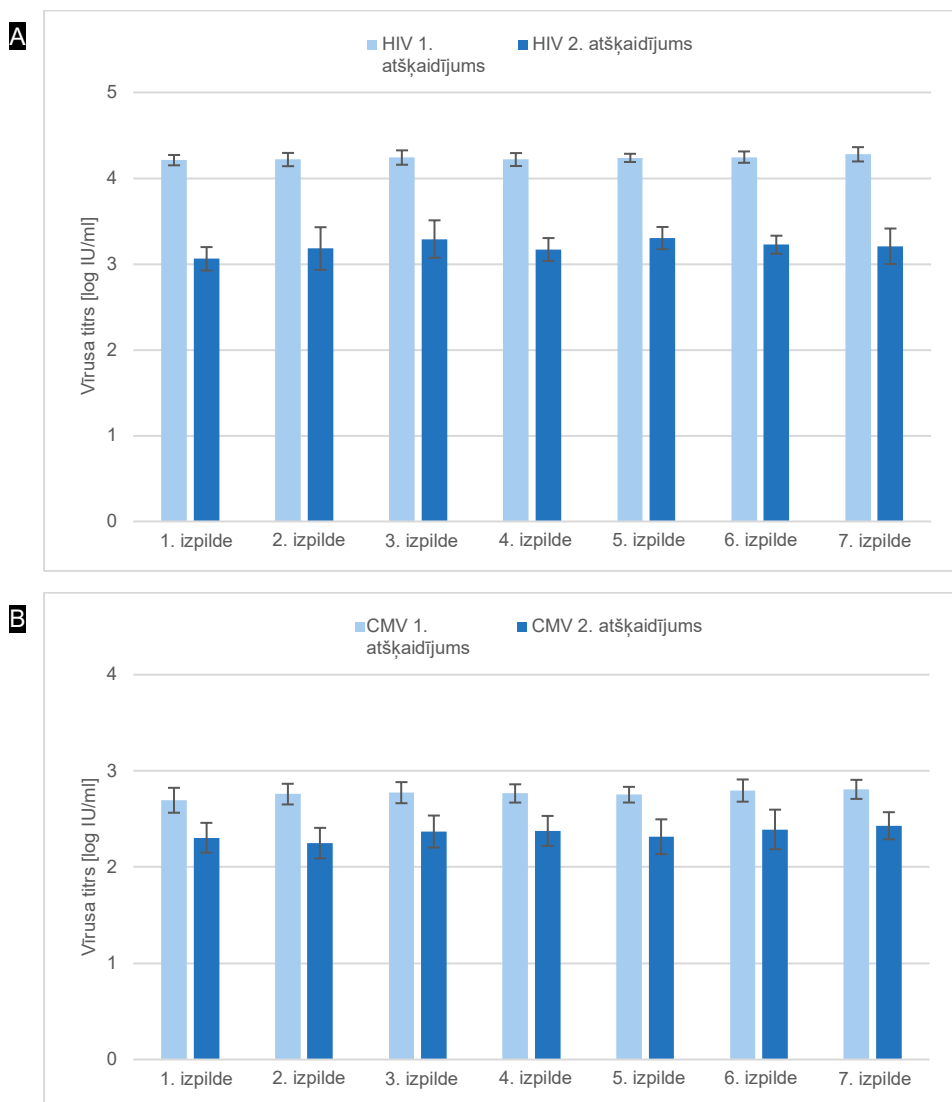
NA eluāti, kas izdalīti no dažādiem parauga materiāliem, izmantojot EZ1 DSP Virus sistēmu, tika analizēti un uzrādīja saderību ar dažādām kvantitatīvām real-time PCR (qPCR) analīzēm.

## Paraugu sasaldēšana un atkausēšana

Atkausētus paraugus nav ieteicams atkārtoti sasaldēt vai paraugus ilgāk par 6 stundām glabāt 2–8 °C temperatūrā, jo tas būtiski samazina vīrusu nukleīnskābju vai baktēriju DNS iegūto daudzumu un kvalitāti.

## Precizitāte

Standartnovirzes (Standard Deviation, SD) un variāciju koeficienti (Coefficient of Variations, CV) HIV-1 un CMV atšķaidījumiem tika noteikti piemēroto pakārtoto analīžu lineārajā diapazonā. NA tika ekstrahēta no 400 µl plazmas parauga, kuram pievienots attiecīgā vīrusa materiāls un kurš eluēts 120 µl tilpumā. Kopā viens operators veica 7 izdalīšanas izpildes ar 3 instrumentiem un 3 dažādās dienās. Eluāti tika analizēti, izmantojot HIV piemērotu RT-PCR analīzi un CMV PCR analīzi. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā standartnovirze šeit: Attēls 4.



