

EZ1[®] DSP Virus Kit

Gebrauchsanweisung (Leistungsmerkmale)

Version 5



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem EZ1 DSP Virus Kit (48)



62724



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Die Leistungsmerkmale sind elektronisch unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar.

Allgemeine Einführung

Das EZ1 DSP Virus Kit ist für die Aufreinigung viraler Nukleinsäuren und bakterieller DNA aus Plasma, Serum, Liquor, Stuhl und in Universal Transport Medium™ (UTM®) entnommene nasopharyngeale Abstriche vorgesehen. Die Magnetpartikel-Technologie liefert hochwertige Nukleinsäuren (Nucleic Acid,NA), die direkt in nachgelagerten Anwendungen wie z. B. Amplifikation mittels PCR und qPCR eingesetzt werden können. Die EZ1 und EZ2® Connect MDx Geräte führen alle Schritte des Probenvorbereitungsverfahrens für bis zu 6 Proben (bei Verwendung des EZ1 Advanced oder des BioRobot® EZ1 DSP, Produktion bei beiden eingestellt), bis zu 14 Proben (bei Verwendung des EZ1 Advanced XL) oder bis zu 24 Proben (bei Verwendung des EZ2 Connect MDx) in einem Lauf durch.

Für das Probeneingabevolumen kann zwischen 100, 200 und 400 µl, für das NA-Elutionsvolumen zwischen 60, 90, 120 und 150 µl gewählt werden.

Die Leistung des EZ1 DSP Virus Kit Systems wurde in Leistungsbewertungsstudien unter Verwendung von Plasma-, Serum-, Liquor-, Stuhl- und in UTM entnommene nasopharyngeale Abstrichproben zur Isolierung von viralen NAs und bakterieller DNA etabliert. Allerdings kann die Leistungsfähigkeit des Kits nicht für jede Virus- oder Bakterienspezies garantiert werden; sie ist vom Anwender zu validieren. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, für jedes Verfahren, das im Labor des Anwenders durchgeführt wird und nicht durch die QIAGEN® Leistungsbewertungsstudien abgedeckt ist, die Systemleistung selbst zu validieren.

Leistungsmerkmale der EZ1 Geräte

Hinweis: Die Leistungsmerkmale sind stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Die Leistung wurde für das EZ1 DSP Virus Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen etabliert. Die Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren aus biologischen Proben dienen jedoch als Einstiegspunkt für zahlreiche nachgelagerte Anwendungen. Aus diesem Grund müssen Leistungsparameter wie der Einfluss von exogenen Störsubstanzen, Kreuzkontamination oder Laufpräzision für jeden derartigen Arbeitsablauf im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung ermittelt werden. Damit liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Grundlegende Leistung und Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen

Zur Entnahme von Blutproben für das EZ1 DSP Virus Verfahren eignen sich verschiedene Primärröhrchen und Antikoagulanzen. Die grundlegende Leistung für das EZ1 DSP Virus Kit wurde anhand der Proben von 6 einzelnen Spendern zur Extraktion von viralen NAs aus 4 verschiedenen Blutentnahmeröhrchen bewertet. Tabelle 1 enthält eine Übersicht der Probenentnahmeröhrchen, die zur Bewertung des Systems verwendet wurden. Nach der Plasma- oder Serumgewinnung wurden die Proben mit einem spezifischen Virustiter von Hepatitis C (HCV) oder Hepatitis B (HBV) versetzt. Der Virustiter wurde unter Einsatz geeigneter qPCR-Systeme für jede Probe ermittelt. Die durchschnittlichen Virustiter bei Verwendung verschiedener Primärröhrchen sind in Abbildung 1 aufgeführt.

Tabelle 1. Mit dem EZ1 DSP Virus System getestete Blutentnahmeröhrchen

Primärröhrchen	Hersteller	Kat.-Nr.*	Konservierungsmittel/Antikoagulans
BD™ Vacutainer® PTT	BD	362788	K2EDTA – Gel – Plasma
BD Vacutainer K2E	BD	367525	K2EDTA – Plasma
S-Monovette® 9NC	Sarstedt®	02.1067.001	Natriumcitrat – Plasma
S-Monovette Serum Gel Z	Sarstedt	02.1388.001	Gel – Serum

* Die Katalognummern können sich ändern; bitte beim Hersteller oder Anbieter nachfragen.

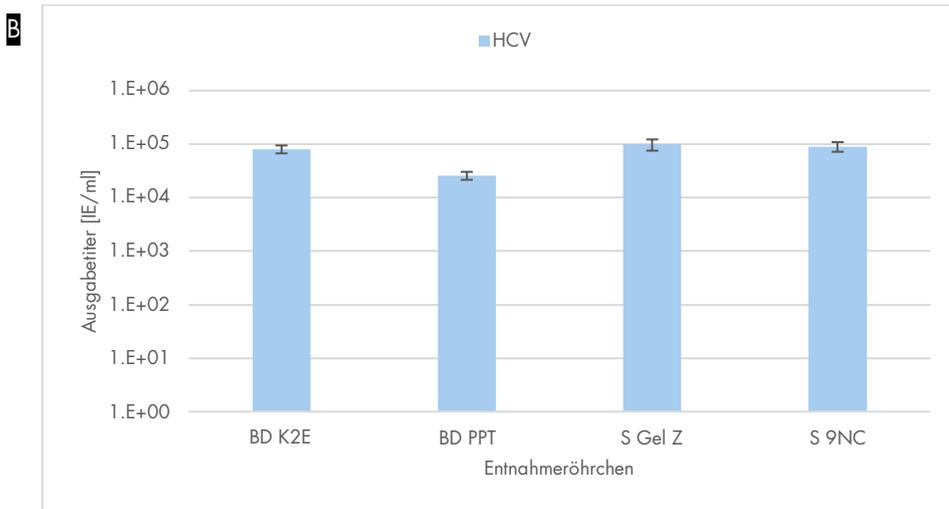
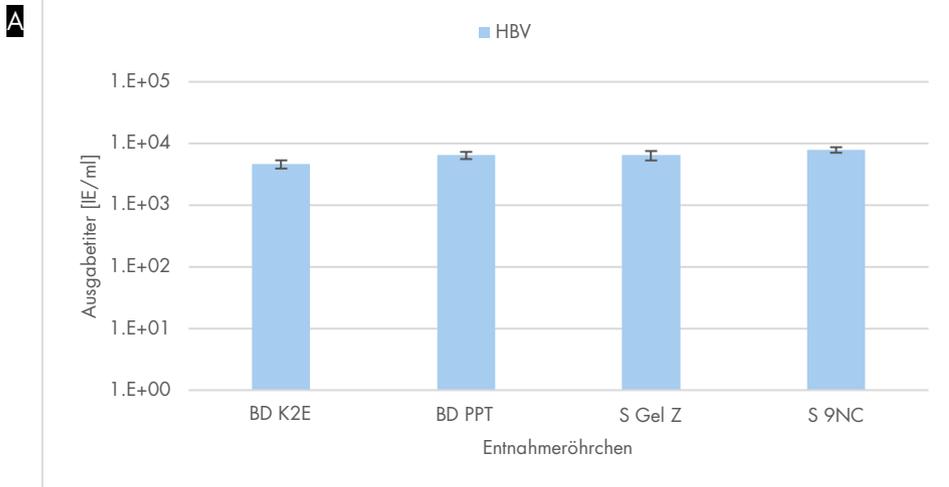


Abbildung 1. Grundlegende Leistung mit verschiedenen Entnahmeröhrchen und Antikoagulanzen. Blutproben von 6 gesunden Spendern wurden in verschiedene Röhrchenarten entnommen, zur Gewinnung von entweder Plasma oder Serum in 10 Replikaten je Spenderröhrchen. Die verwendeten Röhrchen sind in Tabelle 1 aufgeführt (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette). **A:** Virale DNA wurde aus 200- μ l-Proben aufgereinigt; das Elutionsvolumen betrug 90 μ l. **B:** Virale RNA wurde aus 200- μ l-Proben aufgereinigt; das Elutionsvolumen betrug 90 μ l. Die NA-Ausbeuten je Spender und Röhrchen wurden mittels qPCR-Analyse bestimmt. Die Balken zeigen die mittleren erhaltenen Virustiter mit Standardabweichung.

Der lineare Bereich für das EZ1 DSP Virus Kit wurde anhand von mit dem DNA-Virus Adenovirus 5 versetzten Stuhlproben ermittelt. Die Tests wurden mit seriellen 10-Fach-Verdünnungen von Zellkulturüberstand in Adenovirus-negativem Stuhl durchgeführt. Verdünnungsreihen aus 5 verschiedenen Virusverdünnungen wurden mit jeweils 10 Replikaten getestet. Die viralen Nukleinsäuren wurden aus 200- μ l-Proben extrahiert (1:10 resuspendiert in Buffer ASL*) und in 120 μ l eluiert. Der lineare Bereich des EZ1 DSP Virus Verfahrens wurde in Kombination mit einem geeigneten qPCR-Assay im Vergleich zu einer Spin-Säulen-basierten DNA-Extraktionsmethode bestimmt (Abbildung 2).

* QIAGEN GmbH, Kat.-Nr. 190822

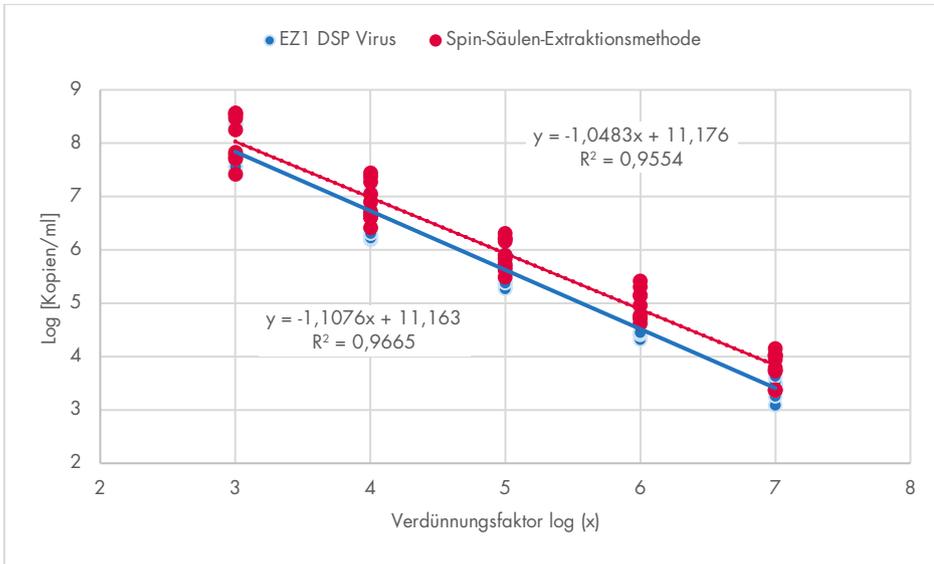


Abbildung 2. Linearer Bereich des Virustiters bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Protokolls. Dargestellt sind die Ergebnisse eines geeigneten PCR-Assays auf das Adenovirus in Kombination mit Eluaten aus der Extraktion von Adenovirus 5 aus Stuhlproben, entweder unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Kit oder einer Spin-Säulen-basierten DNA-Extraktionsmethode.

Um zusätzliche Daten zum linearen Bereich zu generieren, wurden von einem Spender gewonnene EDTA-Plasmaproben mit dem DNA-Virus Zytomegalievirus (CMV) versetzt. Verdünnungsreihen aus 7 verschiedenen Virusverdünnungen wurden mit jeweils 9 Replikaten getestet. Die viralen Nukleinsäuren wurden auf dem EZ1 Advanced XL aus 400- μ l-Proben extrahiert und in 60 μ l eluiert. Der lineare Bereich wurde in Kombination mit einem geeigneten PCR-Assay auf CMV ermittelt.

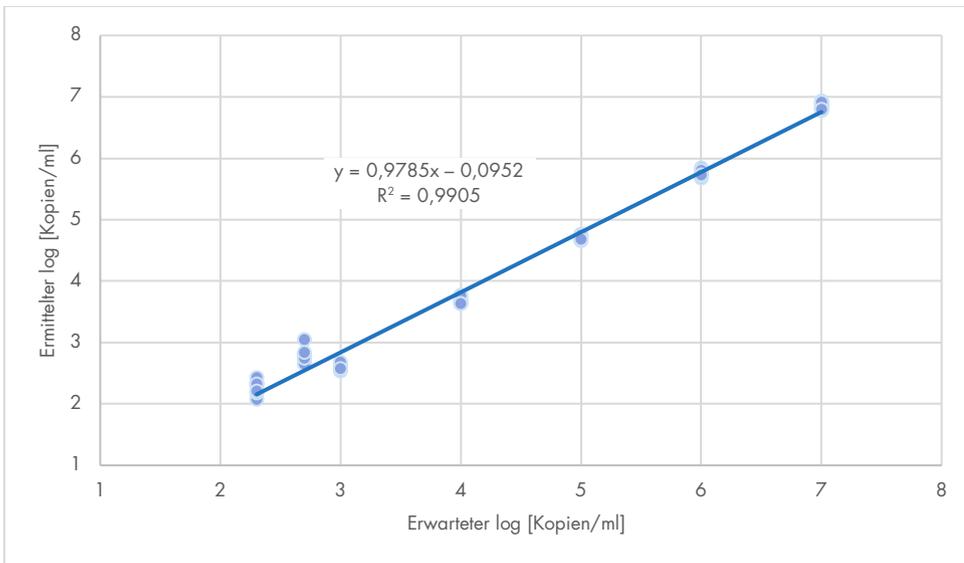


Abbildung 3. Linearer Bereich des Virustiters bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Protokolls. Dargestellt sind die Ergebnisse eines geeigneten PCR-Assays auf CMV in Kombination mit Eluaten aus der Extraktion von CMV aus EDTA-Plasmaproben.

NA-Eluate, die mit dem EZ1 DSP Virus System aus verschiedenen Probenmaterialien aufgereinigt wurden, wurden analysiert und erwiesen sich als kompatibel mit verschiedenen quantitativen Real-time PCR (qPCR)-Assays.

Einfrieren und Auftauen von Proben

Es wird nicht empfohlen, aufgetaute Proben erneut einzufrieren oder Proben länger als 6 Stunden bei 2–8 °C aufzubewahren, da dies eine signifikante Verringerung der Ausbeute und Qualität der viralen Nukleinsäuren oder bakteriellen DNA zur Folge hat.

Präzision

Standardabweichungen und VKs wurden für HIV-1- und CMV-Verdünnungen im linearen Bereich der geeigneten nachgelagerten Assays ermittelt. NAs wurden aus mit dem entsprechenden Virusmaterial versetzten 400- μ l-Plasmaproben extrahiert und in 120 μ l eluiert. Insgesamt wurden je Virusverdünnung 7 Aufreinigungsläufe durch 1 Bediener, auf 3 Geräten und an 3 verschiedenen Tagen durchgeführt. Die Eluate wurden mithilfe eines für HIV geeigneten RT-PCR-Assays und eines PCR-Assays auf CMV analysiert. Die Intra-Lauf-Präzisionsdaten sind in Abbildung 4 als Standardabweichung dargestellt.

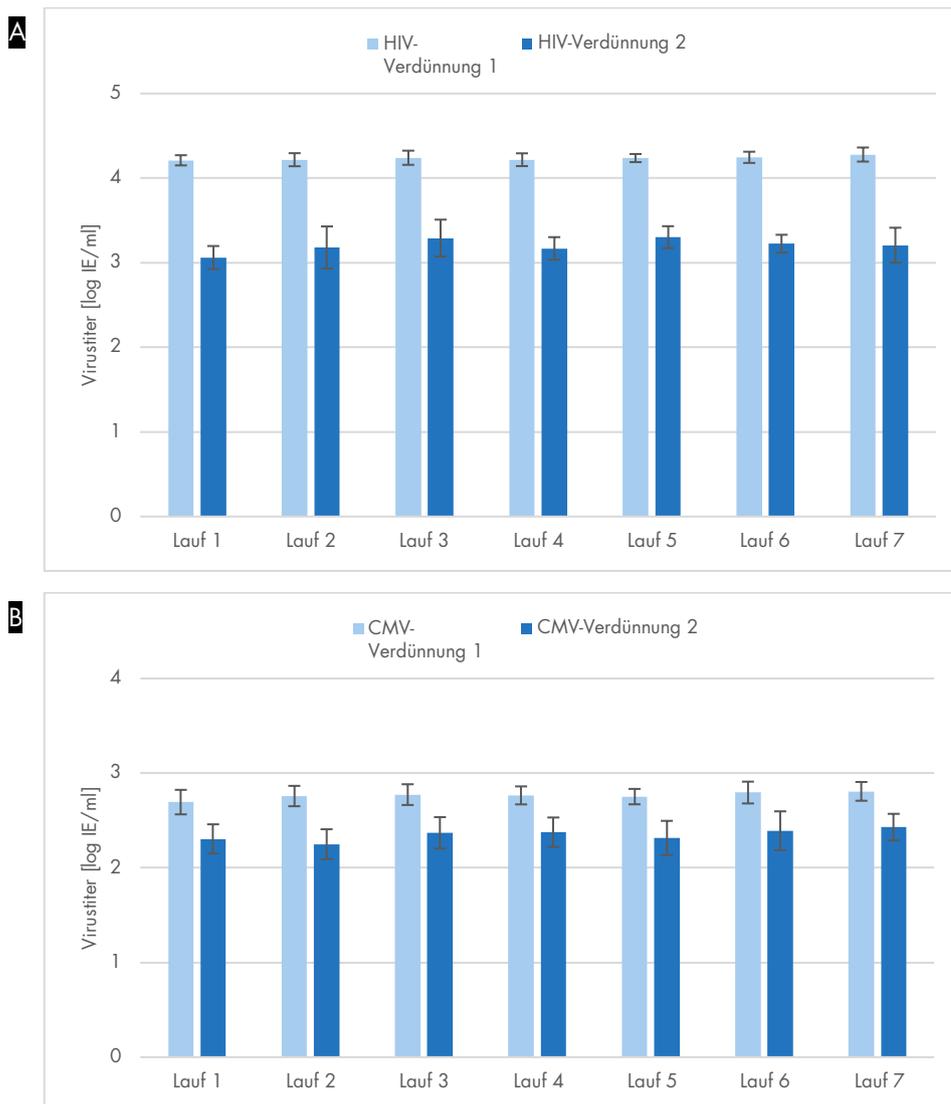


Abbildung 4. Intra-Lauf-Präzision bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems. Plasma wurde entnommen, gepoolt und vor der Verwendung mit dem entsprechenden Virustiter versetzt (A: HIV; B: CMV). NAs wurden in 7 Läufen mit je 14 Replikaten unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems auf dem EZ1 Advanced XL aus 400- μ l-Aliquoten aufgereinigt. Für jeden Lauf sind der mittlere Virustiter und die Standardabweichung angegeben.

VKs wurden für die Extraktion von NA aus Plasmaproben bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 2 und Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 2. Analyse von Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität (HIV)

Präzision (HIV)	VK (%) (Verdünnung 1)	VK (%) (Verdünnung 2)
Intra-Lauf (Lauf 1)	1,43	4,45
Intra-Lauf (Lauf 2)	1,83	7,82
Intra-Lauf (Lauf 3)	1,98	6,64
Intra-Lauf (Lauf 4)	1,79	4,21
Intra-Lauf (Lauf 5)	1,13	3,92
Intra-Lauf (Lauf 6)	1,56	3,27
Intra-Lauf (Lauf 7)	1,95	6,46

Tabelle 3. Analyse von Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität (CMV)

Präzision (CMV)	VK (%) (Verdünnung 1)	VK (%) (Verdünnung 2)
Intra-Lauf (Lauf 1)	4,81	6,71
Intra-Lauf (Lauf 2)	3,90	7,03
Intra-Lauf (Lauf 3)	3,95	7,01
Intra-Lauf (Lauf 4)	3,44	6,54
Intra-Lauf (Lauf 5)	2,96	7,81
Intra-Lauf (Lauf 6)	4,13	8,60
Intra-Lauf (Lauf 7)	3,53	5,79

Darüber hinaus wurde die Inter-Lauf-Variabilität für beide Virusverdünnungen bestimmt (Tabelle 4).

Tabelle 4. Analyse von Präzisionsschätzungen – Inter-Lauf-Variabilität (HIV, CMV)

Präzision (CMV)	VK (%) (Verdünnung 1)	VK (%) (Verdünnung 2)
Inter-Lauf (Lauf 1–7) HIV	1,72	5,81
Inter-Lauf (Lauf 1–7) CMV	3,92	7,30

Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (VKs) für Stuhl wurden unter Verwendung eines Adenovirus-kompatiblen PCR-Assays für Adenovirus 5 ermittelt. Adenovirus-negativer Stuhl wurde mit Adenovirus 5-Zellkulturüberstand versetzt. Die virale DNA wurde aus 200-µl Proben extrahiert (1:10 resuspendiert in Buffer ASL*) und in 120 µl eluiert. Insgesamt 7 Aufreinigungsläufe wurden durch 1 Bediener, auf 3 EZ1 Advanced XL Geräten, an 3 verschiedenen Tagen und mit 3 Chargenkombinationen aus EZ1 DSP Virus Kit und Buffer ASL durchgeführt. Alle Proben wurden im gleichen PCR-Lauf analysiert. Die Intra-Lauf-Präzisionsdaten sind in Abbildung 5 als Standardabweichung dargestellt.

* QIAGEN GmbH, Kat.-Nr. 19082

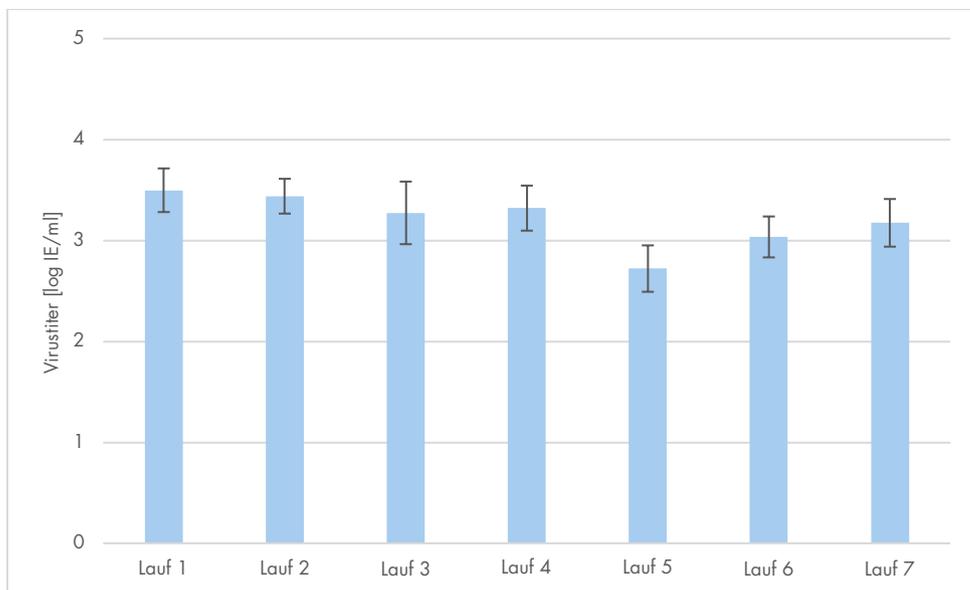


Abbildung 5. Intra-Lauf-Präzision bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems. Stuhlproben wurden entnommen, gepoolt und vor der Verwendung mit dem entsprechenden Virustiter versetzt. NAs wurden in 7 Läufen mit je 9/10 Replikaten aus 200- μ l-Aliquoten auf dem EZ1 Advanced XL aufgereinigt. Für jeden Lauf sind der mittlere Virustiter und die Standardabweichung angegeben.

VKs wurden für die Extraktion von NA aus Stuhlproben bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5. Analyse der Präzisionsschätzungen (Adenovirus 5) – Intra-Lauf-Variabilität

Präzision (CMV)	VK (%)
Intra-Lauf (Lauf 1)	6,56
Intra-Lauf (Lauf 2)	5,31
Intra-Lauf (Lauf 3)	10,05
Intra-Lauf (Lauf 4)	7,13
Intra-Lauf (Lauf 5)	8,96
Intra-Lauf (Lauf 6)	7,09
Intra-Lauf (Lauf 7)	7,84

Darüber hinaus wurde die Inter-Lauf-Variabilität ermittelt (Tabelle 6).

Tabelle 6. Analyse von Präzisionsschätzungen – Inter-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%)
Inter-Lauf (Lauf 1–7)	10,54

Standardabweichungen und VKs für Transportmedien wurden für HSV-1 und *Chlamydia trachomatis* anhand eines geeigneten PCR-Assays auf HSV-1 und eines geeigneten PCR-Assays auf *C. trachomatis* bestimmt. Virale und bakterielle DNA wurden aus 400 μ l UTM extrahiert und in 60 μ l eluiert. Insgesamt wurden 6 Aufreinigungsläufe durch 1 Bediener, an 3 Tagen und mit 3 Chargen des EZ1 DSP Virus Kit durchgeführt. Alle Proben wurden im gleichen PCR-Lauf analysiert. Die Intra-Lauf-Präzisionsdaten sind in Abbildung 6 als Standardabweichungen dargestellt.

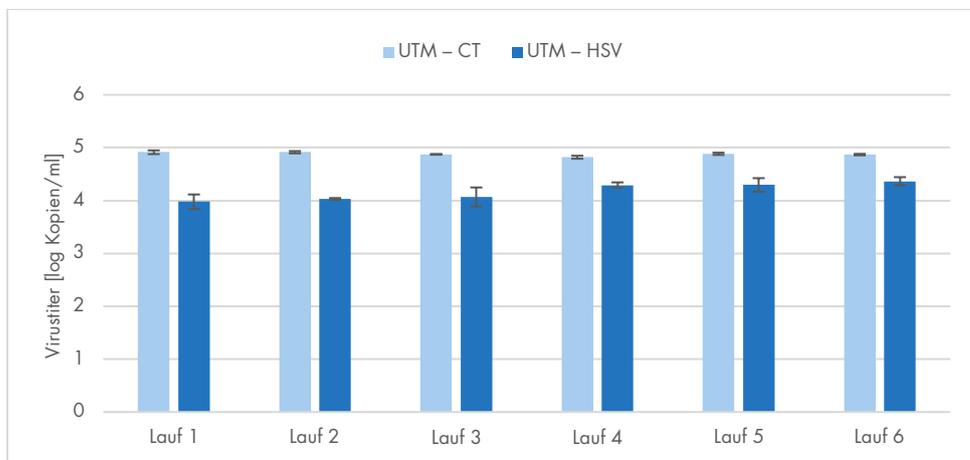


Abbildung 6. Intra-Lauf-Präzision bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems. UTM wurde vor Verwendung mit dem entsprechenden Virustiter versetzt. NAs wurden in 6 Läufen mit je 2 Replikaten aus 400- μ l-Aliquoten auf dem EZ1 Advanced XL aufgereinigt. Für jeden Lauf sind der mittlere Virustiter und die Standardabweichung angegeben.

VKs wurden für die Extraktion von NA aus UTM-Proben bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 7 aufgeführt.

Tabelle 7. Analyse von Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität (CT und HSV)

Präzision (CMV)	VK (%) CT	VK (%) HSV
Intra-Lauf (Lauf 1)	0,72	3,44
Intra-Lauf (Lauf 2)	0,43	0,43
Intra-Lauf (Lauf 3)	0,15	4,40
Intra-Lauf (Lauf 4)	0,59	1,21
Intra-Lauf (Lauf 5)	0,43	2,97
Intra-Lauf (Lauf 6)	0,29	1,81

Darüber hinaus wurde die Inter-Lauf-Variabilität ermittelt (Tabelle 8).

Tabelle 8. Analyse von Präzisionsschätzungen – Inter-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%) CT	VK (%) HSV
Inter-Lauf (Lauf 1–6)	0,77	4,25

Probeneingabe-/Eluatvolumen

Das EZ1 DSP Virus System auf Geräten der EZ1 Familie bietet die Möglichkeit zur Kombination verschiedener Probeneingabevolumen (100, 200 oder 400 μ l) mit verschiedenen Eluatvolumen (60, 90, 120 oder 150 μ l). Die Gesamtleistung der auf Geräten der EZ1 Familie durchgeführten Extraktionsverfahren wurde anhand der verschiedenen möglichen Kombinationen aus Probeneingabe- und Eluatvolumen verifiziert.

Die Daten der verschiedenen Studien zeigten, dass die NA-Ausbeute am höchsten ist, wenn große Probeneingabevolumen mit großen Eluatvolumen kombiniert werden. Die NA-Konzentration ist am höchsten bei großem Probeneingabe- und kleinem Eluatvolumen. Abhängig vom vollständigen Arbeitsablauf (Probenvorbereitung in Kombination mit spezifischer nachgelagerter Anwendung) kann es eine besonders günstige Kombination aus Probeneingabe- und Elutionsvolumen geben, die beispielsweise hilft, die finale NA-Ausbeute und -Konzentration zu optimieren oder potenzielle Auswirkungen restlicher Störsubstanzen weiter zu minimieren. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können selbst bei gleichem Probenmaterial unterschiedliche Kombinationen aus Probeneingabe- und Eluatvolumen erfordern. Es liegt daher in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Eluatstabilität

Die Eluatstabilität für das EZ1 DSP Virus Kit wurde unter Verwendung von extrahierter viraler RNA und DNA aus humanen EDTA-Plasmaproben bewertet. Die Eluate wurden über verschiedene Zeiträume bei verschiedenen Temperaturen gelagert und dann anhand eines firmeninternen PCR-Assays auf ihre Stabilität untersucht.

Es konnte eine Stabilität der Nukleinsäuren über bis zu 24 Stunden bei Lagerung bei 2–8 °C, bis zu 12 Wochen bei Lagerung bei -20 °C und bis zu 12 Monaten bei Lagerung bei -80 °C demonstriert werden.

Die Stabilität der Nukleinsäuren kann sich je nach der spezifischen nachgelagerten Anwendung unterscheiden und ist vom Anwender selbst zu validieren.

Störsubstanzen

Die Auswirkungen exogener Störsubstanzen auf das EZ1 DSP Virus System wurden durch das Testen definierter Konzentrationen (3-mal die akute Peak-Konzentration nach therapeutischer Arzneimitteldgabe gemäß Empfehlung der CLSI-Richtlinie EP7-A2) verschiedener Substanzen getestet (Tabelle 9). Dazu wurden entweder CMV-positive oder CMV-negative EDTA-Plasmaproben mit diesen Substanzen versetzt und ein Vergleich mit Störsubstanz-freiem Plasma wurde angestellt. Die NA-Eluate wurden anhand eines geeigneten PCR-Assays auf CMV analysiert.

Hinweis: Die Tests wurden unter Verwendung beispielhafter nachgelagerter Anwendungen durchgeführt, um die Qualität der extrahierten Nukleinsäuren zu bewerten. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können jedoch unterschiedliche Anforderungen an die Reinheit stellen (d. h. Abwesenheit potenzieller Störsubstanzen), sodass im Rahmen der Entwicklung nachgelagerter Anwendungen für jeden Arbeitsablauf unter Einsatz des EZ1 DSP Virus Kit auch die Identifizierung und das Testen relevanter Substanzen etabliert werden müssen.

Tabelle 9. Testkonzentrationen potenzieller Störsubstanzen, mit denen EDTA-Plasma versetzt wurde

Störsubstanzen	Finale Testkonzentration
Sulfamethoxazol	200 mg/l
Trimethoprim	5,2 mg/l
Claforan (Cefotaxim)	1 g/l
Tazobac (Piperacillin + Tazobactam)	Piperacillin: 1 g/l Tazobactam: 125 mg/l
Ticarcillin	1 g/l
Augmentin (Amoxicillin + Clavulansäure)	Amoxicillin: 125 mg/l Clavulansäure: 25 mg/l
Vancomycin	125 mg/l
Fluconazol	1 mg/l
Rapamycin	100 mg/l
Mycophenolat-Natrium	80 mg/l

Keine der getesteten Störsubstanzen hatte im Hinblick auf Spezifität, Sensitivität und zuverlässige Quantifizierung signifikante Auswirkungen auf die Leistung des PCR-Assays auf CMV in Kombination mit dem EZ1 DSP Virus System.

Zusätzliche Tests zu exogenen Störsubstanzen unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems wurden durchgeführt, indem in UTM entnommene nasopharyngeale Abstrichproben mit definierten Konzentrationen verschiedener Substanzen (Tabelle 10) versetzt wurden. Das Probenmaterial wurde mit Influenza A- und Influenza B-Stämmen versetzt und die NA-Eluate wurden mithilfe eines geeigneten RT-PCR-Assays auf Influenza A/B analysiert.

Tabelle 10. Testkonzentrationen potenzieller Störsubstanzen, mit denen in UTM entnommene nasopharyngeale Abstriche versetzt wurden

Störsubstanzen	Finale Testkonzentration
Humanes Blut	5 % v/v
Zanamivir	3 mg/ml
Oseltamivir	15 mg/ml
NaCl mit Konservierungsmitteln	10 % v/v der Probe
Phenylephrin	10 % v/v der Probe
Oxymetazolin	10 % v/v der Probe
Budesonid	40 µg/ml
Fluticasonpropionat	2,5 % v/v der Probe
Luffa operculata	4,5 mg/ml
Sulfur	4,5 mg/ml
Galphimia glauca	4,5 mg/ml
Histaminum hydrochloricum	4,5 mg/ml
Beclometasondipropionat	61,73 µg/ml
Flunisolid	25 µg/ml
Triamcinolonacetonid	27,5 µg/ml
Guaifenesin	1,33 mg/ml
Diphenhydraminhydrochlorid	0,5 mg/ml
Dextromethorphanhydrobromid	1 mg/ml
Pseudoephedrinhydrochlorid	20 µg/ml
Benzocain	1,44 mg/ml
Menthol	5 mg/ml
Tobramycin	0,3 mg/ml
Mupirocin	2 mg/ml
Amoxicillin	1 mg/ml
Dexamethason	1,53 µmol/l

Keine der getesteten Konzentrationen an Störsubstanzen zeigte signifikante Auswirkungen auf die Leistung des RT-PCR-Assays auf Influenza A/B in Kombination mit dem EZ1 DSP Virus System.

Kreuzkontaminationen

Das Risiko für Kreuzkontaminationen des EZ1 DSP Virus Systems wurde analysiert, indem 9 Läufe im alternierenden Schachbrettmuster auf dem EZ1 Advanced durchgeführt wurden. Um Verschleppungen von Probe zu Probe nachzuweisen, wurden die Läufe mit ParvoB19/CMV-positiven Plasmaproben und ParvoB19/CMV-negativen Plasmaproben in alternierenden Positionen durchgeführt. Jeder dritte Lauf wurde ausschließlich mit negativen Plasmaproben durchgeführt. Alle Eluate wurden anhand eines geeigneten PCR-Assays auf CMV sowie eines geeigneten PCR-Assays auf ParvoB19 getestet.

Alle ParvoB19/CMV-positiven Proben erbrachten in der PCR ein positives Ergebnis und alle ParvoB19/CMV-negativen Proben ein negatives Ergebnis. Es wurde keine Kreuzkontamination durch Verschleppung von Probe zu Probe oder Lauf zu Lauf festgestellt.

Leistungsmerkmale des EZ2 Connect MDx

Die Leistungsmerkmale für den EZ2 Connect MDx wurden in Gleichwertigkeitsstudien mit dem EZ1 Advanced XL unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Kit etabliert. Kit-abhängige Leistungsmerkmale wie Eluatstabilität oder grundlegende Leistung sind für alle in der Gebrauchsanweisung des EZ1 DSP Virus Kit aufgeführten Gerätesysteme gültig, da sich das Kit als Teil des Systems bei den verschiedenen automatisierten Plattformen nicht ändert.

Hinweis: Die Leistungsmerkmale sind stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Die Leistung wurde für das EZ1 DSP Virus Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen etabliert. Die Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren aus biologischen Proben dienen jedoch als Einstiegspunkt für zahlreiche nachgelagerte Anwendungen. Aus diesem Grund müssen Leistungsparameter wie der Einfluss von exogenen Störsubstanzen, Kreuzkontamination oder Laufpräzision für jeden derartigen Arbeitsablauf im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung ermittelt werden. Damit liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Grundlegende Leistung und Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen

Die unter Verwendung von EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 generierten Daten zur grundlegenden Leistung gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 2). Die Probenzusammensetzung und das Kit sind bei den zur Verwendung mit dem EZ1 DSP DNA Blood Kit geeigneten Gerätesystemen identisch. Darüber hinaus wurde die Gleichwertigkeit der auf dem EZ2 Connect MDx System verwendeten Extraktionsverfahren getestet, um eine identische oder verbesserte grundlegende Leistung des Systems zu demonstrieren. Im Rahmen der Gleichwertigkeitstests wurde auch die Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen (einschließlich qPCR) bestätigt.

Da jedoch nur beispielhafte nachgelagerte Methoden zum Einsatz kamen, liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Einfrieren und Auftauen von Proben

Es wird nicht empfohlen, aufgetaute Proben erneut einzufrieren oder Proben länger als 6 Stunden bei 2–8 °C aufzubewahren, da dies eine signifikante Verringerung der Ausbeute und Qualität der viralen Nukleinsäuren oder bakteriellen DNA zur Folge hat.

Präzision

NAs wurden aus einer 200- μ l-Plasmaprobe, die in einer Konzentration von 1E+04 IE/ml mit HCV versetzt worden war, extrahiert und in 150 μ l eluiert. Insgesamt wurden 12 Aufreinigungsläufe durch 3 verschiedene Bediener, auf 3 verschiedenen Geräten (je Gerätetyp) und an 3 verschiedenen Tagen durchgeführt. Die Intra-Lauf-Präzisionsdaten sind als Standardabweichungen der Ct-Werte dargestellt (Abbildung 7).

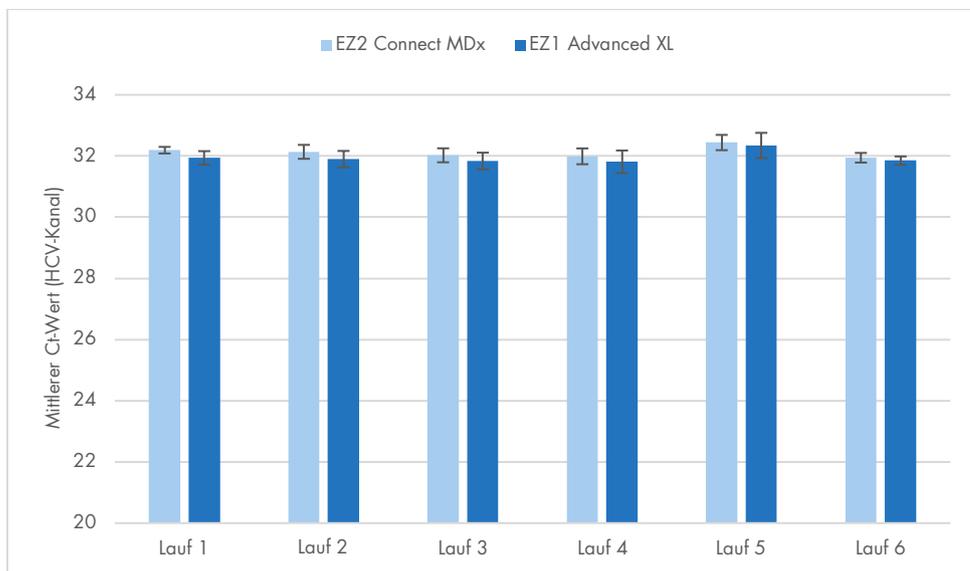


Abbildung 7. Mittlere Ct-Werte aller Läufe bei Verwendung eines RT-PCR-Assays auf HCV. Plasma wurde entnommen, gepoolt und vor der Verwendung mit dem entsprechenden Virustiter versetzt. NAs wurden in 6 Läufen mit je 12 Replikaten unter Verwendung des EZ1 DSP Virus Systems auf dem EZ1 Advanced XL und dem EZ2 Connect MDx aus 200- μ l-Aliquoten aufgereinigt. Für jeden Lauf sind die mittleren Ct-Werte und die Standardabweichungen angegeben.

VKs wurden für die Extraktion von NA aus Plasma bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11. Analyse von Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität

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

In Gleichwertigkeitstests wurde ermittelt, dass die Intra-Lauf-Variabilität für das EZ2 Connect MDx Gerät bei Verwendung des EZ1 DSP Virus Kit mit der Intra-Lauf-Variabilität des EZ1 Advanced XL Geräts gleichwertig ist.

Darüber hinaus wurde die Inter-Lauf-Variabilität für das EZ2 Connect MDx Gerät bestimmt (Tabelle 12).

Tabelle 12. Analyse von Präzisionsschätzungen – Inter-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%) (EZ2 Connect MDx)	VK (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-Lauf (Lauf 1–6)	0,82	1,06

Die statistische Analyse ergab eine identische Leistung des EZ2 Connect MDx verglichen mit dem EZ1 Advanced XL Gerät.

Probeneingabe-/Eluatvolumen

Das EZ1 DSP Virus System auf dem EZ2 Connect MDx bietet die Möglichkeit zur Kombination verschiedener Probeneingabevolumen (100, 200 oder 400 µl) mit verschiedenen Eluatvolumen (60, 90, 120 oder 150 µl). Insgesamt zeigten die Leistungstests der auf dem EZ2 Connect MDx System verwendeten Extraktionsverfahren eine mit dem EZ1 Advanced XL identische Systemleistung.

Abhängig vom vollständigen Arbeitsablauf (Probenvorbereitung in Kombination mit spezifischer nachgelagerter Anwendung) kann es eine besonders günstige Kombination aus Probeneingabe- und Elutionsvolumen geben, die beispielsweise hilft, die finale NA-Ausbeute und -Konzentration zu optimieren oder potenzielle Auswirkungen restlicher Störsubstanzen weiter zu minimieren. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können selbst bei gleichem Probenmaterial unterschiedliche Kombinationen aus Probeneingabe- und Eluatvolumen erfordern. Es liegt daher in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Sensitivität

Unter Verwendung von mit einer HBV-Konzentration nahe der Nachweisgrenze (ca. 18 IE/ml) versetzten Plasmaproben wurden 18 Aufreinigungsläufe auf dem EZ2 Connect MDx und EZ1 Advanced XL durch 1 Bediener, auf 3 verschiedenen Geräten (je Gerätetyp), an 3 Tagen und mit 400 µl Probeneingabe- und 90 µl Elutionsvolumen durchgeführt. Alle Eluate wurden einer qualitativen Analyse mit einem geeigneten PCR-Assay auf HBV unterzogen, um zu prüfen, ob das Ziel nachgewiesen werden kann oder nicht. Aufgrund der Konzentration nahe der Nachweisgrenze wurde nicht erwartet, dass alle Replikate als positiv erkannt werden würden. Es konnte jedoch bestätigt werden, dass die Anzahl positiver Replikate statistisch äquivalent ist.

Tabelle 13. Zusammenfassung der Sensitivitätstestergebnisse aus allen EZ2 Connect MDx Läufen

EZ2 Connect MDx – Treffer positiver HBV-Proben									
Anz. Treffer	8	8	7	7	7	8	8	6	7
% Treffer	100 %	100 %	87,50 %	87,50 %	87,50 %	100 %	100 %	75,00 %	87,50 %

Tabelle 14. Zusammenfassung der Sensitivitätstestergebnisse aus allen EZ1 Advanced XL Läufen

EZ1 Advanced XL – Treffer positiver HBV-Proben									
Anz. Treffer	8	8	8	7	7	8	8	7	7
% Treffer	100 %	100 %	100 %	87,50 %	87,50 %	100 %	100 %	87,50 %	87,50 %

Tabelle 15. Sensitivitätszusammenfassung mit den Ergebnissen des exakten Tests nach Fisher

EZ2 – korrekte Bestimmungen	EZ1 – korrekte Bestimmungen	Exakter Test nach Fisher, p-Wert (zweiseitig)
91,55 %	94,44 %	0,532

Die statistische Analyse ergab eine identische Leistung des EZ2 Connect MDx verglichen mit dem EZ1 Advanced XL Gerät.

Eluatstabilität

Die unter Verwendung von EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 generierten Daten zur Eluatstabilität gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 2). Proben- und Kitzusammensetzung sind bei den zur Verwendung mit dem EZ1 DSP Virus Kit geeigneten Gerätesystemen identisch.

Darüber hinaus wurde die Gleichwertigkeit der auf dem EZ2 Connect MDx System verwendeten Extraktionsverfahren getestet, um eine identische Leistung des Systems zu demonstrieren. Die Anweisungen zur Eluathandhabung gelten für alle zur Verwendung mit dem Kit geeigneten automatisierten Systeme.

Es liegt jedoch in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Störsubstanzen

Der Einfluss von Störsubstanzen wurde unter Verwendung des EZ1 Advanced XL bestimmt. Diese Daten gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 12). Proben- und Kitzusammensetzung sind bei den zur Verwendung mit dem EZ1 DSP Virus Kit geeigneten Gerätesystemen identisch. Die Probeneingabe-/Eluatvolumen sind identisch, sodass keine Auswirkungen auf Art oder Konzentration der Störsubstanzen in den Eluaten zu erwarten sind. Darüber hinaus wurde die Gleichwertigkeit der auf dem EZ2 Connect MDx System verwendeten Extraktionsverfahren getestet, um eine identische Leistung des Systems zu demonstrieren. Die Anweisungen zur Proben- und Eluathandhabung gelten für alle zur Verwendung mit dem Kit geeigneten automatisierten Systeme.

Es liegt jedoch in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Kreuzkontaminationen

Das Risiko für Kreuzkontaminationen für das EZ1 DSP Virus Kit bei Verwendung auf dem EZ2 Connect MDx wurde analysiert, indem 10 Läufe (400 µl Eingabe-, 60 µl Elutionsvolumen) im alternierenden Schachbrettmuster an 2 Tagen durch 1 Bediener durchgeführt wurden. Um Verschleppungen von Probe zu Probe nachzuweisen, wurden die Läufe mit positiven (versetzt mit HBV) und negativen (unbehandelt) Plasmaproben in alternierenden Positionen durchgeführt. Jeder zweite Lauf wurde ausschließlich mit HBV-negativen Plasmaproben durchgeführt. Alle Eluate wurden anhand eines geeigneten PCR-Assays auf HBV analysiert.

Alle HBV-positiven Proben erbrachten bei der PCR positive Ergebnisse und alle HBV-negativen Plasmaproben negative Ergebnisse. Es wurde keine Kreuzkontamination durch Verschleppung von Probe zu Probe oder Lauf zu Lauf festgestellt.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in diesem Dokument verwendet. Eine vollständige Liste aller in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendeten Symbole finden Sie im Handbuch.

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Hersteller
	Wichtiger Hinweis

Revisionsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	<p>Version 5, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Erstellung des Dokuments für die neue Kit-Version. Daten für EZ2 Connect MDx hinzugefügt.• Probenmaterial Vollblut, Urin, getrocknete Abstriche, Auswurf aus dem Verwendungszweck entfernt.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ1®, EZ2® (QIAGEN Gruppe); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Universal Transport Medium™, UTM® (COPAN Diagnostics Inc.); Sarsted®, S-Monovette® (Sarstedt AG & Co.). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

06/2022 HB-3026-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

