

EZ1[®] DSP Virus Kit

EZ1 DSP Virus Kit systemets ydeevne er blevet fastlagt i evalueringsundersøgelser af ydeevne vha. plasma-, serum-, CSF-, urin-, fuldblods-, afførings-, transportmedie-, tørrede podepinde- og respiratoriske prøver til isolering af virus-nukleinsyrer og bakterielt DNA. Testning blev gennemført i overensstemmelse med de protokoller, der er beskrevet i den aktuelle Version 4 af Håndbog til EZ1 DSP Virus.

Kittets ydeevne garanteres dog ikke for hver eneste virus- eller bakterieart og skal derfor valideres af brugeren. Brugeren er ansvarlig for at validere systemets ydeevne til procedurer ved brug på laboratoriet, som ikke er dækket af QIAGEN evalueringsundersøgelser af ydeevne.

Ydeevnekaraktistika

Serum- eller plasmaprøver

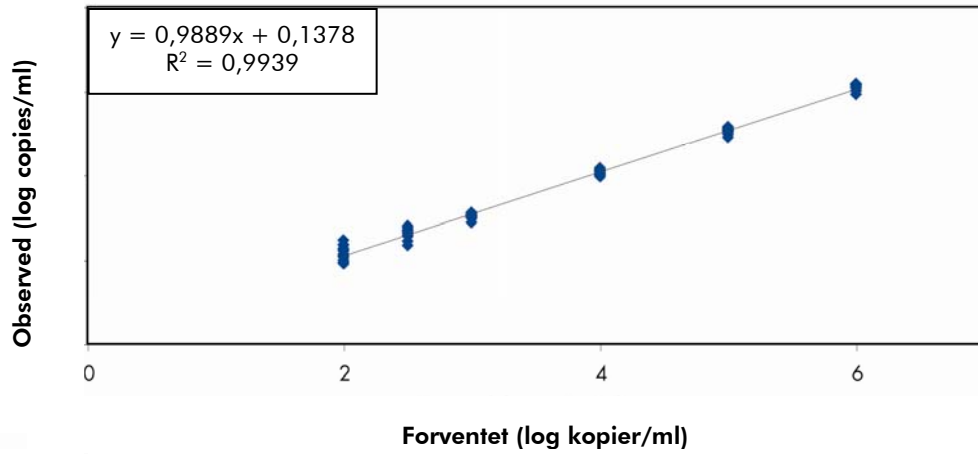
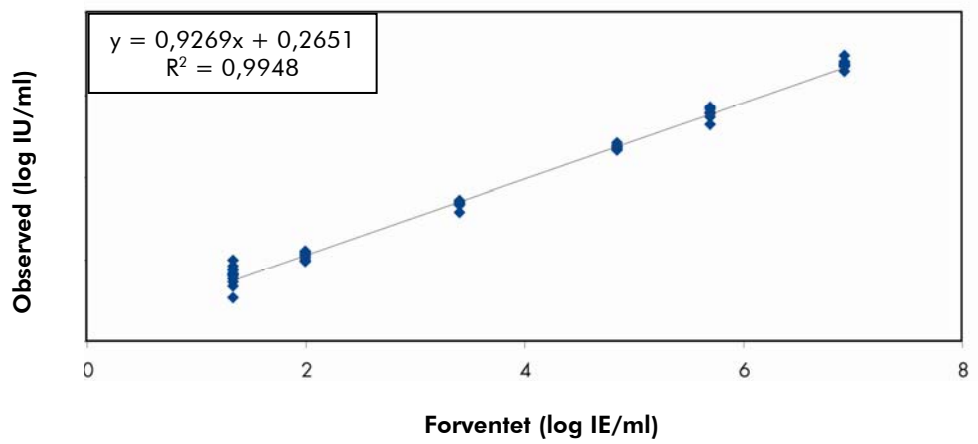
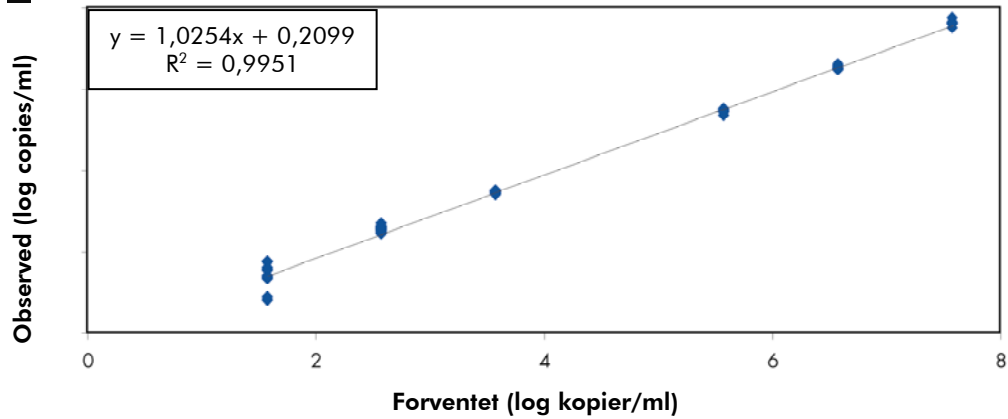
Lineært område

Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit blev evalueret for HCV- og HIV-1 RNA-vira og HBV DNA-virus. Disse tests blev udført med fortyndinger af kvantificerede viruspaneler, fremstillet i HBV-, HCV- og HIV-1-negativt, humant plasma eller serum. Fortyndingsserier med seks forskellige virus-titere blev testet med hver 12 replica. Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit-proceduren er blevet bestemt for HBV, HCV og HIV-1 med Abbott RealTime viruskoncentrationsanalyser (Tabel 1, Figur 1). RealTime Internal Controls (17 μ l hver) blev tilsat direkte til hver HIV-1- eller HCV-prøve før ekstraktion. For RealTime HBV blev 3,4 μ l RealTime HBV Internal Control kombineret med carrier-RNA for hver prøve. Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 400 μ l prøver og elueret i 90 μ l elueringsbuffer (AVE). PCR blev udført på Abbott m2000rt.

Tabel 1. Prøvekilde og efterfølgende analyser anvendt til bestemmelse af lineært udbytteområde med EZ1 DSP Virus-protokollen

Virus	Kilde	Efterfølgende analyse	Anvendt analysemanual
HIV-1	BBI (Boston Biomedica, Inc., Boston, USA) defekt HIV-, BBI-rekalcificeret plasma	Abbott RealTime HIV-1 (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HIV-1
HCV	ProMedDx (ProMedDx LLC, Norton, MA, USA) patient-prøve, samlet, normalt, humant serum	Abbott RealTime HCV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HCV
HBV	Teragenix (Teragenix Coporate, Ft. Lauderdale, FL, USA) patient-prøve, rekalcificeret, humant plasma	Abbott RealTime HBV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HBV



A**B****C**

Figur 1. Lineært område for udbytter ved brug af EZ1 DSP Virus-protokollen. Det lineære område for EZ1 DSP Virus-protokollen blev bestemt ved brug af virusfortyndingsserier og Abbott RealTime-analyser (Tabel 1) **A** for HIV-1, **B** for HCV og **C** for HBV.

