

EZ1[®] DSP Virus Kit

EZ1 DSP Virus Kit-systemets prestanda har fastställts genom prestandautvärderingsstudier med användning av plasma, serum, CSV, urin, helblod, avföring, transportmedier, torkade svabbar och respiratoriska prover för isolering av virala nukleinsyror och bakteriell DNA. Testerna har utförts enligt de protokoll som beskrivs i aktuell version 4 av handboken till EZ1 DSP Virus.

Kitprestandan garanteras emellertid inte för varje virus- eller bakterieart och måste valideras av användaren. Användaren är ansvarig för att validera systemets funktion avseende samtliga procedurer som används i vid användarens laboratorium, som inte omfattas av QIAGENs utvärderande funktionsstudier.

Prestandaegenskaper

Serum och plasma

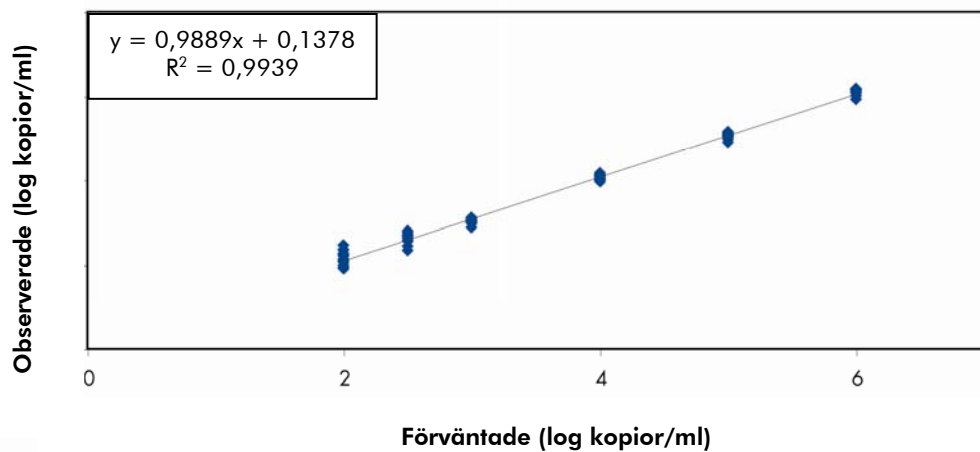
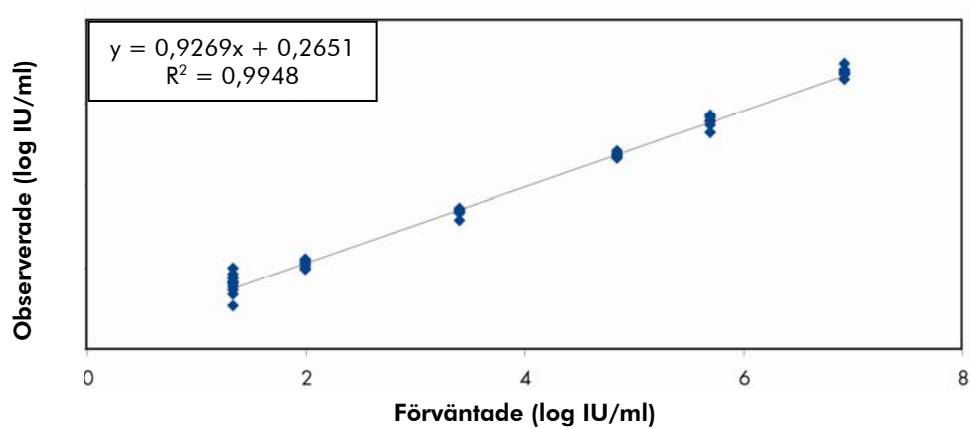
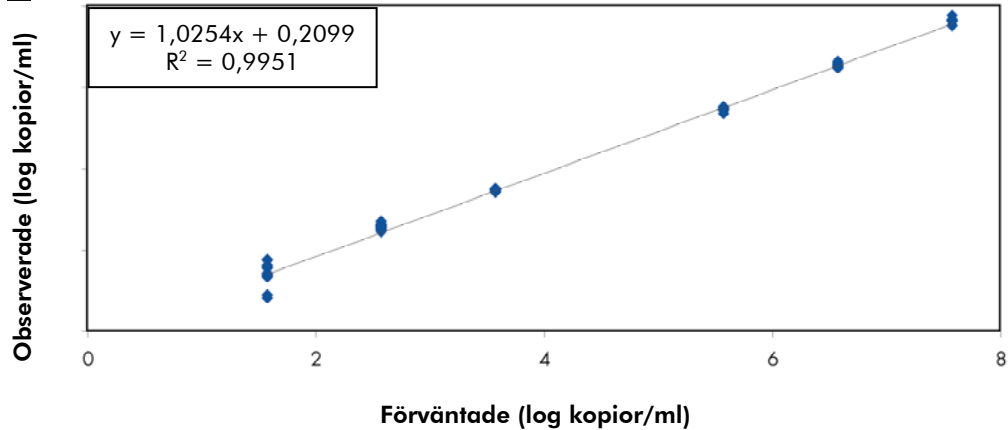
Linjärt område

Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit utvärderades för HCV och HIV-1 RNA-virus och HBV-virus. Testerna genomfördes med utspädning av kvantifierade viruspaneler gjorda i HBV-, HCV- och HIV-1-negativt human plasma eller serum. Utspädningsserier med sex olika virustitrar testades med 12 replikat vardera. Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit-proceduren har fastställts för HBV, HCV och HIV-1 med Abbott RealTime analyser av virusmängd (Tabell 1, Figur 1). RealTime interna kontroller (17 μ l vardera) tillsattes direkt till varje HIV-1- eller HCV-prov före extrahering. För RealTime HBV kombinerades 3,4 μ l RealTime HBV-intern kontroll med bärar-RNA för varje prov. Virala nukleinsyror extraherades från 400 μ l prover och eluerades i 90 μ l elueringsbuffert (AVE). PCR utfördes på Abbott *m2000rt*.



Tabell 1. Provkällor och vidare analyser som används för fastställande av linjärt område för utbyte med EZ1 DSP Virus-protokoll

Virus	Källa	Analys i senare led	Använd analyshandbok
HIV-1	BBI (Boston Biomedica, Inc., Boston, USA) defekt HIV, BBI återförkalkad plasma	Abbott RealTime HIV-1 (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HIV-1
HCV	ProMedDx (ProMedDx LLC Norton, MA, USA) patientprover, poolat normalt humant serum	Abbott RealTime HCV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HCV
HBV	Teragenix (Teragenix Coporate, Ft. Lauderdale, FL, USA) patientprover, återförkalkad human plasma	Abbott RealTime HBV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HBV

A**B****C**

Figur 1. Linjärt område av utbyte med EZ1 DSP Virus-protokoll. Det linjära området för EZ1 DSP Virus-protokoll fastställdes med virala utspädningsserier och Abbott RealTime analyser (Tabell 1) **A** för HIV-1, **B** för HCV, och **C** för HBV.

