

EZ1[®] DSP DNA Blood Kit

Gebrauchsanweisung (Leistungsmerkmale)

Version 4



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem EZ1 DSP DNA Blood Kit (48)



62124



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

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

Allgemeine Einführung

Das EZ1 DSP DNA Blood Kit ist zur Aufreinigung genomischer DNA aus Vollblutproben vorgesehen. Die Magnetpartikeltechnologie liefert hochwertige DNA, die direkt in nachgelagerten Anwendungen wie z. B. zur Amplifikation eingesetzt werden kann. Die EZ1 und EZ2[®] Connect MDx Geräte führen alle Schritte des Probenvorbereitungsverfahrens für bis zu 6 Proben (unter Verwendung des EZ1 Advanced oder des BioRobot[®] EZ1 DSP, Produktion bei beiden eingestellt), bis zu 14 Proben (unter Verwendung des EZ1 Advanced XL) oder bis zu 24 Proben (unter Verwendung des EZ2 Connect MDx) in einem einzigen Lauf durch.

Bei Verwendung des BioRobot EZ1 DSP oder des EZ1 Advanced mit der Protokollkarte V1.0 beträgt das Probeneingabevolumen 350 µl und die DNA-Elution erfolgt in 200 µl Elutionspuffer. Bei Verwendung des EZ1 Advanced XL oder des EZ1 Advanced mit der Protokollkarte V2.0 oder bei Verwendung des EZ2 Connect MDx kann für das Probeneingabevolumen zwischen 200 und 350 µl und für das DNA-Elutionsvolumen zwischen 50, 100 und 200 µl gewählt werden.

Die Leistung des EZ1 DSP DNA Blood Kit System wurde in Leistungsbewertungsstudien unter Verwendung humaner Vollblutproben für die Isolation genomischer DNA etabliert. Diese Studien wurden in Verbindung mit Blut etabliert, das in beispielhaften Blutentnahmeröhrchen entnommen wurde. 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 von EZ1 Geräten

Hinweis: Die Leistungsmerkmale sind stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Die Leistung wurde für das EZ1 DSP DNA Blood Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen etabliert. Die Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren aus biologischen Proben werden jedoch als Einstiegspunkt bei der Entwicklung zahlreicher nachgelagerter Anwendungen verwendet. Daher müssen für jeden derartigen Arbeitsablauf Leistungsparameter wie der Einfluss exogener Störsubstanzen, Kreuzkontaminationen oder die Laufpräzision im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung ermittelt werden. Aus diesem Grund 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 humanen Blutproben für das EZ1 DSP DNA Blood Verfahren eignen sich verschiedene Primärröhrchen und Antikoagulanzen. Die grundlegende Leistung für das EZ1 DSP DNA Blood Kit wurde unter Verwendung der Proben von 6 Einzelspendern zur gDNA-Extraktion aus 8 verschiedenen Blutentnahmeröhrchen bewertet. Tabelle 1 enthält eine Übersicht der Probenentnahmeröhrchen, die zur Bewertung des Systems verwendet wurden. Für jede Probe wurde die Leukozytenkonzentration durch Zählung ermittelt und eine theoretische DNA-Ausbeute berechnet. Die durchschnittlichen relativen Ausbeuten an DNA aus Blutproben unter Verwendung verschiedener Primärröhrchen sind in Abbildung 1 aufgeführt.

Tabelle 1. Mit dem EZ1 DSP DNA Blood System getestete Blutentnahmeröhrchen

Primärröhrchen	Hersteller	Kat.-Nr.*	Konservierungsmittel/Antikoagulans
BD® Vacutainer® 9NC	BD	366007	Natriumcitrat
BD Vacutainer K3E	BD	36847	K3EDTA
BD Vacutainer K2E	BD	367864	K2EDTA
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	K2EDTA
S-Monovette LH	Sarstedt	02.1065.002	Lithiumheparin
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	K3EDTA
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	Natriumcitrat

Genomische DNA wurde aus 200- oder 350-µl-Blutproben aufgereinigt.

* Katalognummern können sich ändern; bitte erkundigen Sie sich beim Hersteller oder Händler.