Præcision

Standardafvigelse (SD) og varianskoefficienter (CV) blev bestemt for HIV-1, HCV- og HBV-fortyndingsserier i det lineære område for de egnede, efterfølgende analyser. Til præcisionsanalyse blev de samme efterfølgende analyser anvendt som til bestemmelse af det lineære område (Tabel 1, side 2). Interanalyse-præcisionsdataene er vist i tabel 2–4. For hvert panelement blev 12 replica ekstraheret i 12 separate kørsler på BioRobot EZ 1 DSP. PCR blev udført i 2 kørsler med hver 6 replica på Abbott *m2000rt*.

Tabel 2. Interanalyse-præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen ved brug af Abbott RealTime HIV-1-analyse

Panelement	n	Kopier/ml	CV (%)	log kopier/ml	SD (log kopier/ml)
1	12	148	40	2,17	0,17
2	12	426	26	2,63	0,13
3	12	1082	14	3,03	0,06
4	11	11.506	14	4,06	0,06
5	12	116.145	15	5,07	0,07
6	12	1.300.669	16	6,11	0,08

Tabel 3. Interanalyse-præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen ved brug af Abbott RealTime HCV-analyse

Panelement	n	IE/ml	CV (%)	log IE/ml	SD (log IE/ml)
1	12	39	56	1,59	0,27
2	12	122	22	2,09	0,10
3	12	2331	16	3,37	0,08
4	11	51.582	12	4,71	0,05
5	12	357.547	23	5,55	0,11
6	12	5.505.964	24	6,74	0,10

Tabel 4. Interanalyse-præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen ved brug af Abbott RealTime HBV-analyse

Panelement	n	Kopier/ml	CV (%)	log kopier/ml	SD (log kopier/ml)
1	12	22	60	1,34	0,34
2	12	357	16	2,55	0,07
3	12	2835	7	3,45	0,03
4	11	280.221	10	5,45	0,05
5	12	3.311.311	12	6,52	0,05
6	12	40.040.547	14	7,60	0,06

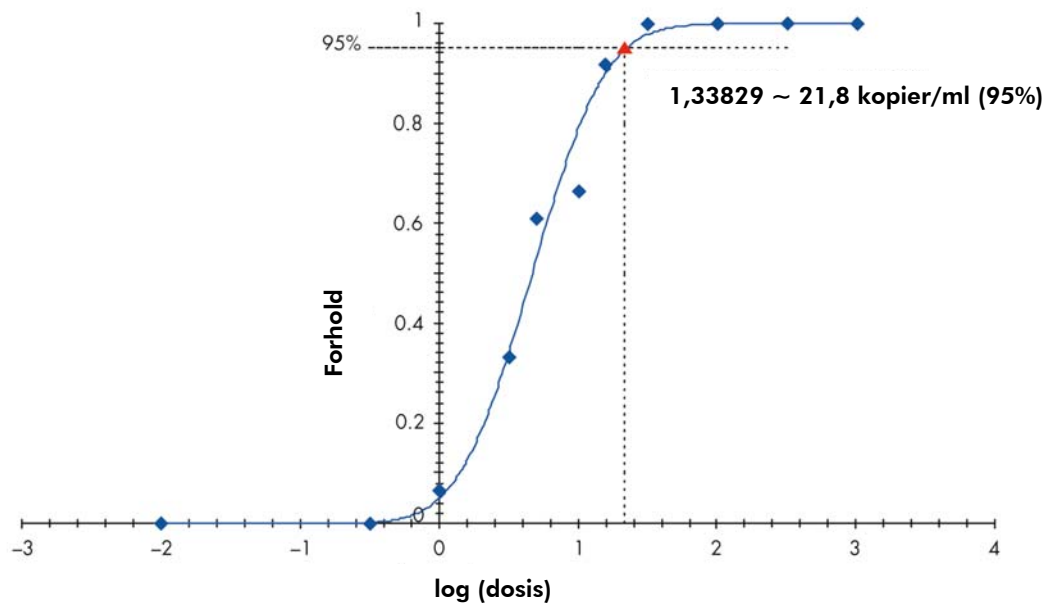
Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen blev bestemt ved 95% probit-værdien for EZ1 DSP Virus-systemet ved brug af HIV-1 WHO international virusstandard 97/656, HBV WHO international virusstandard 97/746 og kvantitativ CMV-cellekultursupernatant. Detektionsgrænsen blev bestemt ved bearbejdning af fortyndingsserien for de egnede vira. Viraene blev fortyndet i HIV-, HBV- og CMV-negativ, normal human EDTA-plasmapulje. Hvert fortyndingstrin blev klargjort i mindst 3 uafhængige kørsler med mindst 6 replica pr. fortynding. 400 µl plasma blev anvendt til prøveklargøring på BioRobot EZ1 DSP med eluering i 60 µl.

artus[®] HBV PCR Kits blev brugt til detektion af HBV DNA og *artus* CMV PCR Kits til detektion af CMV DNA. Prøverne blev analyseret på et LightCycler[®] 1.2 instrument (Roche), et Rotor-Gene[®] 3000 (Corbett Research), og et ABI PRISM[®] 7000 SDS (Applied Biosystems). COBAS[®] Amplicor[®] HIV-1 Monitor[®] -test (version 1.5) blev anvendt til detektion af HIV RNA ved brug af COBAS Amplicor Analyzer. De kombinerede data for alle prøver blev evalueret ved brug af probit-analyse. Dataene fremlægges i tabel 5–6 med repræsentative probit-plots i figur 2–3.

Tabel 5. Detektionsgrænse for HBV og CMV DNA ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet og artus PCR-kits

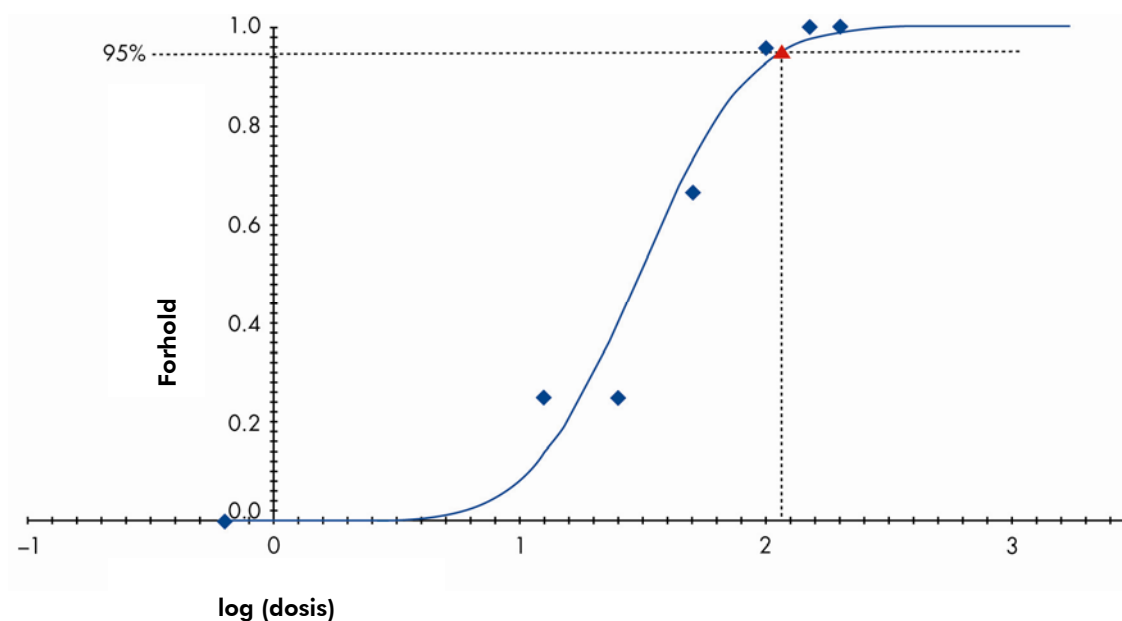
Virus	Input-titer	Hits (LightCycler)	Hits (Rotor-Gene)	Hits (ABI PRISM)
HBV	95% probit-værdi (IE/ml)	45,7	14,4	13,2
	Konfidensinterval (IE/ml)	28–102	9,5–26,5	9,0–23,1
CMV	95% probit-værdi (kopier/ml)	67,2	21,8	38,3
	Konfidensinterval (kopier/ml)	41,8–142	14,5–44,1	21,5–89,8



