

EZ1® DSP Virus Kit

Sistēmas EZ1 DSP Virus Kit veikspēja ir noteikta veikspējas novērtēšanas pētījumos, izmantojot plazmas, seruma, CSŠ, urīna, nesadalītu asiņu, fēcū, pārnešanas vides, sausu uztriepes tamponu un respiratoros paraugus vīrusu nukleīnskābju un baktēriju DNS izolēšanai. Testēšana tika veikta saskaņā ar protokoliem, kas aprakstīti EZ1 DSP Virusrokasgrāmatas pēdējā 4. versijā.

Tomēr komplekta veikspēja nav garantēta attiecībā uz katru vīrusu vai baktēriju sugu, un lietotājam tas ir jāapstiprina. Lietotāja pienākums ir pārbaudīt sistēmas veikspēju attiecībā uz visām viņu laboratorijā izmantotajām procedūrām, kas nav ietvertas QIAGEN darbības novērtējuma pētījumos.

Darbības raksturojums

Serums un plazma

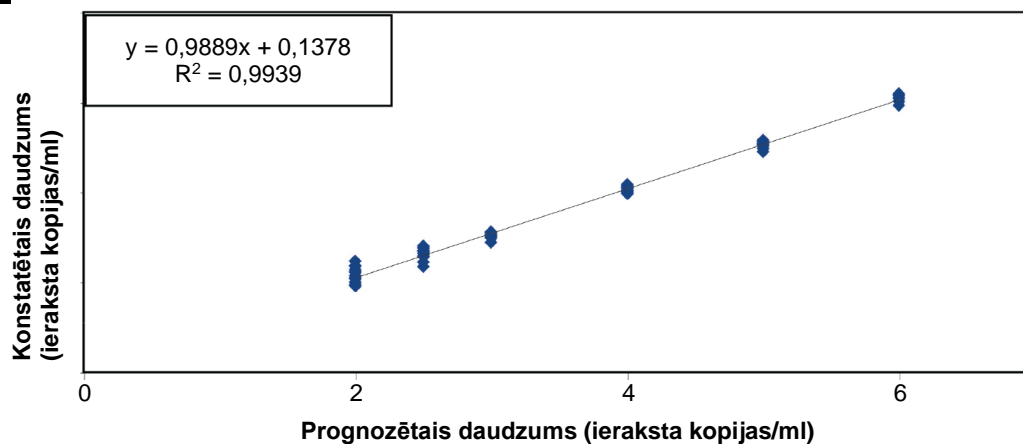
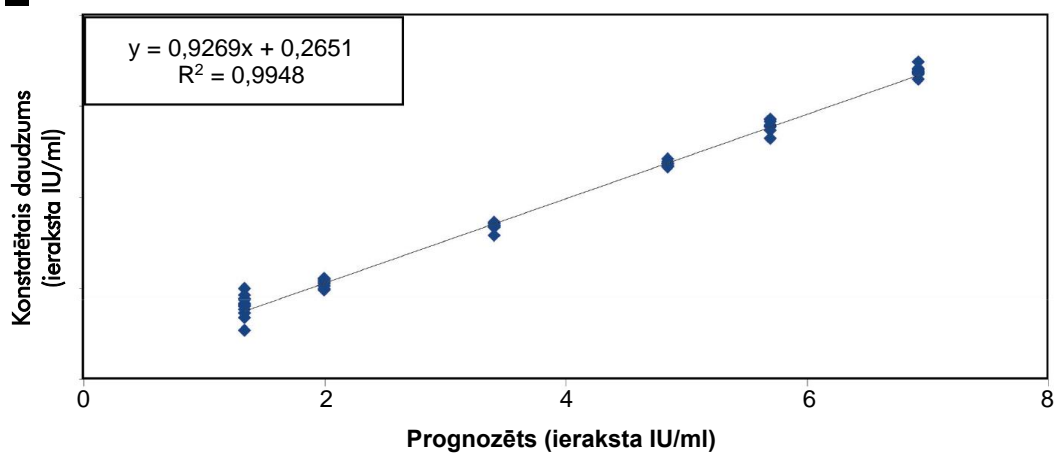
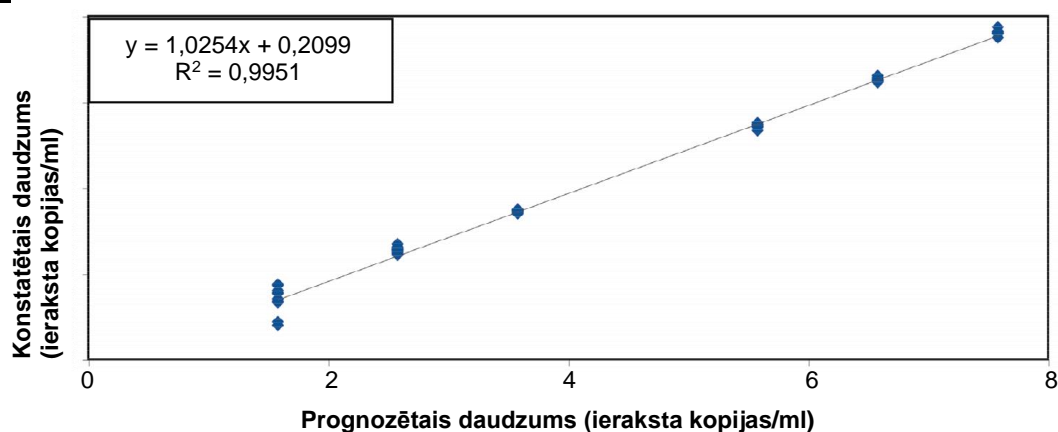
Lineārais diapazons

EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika novērtēts darbā ar HCV un HIV-1 RNS un HBV DNS vīrusu. Testi tika veikti ar kvantificētiem vīrusa paneļu atšķaidījumiem, kas izgatavoti HBV, HCV un HIV-1 negatīvā cilvēka plazmā vai serumā. Atšķaidījumu sērijas ar sešiem dažādiem vīrusu titriem tika testētas ar 12 atkārtojumiem katrai. EZ1 DSP Virus Kit komplekta procedūras lineārais diapazons ir noteikts darbā ar HBV, HCV un HIV-1, izmantojot Abbott RealTime vīrusu slodzes analīzēm (1. tabula, 1. attēls). Katram HIV-1 vai HCV paraugam pirms ekstrakcijas tika tieši pievienoti RealTime iekšējās kontroles materiāli (katrs 17 µl). Izmantojot RealTime HBV, katram paraugam RealTime HBV iekšējās kontroles 3,4 µl tika kombinēti ar nesējvides RNS. Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 400 µl parauga un eluētas 90 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). PQR tika veikta ar Abbott m2000rt.