**Attēls 4. Precizitāte tajā pašā izpildē, izmantojot EZ1 DSP Vīrus sistēmu.** Plazma tika savākta, apkopota un pirms lietošanas sagatavota ar attiecīgo vīrusa tītru (A: HIV; B: CMV). NA tika izdalīta no 400 µl alikvotajām daļām 7 izpildēs, katru veicot 14 atkārtojumus EZ1 Advanced XL instrumentā, izmantojot EZ1 DSP Vīrus sistēmu. Vidējais vīrusa tītrs un standartnovirze ir parādīti katrai izpildei.

CV tika noteikti NA ekstrahēšanai no plazmas paraugiem. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 2 un Tabula 3.

**Tabula 2. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē (HIV)**

Precizitāte (HIV)	CV (%) (1. atšķaidījums)	CV (%) (2. atšķaidījums)
Tajā pašā izpildē (1. izpilde)	1,43	4,45
Tajā pašā izpildē (2. izpilde)	1,83	7,82
Tajā pašā izpildē (3. izpilde)	1,98	6,64
Tajā pašā izpildē (4. izpilde)	1,79	4,21
Tajā pašā izpildē (5. izpilde)	1,13	3,92
Tajā pašā izpildē (6. izpilde)	1,56	3,27
Tajā pašā izpildē (7. izpilde)	1,95	6,46

**Tabula 3. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē (CMV)**

Precizitāte (CMV)	CV (%) (1. atšķaidījums)	CV (%) (2. atšķaidījums)
Tajā pašā izpildē (1. izpilde)	4,81	6,71
Tajā pašā izpildē (2. izpilde)	3,90	7,03
Tajā pašā izpildē (3. izpilde)	3,95	7,01
Tajā pašā izpildē (4. izpilde)	3,44	6,54
Tajā pašā izpildē (5. izpilde)	2,96	7,81
Tajā pašā izpildē (6. izpilde)	4,13	8,60
Tajā pašā izpildē (7. izpilde)	3,53	5,79

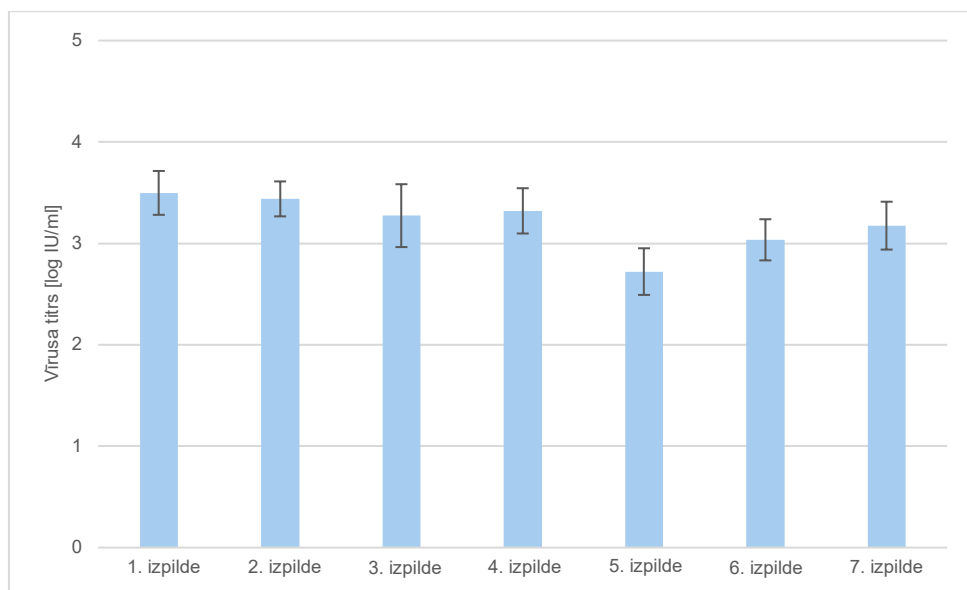
Turklāt abiem vīrusu atšķaidījumiem tika noteikts mainīgums dažādās izpildēs (Tabula 4).

