

Instruções de uso (Características de desempenho) do EZ1[®] DSP Virus Kit

Versão 5



Para uso em diagnóstico in vitro
Para uso com o EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

As características de desempenho estão disponíveis eletronicamente e podem ser encontradas na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Introdução geral

O EZ1 DSP Virus Kit destina-se à purificação de ácidos nucleicos virais e DNA bacteriano a partir de plasma, soro, LCR, fezes e swabs nasofaríngeos coletados em Universal Transport Medium™ (UTM®). A tecnologia de partículas magnéticas fornece ácido nucleico (AN) de elevada qualidade, adequados para utilização direta em aplicações a jusante, tais como amplificação PCR e qPCR. Os instrumentos EZ1 e EZ2® Connect MDx realizam todas as etapas do procedimento de preparo de amostras para até seis amostras (usando o EZ1 Advanced ou o BioRobot® EZ1 DSP; ambos descontinuados), para até 14 amostras (usando o EZ1 Advanced XL) ou para até 24 amostras (usando o EZ2 Connect MDx) em uma única execução.

O volume de entrada de amostra pode ser escolhido entre 100, 200 ou 400 µl e o volume de eluição de AN pode ser escolhido entre 60, 90, 120 ou 150 µl.

O desempenho do sistema EZ1 DSP Virus Kit foi estabelecido em estudos de avaliação de desempenho usando plasma, soro, LCR, fezes e swabs nasofaríngeos coletados em meio para transporte universal (universal transport medium, UTM) para o isolamento de AN virais e DNA bacteriano. No entanto, o desempenho do kit não é garantido para cada espécie de vírus ou bactéria e deve ser validado pelo usuário. O usuário é responsável por validar o desempenho do sistema em quaisquer procedimentos utilizados em seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de avaliação de desempenho da QIAGEN®.

Características de desempenho dos instrumentos EZ1

Nota: As características de desempenho dependem muito de vários fatores e estão relacionadas à aplicação a jusante específica. O desempenho foi estabelecido para o EZ1 DSP Virus Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. Contudo, os métodos para isolar ácidos nucleicos de espécimes biológicos são usados como uma abordagem inicial para diversas aplicações a jusante. Desta forma, os parâmetros de desempenho, tais como influência de substâncias interferentes exógenas, contaminação cruzada ou precisão de execução, precisam ser estabelecidos para qualquer fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Portanto, o usuário é responsável por validar todo o fluxo de trabalho de modo a estabelecer os parâmetros de desempenho adequados.

Desempenho básico e compatibilidade para diferentes aplicações a jusante

Podem ser utilizados vários tubos primários e anticoagulantes diferentes para realizar a coleta de amostras de sangue para o procedimento do EZ1 DSP Virus. O desempenho básico do EZ1 DSP Virus Kit foi avaliado utilizando seis doadores individuais para extração de AN virais com quatro tubos de coleta de sangue diferentes. A Tabela 1 fornece uma visão geral dos tubos de coleta de amostras que foram utilizados para a avaliação do sistema. Após a preparação de plasma ou soro, as amostras foram fortificadas com um título viral dedicado de hepatite C (VHC) ou hepatite B (VHB). Utilizando sistemas de qPCR apropriados, o título viral foi determinado para cada amostra. O título viral médio utilizando diferentes tubos primários é apresentado na Figura 1.

Tabela 1. Tubos de coleta de sangue testados com o sistema EZ1 DSP Virus

Tubo primário	Fabricante	Nº de ref.*	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 de sódio – plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – soro

*Os números de referência estão sujeitos a alterações; confirme com o fabricante ou fornecedor.

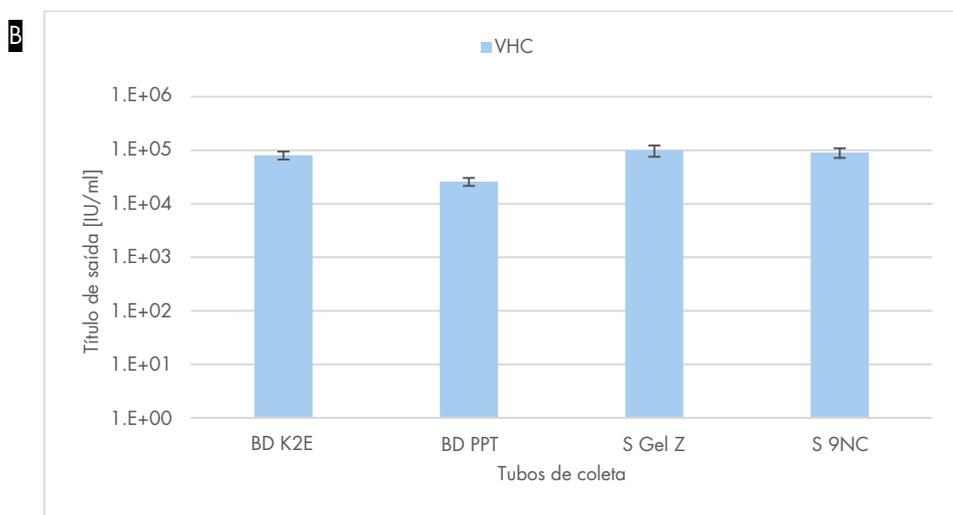
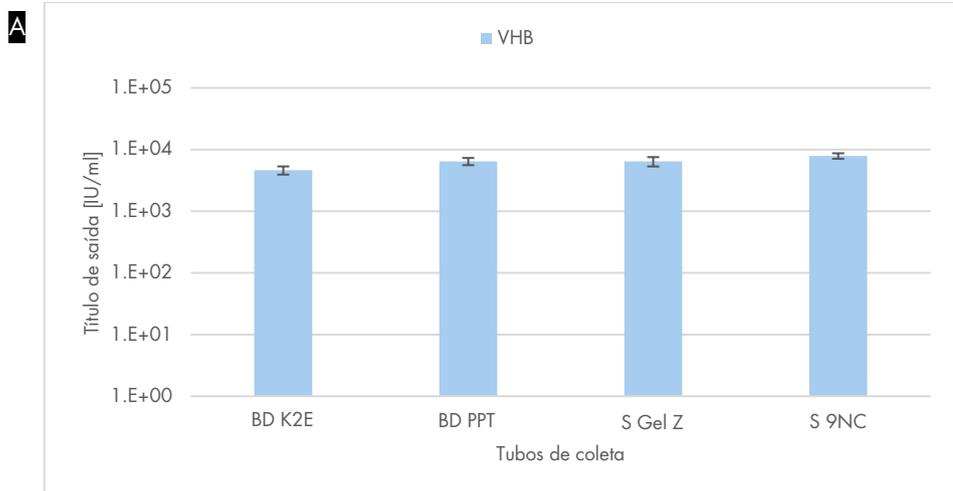


