

Instrucciones de uso del EZ1[®] DSP Virus Kit (Características del rendimiento)

Versión 5



Para uso diagnóstico in vitro
Para uso con el EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1

Las características del rendimiento están disponibles electrónicamente y se pueden encontrar en la pestaña resources (recursos) de la página de productos en www.qiagen.com.

Introducción general

El EZ1 DSP Virus Kit está diseñado para la purificación de ácidos nucleicos víricos y ADN bacteriano de plasma, suero, LCR, heces e hisopos nasofaríngeos recogidos en Universal Transport Medium™ (UTM®). La tecnología de partículas magnéticas proporciona ácidos nucleicos de alta calidad idóneos para usarse directamente en aplicaciones posteriores, como amplificación por PCR y qPCR. Los instrumentos EZ1 y EZ2® Connect MDx realizan todos los pasos del procedimiento de preparación de muestras para un total de hasta 6 muestras (con el EZ1 Advanced o el BioRobot® EZ1 DSP, ambos descatalogados), 14 muestras (con el EZ1 Advanced XL) o 24 muestras (con el EZ2 Connect MDx) en una única serie.

Se puede elegir el volumen de entrada de la muestra entre 100, 200 o 400 µl y el volumen de elución de ácido nucleico entre 60, 90, 120 o 150 µl.

Se ha determinado el rendimiento del sistema EZ1 DSP Virus Kit en estudios de evaluación del rendimiento utilizando plasma, suero, LCR, heces e hisopos nasofaríngeos recogidos en UTM para el aislamiento de ácidos nucleicos víricos y ADN bacteriano. Sin embargo, el rendimiento del kit no se garantiza para cada especie de virus o de bacteria y debe ser validado por el usuario. Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté cubierto por los estudios de evaluación del rendimiento de QIAGEN®.

Características del rendimiento de los instrumentos EZ1

Nota: Las características del rendimiento dependen en gran medida de diversos factores y están relacionadas con la aplicación posterior específica. Se ha determinado el rendimiento del EZ1 DSP Virus Kit con algunas aplicaciones posteriores a modo de ejemplo. Sin embargo, los métodos para aislar ácidos nucleicos de muestras biológicas son utilizados como punto de partida de muchas aplicaciones posteriores. En consecuencia, es necesario determinar parámetros de rendimiento tales como la influencia de sustancias interferentes exógenas, la contaminación cruzada o la precisión de las series para cualquiera de estos flujos de trabajo como parte del desarrollo de aplicaciones posteriores. Por tanto, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo para determinar los parámetros de rendimiento correspondientes.

Rendimiento básico y compatibilidad con diferentes aplicaciones posteriores

Para recoger las muestras de sangre que se van a analizar con los procedimientos EZ1 DSP Virus se pueden utilizar varios tipos distintos de tubos primarios y anticoagulantes. Se ha evaluado el rendimiento básico del EZ1 DSP Virus Kit utilizando 6 donantes únicos para la extracción de ácidos nucleicos víricos procedentes de 4 tubos de recogida de sangre diferentes. La tabla 1 presenta un resumen de los tubos de recogida de muestras empleados para evaluar el sistema. Después de la preparación del plasma o del suero, se añadió a las muestras un título específico del virus de la hepatitis C (VHC) o de la hepatitis B (VHB). El título vírico de cada muestra se determinó mediante el uso de sistemas de qPCR adecuados. En la Figura 1 se indica el título vírico medio con los diferentes tubos primarios.

Tabla 1. Tubos de recogida de sangre analizados con el sistema EZ1 DSP Virus Kit

Tubo primario	Fabricante	N.º de cat.*	Conservante/anticoagulante
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – gel – plasma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – plasma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Citrato de sodio – plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – suero

* Los números de catálogo podrían cambiar; compruébelos con el fabricante o distribuidor.

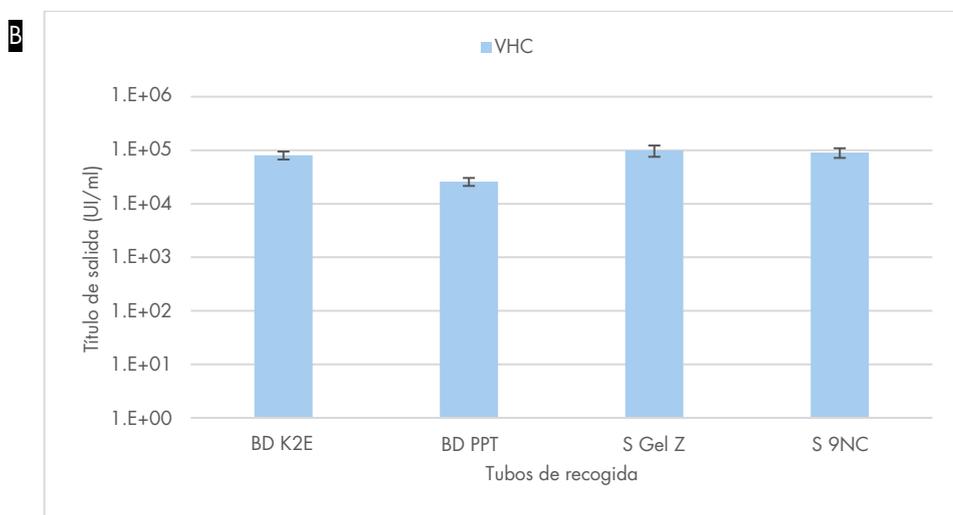
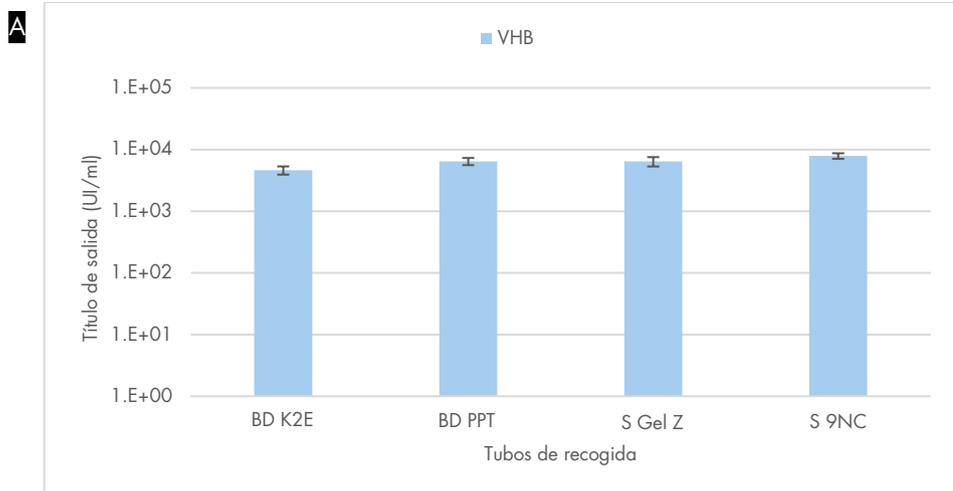