**Tabula 4. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs (HIV, CMV)**

Precizitāte (CMV)	CV (%) (1. atšķaidījums)	CV (%) (2. atšķaidījums)
Dažādās izpildēs (1.–7. izpilde) HIV	1,72	5,81
Dažādās izpildēs (1.–7. izpilde) CMV	3,92	7,30

Standartnovirzes (SD) un variāciju koeficienti (CV) fēcēm 5. tipa adenovīrusam tika noteikti, izmantojot ar adenovīrusu saderīgu PCR analīzi. Adenovīrusa negatīvām fēcēm tika pievienots 5. tipa adenovīrusa šūnu kultūras supernatants. Vīrusa DNS tika ekstrahēta no 200 µl paraugiem (resuspensijā 1:10 ar Buffer ASL\*) un eluētas 120 µl tilpumā. Kopā viens operators veica 7 izdalīšanas izpildes trīs EZ1 Advanced XL instrumentos, 3 dažādās dienās un ar 3 EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL partiju kombinācijām. Visi paraugi tika analizēti tajā pašā PCR izpildē. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā standartnovirze šeit: Attēls 5.

\* QIAGEN GmbH, kat. nr. 19082



**Attēls 5. Precizitāte tajā pašā izpildē, izmantojot EZ1 DSP Vīrus sistēmu.** Fēču paraugi tika savākti, apkopoti un pirms lietošanas sagatavoti ar attiecīgo vīrusa titru. NA tika izdalīta no 200 µl alikvotajām daļām 7 izpildēs, katru veicot 9/10 atkārtojumos EZ1 Advanced XL instrumentā. Vidējais vīrusa titrs un standartnovirze ir parādīti katrai izpildei.

CV tika noteikti NA ekstrahēšanai no fēču paraugiem. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 5.

**Tabula 5. Precizitātes aplēšu analīze (5. tipa adenovīruss) – mainīgums tajā pašā izpildē**

Precizitāte (CMV)	CV (%)
Tajā pašā izpildē (1. izpilde)	6,56
Tajā pašā izpildē (2. izpilde)	5,31
Tajā pašā izpildē (3. izpilde)	10,05
Tajā pašā izpildē (4. izpilde)	7,13
Tajā pašā izpildē (5. izpilde)	8,96
Tajā pašā izpildē (6. izpilde)	7,09
Tajā pašā izpildē (7. izpilde)	7,84

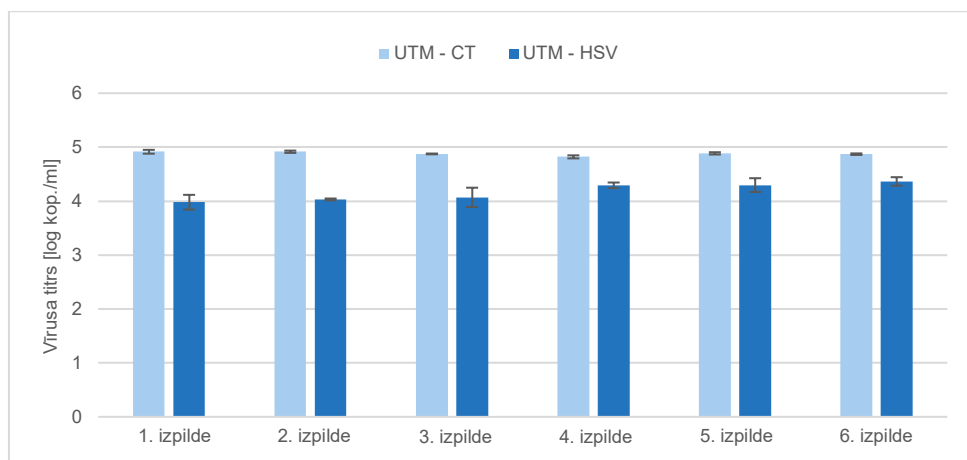
Turklāt tika noteikts mainīgums dažādās izpildēs (Tabula 6).

**Tabula 6. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs**

Precizitāte	CV (%)
Dažādās izpildēs (1.–7. izpilde)	10,54

Standartnovirzes (SD) un variācijas koeficienti (CV) transportēšanas videi tika noteikti attiecībā uz HSV-1 *Chlamydia trachomatis*, izmantojot piemērotu HSV1 PCR analīzi un piemērotu *C. trachomatis* PCR analīzi. Vīrusu un baktēriju DNS tika izdalīta no 400 µl UTM un eluēta 60 µl tilpumā. Kopā viens operators veica 6 izdalīšanas izpildes 3 dienās, izmantojot 3 EZ1 DSP Virus Kit partijas. Visi paraugi tika analizēti tajā pašā PCR izpildē. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā standartnovirzes šeit: Attēls 6.