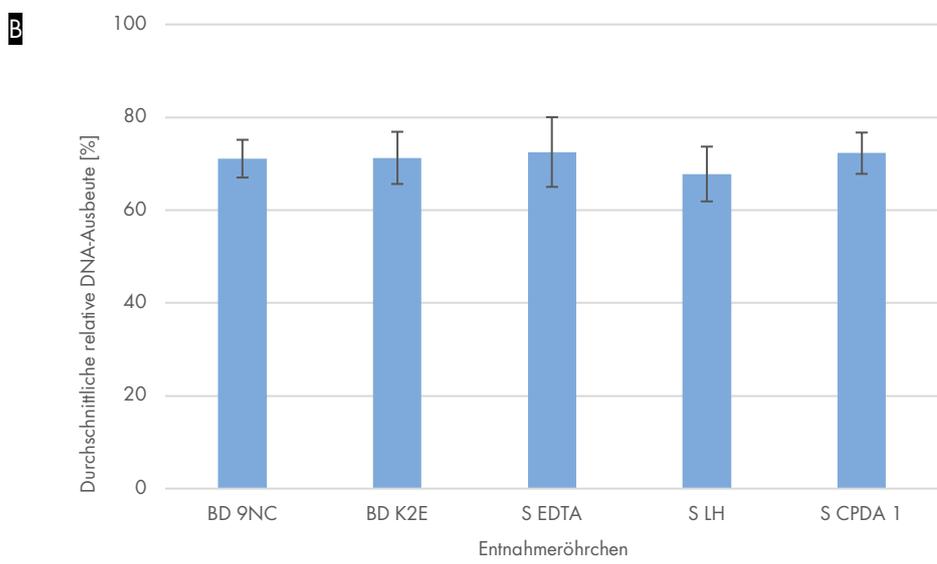
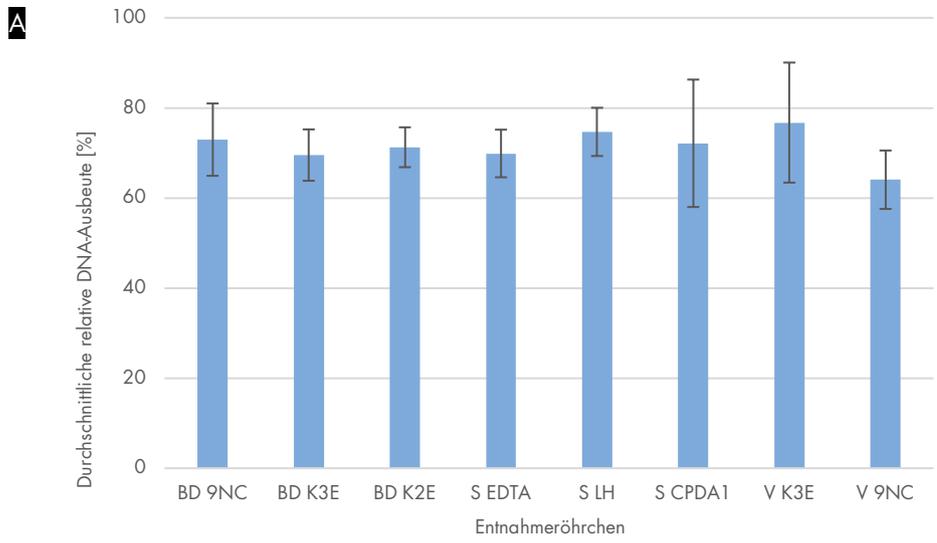


Abbildung 1. Grundlegende Leistung unter Verwendung verschiedener Entnahmeröhrchen und Antikoagulanzen. Vollblut von gesunden Spendern wurde in verschiedenen Arten von Röhrchen in Replikaten von 3 je Spender und Röhrchen entnommen. Die verwendeten Röhrchen sind in Tabelle 1 aufgeführt (BD: Becton Dickinson, S: S-Monovette, V: Vacuette). **A:** Blut von 6 Spendern wurde in 8 verschiedenen Röhrchenarten entnommen. Genomische DNA wurde aus 350- μ l-Proben in einem Elutionsvolumen von 200 μ l aufgereinigt. **B:** Blut von 6 Spendern wurde in 5 verschiedenen Röhrchenarten entnommen. Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ1 Advanced XL aus 200- μ l-Proben in einem Elutionsvolumen von 200 μ l aufgereinigt. Die theoretischen DNA-Ausbeuten je Spender und Röhrchen wurden anhand der Leukozytenzahlen bestimmt. Die Balken zeigen die mittlere relative DNA-Ausbeute (im Vergleich mit der theoretischen Ausbeute) mit Standardabweichung.

Zur Bestimmung der Integrität der genomischen DNA wurden Eluate aus verschiedenen Blutentnahmeröhrchen mittels Agarosegelelektrophorese analysiert (Abbildung 2).

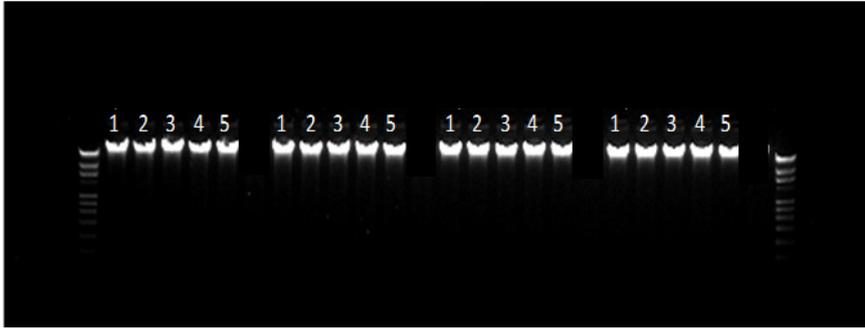
B2

Abbildung 2. Grundlegende Leistung unter Verwendung verschiedener Entnahmeröhrchen und Antikoagulanzen. Die Eluate aus den verschiedenen Blutentnahmeröhrchen wurden mittels Agarosegelelektrophorese analysiert, um die Integrität der genomischen DNA zu bestimmen. 1: BD K2E, 2: BD 9NC, 3: S EDTA, 4: S LH, 5: S CPDA1. Gezeigt sind die Ergebnisse 4 verschiedener Spender.

Genomische DNA wurde aus 350- μ l-Blutproben von gesunden Spendern aufgereinigt. Die Menge der unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Verfahrens aufgereinigten DNA ist abhängig vom Gehalt an Leukozyten jeder Blutprobe, und die Ausbeute kann von Spender zu Spender variieren (Abbildung 3).