Figur 2. Probit-analyse til detektion af CMV DNA ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet og artus CMV RG PCR Kit. Vius-nukleinsyrer blev oprenset ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet, og artus CMV PCR RG Kit blev anvendt til detektion af CMV DNA på Rotor-Gene 3000. 95% probit-værdien var 21,8 kopier/ml.

Tabel 6. Detektionsgrænse for HIV RNA ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet og COBAS AmpliCor HIV-1 Monitor-testen, version 1.5

Input-titer (IE/ml)	Hits
95% probit-værdi (IE/ml)	114,5
Konfidensinterval (IE/ml)	82,9–194,3



Figur 3. Probit-analyse til detektion af HIV RNA ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet og COBAS AmpliCor HIV-1 Monitor-testen, version 1.5. Virus-nukleinsyrer blev oprenset ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet med 400 µl prøve-input og 60 µl elution. COBAS AmpliCor HIV-1 Monitor-test blev anvendt til detektion af HIV RNA på COBAS AmpliCor Analyser i den ultrasensitive driftsindstilling. 95% probit-værdien var 114,5 IE/ml.

Udelukkelse af overførsel mellem prøver

9 kørsler på BioRobot EZ1 DSP-, EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced XL-instrumenterne blev udført for at evaluere risikoen for krydskontamination under og mellem EZ1 DSP Virus-procedurer. Testen blev udført ved brug af en kvantificeret parvovirus B19-patientprøve. Virusconcentrationen i positive prøver, der blev anvendt til overførselstests, var $1,0 \times 10^8$ IE/ml. Til fortynding af positive prøver, og som negative kontrolprøver, blev der anvendt en human parvovirus B19-negativ EDTA-plasmapulje.

For at påvise prøve-til-prøve overførsel, blev 2 kørsler udført med skiftende skæbrættopstilling af negative og stærkt positive prøver. Hver tredje kørsel blev udført ved brug af alle negative prøver til at observere mulig kørsel-til-kørsel overførsel. Denne prøveopstilling blev gentaget tre gange, dvs. i alt 9 kørsler for hvert instrument. Parvovirus B19 DNA blev påvist og målt ved brug af

CE-IVD-mærket *artus* Parvo B19 RG PCR Kit på Rotor-Gene 3000. Den analytiske detektionsgrænse for *artus* Parvo B19 RG PCR Kit er bestemt til 0,2 IE/ μ l i eluatet ($p=0,05$). Dette viser at der er 95% sandsynlighed for at 0,02 IE/ μ l vil blive detekteret i eluatet.

Hver eneste af de stærkt positive prøver blev påvist positive ved brug af *artus* Parvo B19 RG PCR Kit. Alle negative prøver var i skakbrætkørslerne og i de helnegative kørsler ikke-følsomme (Tabel 7 viser resultaterne på BioRobot EZ1 DSP). Disse eksperimenter demonstrerer at EZ1 DSP Virus-protokollen ikke giver nogen overførsel mellem prøver under disse betingelser.

Tabel 7. Krydskontaminationstest-opstilling og C_T -værdier for påvisning af parvovirus B19 DNA ved brug af BioRobot EZ1 DSP

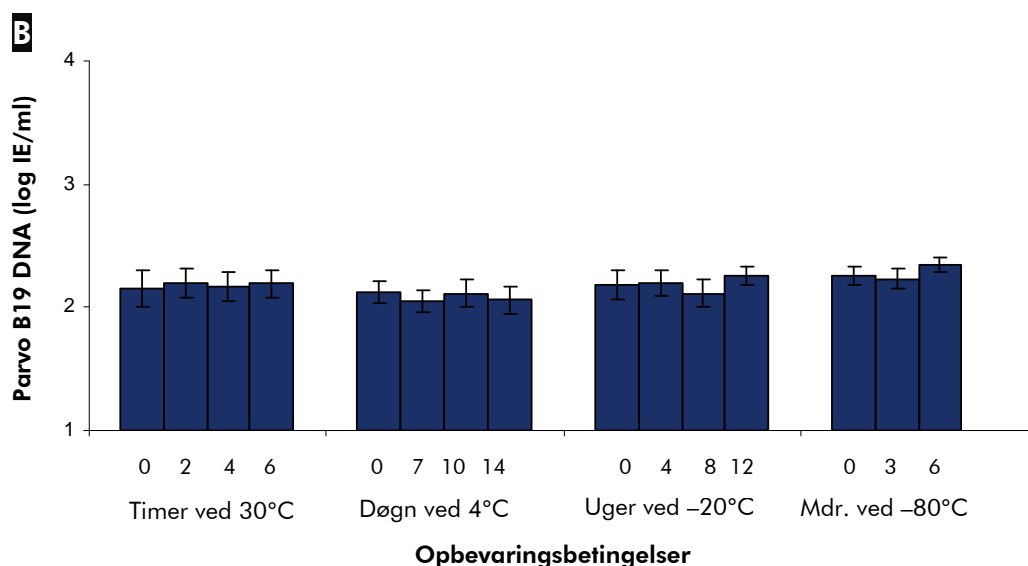
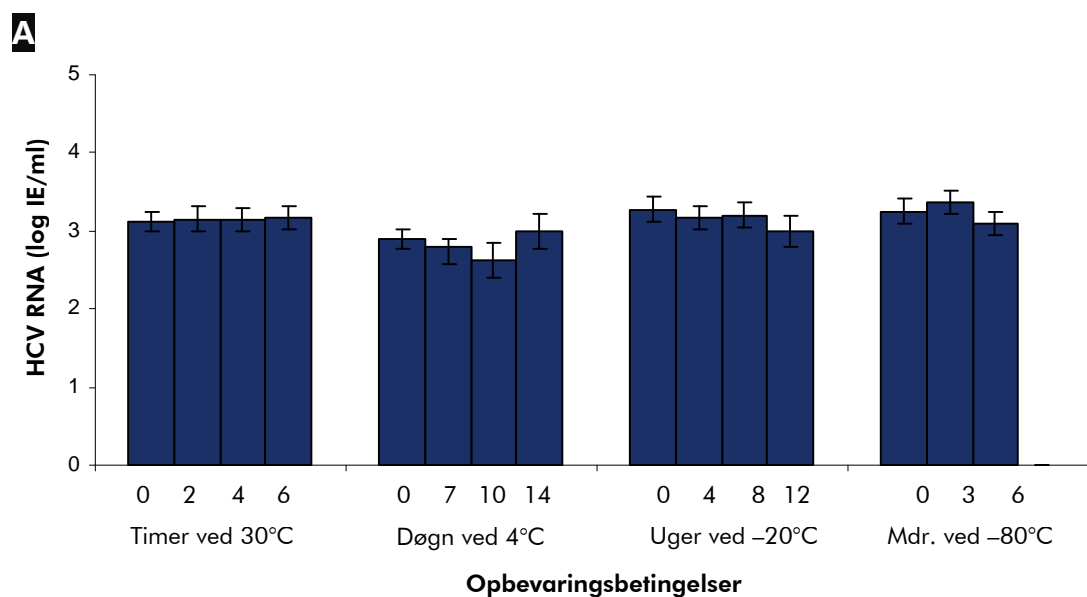
Kørsel	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	15,47	X	15,41	X	15,36	X
2	X	15,48	X	15,53	X	15,32
3	X	X	X	X	X	X
4	15,35	X	15,2	X	15,27	X
5	X	15,21	X	15,13	X	15,43
6	X	X	X	X	X	X
7	15,62	X	15,48	X	15,23	X
8	X	15,31	X	15,83	X	15,62
9	X	X	X	X	X	X