Precision

Standardavvikelser och variationskoefficienter (CV) fastställdes för HIV-1-, HCV- och HBV-utspädningsserier i det linjära området för de lämpliga analyserna i senare led. För precisionsanalyser användes samma analyser i senare led som för fastställandet av det linjära området (Tabell 1, sidan 2). Data för precision mellan analyser visas i tabell 2–4. För varje panelmedlem extraherades 12 replikat i 12 separata körningar på BioRobot EZ1 DSP. PCR utfördes i 2 körningar med 6 replikat vardera på Abbott *m2000rt*.

Tabell 2. Precision mellan analyser för EZ1 DSP Virus-protokoll med användning av Abbott RealTime HIV-1-analys

Panelmedlem	Antal	Kopior/ml	CV (%)	log kopior/ml	SD (log kopior/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

Tabell 3. Precision mellan analyser för EZ1 DSP Virus-protokoll med användning av Abbott RealTime HCV-analys

Panelmedlem	Antal	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	SD (log 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

Tabell 4. Precision mellan analyser för EZ1 DSP Virus-protokoll med användning av Abbott RealTime HBV-analys

Panelmedlem	Antal	Kopior/ml	CV (%)	log kopior/ml	SD (log kopior/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

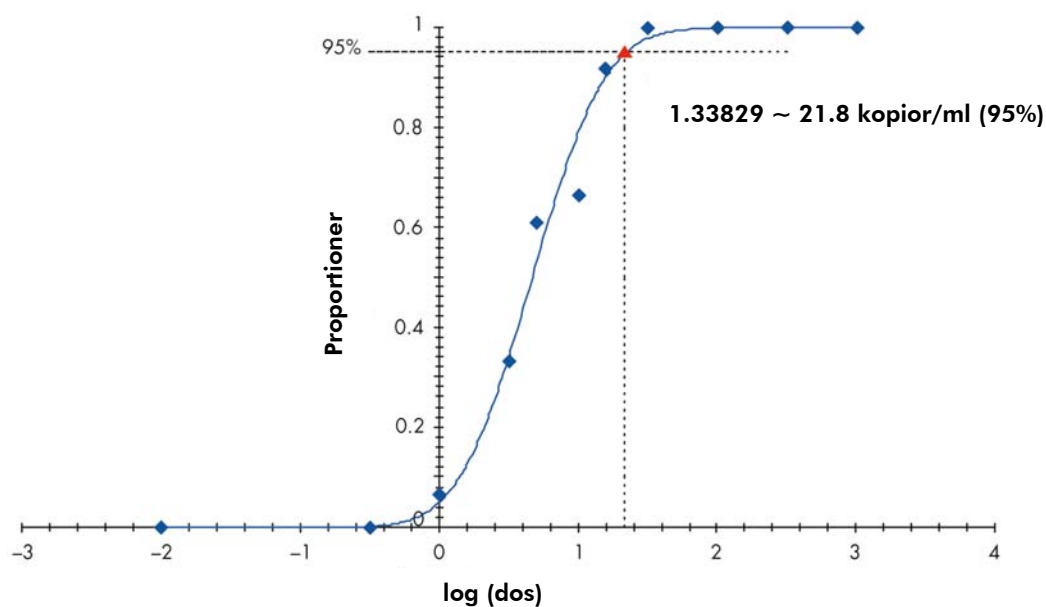
Detektionsgräns

Detektionsgränsen fastställdes med det 95-procentiga värdet för EZ1 DSP Virus-system med HIV-1 WHO internationell virusstandard 97/656, HBV WHO internationell virusstandard 97/746 och kvantifierad CMV-celldodlingssupernatant. Detektionsgränsen fastställdes genom att bearbeta utspädningsserier av de lämpliga virusen. Viruserna spädades ut i HIV-, HBV- och CMV-negativt normal human EDTA-plasmapool. Varje utspädningssteg preparerades i minst 3 oberoende körningar med minst 6 replikat per utspädning. 400 µl plasma användes för provpreparation på BioRobot EZ1 DSP med eluering i 60 µl.

artus[®] HBV PCR Kit användes för detektion av HBV DNA och *artus* CMV PCR Kit för detektion av CMV DNA. Proverna analyserades på ett LightCycler[®] 1.2-instrument (Roche), en Rotor-Gene[®] 3000 (Corbett-Research) och en ABI PRISM[®] 7000 SDS (Applied Biosystems). COBAS[®] AmpliCor[®] HIV-1 Monitor[®] Test (version 1.5) användes för detektion av HIV RNA med COBAS AmpliCor Analyzer. Kombinerade data för alla proverna utvärderades med en probitanalys. Data presenteras i tabell 5–6 med representativa probitdiagram i figur 2–3.

Tabell 5. Detektionsgräns för HBV och CMV DNA med EZ1 DSP Virus-system och *artus* PCR Kit