Figura 1. Desempenho básico utilizando tubos de coleta e anticoagulantes diferentes. Procedeu-se à coleta de amostras de sangue de seis doadores saudáveis em tipos de tubos diferentes para preparar plasma ou soro com replicados de 10 por tubo de doador. Os tubos utilizados são apresentados na Tabela 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** O DNA viral foi purificado a partir de amostras de 200 µl com eluição em 90 µl. **B:** O RNA viral foi purificado a partir de amostras de 200 µl com eluição em 90 µl. O rendimento de AN de cada doador e tubo foi determinado através de análise de qPCR. As barras apresentam os resultados de título viral médio com desvio padrão.

O intervalo linear do EZ1 DSP Virus Kit foi avaliado usando Adenovírus 5 como um vírus de DNA fortificado em amostras de fezes. Os testes foram realizados com diluições seriadas de 10 vezes do sobrenadante da cultura celular em fezes negativas para Adenovírus. Foram testadas séries de diluição com cinco diluições de vírus diferentes com dez réplicas cada. Os ácidos nucleicos virais foram extraídos de amostras de 200 µl (ressuspensão de 1:10 em Buffer ASL*) e eluídos em 120 µl. O intervalo linear do procedimento do EZ1 DSP Virus foi determinado em conjunto com um ensaio de qPCR adequado em comparação com um método de extração de DNA baseado em coluna de centrifugação (Figura 2).

* QIAGEN GmbH, n° de ref. 190822

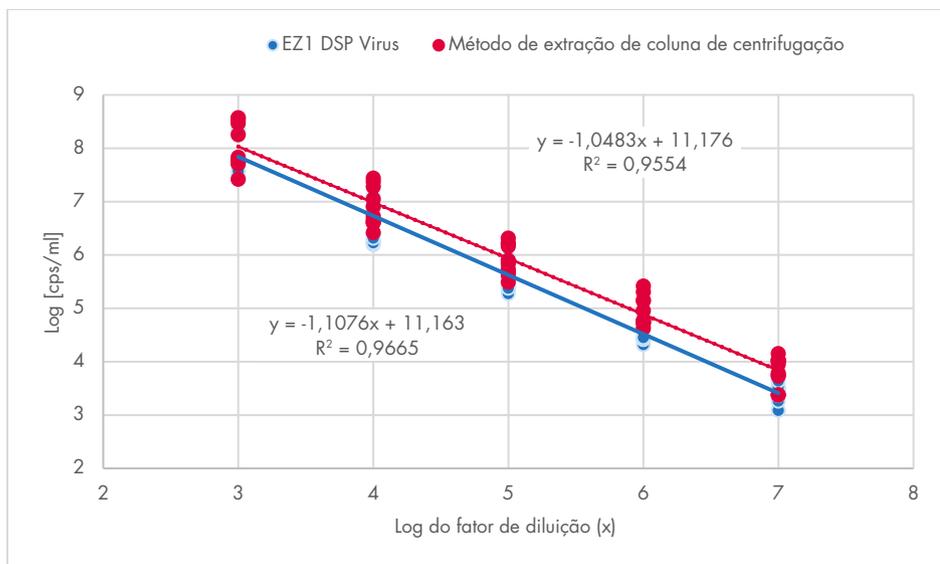


Figura 2. Intervalo linear de título viral usando o protocolo EZ1 DSP Virus. São apresentados os resultados de um ensaio de PCR de Adenovírus apropriado em conjunto com eluatos da extração de Adenovírus 5 de amostra de fezes utilizando o EZ1 DSP Virus Kit ou um método de extração de DNA baseado em coluna de centrifugação.

Foram gerados dados adicionais de intervalo linear ao adicionar citomegalovírus (CMV) como um vírus de DNA em amostras de plasma com EDTA preparadas a partir de um doador. Foram testadas séries de diluição com sete diluições de vírus diferentes com nove réplicas cada. Os ácidos nucleicos virais foram extraídos de amostras de 400 µl e eluídos em 60 µl de EZ1 Advanced XL. O intervalo linear foi determinado em conjunto com um ensaio de PCR de CMV adequado.

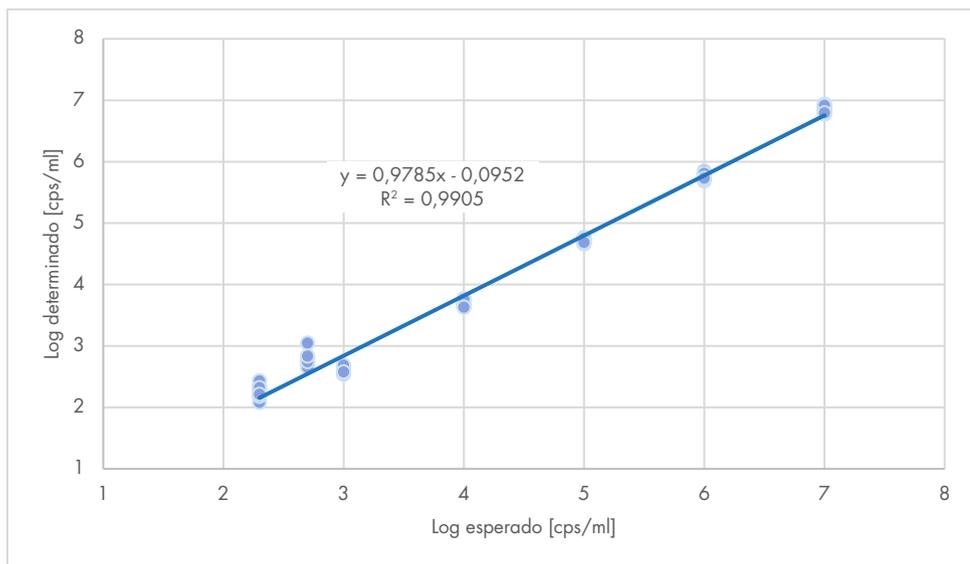


Figura 3. Intervalo linear de título viral usando o protocolo EZ1 DSP Virus. São apresentados os resultados de um ensaio de PCR de CMV adequado em conjunto com eluatos da extração de CMV a partir de amostras de plasma com EDTA.

Os eluatos de AN purificados de diferentes materiais de amostra usando o sistema EZ1 DSP Virus foram analisados e mostraram compatibilidade com diferentes ensaios quantitativos de real-time PCR (qPCR).

Congelamento/descongelamento de amostras

Não é recomendado congelar amostras descongeladas nem armazenar amostras por mais de 6 horas a 2–8 °C, uma vez que isso pode resultar na redução significativa do rendimento e da qualidade dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano.

Precisão

Os desvios padrão e os CVs foram determinados para diluições de HIV-1 e CMV no intervalo linear dos ensaios posteriores apropriados. Foi extraído AN a partir de uma amostra de plasma de 400 µl fortificada com o respectivo material do vírus e eluído em 120 µl. No total, foram realizadas sete execuções de purificação por diluição do vírus com um operador, em três instrumentos e em três dias diferentes. Os eluatos foram analisados usando um ensaio de RT-PCR adequado ao HIV e um ensaio de PCR de CMV. Os dados de precisão intraensaios são exibidos como desvio padrão na Figura 4.

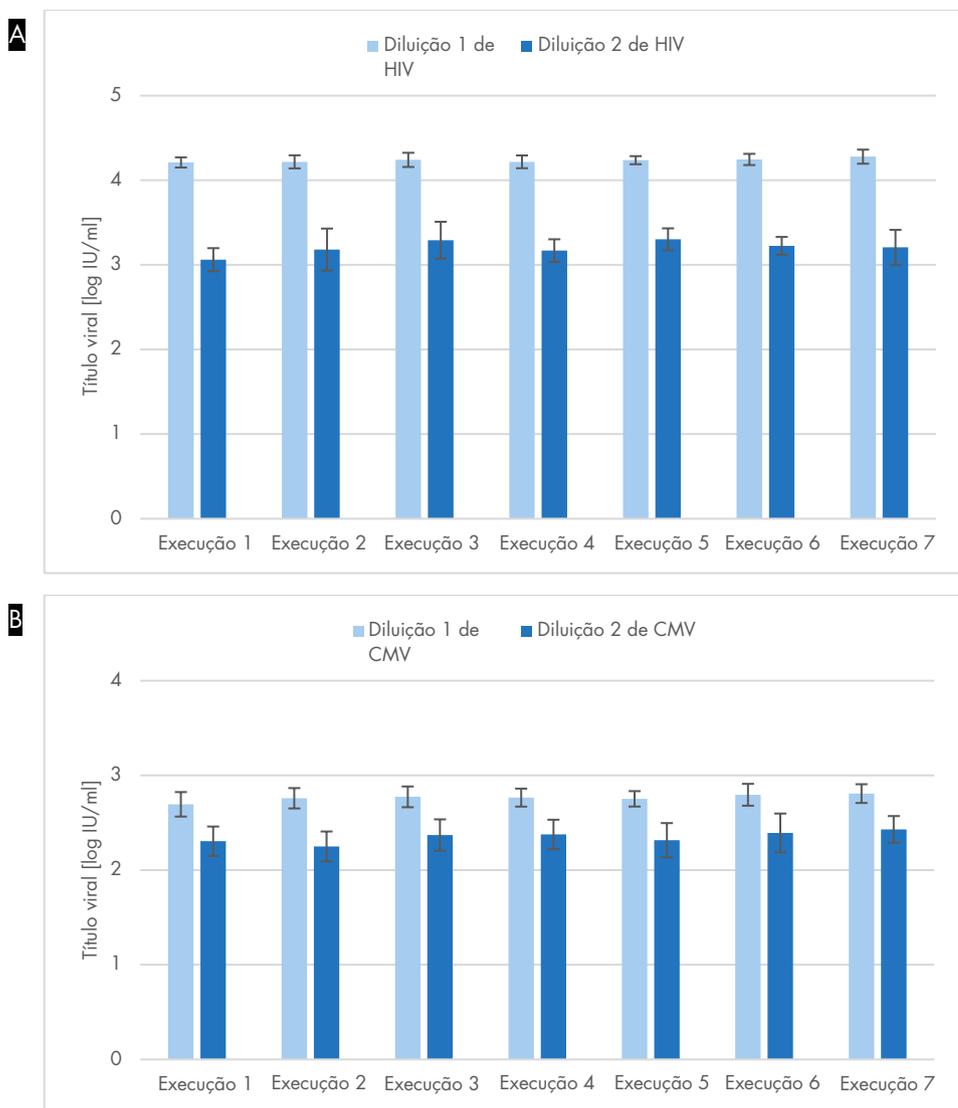


Figura 4. Precisão intraensaios utilizando o sistema EZ1 DSP Virus. Foi coletado, agrupado e preparado plasma com o respectivo título viral antes do uso (A: HIV; B: CMV). Foi purificado AN a partir de alíquotas de 400 µl em sete execuções de 14 réplicas cada no EZ1 Advanced XL usando o sistema EZ1 DSP Virus. São exibidos o título viral médio e o desvio padrão para cada execução.

Os CVs foram determinados para a extração de AN de amostras de plasma. Os dados de precisão são exibidos na Tabela 2 e na Tabela 3.

Tabela 2. Análise das estimativas de precisão – variabilidade intraensaios (HIV)

Precisão (HIV)	CV (%) (Diluição 1)	CV (%) (Diluição 2)
Intraensaios (Execução 1)	1,43	4,45
Intraensaios (Execução 2)	1,83	7,82
Intraensaios (Execução 3)	1,98	6,64
Intraensaios (Execução 4)	1,79	4,21
Intraensaios (Execução 5)	1,13	3,92
Intraensaios (Execução 6)	1,56	3,27
Intraensaios (Execução 7)	1,95	6,46

Tabela 3. Análise das estimativas de precisão – variabilidade intraensaios (CMV)

Precisão (CMV)	CV (%) (Diluição 1)	CV (%) (Diluição 2)
Intraensaios (Execução 1)	4,81	6,71
Intraensaios (Execução 2)	3,90	7,03
Intraensaios (Execução 3)	3,95	7,01
Intraensaios (Execução 4)	3,44	6,54
Intraensaios (Execução 5)	2,96	7,81
Intraensaios (Execução 6)	4,13	8,60
Intraensaios (Execução 7)	3,53	5,79

Além disso, foi determinada a variabilidade interensaios para ambas as diluições de vírus (Tabela 4).

Tabela 4. Análise das estimativas de precisão – variabilidade interensaios (HIV, CMV)

Precisão (CMV)	CV (%) (Diluição 1)	CV (%) (Diluição 2)
Interensaios (Execuções 1–7) HIV	1,72	5,81
Interensaios (Execuções 1–7) CMV	3,92	7,30

Foram determinados desvios padrão e coeficientes de variação (CVs) para fezes para Adenovírus 5 usando um ensaio de PCR compatível com Adenovírus. As fezes negativas para Adenovírus foram fortificadas com sobrenadante da cultura de células de Adenovírus 5. Foi extraído DNA viral de amostras de 200 µl (ressuspensão de 1:10 em Buffer ASL*) e eluído em 120 µl. No total, foram realizadas sete execuções de purificação com um operador, em três instrumentos EZ1 Advanced XL, em três dias diferentes e três combinações de EZ1 DSP Virus Kit/ lote de Buffer ASL. Todas as amostras foram analisadas na mesma execução de PCR. Os dados de precisão intraensaios são exibidos como desvio padrão na Figura 5.

* QIAGEN GmbH, n° de ref. 19082

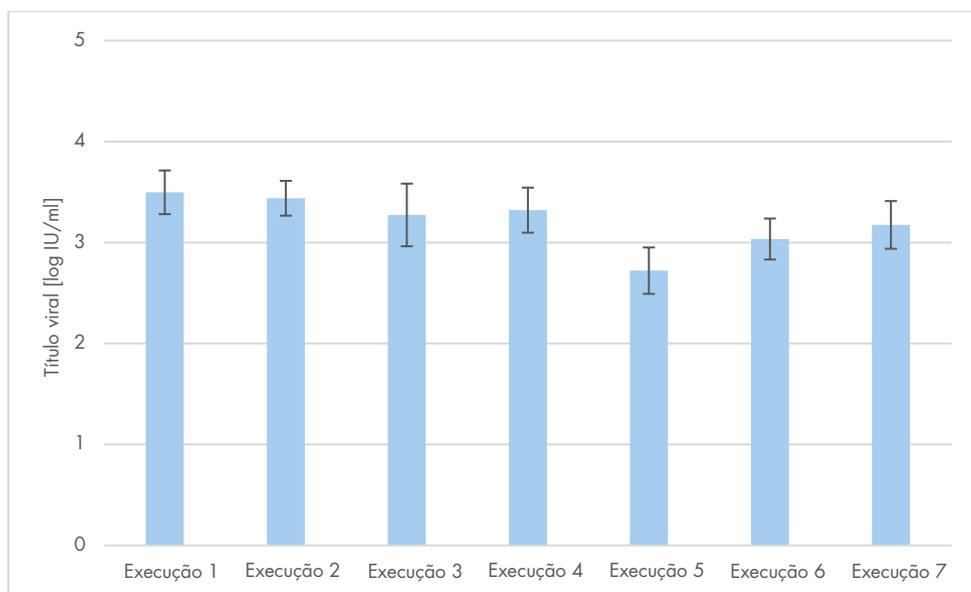


Figura 5. Precisão intraensaios utilizando o sistema EZ1 DSP Virus. Foram coletadas, agrupadas e preparadas amostras de fezes com o respectivo título viral antes do uso. Foi purificado AN a partir de alíquotas de 200 µl em sete execuções de 9/10 réplicas cada no EZ1 Advanced XL. São exibidos o título viral médio e o desvio padrão para cada execução.

Os CVs foram determinados para a extração de AN de amostras de fezes. Os dados de precisão são exibidos na Tabela 5.

Tabela 5. Análise das estimativas de precisão (Adenovírus 5) – variabilidade intraensaios

Precisão (CMV)	CV (%)
Intraensaios (Execução 1)	6,56
Intraensaios (Execução 2)	5,31
Intraensaios (Execução 3)	10,05
Intraensaios (Execução 4)	7,13
Intraensaios (Execução 5)	8,96
Intraensaios (Execução 6)	7,09
Intraensaios (Execução 7)	7,84

Além disso, foi determinada a variabilidade interensaios (Tabela 6).

Tabela 6. Análise das estimativas de precisão – variabilidade interensaios

Precisão	CV (%)
Interensaios (Execuções 1–7)	10,54

Foram determinados desvios padrão e CVs para meios de transporte para HSV-1 e *Chlamydia trachomatis* usando um ensaio de PCR de HSV-1 apropriado e um ensaios de PCR de *C. trachomatis* apropriado. Foi extraído DNA viral e bacteriano de 400 µl de meio para transporte universal (universal transport medium, UTM) e eluído em 60 µl. No total, foram realizadas seis execuções de purificação de um operador, em três dias, com três lotes de EZ1 DSP Virus Kit. Todas as amostras foram analisadas na mesma execução de PCR. Os dados de precisão intraensaios são exibidos como desvios padrão na Figura 6.

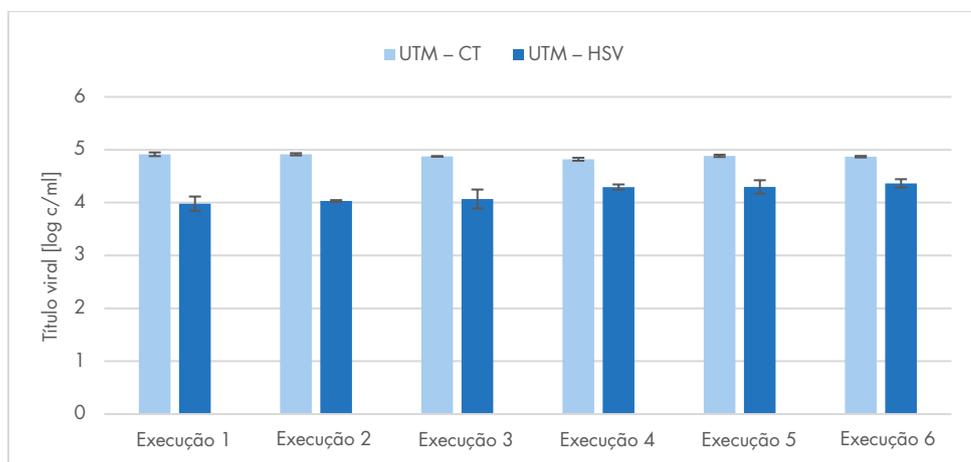


Figura 6. Precisão intraensaios utilizando o sistema EZ1 DSP Virus. Foi preparado meio para transporte universal (universal transport medium, UTM) com o respectivo título viral antes do uso. Foi purificado AN a partir de alíquotas de 400 µl em seis execuções de 2 réplicas cada no EZ1 Advanced XL. São exibidos o título viral médio e o desvio padrão para cada execução.

Os CVs foram determinados para a extração de AN de amostras de meio para transporte universal (universal transport medium, UTM). Os dados de precisão são exibidos na Tabela 7.

Tabela 7. Análise das estimativas de precisão – variabilidade intraensaios (CT e HSV)

Precisão (CMV)	CV (%) CT	CV (%) HSV
Intraensaios (Execução 1)	0,72	3,44
Intraensaios (Execução 2)	0,43	0,43
Intraensaios (Execução 3)	0,15	4,40
Intraensaios (Execução 4)	0,59	1,21
Intraensaios (Execução 5)	0,43	2,97
Intraensaios (Execução 6)	0,29	1,81

Além disso, foi determinada a variabilidade interensaios (Tabela 8).

Tabela 8. Análise das estimativas de precisão – variabilidade interensaios

Precisão	CV (%) CT	CV (%) HSV
Interensaios (Execuções 1–6)	0,77	4,25

Entrada de amostra/saída de eluato

O sistema EZ1 DSP Virus na família de instrumentos EZ1 oferece a possibilidade de combinar diferentes volumes de entrada de amostra (100, 200 ou 400 µl) com diferentes volumes de saída de eluato (60, 90, 120 ou 150 µl). O desempenho geral dos procedimentos de extração utilizados na família de instrumentos EZ1 foi verificado usando diferentes combinações de entrada de amostra e saída de eluato possíveis.

Os dados dos diferentes estudos demonstraram que o rendimento de AN é maior com volumes elevados de entrada de amostra em conjunto com volumes elevados de saída de eluato. A concentração de AN é maior com volumes elevados de entrada de amostra e volumes reduzidos de saída de eluato. Dependendo do fluxo de trabalho completo (preparo de amostras em conjunto com aplicação específica a jusante), pode haver uma combinação mais benéfica de entrada de amostra e volume de eluição que pode ajudar a otimizar, por exemplo, o rendimento e a concentração finais de AN ou a minimizar ainda mais a influência potencial de substâncias interferentes residuais.

Diferentes aplicações a jusante, mesmo para o mesmo material de amostra, podem exigir diferentes combinações de entrada de amostra/saída de eluato. Portanto, é responsabilidade do usuário validar todo o fluxo de trabalho em sua aplicação específica para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Estabilidade do eluato

A estabilidade do eluato para o EZ1 DSP Virus Kit foi avaliada usando RNA e DNA viral extraídos de amostras de plasma com EDTA de origem humana. Os eluatos foram armazenados em diferentes temperaturas e diferentes períodos de tempo e foram analisados quanto à estabilidade usando um ensaio de PCR validado internamente.

Os resultados demonstraram estabilidade dos ácidos nucleicos por até 24 horas quando armazenados a 2–8° C, por até 12 semanas quando armazenados a -20° C e por até 12 meses quando armazenados a -80° C.

A estabilidade dos ácidos nucleicos pode ser diferente para a aplicação a jusante específica que está sendo usada e precisa ser autovalidada pelo usuário.

Substâncias interferentes

A influência de substâncias exógenas interferentes no sistema EZ1 DSP Virus foi analisada testando concentrações definidas (três vezes o pico agudo de concentração após tratamento terapêutico com medicamentos, como recomendado na Diretriz EP7-A2 do CLSI) de diferentes substâncias (Tabela 9). Estas foram misturadas em amostras de plasma com EDTA positivas para CMV ou negativas para CMV e comparadas a plasma negativo para interferentes. Os eluatos de AN foram analisados usando um ensaio de PCR de CMV apropriado.

Nota: Os testes foram realizados usando aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. Contudo, as diferentes aplicações a jusante podem ter requisitos diferentes em relação à pureza (ou seja, a ausência de substâncias potencialmente interferentes), assim, a identificação e a testagem de substâncias relevantes também precisam ser estabelecidas como parte do desenvolvimento das aplicações a jusante para qualquer fluxo de trabalho envolvendo EZ1 DSP Virus Kit.

Tabela 9. Concentrações de teste de substâncias potencialmente interferentes misturadas em plasma com EDTA

Substâncias interferentes	Concentração de teste final
Sulfametoxazol	200 mg/l
Trimetoprima	5,2 mg/l
Claforan (cefotaxima)	1 g/l
Tazobac (piperacilina + tazobactam)	Piperacilina: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarclina	1 g/l
Augmentin (amoxicilina + ácido clavulânico)	Amoxicilina: 125 mg/l Ácido clavulânico: 25 mg/l
Vancomicina	125 mg/l
Fluconazol	1 mg/l
Rapamicina	100 mg/l
Micofenolato de sódio	80 mg/l

Todas as concentrações de substâncias interferentes testadas não mostraram influência significativa no desempenho do ensaio de PCR de CMV em conjunto com o sistema de EZ1 DSP Virus no que diz respeito à especificidade, sensibilidade e quantificação confiável.

Foram feitos testes adicionais de substâncias exógenas interferentes usando o sistema EZ1 DSP Virus misturando concentrações definidas de diferentes substâncias (Tabela 10) em swabs nasofaríngeos coletados em meio para transporte universal (universal transport medium, UTM). O material de amostra foi fortificado com cepas de influenza A e influenza B e os eluatos de AN foram analisados usando um ensaio de RT-PCR de Influenza A/B apropriado.

Tabela 10. Concentração de teste de substâncias potencialmente interferentes misturadas em swabs nasofaríngeos coletados em meio para transporte universal (universal transport medium, UTM)

Substâncias interferentes	Concentração de teste final
Sangue humano	5% v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl com conservantes	10% v/v de amostra
Fenilefrina	10% v/v de amostra
Oximetazolina	10% v/v de amostra
Budesonida	40 µg/ml
Propionato de fluticasona	2,5% v/v de amostra
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Enxofre	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Dipropionato de beclometasona	61,73 µg/ml
Flunisolida	25 µg/ml
Triancinolona acetona	27,5 µg/ml
Guaifenesina	1,33 mg/ml
Difenidramina	0,5 mg/ml
Bromidrato de dextrometorfano	1 mg/ml
Cloridrato de pseudoefedrina	20 µg/ml
Benzocaína	1,44 mg/ml
Mentol	5 mg/ml
Tobramicina	0,3 mg/ml
Mupirocina	2 mg/ml
Amoxicilina	1 mg/ml
Dexametasona	1,53 µmol/l

Todas as concentrações de substâncias interferentes testadas não mostraram influência significativa no desempenho do ensaio de RT-PCR de Influenza A/B em conjunto com o sistema EZ1 DSP Virus.

Contaminação cruzada

O risco de contaminação cruzada do sistema EZ1 DSP Virus Kit foi analisado realizando nove execuções no EZ1 Advanced com padrões quadriculados alternados. Para detectar os efeitos de carryover de amostra para amostra, as execuções foram realizadas com amostras de plasma positivas para ParvoB19/CMV e amostras de plasma negativas para ParvoB19/CMV em posições alternadas. Cada terceira execução foi realizada usando apenas amostras de plasma negativas. Todos os eluatos foram testados usando um ensaio de PCR de CMV apropriado, bem como um ensaio de PCR de ParvoB19 apropriado.

Todas as amostras positivas para ParvoB19/CMV testaram positivo em PCR e todas as amostras negativas para ParvoB19/CMV testaram negativo. Não foi detectada nenhuma contaminação cruzada para carryover de amostra para amostra ou de execução para execução.

Características de desempenho do EZ2 Connect MDx

As características de desempenho do EZ2 Connect MDx foram estabelecidas em estudos de equivalência com o EZ1 Advanced XL usando o EZ1 DSP Virus Kit. As características de desempenho relacionadas com o kit, como estabilidade de eluato ou desempenho básico, são válidas para todos os sistemas de instrumentos listados nas instruções de uso do EZ1 DSP Virus Kit, uma vez que o kit, como parte do sistema, não muda entre as diferentes plataformas automatizadas.

Nota: As características de desempenho dependem muito de vários fatores e estão relacionadas à aplicação a jusante específica. O desempenho foi estabelecido para o EZ1 DSP Virus Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. Contudo, os métodos para isolar ácidos nucleicos de espécimes biológicos são usados como uma abordagem inicial para diversas aplicações a jusante. Desta forma, os parâmetros de desempenho, tais como influência de substâncias interferentes exógenas, contaminação cruzada ou precisão de execução, precisam ser estabelecidos para qualquer fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Portanto, o usuário é responsável por validar todo o fluxo de trabalho de modo a estabelecer os parâmetros de desempenho adequados.

Desempenho básico e compatibilidade para diferentes aplicações a jusante

Os dados de desempenho básico gerados usando o EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced ou BioRobot EZ1 são aplicáveis ao instrumento EZ2 Connect MDx (consulte a página 2). A composição da amostra e o kit são idênticos para os sistemas de instrumentos para uso com o EZ1 DSP DNA Blood Kit. Além disso, a equivalência dos procedimentos de extração usados no sistema EZ2 Connect MDx foi testada para mostrar um desempenho básico igual ou melhorado do sistema. Durante os testes de equivalência, a compatibilidade com diferentes aplicações a jusante (incluindo qPCR) foi também confirmada.

Entretanto, como somente foram usados métodos exemplares a jusante, é responsabilidade do usuário validar todo o fluxo de trabalho em sua aplicação específica para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Congelamento/descongelamento de amostras

Não é recomendado congelar amostras descongeladas nem armazenar amostras por mais de 6 horas a 2–8 °C, uma vez que isso pode resultar na redução significativa do rendimento e da qualidade dos ácidos nucleicos virais ou do DNA bacteriano.

Precisão

Foi extraído AN a partir de uma amostra de plasma de 200 µl fortificada com VHC para uma concentração de 1E+04 IU/ml e eluído em 150 µl. No total, foram realizadas 12 execuções de purificação com três operadores diferentes, em três dispositivos diferentes (por tipo de instrumento) e em três dias diferentes. Os dados de precisão intraensaios são exibidos como desvios padrão dos valores de CT (Figura 7).

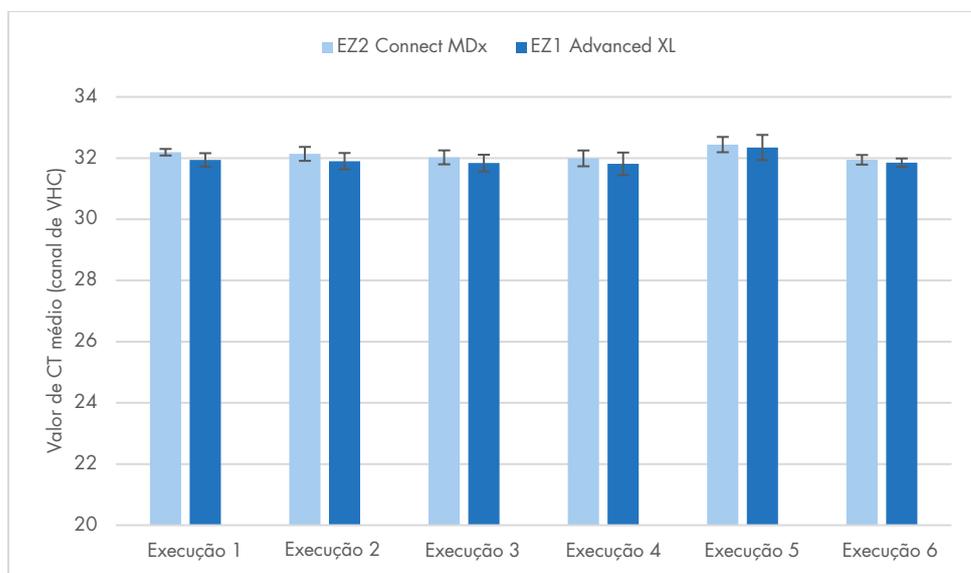


Figura 7. Valores médios de Ct de todas as execuções usando um ensaio de RT-PCR de VHC. Foi coletado, agrupado e preparado plasma com o respectivo título viral antes do uso. Foi purificado AN a partir de alíquotas de 200 µl em seis execuções de 12 réplicas cada no EZ1 Advanced XL e no EZ2 Connect MDx usando o sistema EZ1 DSP Virus. São exibidos os valores médios de Ct e os desvios padrão para cada execução.

Os CVs foram determinados para a extração de AN de plasma. Os dados de precisão são exibidos na Tabela 11.

Tabela 11. Análise das estimativas de precisão – variabilidade intraensaios

Precisão	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Intraensaios (Execução 1)	0,33	0,69
Intraensaios (Execução 2)	0,71	0,84
Intraensaios (Execução 3)	0,71	0,86
Intraensaios (Execução 4)	0,81	1,16
Intraensaios (Execução 5)	0,77	1,27
Intraensaios (Execução 6)	0,49	0,43

A variabilidade intraensaios do instrumento EZ2 Connect MDx foi determinada como sendo equivalente à variabilidade intraensaios no instrumento EZ1 Advanced XL ao usar o EZ1 DSP Virus Kit em testes de equivalência.

Além disso, foi determinada a variabilidade interensaios do instrumento EZ2 Connect MDx (Tabela 12).

Tabela 12. Análise das estimativas de precisão – variabilidade interensaios

Precisão	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Interensaios (Execuções 1–6)	0,82	1,06

A análise estatística mostrou desempenho semelhante do EZ2 Connect MDx em comparação com o instrumento EZ1 Advanced XL.

Entrada de amostra/saída de eluato

O sistema EZ1 DSP Virus no EZ2 Connect MDx oferece a possibilidade de combinar diferentes volumes de entrada de amostra (100, 200 ou 400 µl) com diferentes volumes de saída de eluato (60, 90, 120 ou 150 µl). Os testes de desempenho geral dos procedimentos de extração usados no sistema EZ2 Connect MDx mostraram desempenho semelhante do sistema em relação ao EZ1 Advanced XL.

Dependendo do fluxo de trabalho completo (preparo de amostras em conjunto com aplicação específica a jusante), pode haver uma combinação mais benéfica de entrada de amostra e volume de eluição que pode ajudar a otimizar, por exemplo, o rendimento e a concentração finais de AN ou a minimizar ainda mais a influência potencial de substâncias interferentes residuais. Diferentes aplicações a jusante, mesmo para o mesmo material de amostra, podem exigir diferentes combinações de entrada de amostra/saída de eluato. Portanto, é responsabilidade do usuário validar todo o fluxo de trabalho em sua aplicação específica para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Sensibilidade

Usando amostras de plasma fortificadas com uma concentração de VHB próxima ao limite de detecção (aprox. 18 IU/ml), foram realizadas 18 execuções de purificação no EZ2 Connect MDx e no EZ1 Advanced XL por um operador em três dispositivos diferentes (por tipo de instrumento), em três dias usando 400 µl de entrada de amostra e 90 µl de volume de eluição. Todos os eluatos foram submetidos a análise qualitativa usando um ensaio de PCR de VHB apropriado, quer o alvo pudesse ou não ser detectado. Estando próximos ao limite de detecção, não é esperado que todas as réplicas sejam determinadas como sendo positivas. No entanto, poderia ser confirmado que o número de réplicas positivas é estatisticamente equivalente.

Tabela 13. Resumo dos resultados dos testes de sensibilidade de todas as execuções do EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx – Acertos de amostras positivas para VHB									
Nº de acertos	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% de acertos	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabela 14. Resumo dos resultados dos testes de sensibilidade de todas as execuções do EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL – Acertos de amostras positivas para VHB									
Nº de acertos	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% de acertos	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabela 15. Resumo da sensibilidade mostrando resultados do teste exato de Fisher

Determinações corretas do EZ2	Determinações corretas do EZ1	Valor P do teste exato de Fisher (2 caudas)
91,55%	94,44%	0,532

A análise estatística mostrou desempenho semelhante do EZ2 Connect MDx em comparação com o instrumento EZ1 Advanced XL.

Estabilidade do eluato

Os dados de estabilidade gerados usando o EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced ou BioRobot EZ1 são aplicáveis ao instrumento EZ2 Connect MDx (consulte a página 2). A composição da amostra e do kit são idênticas para os sistemas de instrumentos para uso com o EZ1 DSP Virus Kit. Além disso, a equivalência dos procedimentos de extração usados no sistema EZ2 Connect MDx foi testada para mostrar um desempenho equivalente do sistema. As instruções para manuseio de eluato são aplicáveis a todos os sistemas automatizados para uso com o kit.

Entretanto, o usuário é responsável por validar todo o fluxo de trabalho em sua aplicação específica para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Substâncias interferentes

A influência de substâncias interferentes foi determinada usando o EZ1 Advanced XL. Estes dados também são aplicáveis ao instrumento EZ2 Connect MDx (consulte a página 12). A composição da amostra e do kit são idênticas para os sistemas de instrumentos para uso com o EZ1 DSP Virus Kit. Os volumes de entrada de amostra/saída de eluato são idênticos, de modo que não se espera impacto no tipo ou na concentração de substâncias interferentes nos eluatos. Além disso, a equivalência dos procedimentos de extração usados no sistema EZ2 Connect MDx foi testada para mostrar um desempenho equivalente do sistema. As instruções para manuseio de amostras e eluato são aplicáveis a todos os sistemas automatizados para uso com o kit.

Entretanto, o usuário é responsável por validar todo o fluxo de trabalho em sua aplicação específica para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Contaminação cruzada

O risco de contaminação cruzada do EZ1 DSP Virus Kit usado no EZ2 Connect MDx foi analisado através da realização de 10 execuções (400 µl de entrada, 60 µl de eluição) com padrões quadriculados alternados em dois dias por um operador. Para detectar os efeitos de carryover de amostra para amostra, as execuções foram realizadas com amostras de plasma positivas (fortificadas com VHB) e negativas (não fortificadas) em posições alternadas. Cada segunda execução foi realizada usando apenas amostras de plasma negativas para VHB. Todos os eluatos foram analisados usando um ensaio de PCR de VHB apropriado.

Todas as amostras positivas para VHB testaram positivo em PCR e todas as amostras de plasma negativas para VHB testaram negativo. Não foi detectada nenhuma contaminação cruzada para carryover de amostra para amostra ou de execução para execução.

Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem neste documento. Para obter uma lista completa dos símbolos usados nestas instruções de uso ou na embalagem e etiqueta, consulte o manual.

Símbolo	Definição do símbolo
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão
	Fabricante
	Nota importante

Histórico de revisões

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<p>Versão 5, Revisão 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Geração de documento para nova versão do kit. Adição de dados para o EZ2 Connect MDx• Remoção dos materiais de amostra de sangue total, urina, swabs secos, expectoração do uso previsto

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte o manual do usuário ou o respectivo manual do kit QIAGEN. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas registradas: 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.). Os nomes registrados, as marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