**Attēls 6. Precizitāte tajā pašā izpildē, izmantojot EZ1 DSP Vīrus sistēmu.** UTM pirms lietošanas tika sagatavota ar attiecīgo vīrusa titru. NA tika izdalīta no 400 µl alikvotajām daļām 6 izpildēs, katru veicot 2 atkārtojumos EZ1 Advanced XL instrumentā. Vidējais vīrusa titrs un standartnovirze ir parādīti katrai izpildei.

CV tika noteikti NA ekstrahēšanai no UTM paraugiem. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 7.

**Tabula 7. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē (CT un HSV)**

Precizitāte (CMV)	CV (%) CT	CV (%) HSV
Tajā pašā izpildē (1. izpilde)	0,72	3,44
Tajā pašā izpildē (2. izpilde)	0,43	0,43
Tajā pašā izpildē (3. izpilde)	0,15	4,40
Tajā pašā izpildē (4. izpilde)	0,59	1,21
Tajā pašā izpildē (5. izpilde)	0,43	2,97
Tajā pašā izpildē (6. izpilde)	0,29	1,81

Turklāt tika noteikts mainīgums dažādās izpildēs (Tabula 8).

**Tabula 8. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs**

Precizitāte	CV (%) CT	CV (%) HSV
Dažādās izpildēs (1.–6. izpilde)	0,77	4,25

## Parauga ievade/eluāta izvade

EZ1 DSP Vīrus sistēma EZ1 instrumentu saimē sniedz iespēju dažādus parauga ievades tilpumus (100, 200 vai 400 µl) kombinēt ar dažādiem eluāta izvades tilpumiem (60, 90, 120 vai 150 µl). Ar EZ1 instrumentu saimi izmantoto ekstrahēšanas procedūru vispārējā veikspēja ir verificēta, izmantojot dažādas iespējamās parauga ievades un eluāta izvades kombinācijas.

Dažādo pētījumu dati demonstrēja, ka visaugstākais NA iegūtais daudzums ir augstiem parauga ievades tilpumiem kombinācijā ar augstiem eluāta izvades tilpumiem. Vislielākā NA koncentrācija ir augstiem parauga ievades tilpumiem un zemiem eluāta izvades tilpumiem. Atkarībā no pilnās darbplūsmas (parauga sagatavošana kombinācijā ar konkrētu pakārtoto lietojumu) var pastāvēt visnoderīgākā parauga ievades un eluēšanas tilpuma kombinācija, kura var palīdzēt optimizēt, piemēram, galīgo NA iegūto daudzumu un koncentrāciju, vai vēl labāk minimizēt atlikušo interferējošo vielu potenciālo ietekmi. Dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (pat tam pašam parauga materiālam) var būt nepieciešamas dažādas parauga ievades/eluāta izvades kombinācijas. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

## Eluātu stabilitāte

Eluātu stabilitāte EZ1 DSP Virus Kit komplektam tika izvērtēta, izmantojot ekstrahētu vīrusa RNS un DNS no cilvēka EDTA plazmas paraugiem. Eluāti tika glabāti dažādā temperatūrā un dažādus laika periodus un tika analizēti attiecībā uz stabilitāti, izmantojot validētu iestādes PCR analīzi.

Rezultāti demonstrēja nukleīnskābju stabilitāti maks. 24 stundas, glabājot 2–8 °C temperatūrā, maks. 12 nedēļas, glabājot –20 °C temperatūrā, maks. 12 mēnešus, glabājot –80 °C temperatūrā.

Nukleīnskābju stabilitāte var atšķirties konkrētiem izmantotajiem pakārtotajiem lietojumiem, un lietotājam tā ir jāapstiprina pašam.

## Interferējošas vielas

Eksogēnu interferējošu vielu ietekme uz EZ1 DSP Virus sistēmu tika analizēta, testējot dažādas vielas (Tabula 9) definētās koncentrācijās (3 reiz akūtā virsotnes koncentrācija pēc zāļu terapijas, kā ieteikts CLSI vadlīnijā EP7-A2). Tās tika pievienotas EDTA plazmas paraugiem, kas bija vai nu CMV pozitīvi, vai CMV negatīvi, un rezultāti tika salīdzināti ar rezultātiem no plazmas bez interferējošās vielas. NA eluāti tika analizēti, izmantojot piemērotu CMV PCR analīzi.