Gennemsnits C_T -værdi af alle prøver = $15,40 \pm 0,18$ (CV = 1,14%)

X: Ikke-følsomme efter 45 PCR-cykler.

Stabilitet

Stabiliteten af virus-RNA og -DNA i eluater, som er frembragt ved brug af EZ1 DSP Virus Kit, blev bestemt. Humant EDTA-plasma blev tilsat 1×10^3 IE/ml HCV AcroMetrix OptiQuant[®] HCV RNA og Parvo B19 VQC standardmateriale. For hvert testtidspunkt og hver inkubationsbetingelse blev 18 replica bearbejdet ved brug af EZ1 DSP Virus-systemet. Eluater, der indeholdt Parvo B19 DNA og HCV RNA, blev inkuberet i op til 6 timer ved 30 °C, op til 14 døgn ved 4 °C, op til 12 uger ved -20 °C og op til 9 måneder ved -80 °C. Undersøgelsen foregår stadig. Eluaterne blev analyseret ved brug af et valideret, internt HCV RT-PCR og *artus* Parvo B19 RG PCR. Én RT-PCR-fejl ud af 18 replica blev observeret for HCV RNA efter opbevaring ved 4 °C i 14 døgn (Figur 4).



Figur 4. Stabilitet for virus-nucleinsyrer. Stabiliteten for virus-RNA og -DNA i eluater, som er frembragt ved brug af EZ1 DSP Virus Kit, blev bestemt for **A HCV RNA og **B** Parvo B19 DNA.**

Reproducérbarhed

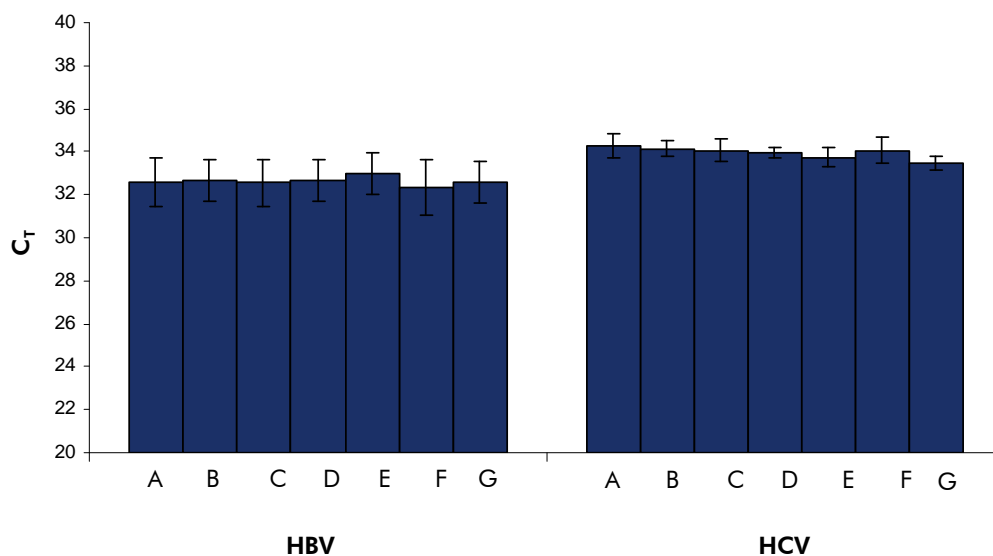
Reproducerbarheden blev bestemt ved brug af 3 BioRobot EZ1 DSP-instrumenter, der kørte på 3 forskellige dage (se Tabel 8). For hver test (A–G) blev 12 replica behandlet i 2 kørsler på BioRobot EZ1 DSP. Humant EDTA-plasma blev tilsat 1×10^4 IE/ml AcroMetrix OptiQuant HCV RNA og

1x10³ IE/ml AcroMetrix OptiQuant HBV DNA. HBV DNA blev bestemt ved brug af *artus* HBV RG PCR Kit og HCV RNA ved brug af en valideret, intern HCV RT-PCR-analyse.

Den automatiserede procedure er yderst reproducérbar, som vist af sammenlignelige resultater fra oprensning af virus-nucleinsyrer på 3 forskellige BioRobot EZ1 DSP- instrumenter på 3 forskellige dage (Figur 5).

Tabel 8. Reproducérbarhedstest-opstilling

Testopstilling	Dag 1	Dag 2	Dag 3
BioRobot EZ1 DSP I	Test A	Test D	Test F
BioRobot EZ1 DSP II	Test B	Test E	
BioRobot EZ1 DSP III	Test C		Test G



Figur 5. Reproducérbarhed. Reproducérbarheden blev bestemt på 3 forskellige BioRobot EZ1 DSP-instrumenter på 3 forskellige dage.

Urin

Ydeevnen for EZ1 DSP Virus Kit til brug i forbindelse med urinprøver blev evalueret ved sammenligning med plasma ved brug af kvantificerede viruspaneler af CMV (DNA-virus) og HCV (RNA-virus) fortyndet i det respektive prøvemateriale. Urin- og plasmaprøver blev behandlet i overensstemmelse med Håndbog til EZ1 DSP Virus Kit og der blev ekstraheret tilsvarende prøvemængder med EZ1 DSP Virus Kit. Virus-nukleinsyrer blev detekteret ved brug af *artus*[®] CMV RG PCR og *artus*[®] HCV RG RT-PCR Kit. Evaluering af ydeevne for EZ1 DSP Virus Kit ved sammenligning af urin og plasma viste en afvigelse på kun ~2% (baseret på C_T værdier) for begge, CMV og HCV (Tabel 9).