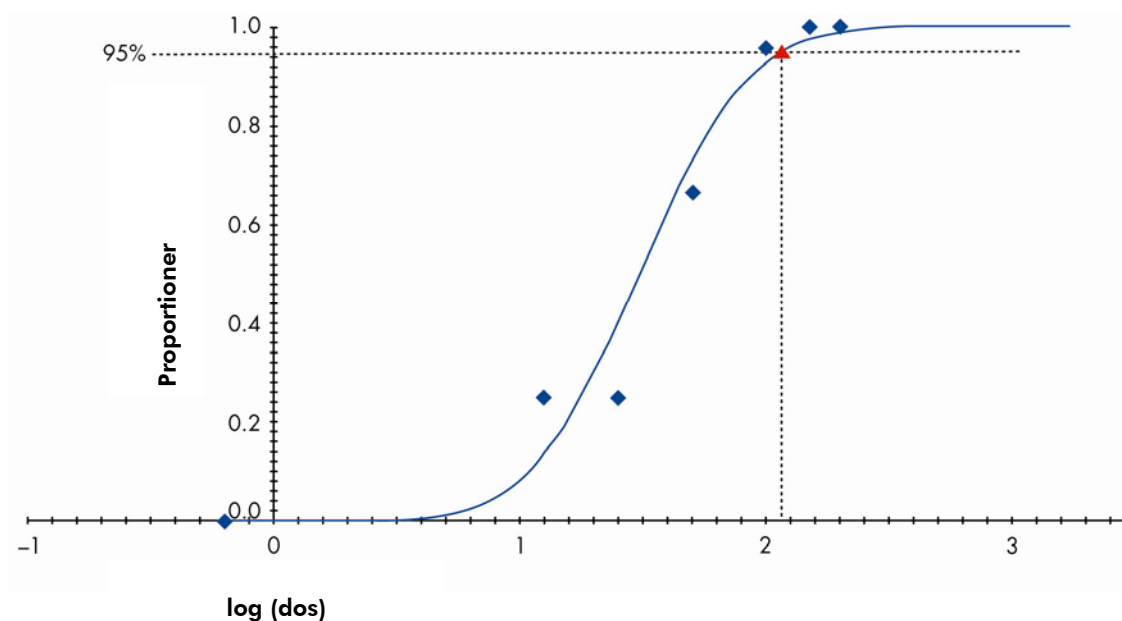
Virus	Inmatningstiter	Träffar (LightCycler)	Träffar (Rotor-Gene)	Träffar (ABI PRISM)
HBV	95% probitvärde (IU/ml)	45,7	14,4	13,2
	Konfidensintervall (IU/ml)	28–102	9,5–26,5	9,0–23,1
CMV	95% probitvärde (kopior/ml)	67,2	21,8	38,3
	Konfidensintervall (kopior/ml)	41,8–142	14,5–44,1	21,5–89,8



Figur 2. Probitanalys för detektion av CMV DNA med EZ1 DSP Virus-system och *artus* CMV RG PCR Kit. Virala nukleinsyror renades med EZ1 DSP Virus-system och *artus* CMV PCR RG Kit användes för detektion av CMV DNA på Rotor-Gene 3000. Det 95-procentiga probitvärdet var 21,8 kopior/ml.

Tabell 6. Detektionsgräns för HIV RNA med EZ1 DSP Virus-system och COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test, version 1.5

Inmatningstiter (IU/ml)	Träffar
95% probitvärde (IU/ml)	114,5
Konfidensintervall (IU/ml)	82,9–194,3



Figur 3. Probitanalys för detektion av HIV RNA med EZ1 DSP Virus-system och COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test, version 1.5. Virala nukleinsyror renades med EZ1 DSP Virus-system med 400 µl provinmatning och 60 µl eluering. COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test användes för detektion av HIV RNA på COBAS Amplicor Analyser i det ultrakänsliga läget. Det 95-procentiga probitvärdet var 114,5 IU/ml.

Uteslutande av provrester

Nio körningar på BioRobot EZ1 DSP, EZ1 Advanced, och EZ1 Advanced XL arbetsstation utfördes för att utvärdera risken av korskontamination under och mellan EZ1 DSP Virus-procedureerna. Testerna utfördes med ett kvantifierat parvovirus B 19-patientprov. Den virala mängden för positiva prover som användes för de resterande testerna var $1,0 \times 10^8$ IU/ml. För utspädning av positiva prover och som negativa kontrollprover användes en human parvovirus B 19-negativ EDTA-plasmapool.

För att detektera prov-till-prov-rester utfördes 2 körningar på varje instrument med en alternerande schackbrädesuppsättning av negativa och mycket positiva prover. Var tredje körning utfördes med bara negativa prover för att övervaka möjliga körning-till-körning-rester. Denna provuppsättning upprepades tre gånger, vilket resulterade i totalt nio körningar för varje instrument. Parvovirus B 19

DNA upptäcktes och kvantifierades med CE-IVD-märkt *artus* Parvo B19 RG PCR Kit på Rotor-Gene 3000. Den analytiska detektionsgränsen för *artus* Parvo B19 RG PCR Kit är fastställd att vara 0,2 IU/ μ l i eluatet ($p = 0,05$). Detta indikerar att det finns en 95-procentig sannolikhet att 0,2 IU/ μ l i eluatet kommer att upptäckas.

Alla mycket positiva prover detekterades positivt med the *artus* Parvo B19 RG PCR Kit. Alla negativa prover, i schackbrädeskörningarna och i körningarna med samtliga negativa, svarade inte (Tabell 7 visar resultaten på BioRobot EZ1 DSP). Dessa experiment påvisar att EZ1 DSP Virus-protokoll inte ger några provrester under dessa förhållanden.

Tabell 7. Uppsättning för korskontaminationstest och C_T -värden för detektion av parvovirus B 19 DNA med BioRobot EZ1 DSP