Piezīme. Testēšana tika veikta, izmantojot tipiskus pakārtotos lietojumus ekstrahēto nukleīnskābju kvalitātes novērtēšanai. Taču dažādiem pakārtotajiem lietojumiem var atšķirties prasības attiecībā uz tīrību (t.i., potenciāli interferējošu vielu neesamību), tāpēc pakārtoto lietojumu izstrādes gaitā ir jānosaka arī attiecīgo vielu identificēšana un testēšana ikvienai darbplūsmi, kur iesaistīts EZ1 DSP Virus Kit komplekts.

Tabula 9. EDTA plazmai pievienotās potenciāli interferējošo vielu testa koncentrācijas

Interferējošas vielas	Galīgā testa koncentrācija
Sulfametoksazols	200 mg/l
Trimetoprimis	5,2 mg/l
Klaforāns (cefotaksīms)	1 g/l
Tazobaks (piperacilīns+ tazobaktāms)	Piperacilīns: 1 g/l Tazobaktāms: 125 mg/l
Tikarcilīns	1 g/l
Augmentīns (amoksicilīns + klavulānskābe)	Amoksicilīns: 125 mg/l Klavulānskābe: 25 mg/l
Vankomicīns	125 mg/l
Flukonazols	1 mg/l
Rapamicīns	100 mg/l
Mikofenolāta nātrijs	80 mg/l

Neviena testētā interferējošās vielas koncentrācija neuzrādīja būtisku ietekmi uz CMV PCR analīzes veikspēju kombinācijā ar EZ1 DSP Virus sistēmu attiecībā uz specifiskumu, jutību un uzticamu kvantificēšanu.

Eksogēno interferējošās vielu papildu testēšana, izmantojot EZ1 DSP Virus sistēmu, tika veikta, dažādas vielas (Tabula 10) definētās koncentrācijās pievienojot nazofaringeālajām uztriepēm, kas savāktas ar UTM. Parauga materiālam tika pievienoti A tipa gripas un B tipa gripas vīrusu celmi, un NA eluāti tika analizēti, izmantojot piemērotu gripas A/B RT-PCR analīzi.

**Tabula 10. Ar UTM savāktām nazofaringeālajām uztriepēm pievienotās potenciāli interferējošo vielu testa koncentrācijas**

Interferējošas vielas	Galīgā testa koncentrācija
Cilvēka asinis	5% v/v
Zanamivīrs	3 mg/ml
Oseltamivīrs	15 mg/ml
NaCl ar konservantiem	10% v/v no parauga
Fenilefrīns	10% v/v no parauga
Oksimetazolīns	10% v/v no parauga
Budezonīds	40 µg/ml
Flutikazona propionāts	2,5% v/v no parauga
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Sērs	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Beklometazona dipropionāts	61,73 µg/ml
Flunisolīds	25 µg/ml
Triamcinolona acetonīds	27,5 µg/ml
Gvaifenezīns	1,33 mg/ml
Difenhidramīna hidrohlorīds	0,5 mg/ml
Dekstrometorfāna hidrohlorīds	1 mg/ml
Pseidoefedrīna hidrohlorīds	20 µg/ml
Benzokaīns	1,44 mg/ml
Mentols	5 mg/ml
Tobramicīns	0,3 mg/ml
Mupirocīns	2 mg/ml
Amoksicilīns	1 mg/ml
Deksametazons	1,53 µmol/l

Neviena testētā interferējošās vielas koncentrācija neuzrādīja būtisku ietekmi uz Infl A/B RT-PCR analīzes veikspēju kombinācijā ar EZ1 DSP Virus sistēmu.

## Krusteniskā kontaminācija

EZ1 DSP Virus sistēmas krusteniskās kontaminācijas risks tika analizēts, veicot 9 izpildes ar EZ1 Advanced instrumentu pamīšus šaha galdiņa izkārtījumos. Lai noteiktu pārnesi starp paraugiem, izpildes tika veiktas ar ParvoB19/CMV pozitīviem plazmas paraugiem un ParvoB19/CMV negatīviem plazmas paraugiem pamīšus pozīcijās. Katru trešo izpildi veica, izmantojot tikai negatīvus plazmas paraugus. Visi eluāti tika testēti, izmantojot piemērotu CMV PCR analīzi, kā arī piemērotu Parvo B19 PCR analīzi.

Visi ParvoB19/CMV pozitīvie paraugi PCR testā uzrādījās kā pozitīvi un visi ParvoB19/CMV negatīvie paraugi testā uzrādījās kā negatīvi. Netika konstatēta krusteniskā kontaminācija pārnesei starp paraugiem vai starp izpildēm.