1. tabula. Paraugu avota un pakārtotās analīzes, kas tika izmantotas lineārā diapazona iegūto vērtību noteikšanai ar EZ1 DSP Virus protokolu

Vīruss	Avots	Pakārtota analīze	Manuāli izmantotā analīze
HIV-1	BBI (Boston Biomedica, Inc., Boston, USA) HIV ar defektu, BBI rekalcinēta plazma	Abbott RealTime HIV-1 (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HIV-1
HCV	ProMedDx (ProMedDx LLC Norton, MA, USA) pacienta paraugs, apkopota normāla cilvēka plazma	Abbott RealTime HCV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HCV
HBV	Teragenix (Teragenix Coporate, Ft. Lauderdale, FL, USA) pacienta paraugs, rekalcinēta cilvēka plazma	Abbott RealTime HBV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HBV



A**B****C**

1. attēls. Izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu, iegūto vērtību lineārais diapazons. EZ1 DSP Virus protokola lineārais diapazons tika noteikts, izmantojot vīrusa atšķaidījumu sēriju un Abbott RealTime analīzes (1. tabula) **A** darbā ar HIV-1, **B** darbā ar HCV un **C** darbā ar HBV.

Precizitāte

Standarta noviržu un variāciju koeficienti (coefficients of variations, CV) tika noteikti HIV-1, HCV un HBV atšķaidījuma sērijām attiecīgo pakārtoto analīžu lineārajā diapazonā. Precizitātes analīzei tika izmantoti tās pašas pakārtotās analīzes, kas lineārā diapazonā noteikšanai (1. tabula). Starpanalītiskās precizitātes dati ir sniegti 2.–4. tabulā. Katram paneļa elementam 12 atsevišķās izpildēs darbstacijā BioRobot EZ1 DSP tika izdalīti 12 atkārtojumi. PQR tika veikta ar Abbott m2000rt 2 izpildēs katram no 6 atkārtojumiem.

2. tabula. EZ1 DSP Virus protokola starpanalītiskā precizitāte, izmantojot Abbott RealTime HIV-1 analīzi

Paneļa elements	n	Kopijas/ml	CV (%)	Ieraksta kopijas/ml	SN (ieraksta kopijas/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

3. tabula. EZ1 DSP Virus protokola starpanalītiskā precizitāte, izmantojot Abbott RealTime HCV analīzi

Paneļa elements	n	IU/ml	CV (%)	Ieraksta IU/ml	SN (ieraksta IU/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

4. tabula. EZ1 DSP Virus protokola starpanalītiskā precizitāte, izmantojot Abbott RealTime HBV analīzi

Paneļa elements	n	Kopijas/ml	CV (%)	Ieraksta kopijas/ml	SN (ieraksta kopijas/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

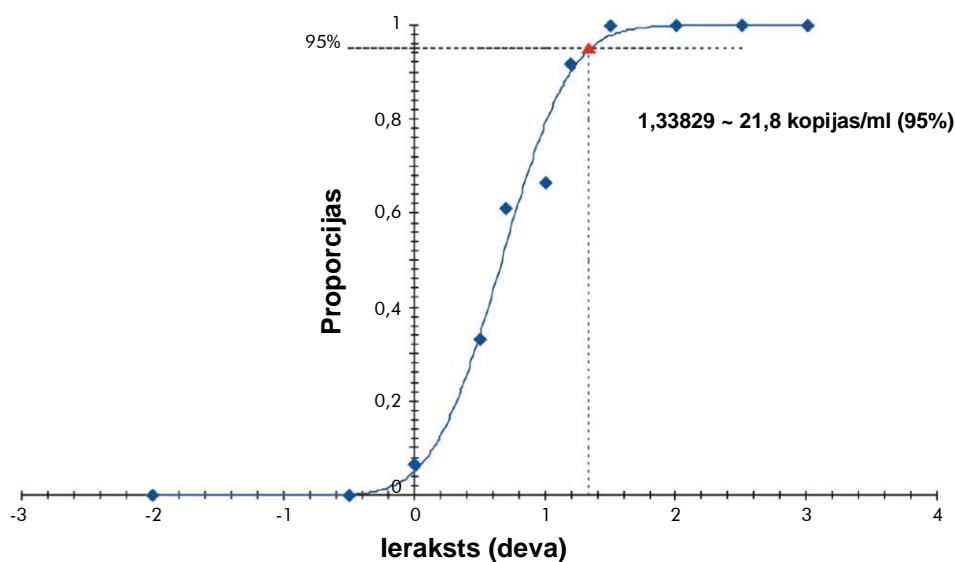
Noteikšanas robeža

Noteikšanas robeža tika noteikta pēc EZ1 DSP Virus sistēmas 95% varbūtības vērtības, izmantojot HIV-1 PVO starptautiskā vīrusu standarta 97/656 prasības, HBV PVO starptautiskā vīrusu standarta 97/746 prasības un kvantificēto CMV šūnu kultūras virsējo slāni. Noteikšanas robeža tika noteikta, apstrādājot attiecīgo vīrusu atšķaidījumu sēriju. Vīrusi tika atšķaidīti HIV, HBV un CMV negatīvā normālā cilvēka EDTA plazmas krātuvē. Katra atšķaidīšanas darbība tika sagatavota vismaz 3 neatkarīgās izpildēs ar vismaz 6 atkārtojumiem katram atšķaidījumam. Parauga sagatavošanai darbstacijā BioRobot EZ1 DSP izmantoja 400 µl plazmas ar eluēšanu 60 µl tilpumā.

artus[®] HBV PCR Kit komplekti tika izmantoti HBV DNS noteikšanai, bet CMV DNS noteikšanai tika izmantoti *artus*[®] CMV PCR Kit komplekti. Paraugi tika analizēti LightCycler[®] 1.2 (Roche), Rotor-Gene[®] 3000 (Corbett Research) un ABI PRISM[®] 7000 SDS (Applied Biosystems) iekārtā. HIV RNS noteikšanai izmantoja COBAS[®] Amplicor[®] HIV-1 Monitor[®] Test (versija 1.5) COBAS Amplicor analizatorā. Visu paraugu apkopotie dati tika novērtēti izmantojot varbūtības analīzi. Dati ir sniegti 5.–6. tabulā ar raksturīgajām varbūtības diagrammām 2.–3. attēlā.

5. tabula. HBV un CMV DNS noteikšanas robeža, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu un *artus*® PCR Kit komplektus

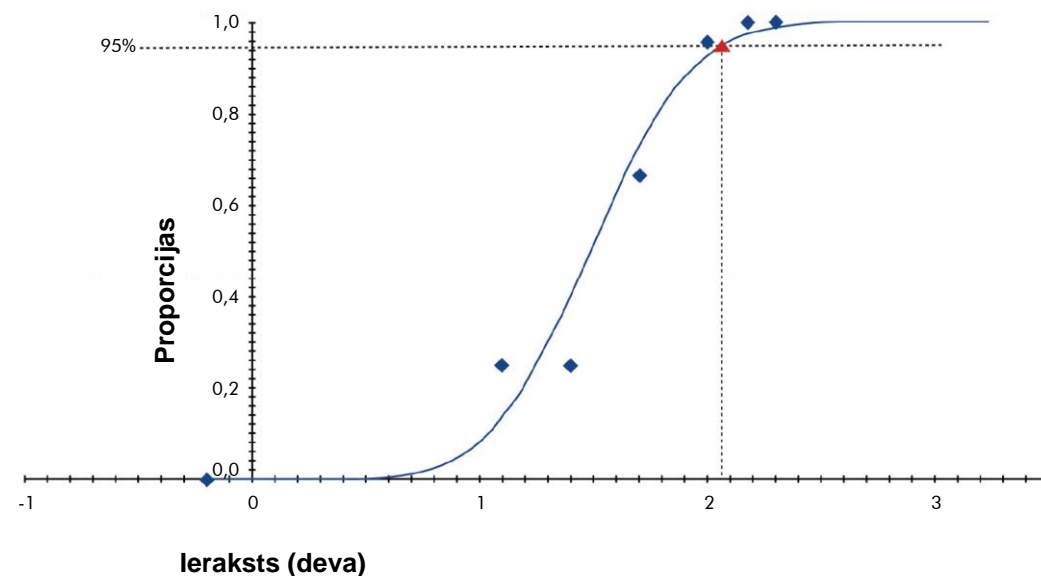
Vīruss	Ievades titrs	Sakritības (LightCycler)	Sakritības (Rotor-Gene)	Sakritības (ABI PRISM)
HBV	95% varbūtības vērtība (IU/ml)	45,7	14,4	13,2
	Ticamības intervāls (IU/ml)	28–102	9,5–26,5	9,0–23,1
CMV	95% varbūtības vērtība (kopijas/ml)	67,2	21,8	38,3
	Ticamības intervāls (kopijas/ml)	41,8–142	14,5–44,1	21,5–89,8