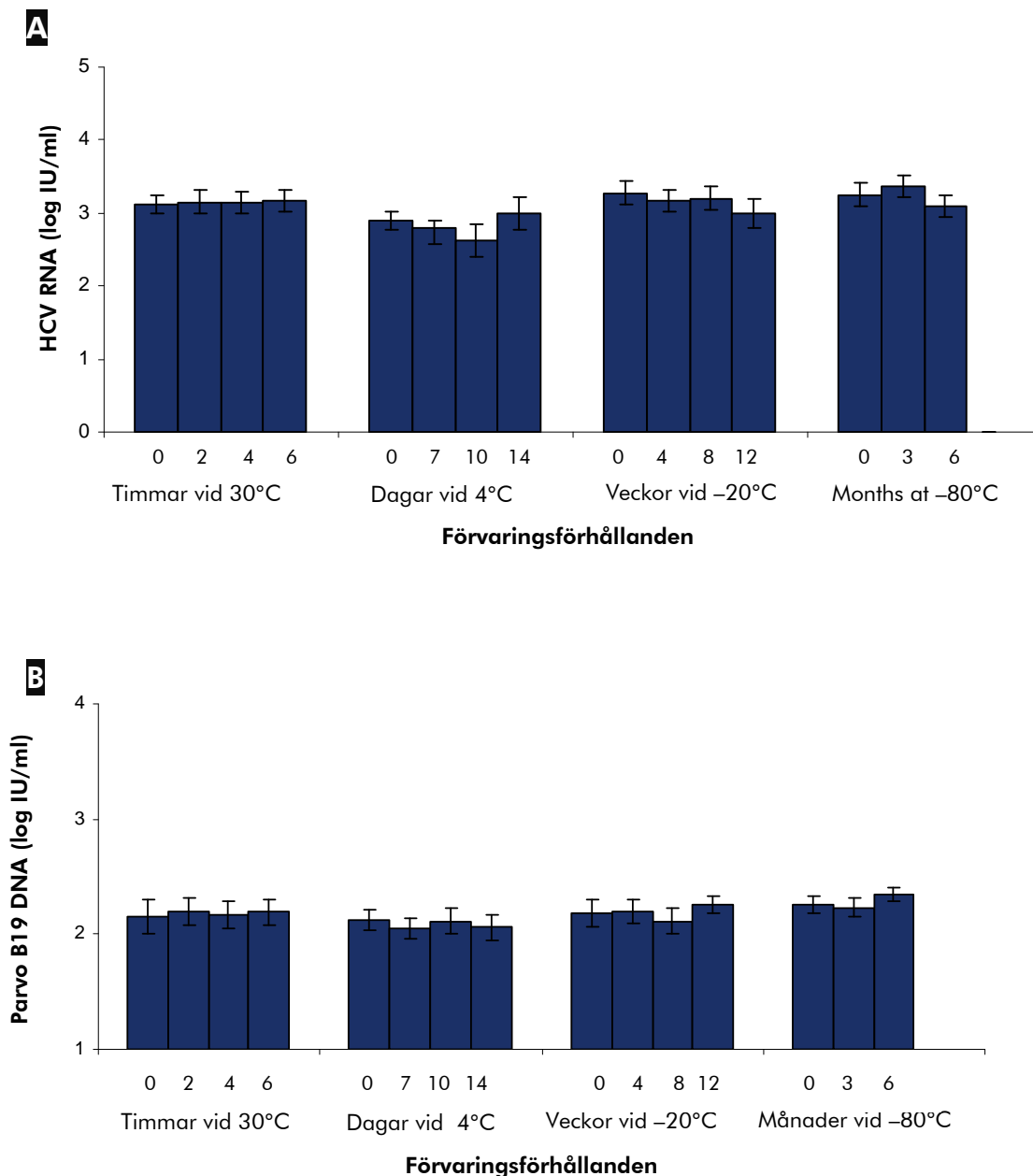
Körning	Position					
	1	2	3	4	5	6
1	15,47	X	15,41	X	15,36	X
2	X	15,48	X	15,53	X	15,32
3	X	X	X	X	X	X
4	15,35	X	15,2	X	15,27	X
5	X	15,21	X	15,13	X	15,43
6	X	X	X	X	X	X
7	15,62	X	15,48	X	15,23	X
8	X	15,31	X	15,83	X	15,62
9	X	X	X	X	X	X

Medelvärde C_T -värde av alla prover = $15,40 \pm 0,18$ (CV = 1,14%)

X: Svarade inte efter 45 PCR-cykler

Stabilitet

Stabiliteten av viral RNA och DNA i eluater som skapades med EZ1 DSP Virus Kit fastställdes. Human EDTA-plasma spetsades med 1×10^3 IU/ml HCV AcroMetrix OptiQuant[®] HCV RNA och Parvo B19 VQC-standardmaterial. För varje testtidpunkt och inkubationsförhållande bearbetades 18 replikat med EZ1 DSP Virus-system. Eluater innehållande Parvo B19 DNA och HCV RNA inkuberades i upp till 6 timmar vid 30°C, upp till 14 dagar vid 4°C, upp till 12 veckor vid -20°C, och upp till 9 månader vid -80°C. Studien pågår ännu. Eluaterna analyserades med en validerad egen HCV RT-PCR och *artus* Parvo B19 RG PCR. Ett RT-PCR-fel av 18 replikat observerades för HCV RNA efter förvaring vid 4°C i 14 dagar (Figur 4).



Figur 4. Stabilitet av virala nukleinsyror. Stabilitet av viral RNA och DNA i eluater som skapades med EZ1 DSP Virus Kit fastställdes för **A HCV RNA och **B** Parvo B19 DNA.**

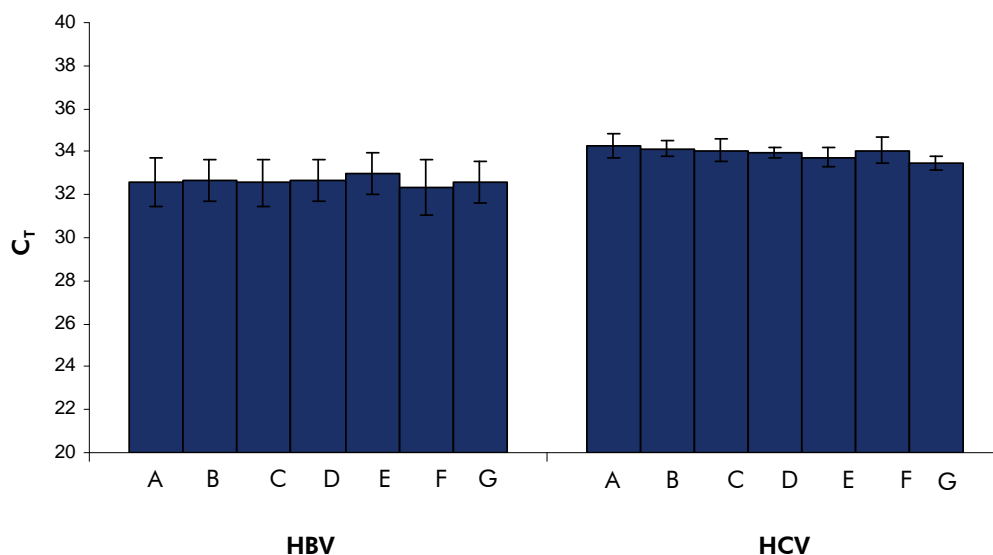
Reproducerbarhet

Reproducerbarheten fastställdes med 3 BioRobot EZ1 DSP-arbetsstationskörningar under 3 olika dagar (se Tabell 8, nästa sida). För varje test (A–G) bearbetades 12 replikat i 2 körningar på BioRobot EZ1 DSP. Human EDTA-plasma spetsades med 1×10^4 IU/ml AcroMetrix OptiQuant HCV RNA och 1×10^3 IU/ml AcroMetrix OptiQuant HBV DNA. HBV DNA fastställdes med *artus* HBV RG PCR Kit och HCV RNA med en validerad egen HCV RT-PCR-analys.

Den automatiska proceduren är mycket reproducerbar, som visas av jämförbara resultat från rening av virala nukleinsyror på 3 olika BioRobot EZ1 DSP-arbetsstationer under 3 olika dagar (Figur 5).