Tabel 9. Sammenligning af EZ1 DSP Virus proceduren til brug sammen med urin- og plasmaprøver

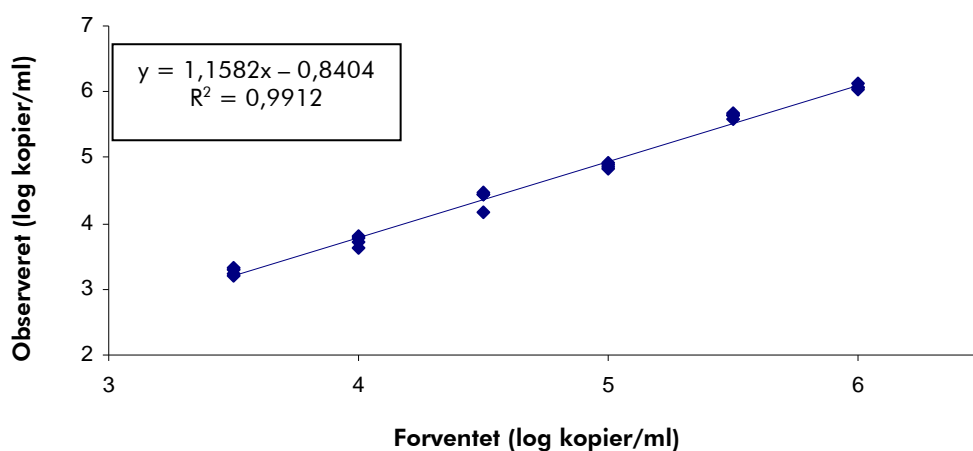
Prøvetype	n	CT-værdi	Forhold urin/plasma (CT-værdi)	Kopier/ml	Forhold urin/plasma (Kopier/ml)
CMV					
Urin	4	31,60	0,98	6250	1,51
Plasma	5	32,17			
HCV					
Urin	4	37,83	1,02	278	0,77
Plasma	5	37,25			

Fuldblod

Lineært område

Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit blev evalueret med brug af EBV som en DNA-virus. Disse tests blev udført med fortyndinger af kvantificerede viruspaneler, fremstillet i EBV-negativt humant fuldblod. Fortyndingsserier med seks forskellige virus-titers blev testet med hver 4 replica. Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 200 μ l fuldblod (blandet med 200 μ l Buffer ATL*) og elueret i 60 μ l elueringsbuffer (AVE). Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit-proceduren er blevet bestemt for EBV med *artus*[®] EBV RG PCR på Rotor-Gene Q-instrumentet (Figur 6).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 939016



Figur 6. Lineært område for udbytter ved brug af EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med *artus*[®] EBV RG PCR-analyse til ekstraktion af EBV fra fuldblod.

Præcision

Standardafvigelse og varianskoeficienter (CV) for fuldblod blev bestemt for CMV ved brug af *artus*[®] CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene Q-instrumentet. Interanalyse-præcisionsdataene er vist i Tabel 10. Fuldblod fra 13 fuldblodsdonorer blev testet i 5 replica i separate kørsler på EZ1 Advanced XL. Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 200 µl fuldblod (blandet med 200 µl Buffer ATL*) og elueret i 120 µl elueringsbuffer (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 939016

Figur 10. Interanalyse-præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med *artus*[®] CMV RG PCR Kit til ekstraktion af CMV fra fuldblod.

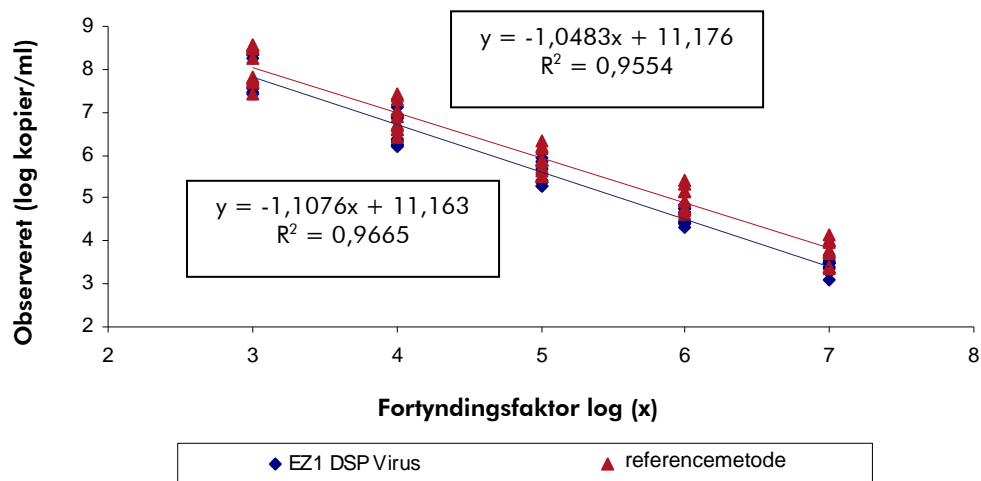
Donor	n	Kopier/ml	CV (%)	log kopier/ml	SA (log kopier/ml)
1	5	7209	13	3,86	0,06
2	5	7404	24	3,87	0,10
3	5	7313	14	3,86	0,06
4	5	7185	17	3,86	0,08
5	5	7803	28	3,89	0,12
6	5	7257	39	3,86	0,17
7	5	7870	20	3,90	0,08
8	5	7583	26	3,88	0,12
9	5	8571	24	3,93	0,10
10	5	7177	30	3,86	0,13
11	5	8294	24	3,92	0,11
12	5	7790	21	3,89	0,10
13	5	7627	27	3,88	0,13

Afføring

Lineært område

Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit blev evalueret med brug af Adenovirus 5 som en DNA-virus. Testene blev udført med en række 10-folds fortyndinger af cellekulturssupernatant i Adenovirus-negativ afføring. Fortyndingsserier med fem forskellige virusfortyndinger blev testet med hver 10 replica. Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 200 µl prøver (1:10 resuspenderet i Buffer ASL*) og elueret i 120 µl elueringsbuffer (AVE). Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit-proceduren er blevet bestemt i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analyse (Argene SA, Frankrig, ref. 96-010B) på Rotor-Gene Q-instrumentet i sammenligning med en referenceekstraktionsmetode (Figur 7).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 19082



Figur 7. Lineært område for udbytter ved brug af EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analysen til ekstraktion af Adenovirus 5 fra afføring.

Præcision

Standardafvigelser og varianskoeficienter (CV) for afføring blev bestemt for Adenovirus 5 ved brug af Adenovirus R-Gene™ PCR-analyse (Argene SA, Frankrig, ref. 96-010B) på Rotor-Gene Q-instrumentet. Adenovirus-negativ afføring blev tilsat Adenovirus 5 cellekulturssupernatant og viral DNA blev ekstraheret fra 200 µl prøver (1:10 resuspenderet i Buffer ASL*) og elueret i 120 µl elueringsbuffer (AVE). Syv EZ1 kørsler med 9 eller 10 replica hver blev udført på tre dage med tre EZ1 Advanced XL-instrumenter og tre EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL lot-kombinationer. Alle prøver blev analyseret i samme PCR-kørsel. Præcisionsdataene (Tabel 11) blev beregnet under hensyntagen til resultaterne fra forskellige instrumenter, dage, lot og alle EZ1-kørsler samlet (total).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 19082

Tabel 11. Præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analysen til ekstraktion af Adenovirus 5 fra afføring.