## EZ2 Connect MDx veikspējas raksturojums

EZ2 Connect MDx instrumenta veikspējas raksturojums ir noteikts līdzvērtīguma pētījumos ar EZ1 Advanced XL, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit. Ar komplektu saistītais veikspējas raksturojums, piemēram, eluātu stabilitāte vai pamata veikspēja, attiecas uz visām instrumentu sistēmām, kas uzskaitītas EZ1 DSP Virus Kit komplekta lietošanas instrukcijā, jo komplekts, kurš veido daļu no sistēmas, dažādajām automatizētajām platformām nemainās.

**Piezīme.** Veikspējas raksturojums ir ļoti atkarīgs no dažādiem faktoriem, un tas ir saistīts ar konkrētu pakārtoto lietojumu. Veikspēja ir noteikta EZ1 DSP Virus Kit komplektam kopā ar tipiskajiem pakārtotajiem lietojumiem. Taču metodes nukleīnskābju izolēšanai no bioloģiskajiem paraugiem tiek izmantotas kā priekšējā apstrāde vairākiem pakārtotajiem lietojumiem. Tādējādi veikspējas parametri, piemēram, eksogēno interferējošo vielu ietekme, krusteniskā kontaminācija vai izpildes precizitāte, ir jānosaka ikkatrai šādai darbplūsmai, un šāda noteikšana veido daļu no pakārtotā lietojuma izstrādes. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

### Pamata veikspēja un saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem

Pamata veikspējas dati, kas ģenerēti, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentus, attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 2. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP DNA Blood Kit komplektu, parauga sastāvs un komplekts ir identiski. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas pamata veikspēja ir līdzvērtīga vai labāka. Līdzvērtīguma testēšanas laikā tika apstiprināta arī saderība ar dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (tostarp qPCR).

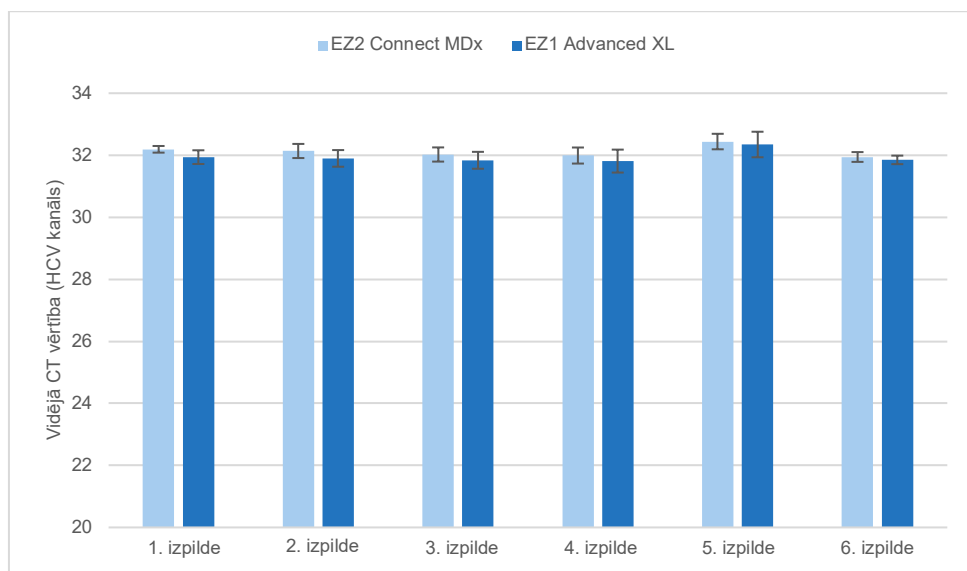
Taču, tā kā tika izmantotas tikai tipiskās pakārtotās metodes, lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savā konkrētajā lietojumā, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

### Paraugu sasaldēšana un atkausēšana

Atkausētus paraugus nav ieteicams atkārtoti sasaldēt vai paraugus ilgāk par 6 stundām glabāt 2–8 °C temperatūrā, jo tas būtiski samazina vīrusu nukleīnskābju vai baktēriju DNS iegūto daudzumu un kvalitāti.

### Precizitāte

NA tika ekstrahēta no 200 µl plazmas parauga, kuram pievienots HCV līdz koncentrācijai 1E+04 IU/ml un kurš eluēts 150 µl tilpumā. Kopā trīs dažādi operatori veica 12 izdalīšanas izpildes 3 dažādās ierīcēs (uz katru instrumenta tipu) un 3 dažādās dienās. Precizitātes dati tajā pašā izpildē ir parādīti kā CT vērtību standartnovirzes (Attēls 7).