Tabell 8. Uppsättning för reproducerbarhetstest

Testuppsättning	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. Reproducerbarhet. Reproducerbarheten fastställdes på tre olika BioRobot EZ1 DSP-arbetsstationer under tre olika dagar.

Urin

Prestandan på EZ1 DSP Virus-kit för användning med urinprover har utvärderats genom jämförelse med plasma med användning av kvantifierade viruspaneler av CMV (DNA-virus) och HCV (RNA-virus) utspädda i respektive provmaterial. Urin- och plasmaprover behandlades enligt handboken till EZ1 DSP Virus Kit, och likvärdiga provolymer extraherades med EZ1 DSP Virus Kit. Virala nukleinsyror detekteras med användning av *artus*[®] CMV RG PCR och *artus*[®] HCV RG RT-PCR Kit. Prestandautvärderingen av EZ1 DSP Virus Kit vid jämförelse av urin och plasma visade en diskrepans på endast ~2 % (baserat på C_T-värden) för både CMV och HCV (Tabell 9).

Tabell 9. Jämförelse av EZ1 DSP Virus-proceduren för användning med urin- och plasmaprover

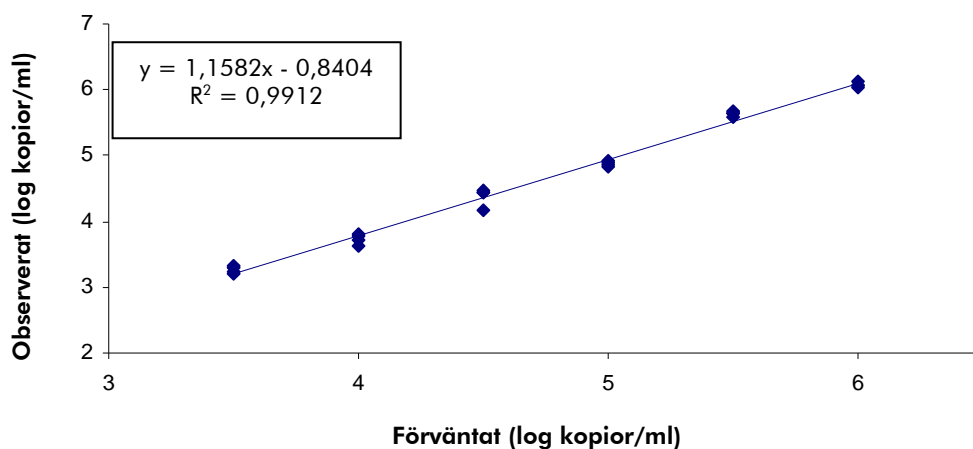
Provtyp	Antal	CT-värde	Kvot urin/plasma (CT-värde)	Kopior/ml	Kvot urin/plasma (Kopior/ml)
CMV					
Urin	4	31,60	0,98	6.250	1,51
Plasma	5	32,17		4.130	
HCV					
Urin	4	37,83	1,02	278	0,77
Plasma	5	37,25		363	

Helblod

Linjärt område

Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit utvärderades med användning av EBV som DNA-virus. Testerna utfördes med spädningar av kvantifierade viruspaneler som skapats i EBV-negativt humant helblod. Spädningsserier med sex olika virustitrar testades med 4 replikat vardera. Virala nukleinsyror extraherades från 200 μ l helblod (blandat med 200 μ l ATL-buffert*) och eluerades i 60 μ l elueringsbuffert (AVE). Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kitproceduren har fastställts för EBV med artus® EBV RG PCR på instrumentet Rotor-Gene Q (Figur 6).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 939016



Figur 6. Linjärt område för avkastningen med användning av EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med artus® EBV RG PCR-analys för extrahering av EBV från helblod.

Precision

Standardavvikelseerna och variationskoefficienterna (CV) för helblod fastställdes för CMV med användning av *artus*[®] CMV RG PCR Kit i instrumentet Rotor-Gene Q. Precisionsdata mellan analyser framgår av Tabell 10. Helblod som deriverats från 13 blodgivare testades i 5 replikat i separata körningar på EZ1 Advanced XL. Virala nukleinsyror extraherades från 200 µl helblod (blandat med 200 µl ATL-buffert*) och eluerades i 120 µl elueringsbuffert (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 939016

Tabell 10. Precision mellan analyser med användning av EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med *artus*[®] CMV RG PCR Kit för extrahering av CMV från helblod

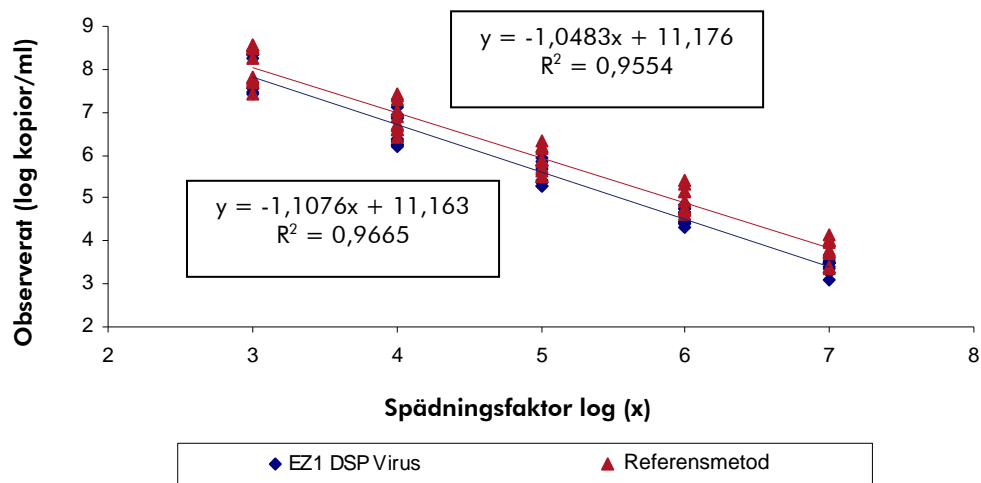
Blodgivare	Antal	Kopior/ml	CV (%)	log kopior/ml	SD (log kopior/ml)
1	5	7.209	13	3,86	0,06
2	5	7.404	24	3,87	0,10
3	5	7.313	14	3,86	0,06
4	5	7.185	17	3,86	0,08
5	5	7.803	28	3,89	0,12
6	5	7.257	39	3,86	0,17
7	5	7.870	20	3,90	0,08
8	5	7.583	26	3,88	0,12
9	5	8.571	24	3,93	0,10
10	5	7.177	30	3,86	0,13
11	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

Avföring

Linjärt område

Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit utvärderades med användning av Adenovirus 5 som DNA-virus. Testerna utfördes med seriella 10-faldiga spädningar av cellkultursupernatanten i adenovirusnegativ avföring. Spädningsserier med fem olika virusspädningar testades med 10 replikat vardera. Virala nukleinsyror extraherades från 200 µl prover (1:10 resuspenderade i ASL-buffert*) och eluerades i 120 µl elueringsbuffert (AVE). Det linjära området för EZ1 DSP Virus-proceduren har fastställts i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analys (Argene SA, Frankrike, ref. 96-010B) i instrumentet Rotor-Gene Q och jämförts med en referensextraheringsmetod (Figur 7).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082



Figur 7. Linjärt område för avkastningen med användning av EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analys för extrahering av adenovirus 5 från avföring.