Kørsel	n	Kop/ml	log kop/ml	SA (log kop/ml)	Intraanalyse	CV c/ml (%)			Total
						3 Adv. X	3 dage	3 lot	
1	9	3530	3,46	0,22	48	80	59	47	66
2	9	2955	3,42	0,19	38	–	–	–	–
3	9	2226	3,26	0,35	43	–	–	–	–
4	9	2385	3,35	0,23	54	–	–	–	–
5	9	604	2,69	0,24	54	–	–	–	–
6	9	1214	3,06	0,21	53	–	–	–	–
7	10	1702	3,19	0,26	48	–	–	–	–

Korrelationsundersøgelse

Der blev gennemført en korrelationsundersøgelse for EZ1 DSP Virus-proceduren i sammenligning med en referencemetode til ekstraktion af Norovirus Genogroup II fra 66 afføringspatientprøver. Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 200 µl prøver (1:10 resuspenderet i Buffer ASL*) og elueret i 120 µl elueringsbuffer (AVE). Analyse blev udført med en intern RT PCR-analyse mod Norovirus Genogroup II (Tabel 12).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 19082

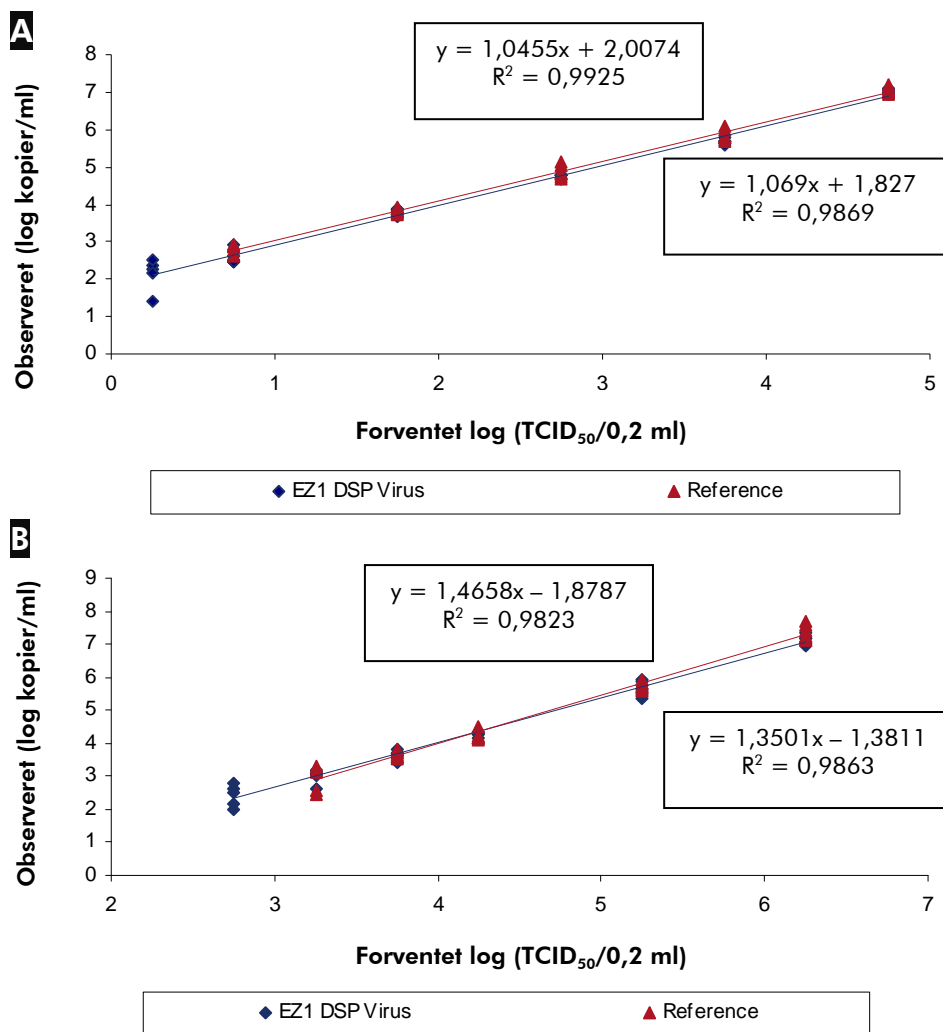
Tabel 12. Korrelation for EZ1 DSP Virus-proceduren med en referencemetode.

		Reference		
		Positiv	Negativ	Total
EZ1 DSP Virus	Positiv	34	15	49
	Negativ	1	16	17
	Total	35	31	66

Transportmedier

Lineært område

Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit blev evalueret ved ekstrahering af HSV-1 og *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) fra PreservCyt® medium (Cytoc Corporation, ref. 0200011). Testene blev udført med fortyndinger af kvantificerede viruspaneler, fremstillet i transportmedium. Fortyndingsserier med seks forskellige virus-titere blev testet i 5 eller 6 replica hver. Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit-proceduren er blevet bestemt i en sammenligning med en referencemetode med *artus*® HSV1/2 TM PCR og *artus*® *C. trachomatis* TM PCR-analysen (Figur 8). Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 200 µl prøver og elueret i 90 µl elueringsbuffer (AVE).



Figur 8. Lineært område for udbytter ved brug af EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med *artus*® *C. trachomatis* PCR (A) og *artus*® HSV1/2 TM TM PCR (B) analysen til ekstraktion af HSV-1 og *C. trachomatis* fra transportmedium. Undersøgelsen blev udført i sammenligning med en referencemetode.

Præcision

Standardafvigelse og varianskoefficienter (CV) for transportmedier blev bestemt for HSV-1 og *C. trachomatis* ved brug af *artus*[®] HSV1/2 TM PCR og *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR-analysen. Virus- og bakterie-DNA blev ekstraheret fra 400 µl medium og elueret i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Fem transportmedier blev ekstraheret i 12 replica i seks EZ1-kørsler, på tre dage og med tre EZ1 DSP Virus Kit-lot. Alle prøver blev analyseret i samme PCR-kørsel. Intermedie-præcision for *C. trachomatis* (Tabel 13) og HSV-1 (Tabel 14) blev beregnet under hensyntagen til alle replica for hvert transportmedium (forskellige EZ1-kørsler, dage og lot).