**Attēls 7. Visu izpildžu vidējās CT vērtības, izmantojot HCV RT-PCR analīzi.** Plazma tika savākta, apkopota un pirms lietošanas sagatavota ar attiecīgo vīrusa titru. NA tika izdalīta no 200 µl alikvotajām daļām 6 izpildēs, katru veicot 12 atkārtojumos EZ1 Advanced XL un EZ2 Connect MDx instrumentā, izmantojot EZ1 DSP Virus sistēmu. Vidējās CT vērtības un standartnovirzes ir parādītas katrai izpildei.

CV vērtības tika noteiktas NA ekstrahēšanai no plazmas. Precizitātes dati ir parādīti šeit: Tabula 11.

**Tabula 11. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums tajā pašā izpildē**

Precizitāte	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Tajā pašā izpildē (1. izpilde)	0,33	0,69
Tajā pašā izpildē (2. izpilde)	0,71	0,84
Tajā pašā izpildē (3. izpilde)	0,71	0,86
Tajā pašā izpildē (4. izpilde)	0,81	1,16
Tajā pašā izpildē (5. izpilde)	0,77	1,27
Tajā pašā izpildē (6. izpilde)	0,49	0,43

Līdzvērtīguma testos izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu, mainīgums tajā pašā izpildē EZ2 Connect MDx instrumentam tika noteikts kā līdzvērtīgs mainīgumam tajā pašā izpildē EZ1 Advanced XL instrumentam.

Turklāt mainīgums dažādās izpildēs tika noteikts EZ2 Connect MDx instrumentam (Tabula 12).

**Tabula 12. Precizitātes aplēšu analīze – mainīgums dažādās izpildēs**

Precizitāte	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Dažādās izpildēs (1.–6. izpilde)	0,82	1,06

Statistiskā analīze uzrādīja līdzvērtīgu EZ2 Connect MDx instrumenta veiktspēju, salīdzinot ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

## Parauga ievade/eluāta izvade

EZ1 DSP Virus sistēma EZ2 Connect MDx instrumentā sniedz iespēju dažādus parauga ievades tilpumus (100, 200 vai 400 µl) kombinēt ar dažādiem eluāta izvades tilpumiem (60, 90, 120 vai 150 µl). EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru vispārējās veikspējas testēšana uzrādīja līdzvērtīgu sistēmas veikspēju, salīdzinot ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

Atkarībā no pilnās darbplūsmas (parauga sagatavošana kombinācijā ar konkrētu pakārtoto lietojumu) var pastāvēt visnoderīgākā parauga ievades un eluēšanas tilpuma kombinācija, kura var palīdzēt optimizēt, piemēram, galīgo NA iegūto daudzumu un koncentrāciju, vai vēl labāk minimizēt atlikušo interferējošo vielu potenciālo ietekmi. Dažādiem pakārtotajiem lietojumiem (pat tam pašam parauga materiālam) var būt nepieciešamas dažādas parauga ievades/eluāta izvades kombinācijas. Tādēļ lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

## Jutība

Izmantojot plazmas paraugus, kam pievienota tāda HBV koncentrācija, kas ir tuva konstatēšanas robežai (Limit of Detection, LoD) (aptuveni 18 IU/ml), viens operators veica 18 izdalīšanas izpildes EZ2 Connect MDx un EZ1 Advanced XL instrumentā trīs dažādās ierīcēs (katram instrumenta tipam) 3 dienas, izmantojot 400 µl parauga ievadi un 90 µl eluēšanas tilpumu. Visiem eluātiem tika veikta kvalitatīvā analīze, izmantojot piemērotu HBV PCR analīzi, neatkarīgi no tā, vai mērķi varēja konstatēt. Tā kā atkārtējumi ir tuvu konstatēšanas robežai, netiek gaidīts, ka visi atkārtējumi tiek konstatēti kā pozitīvi. Taču varēja apstiprināt, ka pozitīvo atkārtējumu skaits ir statistiski līdzvērtīgs.

Tabula 13. Jutības testa rezultātu kopsavilkums no visām EZ2 Connect MDx izpildēm

EZ2 Connect MDx – Pozitīvu HBV paraugu trāpījumi									
Trāpījumu sk.	8	8	7	7	7	8	8	6	7
Trāpījumu %	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabula 14. Jutības testa rezultātu kopsavilkums no visām EZ1 Advanced XL izpildēm

EZ1 Advanced XL – Pozitīvu HBV paraugu trāpījumi									
Trāpījumu sk.	8	8	8	7	7	8	8	7	7
Trāpījumu %	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabula 15. Jutības kopsavilkums ar Fišera precīzā testa rezultātiem

EZ2 pareizi ziņotie rezultāti	EZ1 pareizi ziņotie rezultāti	Fišera precīzā testa P vērtība (divpusējā)
91,55%	94,44%	0,532

Statistiskā analīze uzrādīja līdzvērtīgu EZ2 Connect MDx instrumenta veikspēju, salīdzinot ar EZ1 Advanced XL instrumentu.