Precision

Standardavvikelse och variationskoefficienterna (CV) för avföring fastställdes för adenovirus 5 med användning av Adenovirus R-Gene™ PCR-analys (Argene SA, Frankrike, ref. 96-010B) i instrumentet Rotor-Gene Q. Adenovirus 5-cellkultursupernatant tillsattes till adenovirusnegativ avföring och viralt DNA extraherades från 200 µl prover (1:10 resuspension i ASL-buffert*) och eluerades i 120 µl elueringsbuffert (AVE). Sju EZ1-körningar med 9 eller 10 replikat vardera utfördes under tre dagar på tre olika EZ1 Advanced XL-instrument och tre olika kombinationer av EZ1 DSP Virus Kit/ASL-buffertloter. Samtliga prover analyserades i samma PCR-körning. Precisionsdata (Tabell 11) beräknades med hänsyn till resultaten från olika instrument, dagar, loter samt för samtliga EZ1-körningar tillsammans (totalt).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082

Tabell 11. Precision för EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med Adenovirus R-Gene™ PCR-analys för extrahering av adenovirus 5 från avföring

Körning	Antal	Kopior/ml	log kopior/ml	SD (log kopior/ml)	Intraanalys	CV c/ml (%)			Totalt
						3 EZ1 Adv. XL	3 dagar	3 loter	
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	–	–	–	–

Korrelationsstudie

En korrelationsstudie genomfördes för EZ1 DSP Virus-proceduren jämfört med en referensmetod för extrahering av Norovirus gengrupp II från 66 avföringsprover från patienter. Virala nukleinsyror extraherades från 200 µl prover (1:10 resuspenderade i ASL-buffert*) och eluerades i 120 µl elueringsbuffert (AVE). Analysen utfördes med en intern RT PCR-analys mot norovirus gengrupp II (Tabell 12).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082

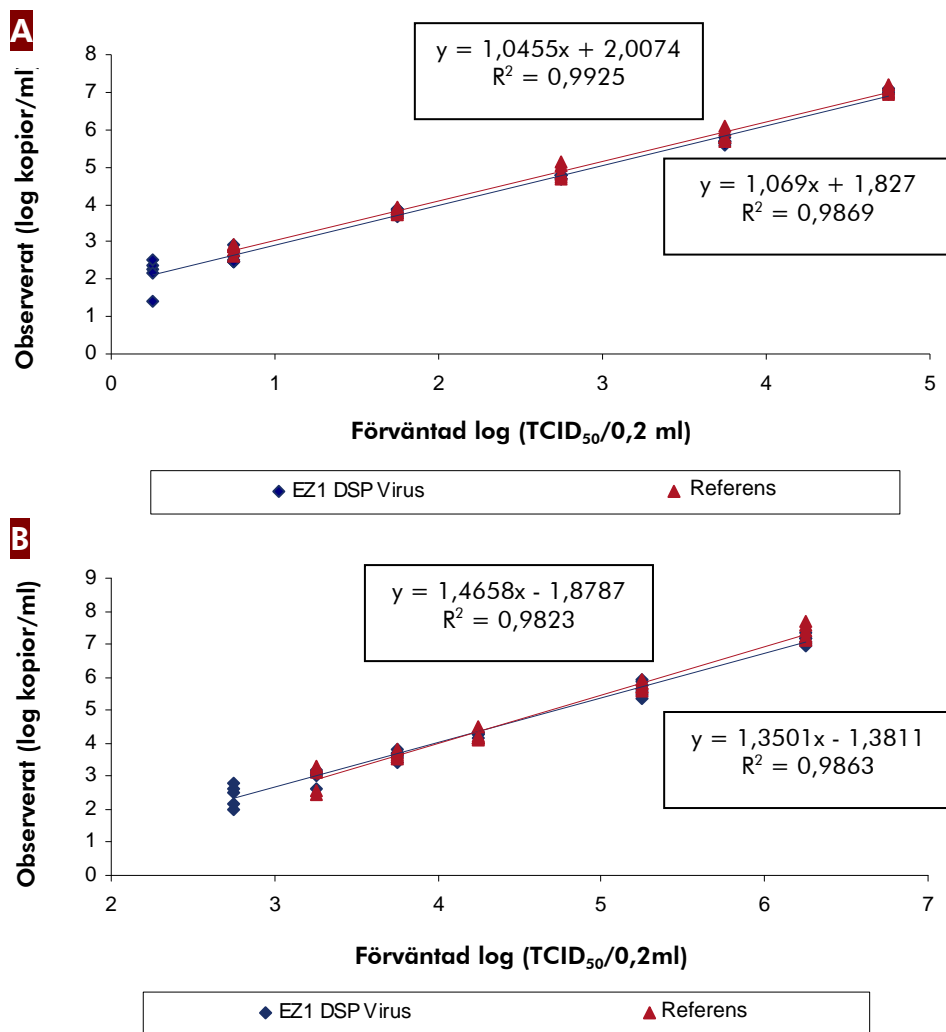
Tabell 12. Korrelation mellan EZ1 DSP Virus-proceduren och en referensmetod

		Referens		
		Positiv	Negativ	Totalt
EZ1 DSP Virus	Positiv	34	15	49
	Negativ	1	16	17
	Totalt	35	31	66

Transportmedier

Linjärt område

Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit utvärderades genom extrahering av HSV-1 och *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) från PreservCyt[®]-medium (Cytoc Corporation, ref. 0200011). Testerna utfördes med spädningar av kvantifierade viruspaneler i transportmedium. Spädningsserier med sex olika virustitrar testades med 5 eller 6 replikat vardera. Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit har fastställts i jämförelse med en referensmetod med *artus*[®] HSV1/2 TM PCR-analys och *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR-analys (Figur 8). Virala nukleinsyror extraherades från 200 µl prover och eluerades i 90 µl elueringsbuffert (AVE).