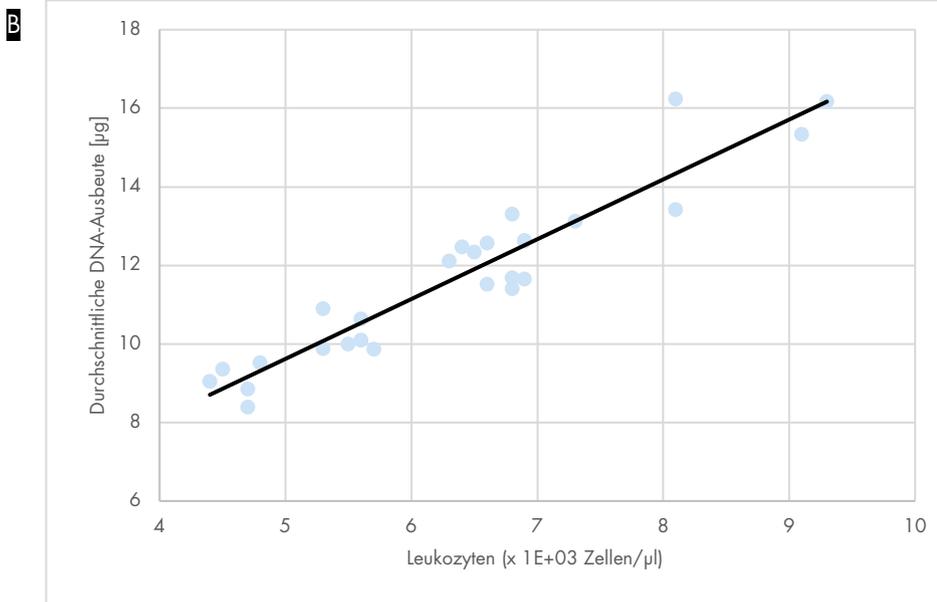
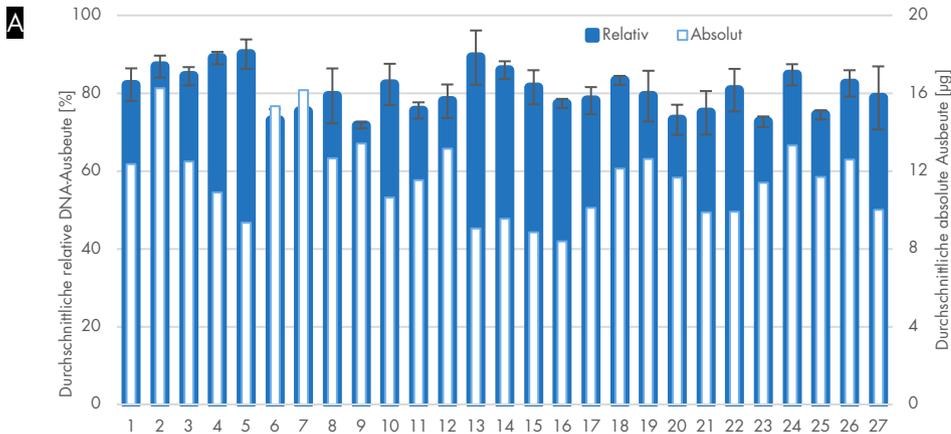


Abbildung 3. Durchschnittliche absolute und relative DNA-Ausbeuten von verschiedenen Spendern. Vollblut wurde in 3 Replikaten von 27 Spendern entnommen. Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System aus 350 μ l je Probe aufgereinigt. **A:** Die theoretische DNA-Ausbeute wurde anhand der Leukozytenzahlen bestimmt. Die mittleren absoluten (Absolut) und relativen (Relativ) (im Vergleich mit der berechneten theoretischen Ausbeute) DNA-Ausbeuten sind für jeden Spender angegeben. **B:** Die mittleren absoluten Ausbeuten sind für jeden Spender in Relation zur Leukozytenzahl angegeben.

Unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System wurden aus Vollblutproben aufgereinigte Eluate mit genomischer DNA analysiert und erwiesen sich als kompatibel mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen wie Endpunkt-PCR, Agarosegelelektrophorese sowie photometrischer Messung und quantitativer Real-time PCR (qPCR) (siehe Abschnitt Kreuzkontaminationen, Seite 9).

Einfrieren und Auftauen von Proben

Mit dem EZ1 DSP DNA Blood System können frische oder gefrorene humane Vollblutproben verwendet werden. Die Auswirkungen des Einfrierens und Auftausens von Blutproben auf die DNA-Aufreinigung wurden untersucht (siehe Abbildung 4).

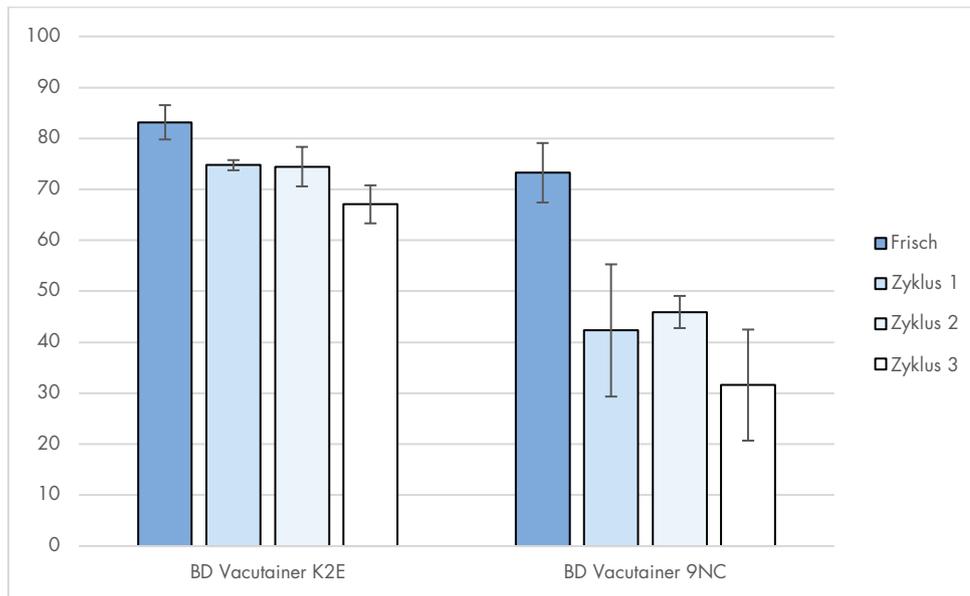


Abbildung 4. Auswirkungen von Einfrier-/Auftauzyklen auf DNA-Ausbeuten. Vollblut von 3 gesunden Spendern wurde in je 6 Replikaten in den angegebenen Röhren entnommen. Die verwendeten Röhren sind in Tabelle 1 aufgeführt. Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System aus 350 µl je Probe aufgereinigt und die Mittelwerte der relativen DNA-Ausbeute (Früh) wurden für jeden Spender und jedes Röhren berechnet. Die Röhren mit dem Blut wurden 3-mal eingefroren und wieder aufgetaut. Genomische DNA wurde nach jedem Einfrier-/Auftauzyklus (Zyklus 1–Zyklus 3) aufgereinigt.

Es können mit EDTA, ACD (Citrat) oder Heparin behandelte Vollblutproben sowohl frisch als auch gefroren verwendet werden. Gefrorene Proben sind vor Beginn des Verfahrens unter leichtem Schütteln bei Raumtemperatur (15–25 °C) aufzutauen. Ausbeute und Qualität der aufgereinigten DNA können von den Lagerungsbedingungen des Bluts abhängen. Frische Blutproben können bessere Ergebnisse ergeben. Frieren Sie Blutproben nicht mehr als 2-mal ein, da dies zu einer Abnahme der DNA-Ausbeute führen kann.

Zum Einfrieren und Auftauen werden Röhren mit EDTA als Antikoagulans empfohlen.

Präzision

Die DNA-Ausbeuten aus humanen Vollblutproben von 350 µl mit einem Elutionsvolumen von 200 µl wurden unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ1 Advanced und dem EZ1 Advanced XL für verschiedene Läufe verglichen. Insgesamt 8 Aufreinigungsläufe wurden von einem Bediener auf einem Gerät (je Gerätetyp) und an zwei verschiedenen Tagen durchgeführt. Die Daten zur Intra-Lauf-Präzision sind als Standardabweichungen der DNA-Ausbeuten angegeben (Abbildung 5).

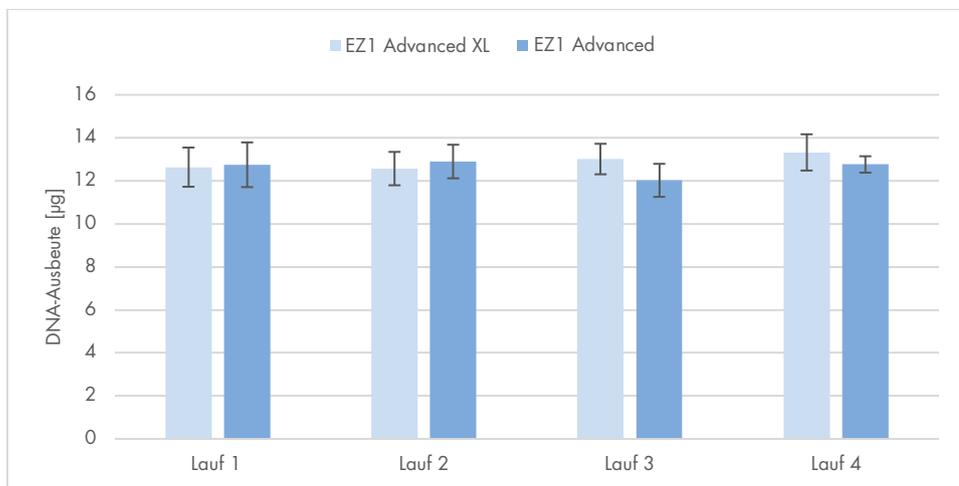


Abbildung 5. Intra-Lauf-Präzision unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System. Blut von einem gesunden Spender wurde in BD K2E Rörchen entnommen und vor der Verwendung gepoolt. Genomische DNA wurde in 4 Läufen mit je 6 Replikaten auf dem EZ1 Advanced und in 4 Läufen mit je 14 Replikaten auf dem EZ1 Advanced XL unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System aus 350-µl-Aliquoten aufgereinigt. Für jeden Lauf sind mittlere DNA-Gesamtausbeute und Standardabweichung angegeben.