Tabel 13. Præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med *artus*[®] *C. trachomatis* RG PCR Kit for ekstraktion af *C. trachomatis* fra transportmedier

Medium	n	Nominal log TCID ₅₀ /0,2 ml	Observeret kop/ml	Intermedie-præcision CV kop/ml (%)	Observeret log kop/ml	SA (log kop/ml)
¹ QIAGEN STM	12	3,75	61.623	10	4,79	0,05
² Remel M4RT [®]	12	3,75	79.630	10	4,90	0,05
³ PreservCyt [®]	12	3,75	54.749	9	4,74	0,04
⁴ BD Surepath [®]	12	3,75	56.312	18	4,74	0,08
⁵ Copan UTM	12	3,75	76.099	9	4,88	0,04

¹ QIAGEN GmbH, kat. nr. 5123-1220; ² Thermo Fisher Scientific Group, ref. R12505; ³ Cytoc Corp., ref. 0200011; ⁴ Becton, Dickinson and Company, ref. GYN-0001-V; ⁵ Copan Diagnostics Inc., kat. nr. 330C

Tabel 14. Præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med artus® HSV1/2 RG PCR Kit for ekstraktion af HSV-1 fra transportmedier

Medium	n	Nominel log TCID ₅₀ /0,2 ml	Observeret kop/ml	Intermedie-præcision CV kop/ml (%)	Observeret log kop/ml	SA (log kop/ml)
¹ QIAGEN STM	12	4,25	16.615	47	4,17	0,21
² Remel M4RT®	12	4,25	17.433	38	4,21	0,20
³ PreservCyt®	12	4,25	13.494	41	4,09	0,19
⁴ BD Surepath®	12	4,25	17.013	58	4,16	0,28
⁵ Copan UTM	12	4,25	15.999	39	4,17	0,18

¹ QIAGEN GmbH, kat. nr. 5123-1220; ² Thermo Fisher Scientific Group, ref. R12505; ³ Cytoc Corp., ref. 0200011; ⁴ Becton, Dickinson and Company, ref. GYN-0001-V; ⁵ Copan Diagnostics Inc., kat. nr. 330C

Klinisk ydeevne (HPV)

Portioner af DNA oprenset fra i alt 108 prøver bestående af 50 HC2-positive prøver indsamlet i STM, 50 HC2-positive prøver indsamlet i PreservCyt® og 8 HC2-negative prøver i STM blev testet med *digene*® HPV Genotyping RH Test (kat. nr. 613413) og *digene*® HPV Genotyping LQ Test (kat. nr. 613215) i sammenligning med Free University RLB-systemet*.

Resultaterne blev vurderet som enten identiske (100% matchende genotyper), kompatible (mindst én genotype til fælles) eller disharmoniske (ingen matchende genotyper). Afvigelser (disharmoniske genotypebestemmelses-resultater) blev løst ved at gentage begge analyser og i tilfælde af tilbageværende afvigelser ved efterfølgende analyse med en tredje følsom HPV-detektions- og genotyping-analyse [SPF10-LiPA25 (version1)].

Resultaterne viste et meget lavt niveau af afvigende prøver (2%) efter håndtering af indledningsvist afvigende prøver for begge genotype-analyser sammenlignet med referencemetoden (Tabel 15.)

Tabel 15. Sammenligning af *digene* HPV Genotyping RH Test (A) og *digene* HPV Genotyping LQ Test med Free University RLB-systemet* med brug af EZ1 DSP Virus-proceduren for ekstraktion af HPV fra transportmedium

Resultattype	A	B
	% af kliniske prøver	% af kliniske prøver
Identisk	80	58
Kompatibel	18	12
Afvigende	2	2

* van den Brule, A. J., Pol R., Fransen-Daalmeije, N., Schouls, L. M., Meijer, C. J., and Snijders, P. J. (2002) GP5+/6+ PCR followed by reverse line blot analysis enables rapid and high-throughput identification of human papillomavirus genotypes. J Clin Microbiol 40, 779.

Klinisk ydeevne (influenza A)

Til demonstration af klinisk ydeevne blev 102 karakteriserede nasopharyngeal podepindsprøver, indsamlet i UTM (Copan Diagnostics Inc., kat. nr. 330C), evalueret med brug af EZ1 DSP Virus Kit til ekstraktion af nukleinsyre. Influenza A-RNA blev detekteret med brug af *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit og EUA godkendte Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR test (Tabel 16).

Tabel 16. Sammenligning af *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit og den EUA-godkendte Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR test med brug af EZ1 DSP Virus Kit til ekstraktion af sæsons-influenza A og 2009 H1N1 influenza-virus fra nasopharyngeal-podepinde

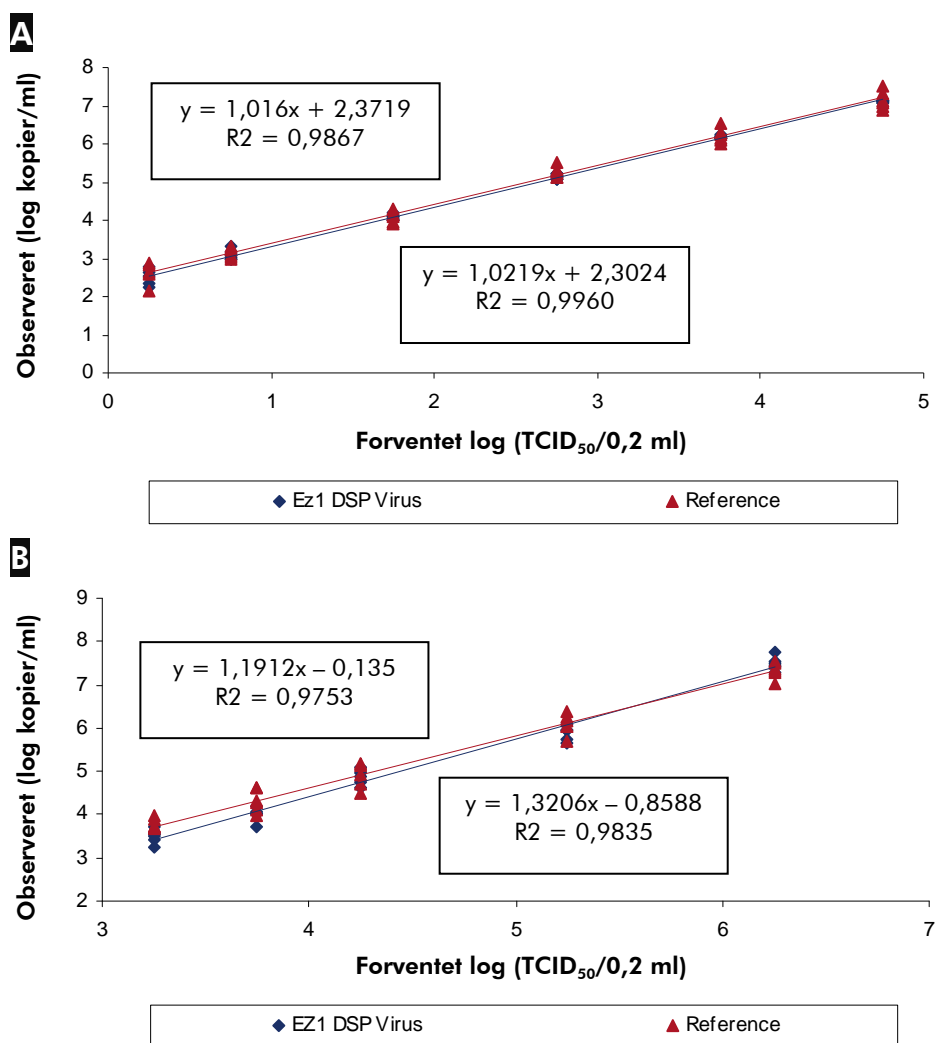
		Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR			
		Sæsons-infl.A-positiv	2009 H1N1-positiv	Negativ	Total
<i>artus</i> [®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR	Sæsons-infl.A-positiv	5	0	2	7
	2009 H1N1-positiv	0	27	1	28
	Negativ	0	0	67	67
	Total	5	27	70	102