Figur 8. Linjärt område för avkastningen med användning av EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med *artus*[®] *C. trachomatis* PCR-analys **A** och *artus*[®] HSV1/2 TM TM PCR-analys **B** för extrahering av HSV-1 och *C. trachomatis* från transportmedium. Studien gjordes med jämförelse med en referensmetod.

Precision

Standardavvikelser och variationskoefficienter (CV) för transportmedia fastställdes för HSV-1 och *C. trachomatis* med användning av *artus*[®] HSV1/2 TM PCR-analys och *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR-analys. Viralt och bakteriellt DNA extraherades från 400 µl prover och eluerades i 60 µl elueringsbuffert (AVE). Fem transportmedier extraherades i 12 replikat vardera i sex EZ1-körningar, på tre olika dagar och med tre olika loter av EZ1 DSP Virus Kit. Samtliga prover analyserades i samma PCR-körning. Mellanliggande precision för *C. trachomatis* (Tabell 13) och HSV-1 (Tabell 14) beräknades med hänsyn till samtliga replikat av varje transportmedium (olika EZ1-körningar, dagar och loter).

Tabell 13. Precision för EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med *artus*[®] *C. trachomatis* RG PCR Kit för extrahering av *C. trachomatis* från transportmedia

Medium	Antal	Nominell log (TCID ₅₀ /0,2ml)	Observerat kopior/ml	Mellanliggande precision CV kop/ml (%)	Observerat log kopior/ml	SD (log kopior/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

Tabell 14. Precision för EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med artus® HSV1/2 RG PCR Kit för extrahering av HSV-1 från transportmedia

Medium	Antal	Nominell log (TCID ₅₀ /0,2 ml)	Observerat kopior/ml	Mellanliggande precision CV kop/ml (%)	Observerat log kopior/ml	SD (log kopior/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 prestanda (HPV)

Alikvoter av DNA som renats från totalt 108 prover bestående av 50 HC2-positiva prover som samlats in i STM, 50 HC2-positiva prover som samlats in i PreservCyt® samt 8 HC2-negativa prover i STM testades med *digene*® HPV Genotyping RH Test (kat.nr. 613413) och *digene*® HPV Genotyping LQ Test (kat.nr. 613215) i jämförelse med Free University RLB system*.

Resultaten bedömdes som antingen identiska (100 % matchande genotyper), kompatibla (minst en gemensam genotyp) eller avvikande (inga matchande genotyper). Avvikelser (ej överensstämmande genotypningsresultat) löstes genom att upprepa båda analyserna och, om avvikelserna kvarstod, genom efterföljande analys med en tredje känslig HPV-detektions- och genotypningsanalys [SPF10-LiPA25 (version1)].

Resultaten visade en mycket låg nivå av avvikande prover (2 %) efter lösning av initialt avvikande prover för båda genotypningsanalyserna jämfört med referensmetoden (Tabell 15).

Tabell 15. Jämförelse av *digene* HPV Genotyping RH Test (A) och *digene* HPV Genotyping LQ Test med Free University RLB system* med användning av EZ1 DSP Virus-proceduren för extrahering av HPV från transportmedium

Typ av resultat	A	B
	% av kliniska prover	% av kliniska prover
Identiska	80	58
Kompatibla	18	12
Avvikande	2	2

* van den Brule, A. J., Pol R., Franssen-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.

Klinisk prestanda (Influenza A)

För att visa den kliniska prestandan utvärderades 102 karakteriserade nasofaryngeala svabbprover som samlats in i UTM (Copan Diagnostics Inc., kat.nr. 330C) med användning av EZ1 DSP Virus Kit för extrahering av nukleinsyra. Influenza A-RNA detekterades med användning av *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit och det EUA-godkända Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR-testet (Tabell 16).

Tabell 16. Jämförelse av *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit och det EUA-godkända Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR test med användning av EZ1 DSP Virus Kit för extrahering av säsong-Influenza A och 2009 års H1N1 influensavirus från nasofaryngeala svabbar

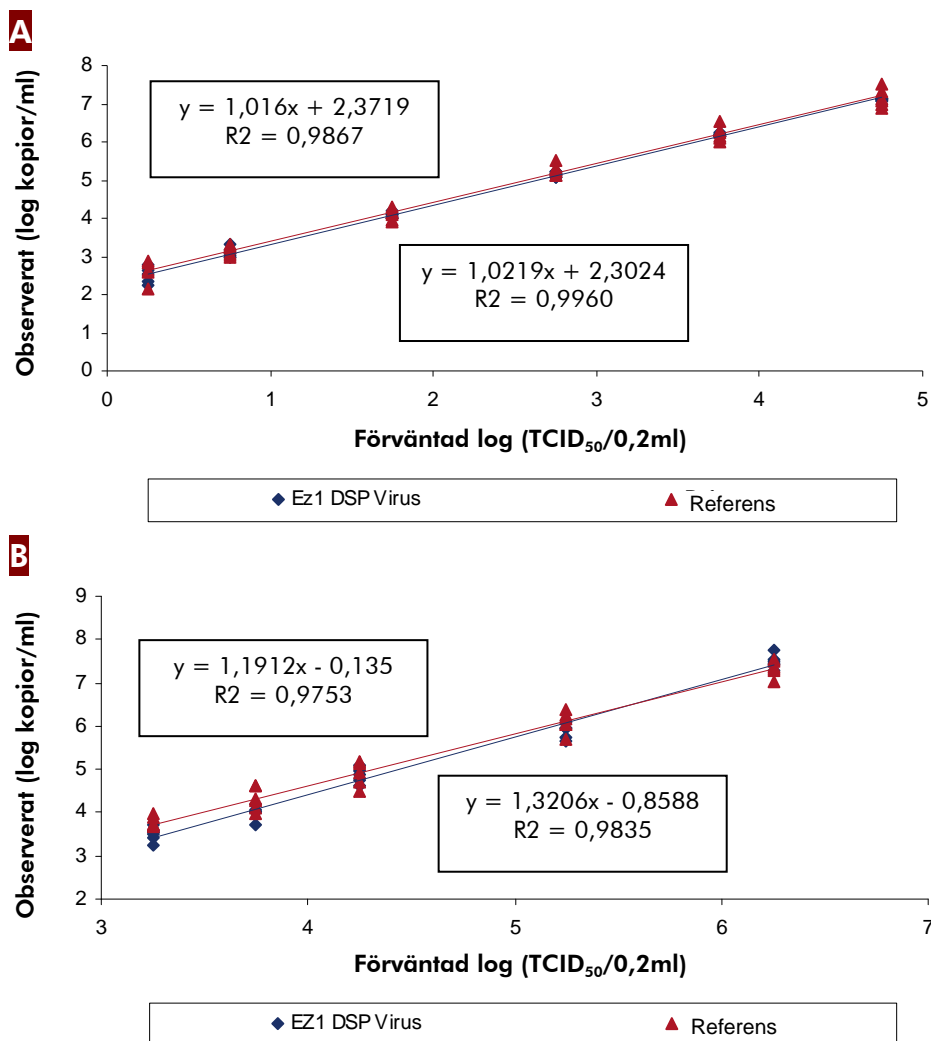
		Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR			
		Säsong-infl. A-positiv	2009 H1N1-positiv	Negativ	Totalt
<i>artus</i> [®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR	Säsong-infl. A-positiv	5	0	2	7
	2009 H1N1-positiv	0	27	1	28
	Negativ	0	0	67	67
	Totalt	5	27	70	102