2. attēls. CMV DNS noteikšanas varbūtības analīze, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu un *artus*® CMV RG PCR Kit komplektu. Vīrusa nukleīnskābes tika izdalītas, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu, un CMV DNS noteikšanai izmantoja *artus*® CMV PCR RG Kit komplekts iekārtā Rotor-Gene 3000. 95% varbūtības vērtība bija 21,8 kopijas/ml.

6. tabula. HIV RNS noteikšanas robeža, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu un COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test versiju 1.5

ievades titrs (IU/ml)	Sakritības
95% varbūtības vērtība (IU/ml)	114,5
Ticamības intervāls (IU/ml)	82,9–194,3



3. attēls. HIV RNS noteikšanas varbūtības analīze, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu un COBAS Amplicor HIV-1 Monitor testa versiju 1.5. Vīrus nukleīnskābes tika izdalītas, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu, ar 400 µl paraugu ievadei un 60 µl eluāta. HIV RNS noteikšanai izmantoja COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test COBAS Amplicor analizatorā īpaši jutīgā režīmā. 95% varbūtības vērtība bija 114,5 IU/ml.

Paraugu pārnese izslēgšana

Krusteniskās kontaminācijas notikumu riska novērtēšanai starp EZ1 DSP Virus procedūrām un to laikā BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced un EZ1 Advanced XL iekārtā katrā tika veiktas deviņas izpildes. Testi tika veikti, izmantojot kvantificētu parvovīrusa B19 pacienta paraugu. Pārneses testos izmantoto pozitīvo paraugu vīrusa slodze bija $1,0 \times 10^8$ IU/ml. Pozitīvo paraugu atšķaidīšanai un kā negatīvas kontroles paraugus izmantoja cilvēka parvovīrusa B19 negatīvas EDTA plazmas krātuvi.

Lai noteiktu pārnese no parauga uz paraugu, katrā iekārtā tika veiktas 2 izpildes ar negatīviem un īpaši pozitīviem paraugiem mainīgās šaha dēļa struktūras pozīcijās. Katra trešā izpilde tika veikta, izmantojot negatīvus paraugus, lai kontrolētu iespējamo pilna cikla pārnese. Šī paraugu struktūra tika atkārtota trīs reizes, iegūstot kopumā deviņas izpildes katrā iekārtā. Parvovīrusa B19 DNS tika noteikts un kvantificēts, izmantojot ar CE-IVD iezīmētu *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit

komplektu iekārtā Rotor-Gene 3000. Ir noteikts, ka *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit komplekta analītiskā noteikšanas robeža eluātā ir 0,2 IU/μl (p = 0,05). Tas nozīmē, ka pastāv 95% varbūtība, ka eluātā tiks noteikts 0,2 IU/μl.

Izmantojot *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit komplektu, visi īpaši pozitīvie paraugi tika noteikti kā pozitīvi. Visi negatīvie paraugi šaha dēļa modeļa izpildēs un visās negatīvajās izpildēs bija nereaģējoši (darbstacijā BioRobot EZ1 DSP iegūtie rezultāti ir sniegti šeit: 7. tabula). Šie eksperimenti liecina, ka EZ1 DSP Virus protokols norādītajos apstākļos neizraisa paraugu pānesi.

7. tabula. Krusteniskās kontaminācijas testa struktūra un C_T vērtības parvovīrusa B19 DNS noteikšanai, izmantojot darbstaciju BioRobot EZ1 DSP

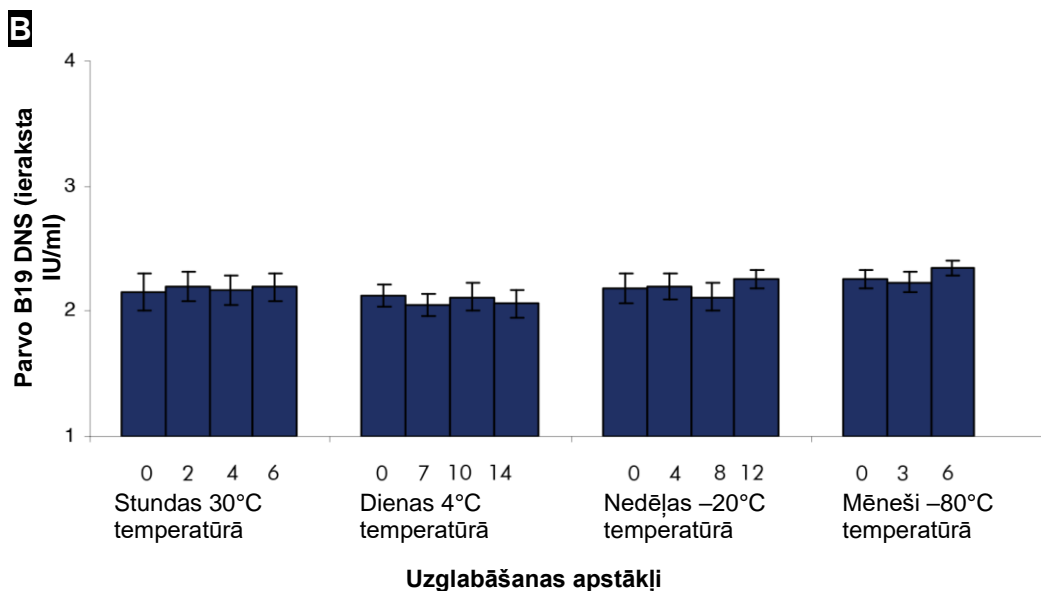
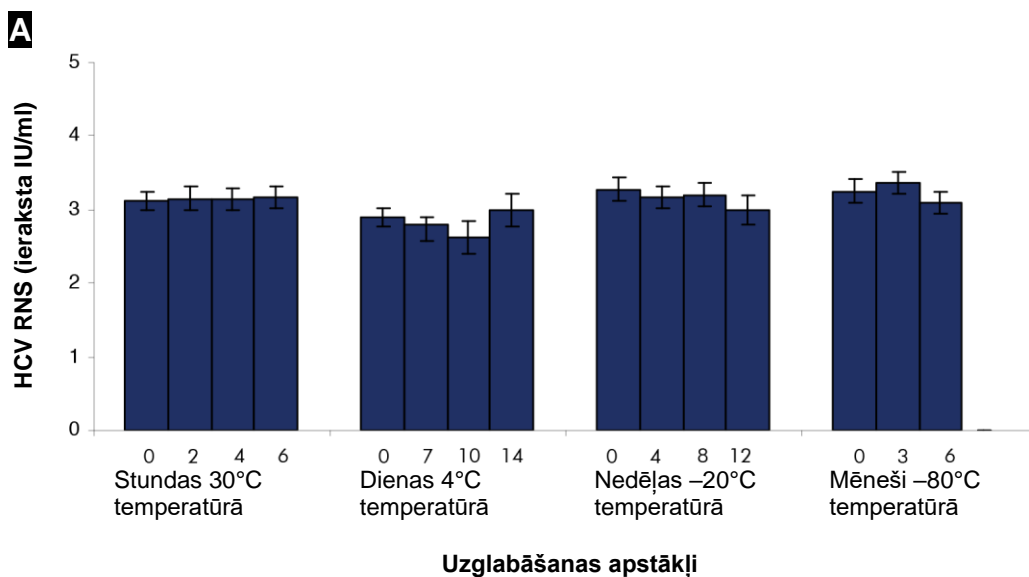
Izpilde	Pozīcija					
	1	2	3	4	5	6
1	15,47	X	15,41	X	15,36	X
2	X	15,48	X	15,53	X	15,32
3	X	X	X	X	X	X
4	15,35	X	15,2	X	15,27	X
5	X	15,21	X	15,13	X	15,43
6	X	X	X	X	X	X
7	15,62	X	15,48	X	15,23	X
8	X	15,31	X	15,83	X	15,62
9	X	X	X	X	X	X

Visu paraugu vidējā C_T vērtība = 15,40 ± 0,18 (CV = 1,14%)

X: nereaģējošs pēc 45 PQR izpildēm.

Stabilitāte

Tika noteikta ģenerētā vīrusa RNS un DNS stabilitāte eluātos, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu. Cilvēka EDTA plazmai pievienoja 1x10³ IU/ml HCV AcroMetrix OptiQuant[®] HCV RNS un Parvo B19 VQC standarta materiālu. Uz vienu testa laika punktu un saskaņā ar inkubācijas apstākļiem tika apstrādāti 18 atkārtojumi, izmantojot EZ1 DSP Virus iekārtu. Eluāti, kas saturēja Parvo B19 DNS un HCV RNS, tika inkubēti līdz 6 stundām 30°C temperatūrā, līdz 14 dienām 4°C temperatūrā, līdz 12 nedēļām -20°C temperatūrā un līdz 9 mēnešiem -80°C temperatūrā. Pētījums vēl turpinās. Eluāti tika analizēti, izmantojot apstiprinātu lokāli pieejamu HCV RT-PCR un *artus*[®] Parvo B19 RG PCR. Pēc uzglabāšanas 4°C temperatūrā 14 dienām 18 atkārtojumos tika novērota viena HCV RNS RT-PQR neizdošanās (4. attēls).



4. attēls. Vīrusu nukleīnskābju stabilitāte. Tika noteikta, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu, ģenerētā **A** HCV RNS un **B** Parvo B19 DNS vīrusa RNS un DNS stabilitāte eluātos.

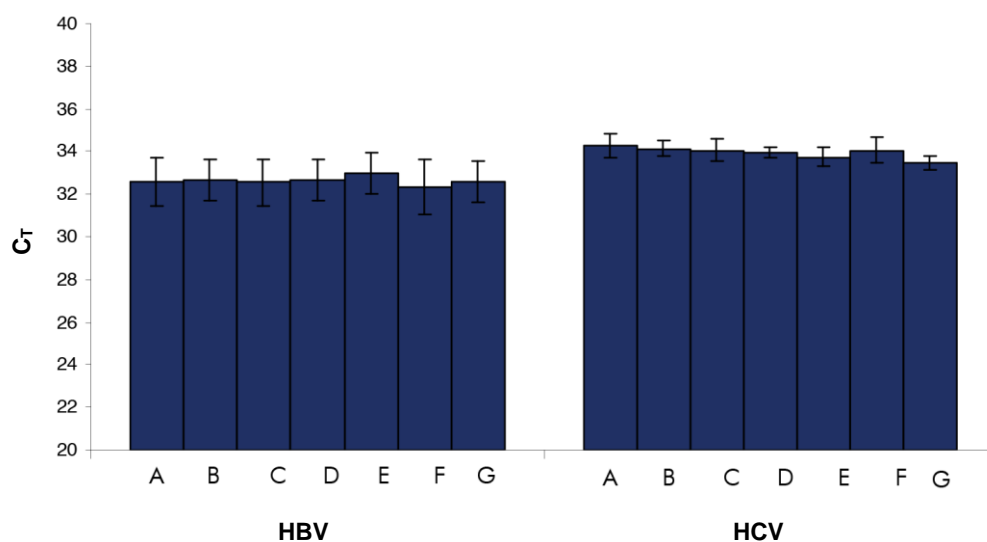
Atkārtojamība

Atkārtojamība tika noteikta, izmantojot 3 BioRobot EZ1 DSP iekārtas, kurās izpildi veica 3 dažādās dienās (skatīt 8. tabula nākamā lpp.). Katram testam (A–G) 2 izpildēs darbstacijā BioRobot EZ1 DSP tika apstrādāti 12 atkārtojumi. Cilvēka EDTA plazmai pievienoja 1×10^4 IU/ml AcroMetrix OptiQuant HCV RNS un 1×10^3 IU/ml AcroMetrix OptiQuant HBV DNS. HBV DNS noteica, izmantojot *artus*[®] HBV RG PCR Kit komplektu, bet HCV RNS noteica, izmantojot apstiprinātu lokāli pieejamu HCV RT-PKĶR analīzi.

Kā liecināja salīdzināmie rezultāti, kuru ieguva pēc vīrusu nukleīnskābju izdalīšanas, izmantojot 3 dažādas BioRobot EZ1 DSP iekārtas 3 dažādās dienās, automātiskai procedūrai ir augsts atkārtojamības rādītājs (5. attēls).

8. tabula. Atkārtojamības testa struktūra

Testa struktūra	1. diena	2. diena	3. diena
BioRobot EZ1 DSP I	A tests	D tests	F tests
BioRobot EZ1 DSP II	B tests	E tests	
BioRobot EZ1 DSP III	C tests		G tests



5. attēls. Atkārtojamība. Atkārtojamība tika noteikta trīs dažādās BioRobot EZ1 DSP iekārtās trīs dažādās dienās.

Urīns

EZ1 DSP Virus Kit komplekta veikspēja izmantošanai ar urīna paraugiem tika novērtēta pēc salīdzināšanas ar plazmu, izmantojot CMV (DNS vīruss) un HCV (RNS vīruss) kvantificētus vīrusa paneļus, kas atšķaidīti ar attiecīgo parauga materiālu. Urīna un plazmas paraugus apstrādāja saskaņā ar norādījumiem EZ1 DSP Virus Kit komplekta rokasgrāmatā, un, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu, tika izdalīts līdzvērtīgs paraugu tilpums. Vīrusa nukleīnskābes tika noteiktas, izmantojot *artus*[®] CMV RG PCR un *artus*[®] HCV RG RT-PCR Kit komplektu. EZ1 DSP Virus Kit komplekta veikspējas novērtējums, salīdzinot urīna un plazmas rādītājus, gan CMV, gan HCV gadījumā uzrādīja tikai ~2% neatbilstību (saskaņā ar C_T vērtībām) (9. tabula).

9. tabula. EZ1 DSP Virus procedūras salīdzinājums izmantošanai ar urīna un plazmas paraugiem

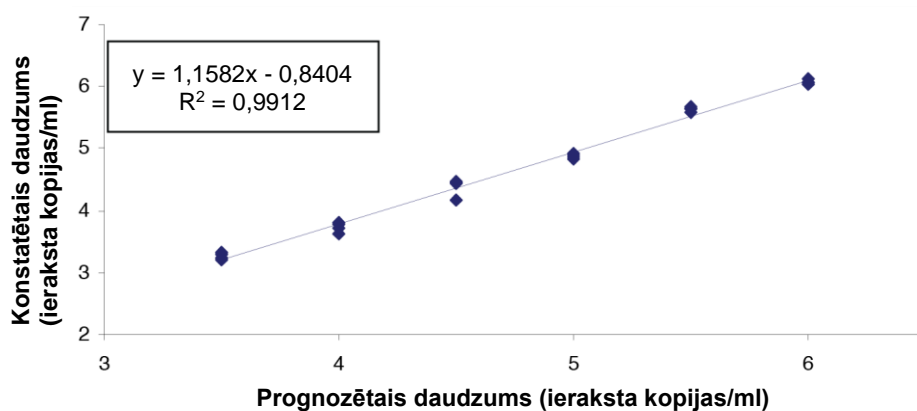
Parauga materiāla tips	n	CT vērtība	Urīna/plazmas attiecība (CT vērtība)	Kopijas/ml	Urīna/plazmas attiecība (kopijas/ml)
CMV					
Urīns	4	31,60	0,98	6 250	1,51
Plazma	5	32,17		4 130	
HCV					
Urīns	4	37,83	1,02	278	0,77
Plazma	5	37,25		363	

Pilnasinis

Lineārais diapazons

Izmantojot EBV kā DNS vīrusu, tika novērtēts EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons. Testi tika veikti ar kvantificētu vīrusa paneļu atšķaidījumiem, kas sagatavoti EBV negatīvās cilvēka pilnasiņu paraugā. Atšķaidījumu sērijas ar sešiem dažādiem vīrusu titriem tika testētas ar 4 atkārtojumiem katrai. Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 200 µl pilnasiņu parauga (sajaukts ar 200 µl Buffer ATL*) un eluētas 60 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). EZ1 DSP Virus Kit komplekta procedūras lineārais diapazons tika noteikts attiecībā uz EBV, izmantojot *artus*[®] EBV RG PCR Rotor-Gene Q iekārtā (6. attēls).

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 939016



6. attēls. Izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu kombinācijā ar *artus*[®] EBV RG PCR analīzi EBV izdalīšanai no pilnasiņu parauga, iegūto vērtību lineārais diapazons.

Precizitāte

Tika noteiktas pilnasiņu parauga standartnovirzes un variācijas koeficienta (coefficients of variation, CV) vērtības attiecībā uz CMV, izmantojot *artus*® CMV RG PCR Kit komplektu Rotor-Gene Q iekārtā. Starpanalītiskās precizitātes dati ir sniegti šeit: 10. tabula. No 13 donoriem iegūtie pilnasiņu paraugi tika testēti 5 atkārtojumos atsevišķās izpildēs EZ1 Advanced XL iekārtā. Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 200 µl pilnasiņu parauga (sajaukts ar 200 µl Buffer ATL*) un eluētas 120 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 939016

10. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar *artus*® CMV RG PCR Kit komplektu CMV izdalīšanai no pilnasiņu parauga starpanalītiskā precizitāte

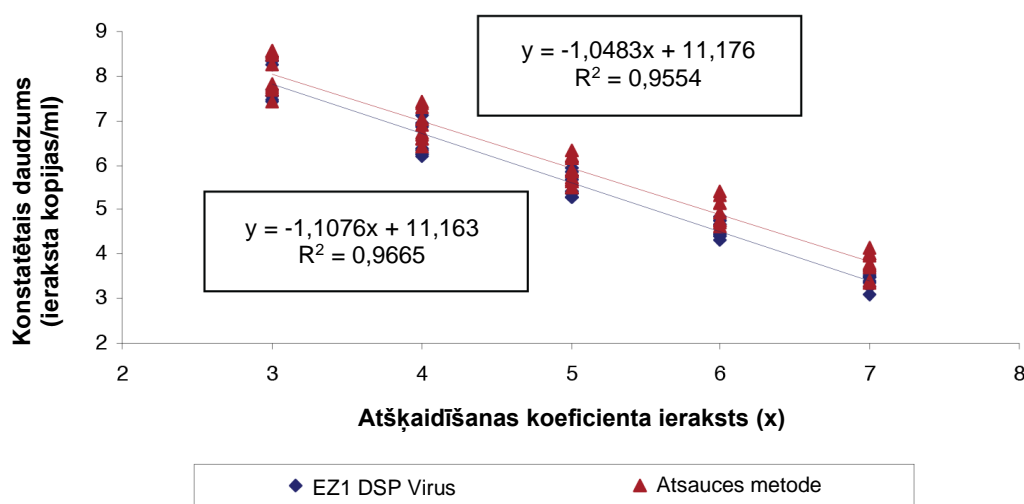
Donors		Kopijas/ml	CV (%)	ieraksta kopijas/ml	SN (ieraksta kopijas/ml)
1	5	7 209	13	3,86	0,06
2	5	7 404	24	3,87	0,10
3	5	7 313	14	3,86	0,06
4	5	7 185	17	3,86	0,08
5	5	7 803	28	3,89	0,12
6	5	7 257	39	3,86	0,17
7	5	7 870	20	3,90	0,08
8	5	7 583	26	3,88	0,12
9	5	8 571	24	3,93	0,10
10	5	7 177	30	3,86	0,13
11	5	8 294	24	3,92	0,11
12	5	7 790	21	3,89	0,10
13	5	7 627	27	3,88	0,13

Fēces

Lineārais diapazons

Izmantojot 5. tipa adenovīrusu kā DNS vīrusu, tika novērtēts EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons. Testi tika veikti ar adenovīrusa negatīvu fēču šūnu kultūras virsējā slāņa desmitkārtīgiem atšķaidījumu sērijām. Atšķaidījumu sērijas ar pieciem dažādiem vīrusu atšķaidījumiem tika testētas ar 10 atkātojumiem katrai. Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 200 µl parauga (resuspendējot attiecībā 1:10 ar Buffer ASL*) un eluētas 120 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). EZ1 DSP Virus procedūras lineārais diapazons tika noteikts kombinācijā ar Adenovirus R-Gene™ PCR analīzi (Argene SA, France, ats. Nr. 96-010B) Rotor-Gene Q iekārtā, salīdzinot ar atsauces izdalīšanas metodes rezultātiem (7. attēls).

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 19082



7. attēls. Izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu kombinācijā ar Adenovirus R-Gene™ PCR analīzi 5. tipa adenovīrusa izdalīšanai no fēcēm, iegūto vērtību lineārais diapazons.

Precizitāte

Tika noteiktas fēču parauga standartnovirzes un variācijas koeficienta (coefficients of variation, CV) vērtības attiecībā uz 5. tipa adenovīrusu, izmantojot Adenovirus R-Gene™ PCR analīzi (Argene SA, Francija, ats Nr. 96-010B) Rotor-Gene Q iekārtā. Adenovīrusa negatīvam fēču paraugam pievienoja 5. tipa adenovīrusa šūnu kultūras virsējo slāni, un vīrusa DNS izdalīja no 200 µl parauga (resuspendējot attiecībā 1:10 ar Buffer ASL*) un eluēja 120 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). Septiņas EZ1 izpildes ar 9 vai 10 atkātojumiem katrā tika veikta trīs dienas trīs EZ1 Advanced XL iekārtās ar trīs EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL partijas kombinācijām. Visi paraugi tika analizēti vienā PQR izpildē. Precizitātes dati (11. tabula) tika aprēķināti, ņemot vērā dažādās iekārtās un dienās no dažādām partijām un visās EZ1 izpildēs kopā (kopējais rādītājs) iegūtos rezultātus.

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 19082

**11. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar Adenovirus R-Gene™ PCR analīzi
5. tipa adenovīrusa izdalīšanai no fēcēm precizitāte**

						CV c/ml (%)			
SN									
		Ieraksta		(ieraksta		3 EZ1			
		Kopijas		kopijas/		Adv.			
Izpilde	n	/ml	ml	ml)	Starpa- nalīze	XL	3 dienas	3 partijas	Kopā
1	9	3 530	3,46	0,22	48	80	59	47	66
2	9	2 955	3,42	0,19	38	—	—	—	—
3	9	2 226	3,26	0,35	43	—	—	—	—
4	9	2 385	3,35	0,23	54	—	—	—	—
5	9	604	2,69	0,24	54	—	—	—	—
6	9	1 214	3,06	0,21	53	—	—	—	—
7	10	1 702	3,19	0,26	48	—	—	—	—

Korelācijas pētījums

Par EZ1 DSP Virus procedūru tika veikts korelācijas pētījums, salīdzinot ar norovīrusa genogrupas II izdalīšanu no 66 pacientu fēcju paraugiem. Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 200 µl parauga (resuspendējot attiecībā 1:10 ar Buffer ASL*) un eluētas 120 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). Analīze tika veikta, izmantojot lokāli pieejamu RT PCR analīzi attiecībā pret norovīrusa genogrupu II (12. tabula).

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 19082

12. tabula. EZ1 DSP Virus procedūras korelācija ar atsaucē metodi

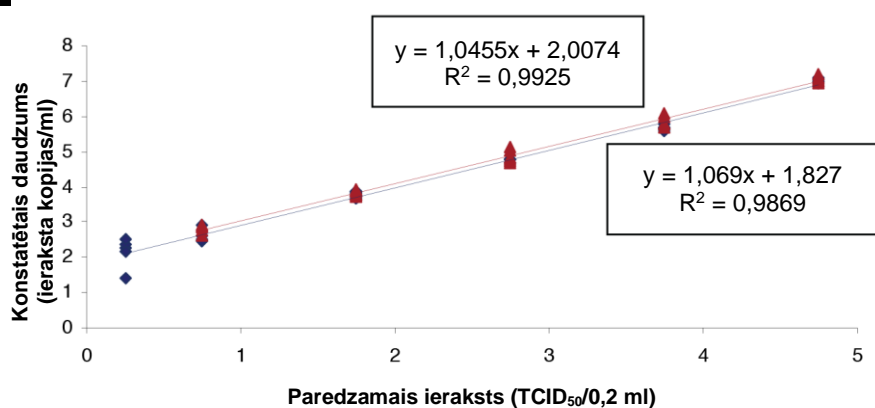
		Atsaucē		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
EZ1 DSP Virus	Pozitīvs	34	15	49
	Negatīvs	1	16	17
	Kopā	35	31	66

Transportēšanas vide

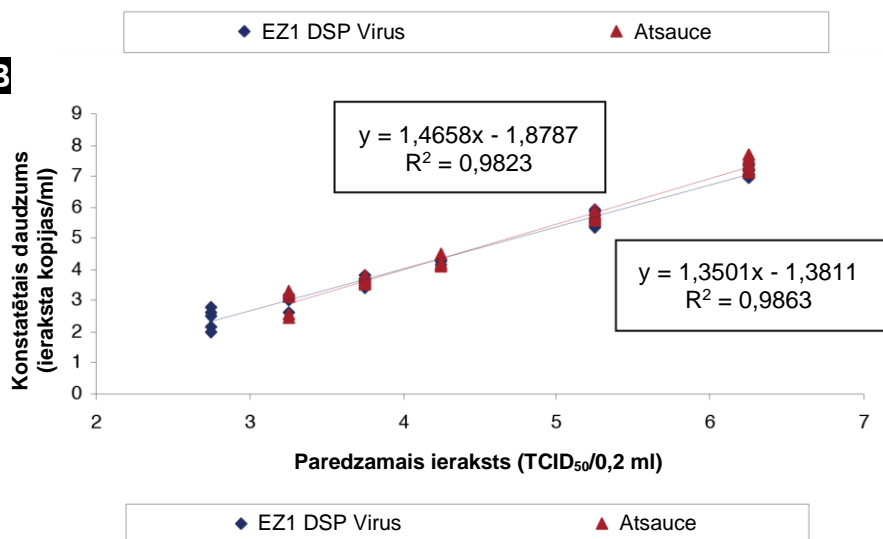
Lineārais diapazons

EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika novērtēts, izdalot HSV-1 un *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) no PreservCyt® transportēšanas vides (Cytoc Corporation, ats. Nr. 0200011). Testi tika veikti ar kvantificētiem vīrusu paneļu atšķaidījumiem, kas izgatavoti transportēšanas vidē. Atšķaidījumu sērijas ar sešiem dažādiem vīrusu titriem tika testētas ar 5 vai 6 atkārtojumiem katrai. EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika noteikts, salīdzinot ar atsauces metodi, ar *artus*® HSV1/2 TM PCR un *artus*® *C. trachomatis* TM PCR analīzi (8. attēls). Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 200 µl parauga un eluētas 90 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE).

A



B



8. attēls. Izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu kombinācijā ar *artus*® *C. trachomatis* PCR (A) un *artus*® HSV1/2 TM PCR (B) analīzēm HSV-1 un *C. trachomatis* izdalīšanai no transportēšanas vides, iegūto vērtību lineārais diapazons. Tika veikts salīdzinājuma ar atsauces metodi pētījums.

Precizitāte

Tika noteiktas transportēšanas vides standartnovirzes un variācijas koeficienta (coefficients of variation, CV) vērtības attiecībā uz HSV-1 un *C. trachomatis*, izmantojot *artus*[®] HSV1/2 TM PCR un *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR analīzi. Vīrusu un baktēriju DNS izdalīja no 400 µl transportēšanas vides parauga un eluēja 60 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). Piecas transportēšanas vides vienības tika sadalītas 12 atkārtojumos, un katram atkārtojumam tika veiktas sešas EZ1 izpildes trīs dienās, izmantojot trīs EZ1 DSP Virus Kit komplekta partijas. Visi paraugi tika analizēti vienā PQR izpildē. *C. trachomatis* (13. tabula) un HSV-1 (14. tabula) starpposmu precizitāte tika aprēķināta, ņemot vērā katras transportēšanas vides vienības visu atkārtojumu rādītājus (atšķirīgas EZ1 izpildes, dienas un partijas).

13. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar *artus*[®] *C. trachomatis* RG PCR Kit komplektu *C. trachomatis* izdalīšanai no transportēšanas vides precizitāte

Vide	n	Nominālais ieraksts TCID ₅₀ / 0,2 ml	Konstatētās kopijas/ml	Starpposma precizitātes CV kopijas/ ml (%)	Konstatētais ieraksta kopiju skaits/ml	SN (ieraksta kopijas/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 (ats. Nr. R12505); ³ Cytoc Corp. (ats. Nr. 0200011); ⁴ Becton, Dickinson and Company (ats. Nr. GYN-0001-V); ⁵ Copan Diagnostics Inc. (kat. Nr. 330C)

14. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar *artus*® HSV1/2 RG PCR Kit komplektu HSV-1 izdalīšanai no transportēšanas vides precizitāte

Vide	n	Nominālais ieraksts TCID ₅₀ / 0,2 ml	Konstatētās kopijas/ml	Starpposma precizitātes CV kopijas/ ml (%)	Konstatētais ieraksta kopiju skaits/ml	SN (ieraksta kopijas/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 (ats. Nr. R12505); ³ Cytoc Corp. (ats. Nr. 0200011); ⁴ Becton, Dickinson and Company (ats. Nr. GYN-0001-V); ⁵ Copan Diagnostics Inc. (kat. Nr. 330C)

Klīniskā veikspēja (HPV)

Tika pārbaudītas DNS alikvotās daļas, kas izdalītas kopumā no 108 paraugiem, kas saturēja 50 HC2 pozitīvus paraugus, kas savākti STM vidē, 50 HC2 pozitīvus paraugus, kas savākti PreservCyt® vidē, un 8 HC2 negatīvus paraugus STM vidē, izmantojot *digene*® HPV Genotyping RH Test (kat. Nr. 613413) un *digene*® HPV Genotyping LQ Test (kat. Nr. 613215), salīdzinot ar Free University RLB iekārtā* iegūtajiem rezultātiem.

Rezultāti tika novērtēti vai nu kā identiski (100% genotipu atbilstība), saderīgi (kopīgs vismaz viens genotips), vai neatbilstoši (nav atbilstošu genotipu). Neatbilstības (pretrunīgi genotipa noteikšanas rezultāti) problēmas tika novērstas, atkārtojot abas analīzes un, ja neatbilstības saglabājās, veicot papildu analīzi ar trešo jutīgu HPV un genotipa noteikšanas analīzi [SPF10-LiPA25 (1. versija)].

Pēc sākotnējo paraugu neatbilstības problēmu novēršanas abās genotipa noteikšanas analīzēs rezultāti uzrādīja ļoti zemu pretrunīgu paraugu rezultātu līmeni (2%), salīdzinot ar atsauces metodes izmantošanu (15. tabula).

15. tabula. Digene HPV Genotyping RH Test (A) un Digene HPV Genotyping LQ Test rezultātu salīdzinājums ar Free University RLB iekārtā* iegūtajiem rezultātiem, izmantojot EZ1 DSP Virus procedūru HPV izgūšanai no transportēšanas vides

	A	B
Rezultātu tips	Klīnisko paraugu īpatsvars (%)	Klīnisko paraugu īpatsvars (%)
Identiski	80	58
Saderīgi	18	12
Neatbilstoši	2	2

* van den Brule, A. J., Pol R., Fransen-Daalmeijer, 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.

Klīniskā veikspēja (A tipa gripas vīruss)

Lai demonstrētu klīnisko veikspēju, tika novērtēti UTM (Copan Diagnostics Inc., kat. Nr. 330C) vidē savākti 102 raksturīgi nazofaringeālas uztriepes parauga materiāli, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu nukleīnskābju izdalīšanai. A tipa gripas vīrusa RNS tika noteikta, izmantojot *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit komplektu un EUA apstiprinātu Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR testu (16. tabula).

16. tabula. *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR komplekta rezultātu salīdzinājums ar rezultātiem, kas iegūti EUA apstiprinātā Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR testā, izmantojot EZ1 DSP Virus Kit komplektu, sezonāla A tipa gripas vīrusa un 2009 H1N1 gripas vīrusa izdalīšanai no nazofaringeālas uztriepes tamponiem

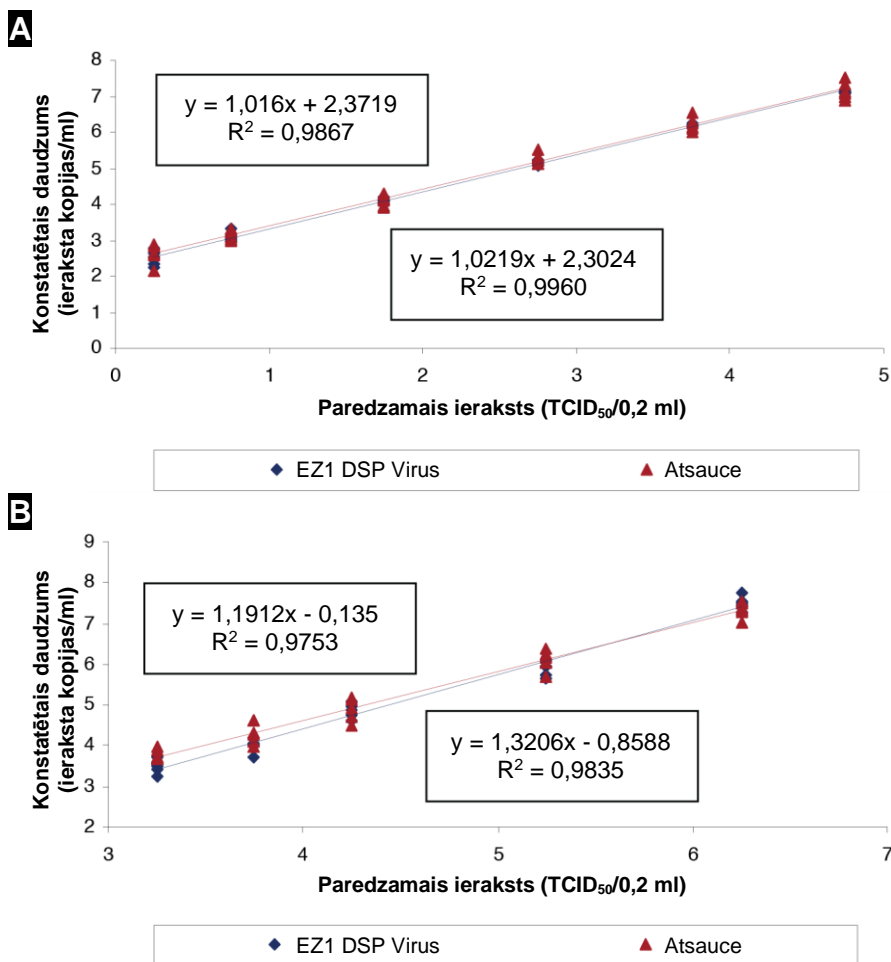
		Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR				
		Sezonāla A tipa gripas vīrusa pozitīvs paraugs		2009 H1N1 pozitīvs paraugs	Negatīvs	Kopā
artus® Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR	Sezonāla A tipa gripas vīrusa pozitīvs paraugs	5	0	2	7	
	2009 H1N1 pozitīvs paraugs	0	27	1	28	
	Negatīvs	0	0	67	67	
	Kopā	5	27	70	102	

Sausi uztriepes tamponi

Lineārais diapazons

EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika novērtēts, izdalot HSV-1 un *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) no Puritan Cotton Swabs (ats. Nr. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC). Testi tika veikti, izmantojot kvantificēta standarta materiāla atšķaidījumus. Negatīvam cilvēka siekalu paraugam pievienoja patogēnu materiālu, un to pārnesa uz uztriepes tamponu. Pēc dehidrācijas patogēni tika vēlreiz izdalīti no sausās uztriepes tampona, resuspendējot 600 µl buferšķīdumā Buffer ATL*. Atšķaidījumu sērijas ar sešiem dažādiem vīrusu titriem tika testētas ar 5 vai 6 atkārtojumiem katrai. EZ1 DSP Virus Kit komplekta lineārais diapazons tika noteikts, salīdzinot ar atsauces metodi, ar *artus*® HSV1/2 TM PCR un *artus*® *C. trachomatis* TM PCR analīzi (9. attēls). Vīrusu nukleīnskābes tika izdalītas no 400 µl parauga un eluētas 150 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat. Nr. 939016



9. attēls. Izmantojot EZ1 DSP Virus protokolu kombinācijā ar *artus*[®] C. trachomatis PCR (A) un *artus*[®] HSV1/2 TM PCR (B) analīzēm C. trachomatis un HSV-1 izdalīšanai no sausiem vates uztriepes tamponiem, iegūto vērtību lineārais diapazons. Tika veikts salīdzinājuma ar atsauces metodi pētījums.

Precizitāte

Tika noteiktas sausās uztriepes tamponu standartnovirzes un variācijas koeficienta (coefficients of variation, CV) vērtības attiecībā uz HSV-1 un C. trachomatis, izmantojot *artus*[®] HSV1/2 TM PCR un *artus*[®] C. trachomatis TM PCR analīzi. Copan Flocked Swabs (kat. Nr. 502CS0, Copan Italia S.p.A.) un Puritan Cotton Swabs (ats. Nr. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC) sausie uztriepes tamponi tika sagatavoti un iepriekš apstrādāti, kā aprakstīts iepriekš, un no 400 µl parauga tilpuma izdalīja vīrusu un baktēriju DNS, ko eluēja 60 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). Ekstrahēšana veica, izmantojot trīs donoru siekalu paraugus un katram veicot 8 vai 9 atkārtojumus, katram atkārtojumam veicot sešas EZ1 izpildes trīs dienās, izmantojot trīs EZ1 DSP Virus Kit komplekta/Buffer ATL partijas kombinācijas. Visi paraugi tika analizēti vienā PQR izpildē. C. trachomatis (17. tabula) un HSV-1 (18. tabula) starpposmu precizitāte tika aprēķināta,

ņemot vērā katra donora un uztriepes tampona tipa visu atkārtojumu rādītājus (atšķirīgas EZ1 izpildes, dienas un partijas).

17. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar *artus*® C. trachomatis RG PCR Kit komplektu *C. trachomatis* izdalīšanai no sausiem uztriepes tamponiem precizitāte

Uztriepes tampona tips	Donors	n	Nominālais ieraksts	Konstatētās kopijas/ml	Starpposma precizitātes	Konstatētais ieraksta	SN (ieraksta kopijas/ml)
			TCID ₅₀ / 0,2 ml		CV kopijas/ ml (%)	kopiju skaits/ml	
Puritan Cotton Swabs	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 Swabs	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

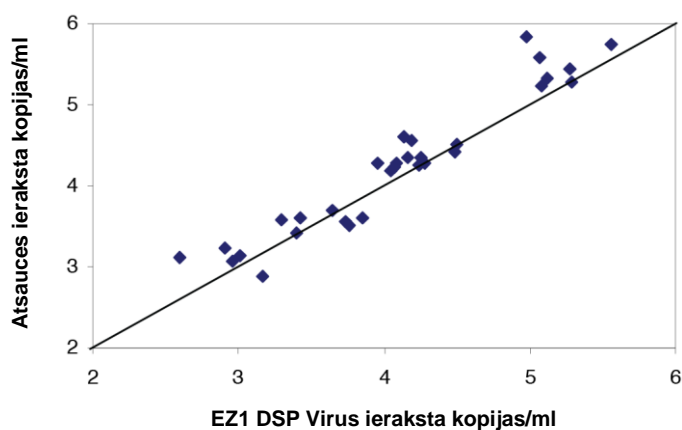
18. tabula. EZ1 DSP Virus protokola kombinācijā ar *artus*® HSV1/2 RG PCR Kit komplektu HSV-1 izdalīšanai no sausas uztriepes tamponiem precizitāte

Uztriepes tampona tips	Donors	n	Nominālais ieraksts	Konstatētās kopijas/ml	Starpposma precizitātes	Konstatētais ieraksta	SN (ieraksta kopijas/ml)
			TCID ₅₀ / 0,2 ml		CV kopijas/ ml (%)	kopiju skaits/ml	
Puritan Cotton Swabs i	1	9	3,75	5 843	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 Swabs	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

Elpceļu paraugi (krēpas)

Korelācijas pētījums

Ir veikts EZ1 DSP Virus procedūras korelācijas pētījums baktērijas *Mycobacterium Tuberculosis* izdalīšanai no negatīva cilvēka krēpu parauga. Atšķaidījuma sērija ar 4 dažādiem vīrusu titriem tika testēta atsevišķos atkārtojumos, salīdzinot ar atsaucē metodes rezultātiem. Baktērijas DNS izdalīja no 200 µl krēpu parauga, kas iepriekš bija apstrādāts ar Sputasol (Oxoid Limited, ats. Nr. SR0233) un lizocīmu (Sigma-Aldrich, kat. Nr. L6876), kā aprakstīts EZ1 DSP Virus procedūras rokasgrāmatas 4. versijā, un eluēja 90 µl eluēšanas buferšķīdumā (AVE). Analīze tika veikta, izmantojot *artus*[®] M. tuberculosis RG PCR analīzi (10. attēls).



10. attēls. EZ1 DSP Virus procedūras korelācija ar atsaucē metodi.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, kā arī tās var iegūt, sazinoties ar QIAGEN tehniskā atbalsta centru vai vietējo izplatītāju.

Preču zīmes: 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)

2011. gada februāris © 2011 QIAGEN, visas tiesības paturētas.

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