## Eluātu stabilitāte

Eluātu stabilitātes dati, kas ģenerēti, izmantojot EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced vai BioRobot EZ1 instrumentu, attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 2. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP Virus Kit komplektu, parauga un komplekta sastāvi ir identiski. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas veikspēja ir līdzvērtīga. Instrukcijas par apiešanos ar eluātiem attiecas uz visām automatizētajām sistēmām, kuras paredzēts izmantot ar šo komplektu.

Taču lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veikspējas parametrus.

## Interferējošas vielas

Interferējošo vielu ietekme tika noteikta, izmantojot EZ1 Advanced XL instrumentu. Šie dati attiecas arī uz EZ2 Connect MDx instrumentu (skatiet 12. lpp.). Instrumentu sistēmām, ko paredzēts izmantot ar EZ1 DSP Virus Kit komplektu, parauga un komplekta sastāvi ir identiski. Parauga ievades/eluāta izvades tilpumi ir identiski, tāpēc nekāda ietekme uz interferējošo vielu tipu vai koncentrāciju eluātos nav gaidāma. Turklāt tika testēta EZ2 Connect MDx sistēmā izmantoto ekstrahēšanas procedūru līdzvērtība, un tika konstatēts, ka sistēmas veiktspēja ir līdzvērtīga. Instrukcijas par apiešanos ar paraugiem un eluātiem attiecas uz visām automatizētajām sistēmām, kuras paredzēts izmantot ar šo komplektu.

Taču lietotājs ir atbildīgs par visas darbplūsmas validēšanu savam konkrētajam lietojumam, lai noteiktu piemērotos veiktspējas parametrus.






## Krusteniskā kontaminācija

EZ2 Connect MDx instrumentā izmantota EZ1 DSP Virus Kit komplekta krusteniskās kontaminācijas risks tika analizēts, vienam operatoram 2 dienas veicot desmit izpildes (400 µl ievade, 60 µl eluēšana) pamīšus šaha galdiņa izkārtojumos. Lai konstatētu pārnesei starp paraugiem, izpildes tika veiktas ar pozitīviem (tādiem, kam pievienots HBV) un negatīviem (tādiem, kam nav pievienots) plazmas paraugiem pamīšus pozīcijās. Katra otrā izpilde tika veikta, izmantojot tikai HBV negatīvus plazmas paraugus. Visi eluāti tika analizēti, izmantojot piemērotu HBV PCR analīzi.

Visi HBV pozitīvie paraugi PCR testā uzrādījās kā pozitīvi un visi HBV negatīvie plazmas paraugi testā uzrādījās kā negatīvi. Netika konstatēta krusteniskā kontaminācija pārnesei starp paraugiem vai starp izpildēm.

## Simboli

Šajā dokumentā ir redzami tālāk aprakstītie simboli. Pilnu sarakstu ar lietošanas instrukcijās un uz iepakojuma un marķējuma izmantotajiem simboliem, lūdzu, skatiet rokasgrāmatā.

Simbols	Simbola definīcija
	Šis produkts atbilst prasībām, ko nosaka Eiropas Regula 2017/746 par in vitro diagnostikas medicīniskajām ierīcēm.
	In vitro diagnostikas medicīniskā ierīce
	Kataloga numurs
Rn	R apzīmē lietošanas instrukciju redakciju, bet n ir redakcijas numurs
	Ražotājs
	Svarīga piezīme



## Redakciju vēsture

### Redakcija

R1, 2022. gada jūnijs

### Apraksts

Versija 5, redakcija 1

- Dokumenta izveidošana jaunai komplekta versijai. Pievienoti dati EZ2 Connect MDx instrumentam
- No paredzētā lietojuma noņemts paraugu materiāls pilnasinis, urīns, nožuvušas uztriepes, krēpas

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktiem specifiskās atrunas skatiet attiecīgajā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplektu rokasgrāmatas un lietotāja rokasgrāmatas ir pieejamas vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), un tās var pieprasīt arī no QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta vai vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (QIAGEN Group); BD™, Vacutaine® (Becton Dickinson and Company); Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.); Sarsted®. S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes utt. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, visas tiesības paturētas.