Für die Extraktion von humaner DNA aus Vollblut wurden Variationskoeffizienten (VK) bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2. Analyse der Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%) (EZ1 Advanced XL)	VK (%) (EZ1 Advanced)
Intra-Lauf (Lauf 1)	7,21	8,15
Intra-Lauf (Lauf 2)	6,18	6,06
Intra-Lauf (Lauf 3)	5,45	6,39
Intra-Lauf (Lauf 4)	6,33	2,99

Es wurde ermittelt, dass die Intra-Lauf-Variabilität für das EZ1 Advanced XL Gerät bei Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Kit mit der Intra-Lauf-Variabilität des EZ1 Advanced Geräts identisch ist.

Darüber hinaus wurde für beide Geräte die Inter-Lauf-Variabilität bestimmt (Tabelle 3).

Tabelle 3. Analyse der Präzisionsschätzungen – Inter-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%) (EZ1 Advanced XL)	VK (%) (EZ1 Advanced)
Inter-Lauf (Lauf 1–4)	6,58	6,39

Probeneingabe-/Eluatvolumen

Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Verfahrens auf dem EZ1 Advanced XL mit drei verschiedenen Elutionsvolumen aus 200- und 350-µl-Vollblutproben von gesunden Spendern aufgereinigt. Die Unterschiede in der DNA-Konzentration der Eluate sind in Abbildung 6 aufgeführt.

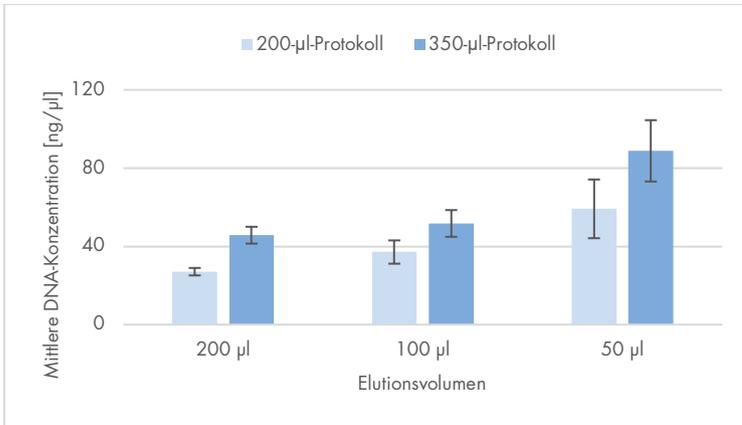


Abbildung 6. Mit verschiedenen Elutionsvolumen erhaltene mittlere DNA-Konzentration. Vollblut wurde von 3 Spendern entnommen. Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ1 Advanced XL aus 200 und 350 µl jeder Probe aufgereinigt und jeweils in Dreifachansatz in 200, 100 und 50 µl eluiert. Die mittlere DNA-Konzentration ist für jedes Protokoll und Elutionsvolumen angegeben.



Aufgrund des geringen Elutionspuffervolumens und der Erhitzung des Elutionspuffers während des Verfahrens kann eine Elution mit 50 µl zu finalen Eluatvolumen von weniger als 50 µl führen.

Abhängig von dem vollständigen Arbeitsablauf (Probenvorbereitung in Kombination mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung) kann es eine besonders vorteilhafte Kombination aus Probeneingabe- und Elutionsvolumen geben, welche etwa bei der Optimierung der finalen DNA-Ausbeute und -Konzentration oder der weiteren Minimierung des potenziellen Einflusses verbliebener Störsubstanzen helfen kann. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können selbst bei identischem Probenmaterial unterschiedliche Kombinationen aus Probeneingabe-/Eluatvolumen erfordern. Aus diesem Grund liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Eluatstabilität

Die Eluatstabilität für das EZ1 DSP DNA Blood Kit wurde anhand von genomischer DNA evaluiert, die aus in BD Vacutainer K2E Röhrchen entnommenen Vollblutproben extrahiert wurde. Die Eluate wurden bei verschiedenen Temperaturen und für unterschiedliche Zeiträume aufbewahrt und auf ihre Integrität (Agarosegelelektrophorese) und Eignung für die PCR (hausinterner Assay) getestet.

Die Ergebnisse demonstrierten die Stabilität der genomischen DNA in EZ1 Eluaten für 24 Monate bei Lagerung bei 2–8 °C oder -20 °C und für 36 Monate bei Lagerung bei -20 °C oder -80 °C.

Störsubstanzen

In der Probe vorhandene Störsubstanzen sind von hoher Bedeutung, da sie die Leistung der automatisierten Nukleinsäureisolation beeinträchtigen können. Darüber hinaus kann die Extraktionsmethode selbst die Konzentration an Störsubstanzen im Eluat erhöhen, was die Reinheit und Kompatibilität der Eluate in nachgelagerten Anwendungen beeinträchtigen kann. Aus diesem Grund wurden Vollblutproben mit potenziellen Störsubstanzen versetzt, um deren Auswirkungen auf das EZ1 DSP DNA Blood Verfahren und die anschließende Kompatibilität mit beispielhaften nachgelagerten Assays zu testen. Die Eluate wurden auf ihre Integrität (Agarosegelelektrophorese), PCR-Fähigkeit (hausinterner Assay) und Reinheit (photometrische Messung) getestet.

Tabelle 4. Testkonzentration potenzieller Störsubstanzen

Störsubstanzen	Finale Testkonzentration
Bilirubin	200 mg/l
Hämoglobin	200 g/l
Albumin (BSA)	120 g/l
Triglyceride	30 g/l

Keine der in Tabelle 4 aufgeführten Substanzen zeigte eine Interferenz mit den verwendeten nachgelagerten Anwendungen.