Figura 1. Rendimiento básico utilizando diferentes tubos de recogida y anticoagulantes. Se recogieron muestras de sangre procedentes de 6 donantes sanos en diferentes tipos de tubos con el fin de preparar plasma o bien suero con 10 duplicados por cada tubo de donante. Los tubos usados se indican en la Tabla 1 (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** El ADN vírico se purificó a partir de muestras de 200 μ l, con elución en 90 μ l. **B:** El ARN vírico se purificó a partir de muestras de 200 μ l con elución en 90 μ l. Los rendimientos de los ácidos nucleicos de cada donante y tubo se determinaron mediante análisis por qPCR. Las barras muestran los títulos víricos medios con la desviación estándar.

Se evaluó el intervalo lineal para el EZ1 DSP Virus Kit utilizando Adenovirus 5 como virus de ADN añadido a muestras de heces. Las pruebas se llevaron a cabo con diluciones seriadas 1:10 del sobrenadante del cultivo celular en heces negativas para Adenovirus. Se analizaron diluciones seriadas de 5 diluciones víricas diferentes con 10 duplicados cada una. Los ácidos nucleicos víricos se extrajeron a partir de muestras de 200 μ l (resuspendidas en Buffer ASL* 1:10) y eluidas en 120 μ l.) y se eluyeron en 120 μ l. Se ha determinado el intervalo lineal del procedimiento EZ1 DSP Virus Kit en combinación con un ensayo qPCR adecuado y se ha comparado con un método de extracción de ADN basado en una columna de centrifugación (Figura 2).

* QIAGEN GmbH, n.º de cat. 190822

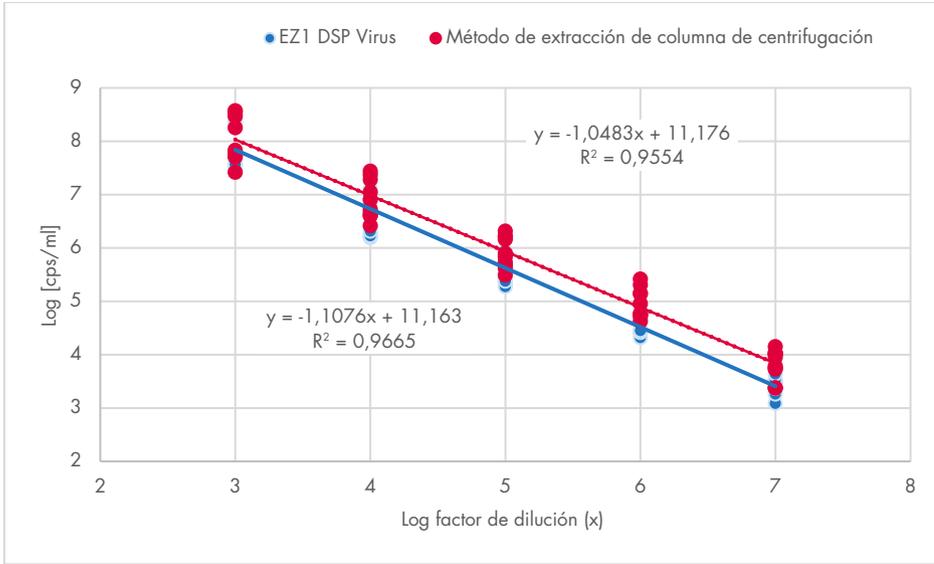


Figura 2. Intervalo lineal del título vírico utilizando el protocolo del EZ1 DSP Virus Kit. Se muestran los resultados de un ensayo de PCR de Adenovirus en combinación con eluidos procedentes de la extracción de Adenovirus 5 de muestras de heces, usando bien el EZ1 DSP Virus Kit o bien un método de extracción de ADN basado en columna de centrifugación.

Los datos de intervalo lineal adicionales se generaron añadiendo citomegalovirus (CMV) como virus de ADN a muestras de plasma con EDTA preparadas de 1 donante. Se analizaron diluciones seriadas de 7 diluciones víricas diferentes con 9 duplicados cada una. Los ácidos nucleicos víricos se extrajeron a partir de muestras de 400 µl y se eluyeron en 60 µl en EZ1 Advanced XL. Se ha determinado el intervalo lineal en combinación con un ensayo de PCR de CMV adecuado.

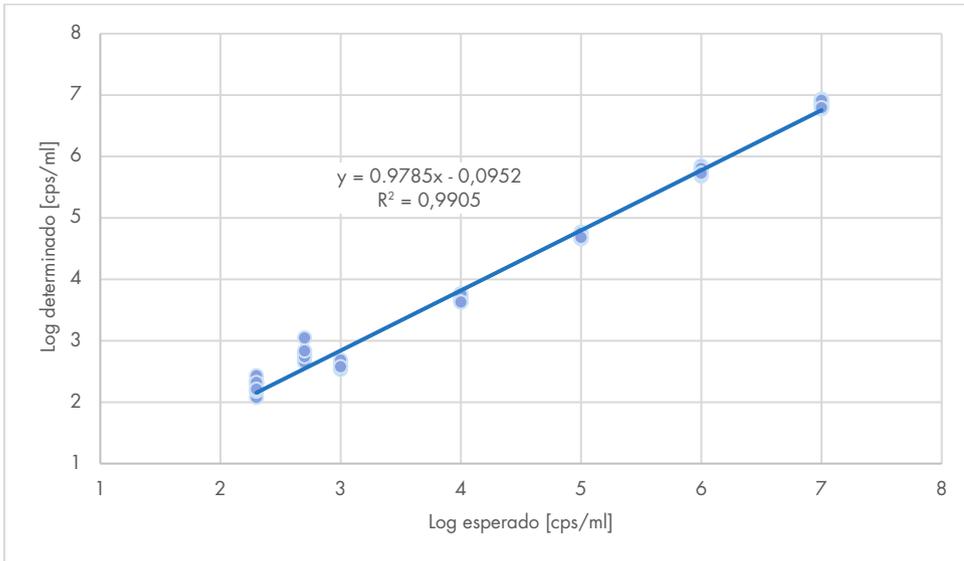


Figura 3. Intervalo lineal del título vírico utilizando el protocolo del EZ1 DSP Virus Kit. Se muestran los resultados de un ensayo de PCR de CMV adecuado en combinación con eluidos procedentes de la extracción de CMV de muestras de plasma con EDTA.

Se analizaron los eluidos de ácidos nucleicos purificados a partir de diferentes materiales de muestra utilizando el sistema EZ1 DSP Virus, y mostraron compatibilidad con diferentes ensayos de real-time PCR cuantitativa (qPCR).

Congelado-descongelado de muestras

No se recomienda volver a congelar muestras congeladas ni almacenar muestras durante más de 6 horas a 2–8 °C, pues esto reduce significativamente los rendimientos y la calidad de los ácidos nucleicos víricos o del ADN bacteriano.

Precisión

Se determinaron las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (CV) para las diluciones del VIH-1 y del CMV en el intervalo lineal de ensayos anterógrados adecuados. Se extrajeron ácidos nucleicos de una muestra de plasma de 400 µl a la que se añadió el material vírico correspondiente y se eluyeron en 120 µl. En total se llevaron a cabo 7 series de purificación por cada dilución vírica con un operador, en 3 instrumentos y en 3 días diferentes. Los eluidos se analizaron utilizando un ensayo de RT-PCR adecuado para VIH y en un ensayo de PCR para CMV. En la Figura 4 se muestran los datos de precisión intraserie en forma de desviación estándar.

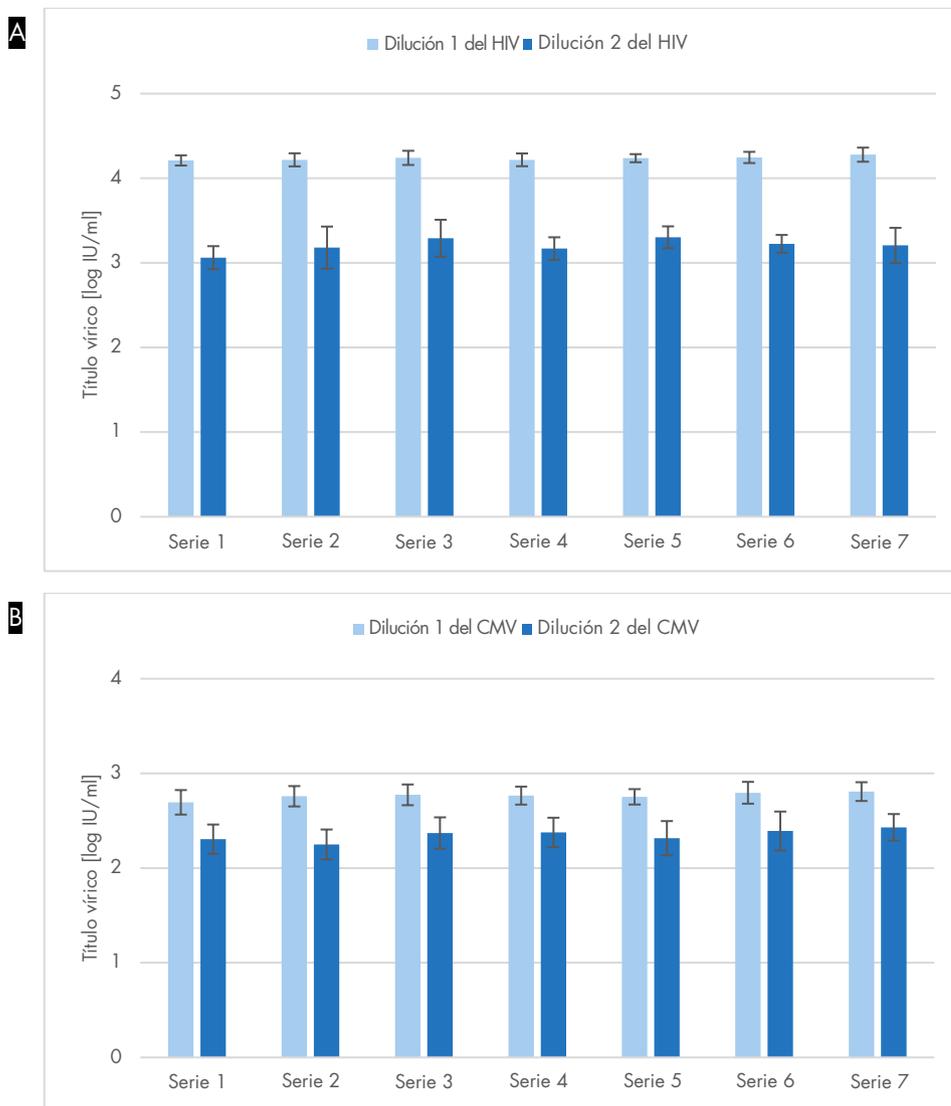


Figura 4. Precisión intraserie utilizando el sistema EZ1 DSP Virus. El plasma se recogió, agrupó y preparó con el título vírico correspondiente antes de su uso (A: VIH; B: CMV). El ácido nucleico se purificó a partir de alícuotas de 400 µl en 7 series de 14 duplicados cada una en el EZ1 Advanced XL utilizando el sistema EZ1 DSP Virus. Para cada serie se presenta el título vírico medio y la desviación estándar.

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) para la extracción de ácidos nucleicos de muestras de plasma. Los datos de precisión se presentan en la tabla 2 y en la tabla 3.

Tabla 2. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad intraserie (HIV)

Precisión (HIV)	CV (%) (Dilución 1)	CV (%) (Dilución 2)
Intraserie (serie 1)	1,43	4,45
Intraserie (serie 2)	1,83	7,82
Intraserie (serie 3)	1,98	6,64
Intraserie (serie 4)	1,79	4,21
Intraserie (serie 5)	1,13	3,92
Intraserie (serie 6)	1,56	3,27
Intraserie (serie 7)	1,95	6,46

Tabla 3. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad intraserie (CMV)

Precisión (CMV)	CV (%) (Dilución 1)	CV (%) (Dilución 2)
Intraserie (serie 1)	4,81	6,71
Intraserie (serie 2)	3,90	7,03
Intraserie (serie 3)	3,95	7,01
Intraserie (serie 4)	3,44	6,54
Intraserie (serie 5)	2,96	7,81
Intraserie (serie 6)	4,13	8,60
Intraserie (serie 7)	3,53	5,79

Además, se determinó la variabilidad interserie para ambas diluciones víricas (tabla 4).

Tabla 4. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad interserie (HIV, CMV)

Precisión (CMV)	CV (%) (Dilución 1)	CV (%) (Dilución 2)
Interserie (series 1-7) HIV	1,72	5,81
Interserie (series 1-7) CMV	3,92	7,30

Se determinaron las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (CV) para heces con Adenovirus 5 utilizando un ensayo de PCR compatible con Adenovirus. Se añadió sobrenadante de cultivo celular de Adenovirus 5 a heces negativas en Adenovirus. El ADN vírico se extrajo a partir de muestras de 200 µl (resuspendidas en Buffer ASL* 1:10) y eluidas en 120 µl. En conjunto, se realizaron 7 Hpurificaciones con un operador, en tres instrumentos EZ1 Advanced XL, en 3 días diferentes y con 3 combinaciones de lote EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL. Todas las muestras se analizaron en la misma serie de PCR. En la Figura 5 se muestran los datos de precisión intraserie en forma de desviación estándar.

* QIAGEN GmbH, n.º de cat. 19082

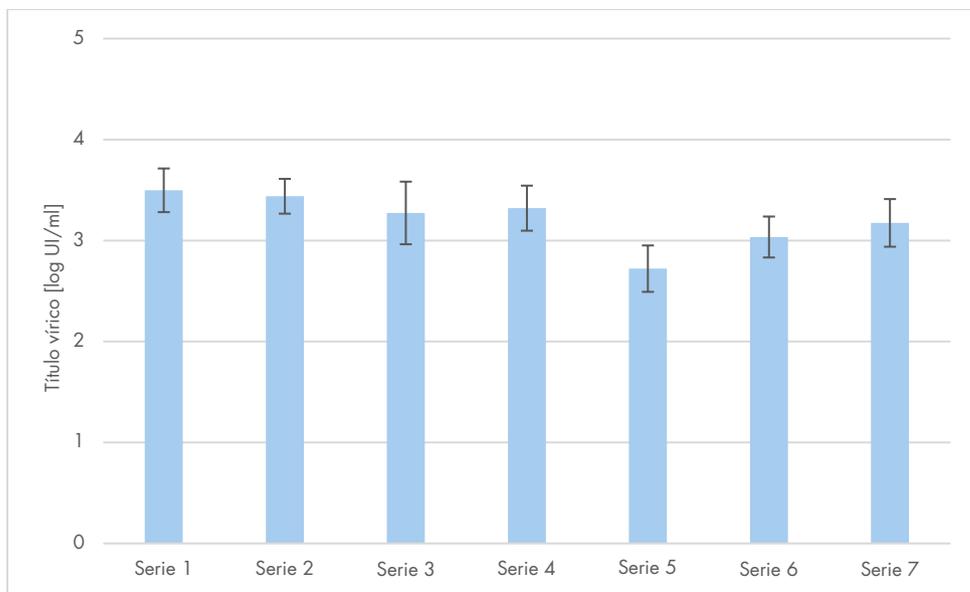


Figura 5. Precisión intraserie utilizando el sistema EZ1 DSP Virus. Las muestras de heces se recogieron, agruparon y prepararon con el título vírico correspondiente antes de su uso. El ácido nucleico se purificó a partir de alícuotas de 200 µl en 7 series de 9/10 duplicados cada una en el EZ1 Advanced XL. Para cada serie se presenta el título vírico medio y la desviación estándar.

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) para la extracción de ácidos nucleicos de muestras de heces. Los datos de precisión se presentan en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis de cálculos de precisión (Adenovirus 5): variabilidad intraserie

Precisión (CMV)	CV (%)
Intraserie (serie 1)	6,56
Intraserie (serie 2)	5,31
Intraserie (serie 3)	10,05
Intraserie (serie 4)	7,13
Intraserie (serie 5)	8,96
Intraserie (serie 6)	7,09
Intraserie (serie 7)	7,84

Además, se determinó la variabilidad interserie (tabla 6).

Tabla 6. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad interserie

Precisión	CV (%)
Interserie (series 1-7)	10,54

Se determinaron las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (CV) de los medios de transporte para el VHS-1 y *Chlamydia trachomatis* utilizando un ensayo PCR del VHS1 adecuado y un ensayo de PCR de *C. trachomatis* adecuado. El ADN vírico y bacteriano se extrajo a partir de 400 µl de UTM y se eluyó en 60 µl. En total se llevaron a cabo 6 ciclos de purificación con un operador, en 3 días con 3 lotes de EZ1 DSP Virus Kit. Todas las muestras se analizaron en la misma serie de PCR. En la figura 6 se muestran los datos de precisión intraserie en forma de desviaciones estándar.

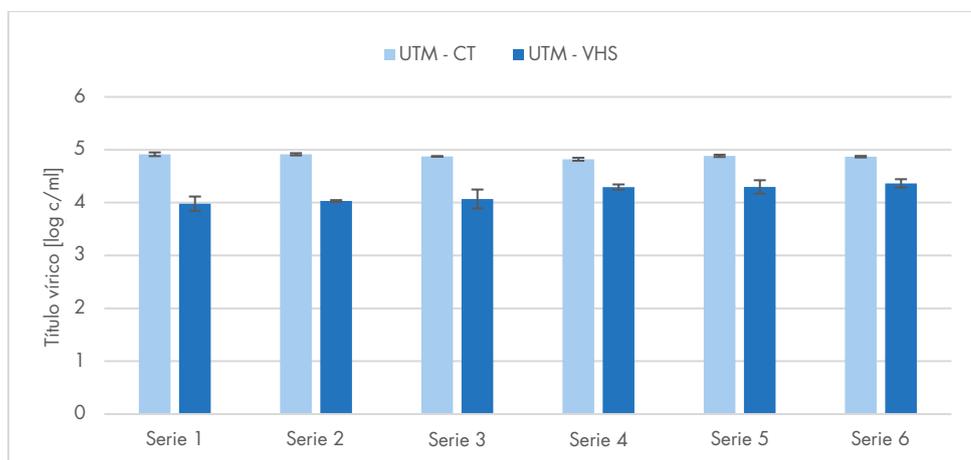


Figura 6. Precisión intraserie utilizando el sistema EZ1 DSP Virus. El UTM se preparó con el título vírico correspondiente antes de su uso. El ácido nucleico se purificó a partir de alícuotas de 400 µl en 6 series de 2 duplicados cada una en el EZ1 Advanced XL. Para cada serie se presenta el título vírico medio y la desviación estándar.

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) para la extracción de ácidos nucleicos de muestras de UTM. Los datos de precisión se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad intraserie (CT y VHS)

Precisión (CMV)	CV (%) CT	CV (%) VHS
Intraserie (serie 1)	0,72	3,44
Intraserie (serie 2)	0,43	0,43
Intraserie (serie 3)	0,15	4,40
Intraserie (serie 4)	0,59	1,21
Intraserie (serie 5)	0,43	2,97
Intraserie (serie 6)	0,29	1,81

Además, se determinó la variabilidad interserie (tabla 8).

Tabla 8. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad interserie

Precisión	CV (%) CT	CV (%) VHS
Interserie (series 1-6)	0,77	4,25

Entrada de muestra/salida de eluido

El sistema EZ1 DSP Virus de la familia de instrumentos EZ1 ofrece la posibilidad de combinar diferentes volúmenes de entrada de muestra (100, 200 o 400 µl) con diferentes volúmenes de salida de eluido (60, 90, 120 o 150 µl). Se ha verificado el rendimiento global de los procedimientos de extracción empleados en la familia de instrumentos EZ1 utilizando diferentes combinaciones posibles de entrada de muestra y salida de eluido.

Los datos de los diferentes estudios demostraron que el rendimiento de ácidos nucleicos es superior con volúmenes altos de entrada de muestra en combinación con volúmenes altos de salida de eluido. La concentración de ácidos nucleicos es superior con volúmenes altos de entrada de muestra y volúmenes bajos de salida de eluido. En función del flujo de trabajo completo (preparación de las muestras en combinación con aplicación posterior específica), podría existir una combinación más beneficiosa de entrada de muestra y volumen de elución que pudiera ayudar a optimizar, por ejemplo, el rendimiento y la concentración finales de ácidos nucleicos o a minimizar más la posible influencia de sustancias interferentes residuales.

Las aplicaciones posteriores diferentes, incluso para el mismo material de muestra, podrían precisar diferentes combinaciones de entrada de muestra/salida de eluido. En consecuencia, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo de su aplicación específica para determinar los parámetros de rendimiento adecuados.

Estabilidad del eluido

Se evaluó la estabilidad del eluido para el EZ1 DSP Virus Kit utilizando ARN y ADN víricos procedentes de muestras de plasma con EDTA humano. Los eluidos se almacenaron a diferentes temperaturas y en períodos de tiempo diferentes y se analizó su estabilidad utilizando un ensayo PCR validado propio.

Los resultados demostraron la estabilidad de los ácidos nucleicos hasta 24 horas cuando se almacenaron a 2–8 °C, hasta 12 semanas cuando se almacenaron a –20 °C y hasta 12 meses cuando se almacenaron a –80 °C.

La estabilidad de los ácidos nucleicos podría ser diferente para la aplicación posterior específica que se utilice y deberá ser validada por el propio usuario.

Sustancias interferentes

Se estudió la influencia de las sustancias interferentes exógenas sobre el sistema EZ1 DSP Virus analizando concentraciones definidas (3 veces la concentración máxima alcanzada después de un tratamiento farmacológico terapéutico, según lo recomendado en la guía EP7-A2 del CLSI) de diferentes sustancias (tabla 9). Estas se añadieron a muestras de plasma con EDTA bien CMV positivas o bien CMV negativas y se compararon con el plasma negativo para interferentes. Los eluidos de ácidos nucleicos se analizaron utilizando un ensayo PCR de CMV adecuado.

Nota: Los análisis se llevaron a cabo utilizando aplicaciones posteriores a modo de ejemplo para evaluar la calidad de los ácidos nucleicos extraídos. Sin embargo, las diferentes aplicaciones posteriores podrían tener diferentes requisitos con respecto a la pureza (p. ej., ausencia de posibles sustancias interferentes), por lo que también es necesario determinar la identificación y comprobación de sustancias relevantes como parte del desarrollo de aplicaciones posteriores para cualquier flujo de trabajo que implique al EZ1 DSP Virus Kit.

Tabla 9. Concentraciones de prueba de posibles sustancias interferentes añadidas al plasma con EDTA

Sustancias interferentes	Conc. final del análisis
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
Ticarcilina	1 g/l
Augmentin (amoxicilina + ácido clavulánico)	Amoxicilina: 125 mg/l Ácido clavulánico: 25 mg/l
Vancomicina	125 mg/l
Fluconazol	1 mg/l
Rapamicina	100 mg/l
Micofenolato de sodio	80 mg/l

Ninguna de las concentraciones de las sustancias interferentes analizadas mostró ninguna influencia significativa sobre el rendimiento del ensayo PCR de CMV en combinación con el sistema EZ1 DSP Virus con relación a la especificidad, la sensibilidad y la fiabilidad de la cuantificación.

Se realizaron análisis adicionales de sustancias interferentes exógenas empleando el sistema EZ1 DSP Virus mediante la adición de concentraciones definidas de diferentes sustancias (tabla 10) en hisopos nasofaríngeos recogidos en UTM. Se añadió al material de muestra cepas de gripe A y gripe B y los eluidos de ácidos nucleicos se analizaron con un ensayo RT-PCR de gripe A/B adecuado.

Tabla 10. Concentraciones analizadas de posibles sustancias interferentes añadidas a los hisopos nasofaríngeos recogidos en UTM

Sustancias interferentes	Conc. final del análisis
Sangre humana	5% v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl con conservantes	10 % v/v de muestra
Fenilefrina	10 % v/v de muestra
Oximetazolina	10 % v/v de muestra
Budesonida	40 µg/ml
Propionato de fluticasona	2,5% v/v de muestra
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Azufre	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Clorhidrato de histamina	4,5 mg/ml
Dipropionato de beclometasona	61,73 µg/ml
Flunisolida	25 µg/ml
Acetónido de triamcinolona	27,5 µg/ml
Guaifenesina	1,33 mg/ml
Clorhidrato de difenhidramina	0,5 mg/ml
Bromhidrato de dextrometorfano	1 mg/ml
Clorhidrato 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

Ninguna de las concentraciones de las sustancias interferentes analizadas mostró ninguna influencia significativa sobre el rendimiento del ensayo Infl A/B RT-PCR en combinación con el sistema EZ1 DSP Virus.

Contaminación cruzada

Se analizó el riesgo de contaminación cruzada del sistema EZ1 DSP Virus Kit realizando 9 series en el EZ1 Advanced con patrones de cuadrícula alterna. Para detectar el arrastre de muestra a muestra, las series se realizaron con muestras de plasma positivas para ParvoB19/CMV y muestras de plasma negativas para ParvoB19/CMV en posiciones alternas. Cada tercera serie se llevó a cabo utilizando únicamente muestras de plasma negativas. Todos los eluidos se analizaron con un ensayo PCR de CMV adecuado, así como con un ensayo PCR de Parvo B19 adecuado.

Todas las muestras positivas para Parvo B19/CMV dieron positivo en PCR y todas las muestras negativas para Parvo B19/CMV dieron negativo. No se detectó contaminación cruzada por arrastre entre muestras o entre series.

Características del rendimiento de EZ2 Connect MDx

Se determinaron las características del rendimiento para el EZ2 Connect MDx en estudios de equivalencia con el EZ1 Advanced XL utilizando el EZ1 DSP Virus Kit. Las características del rendimiento relacionadas con el kit, como la estabilidad del eluido o el rendimiento básico, son válidas para todos los sistemas instrumentales que aparecen en las instrucciones de uso del EZ1 DSP Virus Kit, dado que el kit como parte del sistema no cambia para las diferentes plataformas automatizadas.

Nota: Las características del rendimiento dependen en gran medida de diversos factores, y están relacionadas con la aplicación posterior específica. Se ha determinado el rendimiento del EZ1 DSP Virus Kit con algunas aplicaciones posteriores a modo de ejemplo. Sin embargo, los métodos para aislar ácidos nucleicos de muestras biológicas son utilizados como punto de partida de muchas aplicaciones posteriores. En consecuencia, es necesario determinar parámetros de rendimiento tales como la influencia de sustancias interferentes exógenas, la contaminación cruzada o la precisión de las series para cualquiera de estos flujos de trabajo como parte del desarrollo de aplicaciones posteriores. Por lo tanto, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo para determinar los parámetros de rendimiento correspondientes.

Rendimiento básico y compatibilidad con diferentes aplicaciones posteriores

Los datos de rendimiento básicos generados con el EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced o BioRobot EZ1 también se aplican al instrumento EZ2 Connect MDx (consulte la página 2). La composición de la muestra y el kit son idénticos para los sistemas de instrumentos para su uso con el EZ1 DSP DNA Blood Kit. Además, se ha evaluado la equivalencia de los procedimientos de extracción empleados en el sistema EZ2 Connect MDx con el fin de mostrar un rendimiento básico igual o superior del sistema. Durante los análisis de equivalencia, también se confirmó la compatibilidad con diferentes aplicaciones posteriores (incluida la qPCR).

Sin embargo, dado que solo se emplearon métodos posteriores a modo de ejemplo, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo de su aplicación específica para establecer los parámetros de rendimiento adecuados.

Congelado-descongelado de muestras

No se recomienda volver a congelar muestras congeladas ni almacenar muestras durante más de 6 horas a 2–8 °C, pues esto reduce significativamente los rendimientos y la calidad de los ácidos nucleicos víricos o del ADN bacteriano.

Precisión

Se extrajo ácido nucleico de una muestra de plasma de 200 µl a la que se añadió VHC a una concentración de 1E+04 UI/ml y se eluyó en 150 µl. En total se realizaron 12 series de purificación con tres operadores diferentes, en 3 dispositivos diferentes (por cada tipo de instrumento) y en 3 días diferentes. Los datos de precisión intraserie se muestran como desviaciones estándar de los valores de CT (figura 7).

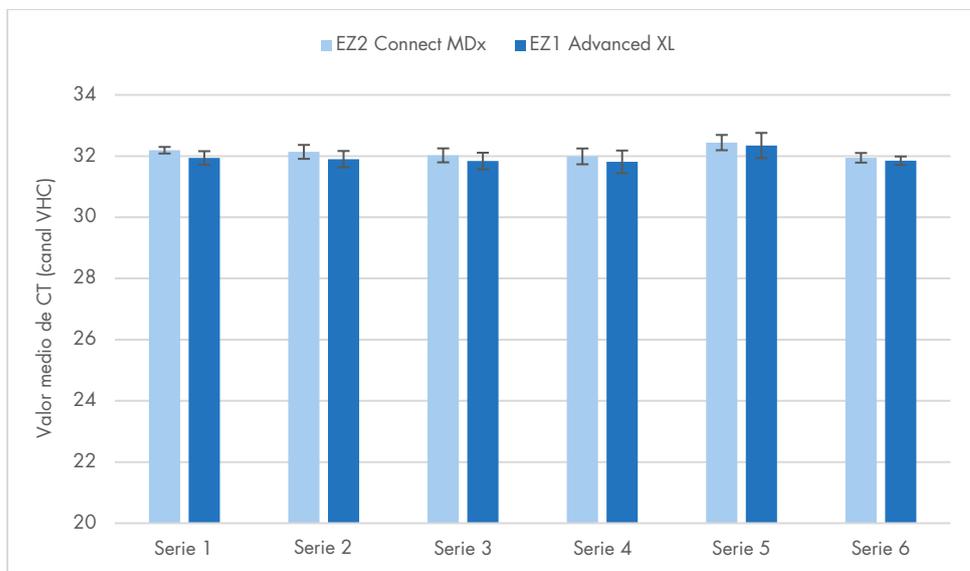


Figura 7. Valores de CT medios de todas las series utilizando un ensayo RT-PCR de VHC. El plasma se recogió, agrupó y preparó con el título vírico correspondiente antes de su uso. El ácido nucleico se purificó a partir de alícuotas de 200 µl en 6 series de 12 duplicados cada una en el EZ1 Advanced XL y el EZ2 Connect MDx utilizando el sistema EZ1 DSP Virus. Para cada serie se presentan los valores medios de CT y la desviación estándar.

Se determinaron los coeficientes de variación (CV) para la extracción de ácidos nucleicos de plasma. Los datos de precisión se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad intraserie

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

Se determinó que la variabilidad intraserie para el instrumento EZ2 Connect MDx era equivalente a la variabilidad intraserie en el instrumento EZ1 Advanced XL cuando se usaba el EZ1 DSP Virus Kit en análisis de equivalencia.

Además, se determinó la variabilidad interserie para el instrumento EZ2 Connect MDx (tabla 12).

Tabla 12. Análisis de los cálculos de precisión: variabilidad interserie

Precisión	CV (%) (EZ2 Connect MDx)	CV (%) (EZ1 Advanced XL)
Interserie (series 1-6)	0,82	1,06

El análisis estadístico mostró el mismo rendimiento del EZ2 Connect MDx que el del instrumento EZ1 Advanced XL.

Entrada de muestra/salida de eluido

El sistema EZ1 DSP Virus del EZ2 Connect MDx ofrece la posibilidad de combinar diferentes volúmenes de entrada de muestra (100, 200 o 400 µl) con diferentes volúmenes de salida de eluido (60, 90, 120 o 150 µl). El análisis de rendimiento global de los procedimientos de extracción usados en el sistema EZ2 Connect MDx mostró el mismo rendimiento que el del EZ1 Advanced XL.

En función del flujo de trabajo completo (preparación de las muestras en combinación con aplicación posterior específica), podría existir una combinación más beneficiosa de entrada de muestra y volumen de elución que pudiera ayudar a optimizar, por ejemplo, el rendimiento y la concentración finales de ácidos nucleicos o a minimizar más la posible influencia de sustancias interferentes residuales. Las aplicaciones posteriores diferentes, incluso para el mismo material de muestra, podrían precisar diferentes combinaciones de entrada de muestra/salida de eluido. En consecuencia, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo de su aplicación específica para determinar los parámetros de rendimiento adecuados.

Sensibilidad

Utilizando muestras de plasma a las que se añadió una concentración de VHB próxima al límite de detección (aprox. 18 UU/ml), se realizaron 18 series de purificación en el EZ2 Connect MDx y en el EZ1 Advanced XL por un operador en tres dispositivos diferentes (para cada tipo de instrumento) en 3 días utilizando 400 µl de entrada de muestra y 90 µl de volumen de elución. Todos los eluidos se sometieron a un análisis cualitativo utilizando un ensayo PCR de VHB adecuado, tanto si se pudieron detectar las dianas como si no. Al estar próximos al límite de detección, no se espera que se determinaran todos los duplicados como positivos. Sin embargo, se pudo confirmar que el número de duplicados positivos es estadísticamente equivalente.

Tabla 13. Resumen de los resultados del análisis de sensibilidad de todas las series del EZ2 Connect MDx

EZ2 Connect MDx: aciertos de muestras positivas para VHB									
N.º de aciertos	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% de aciertos	100%	100%	87,50%	87,50%	87,50%	100%	100%	75,00%	87,50%

Tabla 14. Resumen de los resultados de la prueba de sensibilidad de todas las series de EZ1 Advanced XL

EZ1 Advanced XL: aciertos de muestras positivas para VHB									
N.º de aciertos	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% de aciertos	100%	100%	100%	87,50%	87,50%	100%	100%	87,50%	87,50%

Tabla 15. Resumen de sensibilidad que muestra los resultados de la prueba exacta de Fisher

Identificaciones correctas de EZ2	Identificaciones correctas de EZ1	Valor P de la prueba exacta de Fisher (2 colas)
91,55%	94,44%	0,532

El análisis estadístico mostró el mismo rendimiento del EZ2 Connect MDx que el del instrumento EZ1 Advanced XL.

Estabilidad del eluido

Los datos de estabilidad del eluido generados con el EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced o BioRobot EZ1 también se aplican al instrumento EZ2 Connect MDx (consulte la página 2). La composición de la muestra y del kit es idéntica para los sistemas de instrumentos para su uso con el EZ1 DSP Virus Kit. Además, se ha evaluado la equivalencia de los procedimientos de extracción empleados en el sistema EZ2 Connect MDx con el fin de mostrar un rendimiento igual del sistema. Las instrucciones para la manipulación del eluido se aplican a todos los sistemas automatizados para su uso con el kit.

Sin embargo, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo de su aplicación específica para determinar los parámetros de rendimiento adecuados.

Sustancias interferentes

Se determinó la influencia de las sustancias interferentes usando el EZ1 Advanced XL. Estos datos también se aplican al instrumento EZ2 Connect MDx (consulte la página 12). La composición de la muestra y del kit es idéntica para los sistemas de instrumentos para su uso con el EZ1 DSP Virus Kit. Los volúmenes de entrada de muestra/salida de eluido son idénticos de modo que no se espera ninguna influencia sobre el tipo o la concentración de sustancias interferentes en los eluidos. Además, se ha evaluado la equivalencia de los procedimientos de extracción empleados en el sistema EZ2 Connect MDx con el fin de mostrar un rendimiento igual del sistema. Las instrucciones para la manipulación de la muestra y del eluido se aplican a todos los sistemas automatizados para su uso con el kit.

Sin embargo, es responsabilidad del usuario validar el flujo de trabajo completo de su aplicación específica para determinar los parámetros de rendimiento adecuados.

Contaminación cruzada

Se analizó el riesgo de contaminación cruzada del EZ1 DSP Virus Kit usado en el EZ2 Connect MDx llevando a cabo diez series (400 μ l de entrada, 60 μ l de elución) con patrones de cuadrícula alterna en 2 días por un operador. Para detectar el arrastre de muestra a muestra, las series se realizaron con muestras de plasma positivas (a las que se añadió VHB) y negativas (a las que no se añadió nada) en posiciones alternas. Cada segunda serie se llevó a cabo utilizando únicamente muestras de plasma negativas para VHB. Los eluidos se analizaron utilizando un ensayo PCR de HBV adecuado.

Todas las muestras positivas para VHB dieron positivo en PCR y todas las muestras negativas para VHB dieron negativo. No se detectó contaminación cruzada por arrastre entre muestras o entre series.

Símbolos

Los siguientes símbolos aparecen en este documento. Para ver una lista completa de los símbolos usados en las instrucciones de uso o en el embalaje y etiquetado, consulte el manual de uso.

Símbolo	Definición del símbolo
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
Rn	"R" es la revisión de las Instrucciones de uso y "n" es el número de revisión
	Fabricante
	Nota importante

Historial de revisiones

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p>Versión 5, Revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Generación de documento para nueva versión del kit. Se han agregado datos para EZ2 Connect MDx• Se han eliminado del uso previsto los materiales de muestra sangre total, orina, hisopos secos y esputo.

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: 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.). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