Torkade svabbar

Linjärt område

Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit utvärderades genom extrahering av HSV-1 och *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) från Puritan bomullssvabbar (ref 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC). Testerna utfördes med spädningar av kvantifierat standardmaterial. Human negativ saliv tillsattes patogent material och överfördes till svabben. Efter torkning återisolerades patogenerna från den torkade svabben genom resuspension i 600 μ l ATL-buffert*. Spädningsserier med sex olika virustitrar testades med 5 eller 6 replikat vardera. Det linjära området för EZ1 DSP Virus Kit har fastställts i jämförelse med en referensmetod med *artus*[®] HSV1/2 TM PCR-analys och *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR-analys (Figur 9). Virala nukleinsyror extraherades från 400 μ l prover och eluerades i 150 μ l elueringsbuffert (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 939016



Figur 9. Linjärt område för avkastningen med användning av EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med *artus*[®] C. trachomatis PCR-analys (A) och *artus*[®] HSV1/2 TM TM PCR-analys (B) för extrahering av C. trachomatis och HSV-1 från torkade bomullssvabbar. Studien gjordes med jämförelse med en referensmetod.

Precision

Standardavvikelser och variationskoefficienter (CV) för torkade svabbar fastställdes för HSV-1 och C. trachomatis med användning av *artus*[®] HSV1/2 TM PCR-analys och *artus*[®] C. trachomatis TM PCR-analys. Copan flockade svabbar (kat.nr. 502CS0, Copan Italia S.p.A.) och Puritan bomullssvabbar (ref. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC) Torkade svabbar preparerades och förbehandlades på ovan beskrivet sätt, och viralt och bakteriellt DNA extraherades från 400 µl provvolym och eluerades i 60 µl elueringsbuffert (AVE). Extrahering gjordes med tre salivdonatorer i 8 eller 9 replikat vardera, i sex EZ1-körningar, på tre olika dagar

och med tre olika kombinationer av EZ1 DSP Virus Kit/ATL-buffertloter. Samtliga prover analyserades i samma PCR-körning. Mellanliggande precision för *C. trachomatis* (Tabell 17) och HSV1 (Tabell 18) beräknades med hänsyn till samtliga replikat av varje donator och svabbtyp (olika EZ1-körningar, dagar och loter).

Tabell 17. Precision för EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med artus® C. trachomatis RG PCR Kit för extrahering av C. trachomatis från torkade svabbar

Svabbtyp	Blodgivare	Antal	Nominell log TCID ₅₀ / 0,2 ml	Observerat kopior/ml	Mellanliggande precision CV kop/ml (%)	Observerat log kopior/ml	SD (log kopior/ ml)
Puritan bomullssvabbar	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 flockade svabbar	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

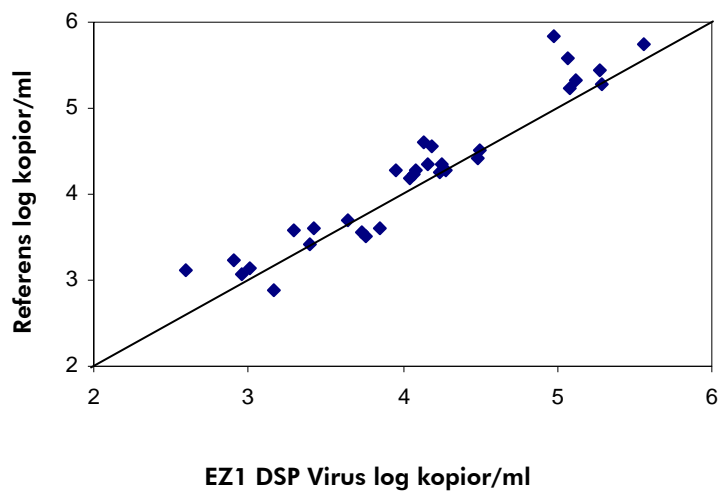
Tabell 18. Precision för EZ1 DSP Virus-protokollet i kombination med artus® HSV1/2 RG PCR Kit för extrahering av HSV-1 från torkade svabbar

Svabbtyp	Blodgivare	Antal	Nominell log TCID ₅₀ / 0,2 ml	Observerat kopior/ml	Mellanliggande precision CV kop/ml (%)	Observerat log kopior/ml	SD (log kopior/ ml)
Puritan bomullssvabbar	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 flockade svabbar	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

Respiratoriska prover (sputum)

Korrelationsstudie

En korrelationsstudie genomfördes för EZ1 DSP Virus för extrahering av *Mycobacterium tuberculosis* från negativt humant sputum. En spädningsserie med 4 olika virustitrer testades i enstaka replikat jämfört med en referensmetod. Bakteriellt DNA extraherades från 200 μ l sputum, förbehandlades med Sputasol (Oxoid Limited, ref. SR0233) och lysozym (Sigma-Aldrich, kat.nr. L6876) enligt beskrivningen i EZ1 DSP Virus-handboken version 4, och eluerades i 90 μ l elueringsbuffert (AVE). Analysen gjordes med *artus*[®] M. tuberculosis RG PCR-analysen (Figur 10).



Figur 10. Korrelation mellan EZ1 DSP Virus-proceduren och en referensmetod

För aktuell licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler, se respektive QIAGEN-kit-handbok eller –användarmanual. QIAGEN-kit-handböcker och –användarmanualer finns tillgängliga på www.qiagen.com eller kan begäras från QIAGEN Teknisk Service eller från din lokala distributör.

Varumärken: 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)

Februari-11 © 2011 QIAGEN, med ensamrätt.

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