Hinweis: Die Tests wurden anhand beispielhafter nachgelagerter Anwendungen durchgeführt, um die Qualität der extrahierten Nukleinsäuren zu bewerten. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können jedoch unterschiedliche Anforderungen an die Reinheit (d. h. Abwesenheit potenzieller Störsubstanzen) stellen. Aus diesem Grund müssen für jeden Arbeitsablauf mit dem EZ1 DSP DNA Blood Kit im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung auch die Identifikation und das Testen relevanter Substanzen etabliert werden.

Kreuzkontaminationen

Das Risiko für Kreuzkontaminationen des EZ1 DSP DNA Blood System wurde anhand der Durchführung von 12 Läufen auf dem EZ1 Advanced (2.0-Protokoll, 350 µl Eingabe-, 200 µl Elutionsvolumen) und 9 Läufen auf dem EZ1 Advanced XL (200 µl Eingabe-, 200 µl Elutionsvolumen) mit alternierendem Schachbrettmuster analysiert. Um Verschleppungen von Probe zu Probe nachzuweisen, wurden die Läufe mit Blutproben von Männern (positiv) und Frauen (negativ) in alternierenden Positionen durchgeführt. Jeder dritte Lauf wurde unter Verwendung von ausschließlich von Frauen stammenden Blutproben durchgeführt. Alle Eluate wurden unter Verwendung des QIAGEN QuantiTect® Probe PCR Kit auf die Amplifikation eines 78-bp-Fragments des Y-Chromosom-spezifischen Einzelkopiegens SRY getestet.

Leistungsmerkmale des EZ2 Connect MDx

Die Leistungsmerkmale für den EZ2 Connect MDx wurden unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Kit im Vergleich zum EZ1 Advanced XL etabliert. Kit-bezogene Leistungsmerkmale wie die Eluatstabilität oder die grundlegende Leistung sind für alle in der Gebrauchsanweisung des EZ1 DSP DNA Blood Kit aufgeführten Gerätesysteme gültig, da das Kit als Teil des Systems sich bei den verschiedenen automatisierten Plattformen nicht verändert.

Hinweis: Die Leistungsmerkmale sind stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Die Leistung wurde für das EZ1 DSP DNA Blood Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen etabliert. Die Methoden zur Isolierung von Nukleinsäuren aus biologischen Proben werden jedoch als Einstiegspunkt bei der Entwicklung zahlreicher nachgelagerter Anwendungen verwendet. Daher müssen für jeden derartigen Arbeitsablauf Leistungsparameter wie der Einfluss exogener Störsubstanzen, Kreuzkontaminationen oder die Laufpräzision im Rahmen der Entwicklung der nachgelagerten Anwendung ermittelt werden. Aus diesem Grund 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 des EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 generierten Daten zur grundlegenden Leistung gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 3). 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 die identische oder verbesserte Grundleistung des Systems nachzuweisen. Im Rahmen der Gleichwertigkeitstests wurde die Kompatibilität mit verschiedenen nachgelagerten Anwendungen (einschließlich qPCR) ebenfalls bestätigt.

Da lediglich beispielhafte nachgelagerte Methoden verwendet wurden, liegt es jedoch 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

Die unter Verwendung des EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 generierten Daten zum Einfrieren und Auftauen von Probenmaterial gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 6). Das Einfrieren und Auftauen von Proben erfolgt vor der Nukleinsäureextraktion. Daher ist der damit verbundene Grad des Probenabbaus unabhängig vom nachgelagerten Extraktionsverfahren. Außerdem sind die Probenzusammensetzung und die Kit-Chemie 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 die identische oder verbesserte Leistung des Systems nachzuweisen. Die Anweisungen zur Probenhandhabung 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.

Präzision

Die DNA-Ausbeuten aus humanen Vollblutproben von 200 µl mit einem Elutionsvolumen von 100 µl wurden unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ2 Connect MDx und dem EZ1 Advanced XL für verschiedene Läufe verglichen. Insgesamt 12 Aufreinigungsläufe wurden von drei verschiedenen Bedienern mit drei verschiedenen Geräten (je Gerätetyp) und an drei verschiedenen Tagen durchgeführt. Die Daten zur Intra-Lauf-Präzision sind als Standardabweichungen der DNA-Ausbeuten angegeben (Abbildung 7).

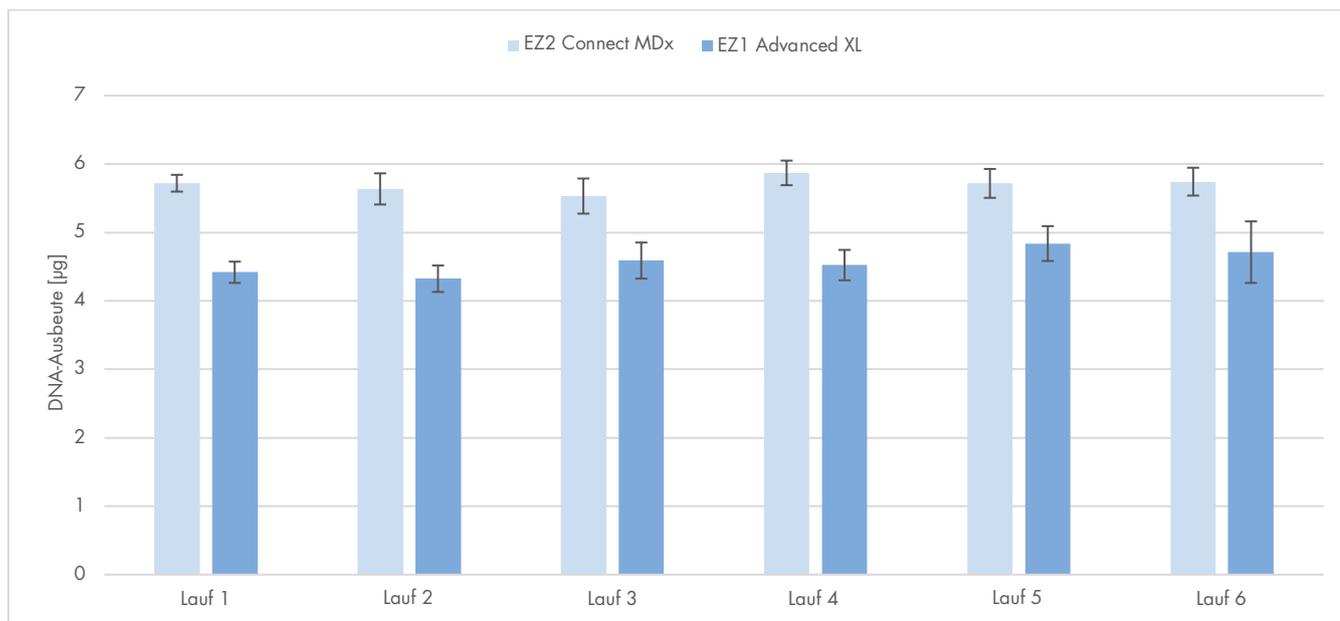


Abbildung 7. Intra-Lauf-Präzision unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System. Blut von einem gesunden Spender wurde in BD K2E Rörchen entnommen und vor der Verwendung gepoolt. Genomische DNA wurde in 6 Läufen mit je 14 Replikaten auf dem EZ1 Advanced XL und in 6 Läufen mit je 24 Replikaten auf dem EZ2 Connect MDx unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System aus 200-µl-Aliquoten aufgereinigt. Für jeden Lauf sind mittlere DNA-Gesamtausbeute und Standardabweichung angegeben.

Für die Extraktion von humaner DNA aus Vollblut wurden Variationskoeffizienten (VK) bestimmt. Die Präzisionsdaten sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5. Analyse der Präzisionsschätzungen – Intra-Lauf-Variabilität

Präzision	VK (%) (EZ2 Connect MDx)	VK (%) (EZ1 Advanced XL)
Intra-Lauf (Lauf 1)	2,14	3,52
Intra-Lauf (Lauf 2)	4,04	4,47
Intra-Lauf (Lauf 3)	4,64	5,75
Intra-Lauf (Lauf 4)	3,06	4,91
Intra-Lauf (Lauf 5)	3,69	5,26
Intra-Lauf (Lauf 6)	3,54	9,55

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

Darüber hinaus wurde die Inter-Lauf-Variabilität für das EZ2 Connect MDx Gerät bestimmt (Tabelle 6).

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

Präzision	VK (%) (EZ2 Connect MDx)	VK (%) (EZ1 Advanced XL)
Inter-Lauf (Lauf 1-6)	4,02	7,07

Probeneingabe-/Eluatvolumen

Das EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ2 Connect MDx bietet die Option zur Kombination verschiedener Probeneingabevolumen (entweder 200 oder 350 µl) mit verschiedenen Eluatvolumen (50, 100 oder 200 µl). Die Gesamtleistung der auf dem EZ2 Connect MDx System verwendeten Extraktionsverfahren erwies sich im Vergleich mit dem EZ1 Advanced XL als identisch oder verbessert.

Abhängig von dem vollständigen Arbeitsablauf (Probenvorbereitung in Kombination mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung) kann es eine besonders vorteilhafte Kombination aus Probeneingabe- und Elutionsvolumen geben, welche etwa bei der Optimierung der finalen DNA-Ausbeute und -Konzentration oder der weiteren Minimierung des potenziellen Einflusses verbliebener Störsubstanzen helfen kann. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können selbst bei identischem Probenmaterial unterschiedliche Kombinationen aus Probeneingabe-/Eluatvolumen erfordern. Aus diesem Grund liegt es in der Verantwortung des Anwenders, den gesamten Arbeitsablauf für die eigene spezifische Anwendung zu validieren, um geeignete Leistungsparameter zu etablieren.

Genauigkeit

Unter Verwendung von drei verschiedenen Leukozytenkonzentrationen (LEU) wurden 6 Aufreinigungsläufe auf dem EZ2 Connect MDx und dem EZ1 Advanced XL durchgeführt. Die DNA-Ausbeuten bei 200 µl Probeneingabe- und 200 µl Elutionsvolumen wurden durch spektrophotometrische Messung bestimmt und für die verschiedenen Geräte verglichen.

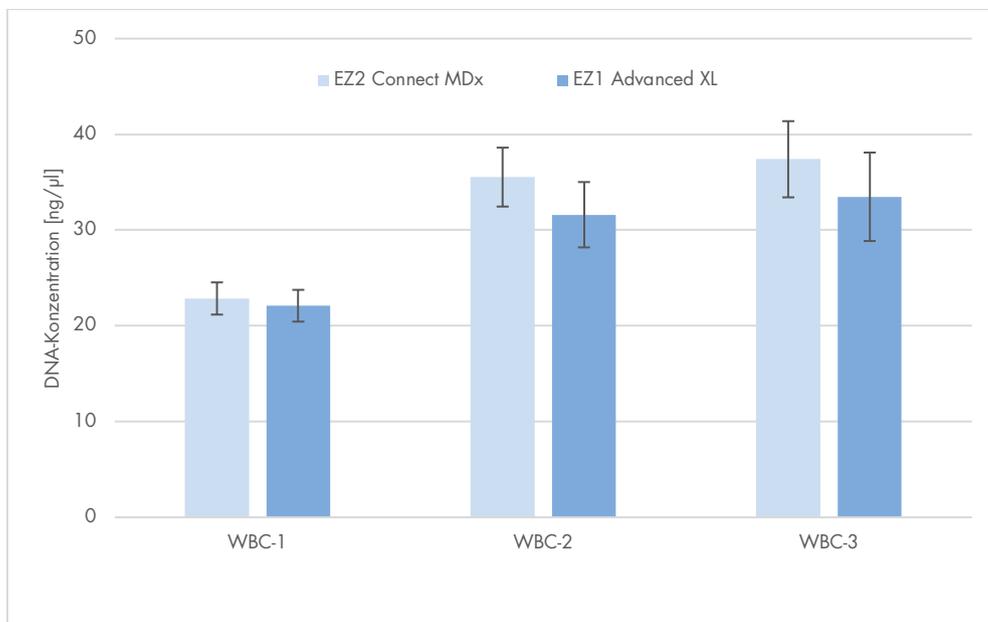


Abbildung 8. Mit verschiedenen LEU-Konzentrationen erhaltene mittlere DNA-Konzentration Vollblut wurde von verschiedenen Spendern entnommen, gepoolt und mit Buffy-Coat auf die erforderlichen LEU-Konzentrationen gebracht. Genomische DNA wurde unter Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood System auf dem EZ1 Advanced XL und EZ2 Connect MDx aus 200 µl je Probe aufgereinigt und in 200 µl eluiert. Die mittlere DNA-Konzentration ist für jede LEU-Konzentration angegeben.

Tabelle 7. Zusammenfassung der Genauigkeitstestergebnisse

LEU	Gerät	Tag	DNA-Konzentration			
			Mittelwert (ng/µl)	Median (ng/µl)	SD	% VK
WBC-1	EZ1	1	21,92	22,50	1,662	7,58
		2	22,28	22,05	1,785	8,01
	EZ2	1	23,00	23,00	1,490	6,48
		2	22,71	22,45	1,975	8,70
WBC-2	EZ1	1	33,23	33,30	3,565	10,73
		2	29,98	31,03	2,635	8,79
	EZ2	1	35,75	36,05	3,066	8,58
		2	35,32	35,15	3,341	9,46
WBC-3	EZ1	1	34,48	34,70	3,418	9,91
		2	32,47	31,35	5,717	17,61
	EZ2	1	38,04	37,50	4,260	11,20
		2	36,76	36,63	3,935	10,70

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

Eluatstabilität

Die unter Verwendung des EZ1 Advanced XL, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 generierten Daten zur Eluatstabilität gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 8). Proben- und Kit-Zusammensetzung 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 die identische oder verbesserte Leistung des Systems nachzuweisen. 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, EZ1 Advanced oder BioRobot EZ1 bestimmt. Diese Daten gelten auch für das EZ2 Connect MDx Gerät (siehe Seite 8). Proben- und Kit-Zusammensetzung sind bei den zur Verwendung mit dem EZ1 DSP DNA Blood 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 die identische oder verbesserte Leistung des Systems nachzuweisen. 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 von Kreuzkontaminationen bei Verwendung des EZ1 DSP DNA Blood Kit auf dem EZ2 Connect MDx wurde anhand der Durchführung von 10 Läufen (350 µl Eingabe-, 50 µl Elutionsvolumen) mit alternierendem Schachbrettmuster analysiert. Um Verschleppungen von Probe zu Probe nachzuweisen, wurden die Läufe mit Blutproben von Männern (positiv) und Frauen (negativ) in alternierenden Positionen durchgeführt. Jeder zweite Lauf wurde unter Verwendung von ausschließlich von Frauen stammenden Blutproben durchgeführt. Alle Eluate wurden unter Verwendung des QIAGEN QuantiTect Probe PCR Kit auf die Amplifikation eines 78-bp-Fragments des Y-Chromosom-spezifischen Einzelkopiegens SRY getestet.

Alle von Männern stammenden Blutproben lieferten ein positives PCR-Ergebnis, alle von Frauen stammenden Blutproben ein negatives PCR-Ergebnis. Es wurden keine Kreuzkontaminationen durch Verschleppungen von Probe zu Probe oder Lauf zu Lauf festgestellt.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in diesem Dokument verwendet. Eine vollständige Liste der in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Etikettierung verwendeten Symbole ist dem Handbuch zu entnehmen.

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

Bearbeitungsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	Version 4, Revision 1 <ul style="list-style-type: none">Erstellung des Dokuments für die neue Kit-Version. Daten für EZ2 Connect MDx hinzugefügt

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.

Warenzeichen: QIAGEN®, Sample to Insight®, BioRobot®, EZ2®, EZ1®, QuantiTect® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.). Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.
06/2022 HB-3025-D01-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