Tørrede podepinde

Lineært område

Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit blev evalueret ved ekstrahering af HSV-1 og *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) fra podepinde af typen Puritan Cotton Swabs (ref. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC). Testene blev udført med fortyndinger af kvantificeret standardmateriale. Human negativt spyt blev tilsat patogent materiale og overført til podepinden. Efter dehydrering blev patogenerne gen-isoleret fra den tørrede podepind ved resuspension i 600 µl Buffer ATL*. Fortyndingsserier med seks forskellige virus-titere blev testet i 5 eller 6 replica hver. Det lineære område for EZ1 DSP Virus Kit-proceduren er blevet bestemt i en sammenligning med en referencemetode med *artus*[®] HSV1/2 TM PCR og *artus*[®] C. trachomatis TM PCR-analysen (Figur 9). Virus-nukleinsyrer blev ekstraheret fra 400 µl prøver og elueret i 150 µl elueringsbuffer (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat. nr. 939016



Figur 9. Lineært område for udbytter ved brug af EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med artus® C. trachomatis PCR (A) og artus® HSV1/2 TM TM PCR (B) analysen til ekstraktion af C. trachomatis og HSV-1 fra tørrede podepinde. Undersøgelsen blev udført i sammenligning med en referencemetode.

Præcision

Standardafvigelser og varianskoeficienter (CV) for tørrede podepinde blev bestemt for HSV-1 og C. trachomatis ved brug af artus® HSV1/2 TM PCR og artus® C. trachomatis TM PCR-analysen. Tørrede podepinde af typen Copan Flocked Swabs (kat. nr. 502CS0, Copan Italia S.p.A.) og Puritan Cotton Swabs (ref. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC) blev klargjort og forbehandlet som beskrevet herover, og der blev ekstraheret virus- og bakterie-DNA fra 400 µl prøvemængde og elueret i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Ekstraheringen blev udført med tre spytdonorer i 8 eller 9 replica hver i seks EZ1-kørsler, på tre dage og med tre EZ1 DSP Virus

Kit/Buffer ATL lot-kombinationer. Alle prøver blev analyseret i samme PCR-kørsel. Intermediærpræcision for *C. trachomatis* (Tabel 17) og HSV1 (Tabel 18) blev beregnet under hensyntagen til alle replica for hver donor og podedepindstype (forskellige EZ1-kørsler, dage og lot).

Tabel 17. Præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med artus® C. trachomatis RG PCR Kit for ekstraktion af C. trachomatis fra tørrede podedepinde

Podedepindstype	Donor	n	Nominel log TCID ₅₀ /0,2 ml	Observeret kop/ml	Intermediærpræcision CV kop/ml (%)	Observeret log kop/ml	SA (log kopier/ml)
Puritan bomuldspodedepinde	1	9	1,75	16.782	28	4,22	0,12
	2	9	1,75	15.896	23	4,20	0,09
	3	9	1,75	16.111	12	4,21	0,05
Copan Flocked podedepinde	1	9	1,75	26.486	19	4,42	0,09
	2	9	1,75	30.356	17	4,48	0,08
	3	9	1,75	19.926	18	4,30	0,08

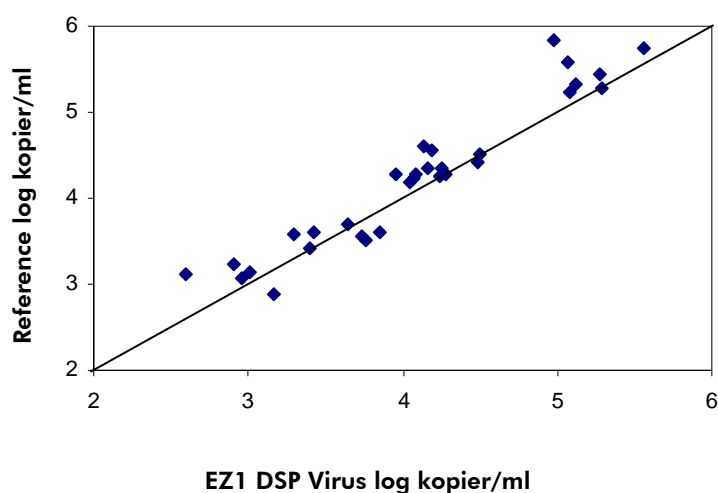
Tabel 18. Præcision for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombination med artus® HSV1/2 RG PCR Kit for ekstraktion af HSV-1 fra tørrede podedepinde

Podedepindstype	Donor	n	Nominel log TCID ₅₀ /0,2 ml	Observeret kop/ml	Intermediærpræcision CV kop/ml (%)	Observeret log kop/ml	SA (log kopier/ml)
Puritan bomuldspodedepinde	1	9	3,75	5843	52	3,77	0,22
	2	8	3,75	13.295	62	4,12	0,20
	3	8	3,75	10.272	40	4,01	0,16
Copan Flocked podedepinde	1	8	3,75	6.215	30	3,79	0,13
	2	9	3,75	10.773	24	4,03	0,11
	3	9	3,75	10.336	24	4,01	0,11

Respiratoriske prøver (sputum)

Korrelationsundersøgelse

Der blev udført en korrelationsundersøgelse for EZ1 DSP Virus til ekstraheringen af *Mycobacterium tuberculosis* fra negativt humant sputum. En fortyndingsserie med 4 forskellige virus-titere blev testet i en enkelt-replica i sammenligning med en referencemetode. Bakterielt DNA blev ekstraheret fra 200 μ l sputum, forbehandlet med Sputasol (Oxoid Limited, ref. SR0233) og lysozym (Sigma-Aldrich, kat. nr. L6876), som det er beskrevet i Håndbog til EZ1 DSP Virus, Version 4, og elueret i 90 μ l elueringsbuffer (AVE). Analysen blev udført med *artus*[®] M. tuberculosis RG PCR-analysen (Figur 10).



Figur 10. Korrelation for EZ1 DSP Virus-proceduren med en referencemetode.

Se den henholdsvis QIAGEN kit-håndbog eller brugermanual vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser. QIAGEN kit-håndbøger og brugermanualer kan fås på www.qiagen.com, eller der kan forespørges om disse fra QIAGENS tekniske service eller den lokale forhandler.

Varemærker: QIAGEN®, *artus*®, EZ1®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ABI PRISM® (Applied Biosystems); COBAS®, AMPLICOR® (Roche Molecular Systems, Inc., licensed to Roche Diagnostic Systems, Inc.); LightCycler® (Roche); MONITOR® (Roche Group); OptiQuant® (AcroMetrix Corporation); Adenovirus R-Gene™ (Argene, Inc.); Remel M4RT® (Thermo Fisher Scientific Group); PreservCyt® (Cytoc Corp.); Surepath® (Becton, Dickinson and Company)

Februar-11 © 2011 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdt.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies