

EZ1[®] DSP Virus Kit

Systemytelsen for EZ1 DSP Virus Kit har blitt etablert i ytelseevalueringstudier ved hjelp av plasma, serum, CSF, urin, fullblod, avføring, transportmedium, tørkede avstryk og respirasjonsprøver for isolering av virale nukleinsyrer og bakterielt DNA. Testing ble gjennomført i henhold til protokollene beskrevet i den aktuelle versjon 4 av håndboken for EZ1 DSP Virus.

Settytelse er imidlertid ikke garantert for hver virus- eller bakterieart og må valideres av brukeren. Det er brukerens ansvar å validere systemytelsen for alle prosedyrer anvendt i laboratoriet som ikke er dekt av QIAGENs ytelseevalueringstudier.

Ytelseegenskaper

Serum og plasma

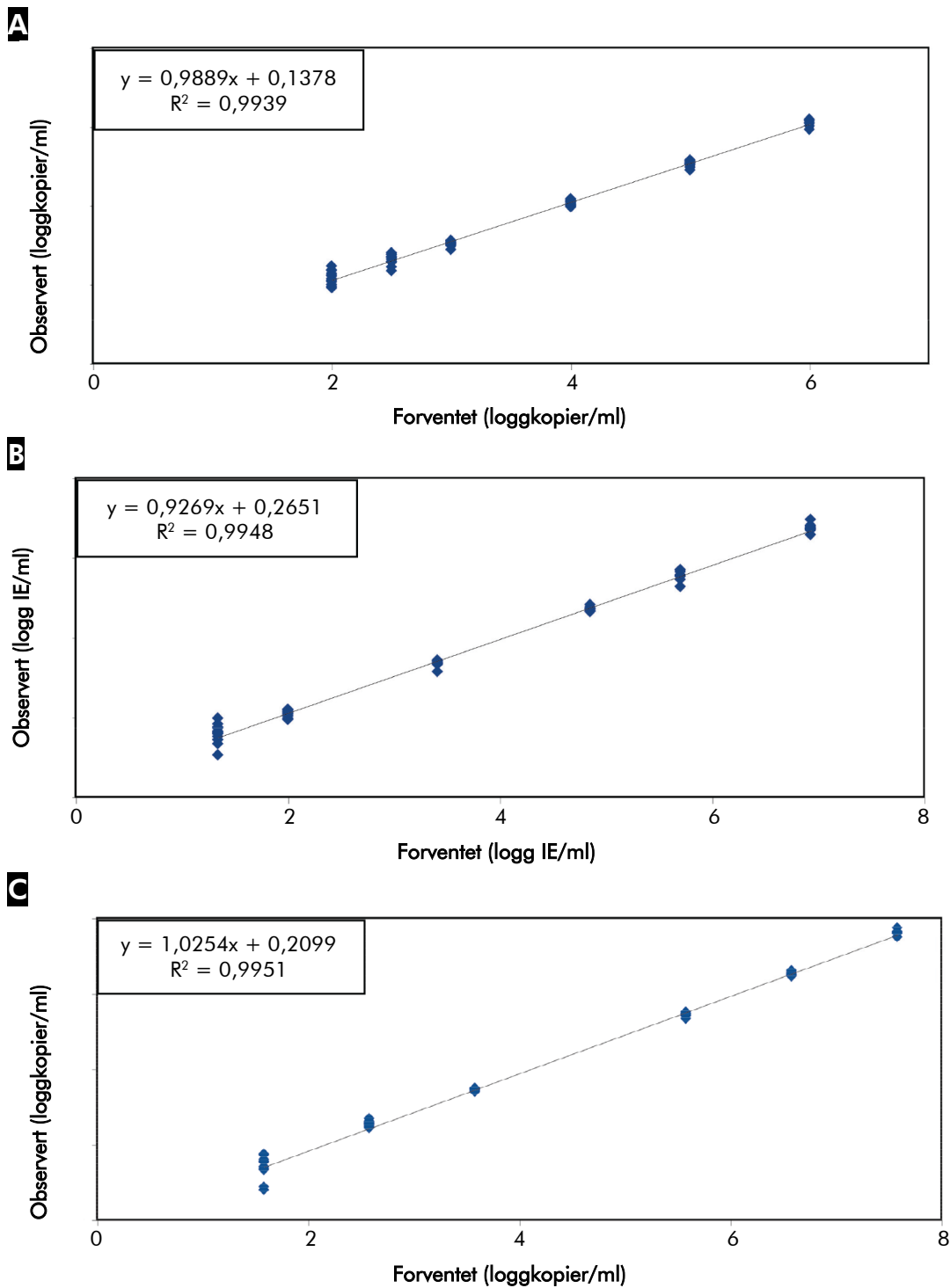
Lineært område

Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit ble evaluert for HCV og HIV-1 RNA-virus og HBV DNA-virus. Testene ble utført med fortyninger av kvantifiserte viruspaneler i HBV-, HCV- og HIV-1-negativt humant plasma eller serum. Fortyningsserie med seks forskjellige virusiteter ble testet med 12 replikater hver. Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit-prosedyren har blitt bestemt for HBV, HCV, og HIV-1 med Abbott RealTime-virusmengdeanalysene (Tabell 1, Figur 1). RealTime Internal Controls (17 μ l hver) ble tilsatt direkte i hver HIV-1- eller HCV-prøve før ekstraksjon. For RealTime HBV ble 3,4 μ l RealTime HBV Internal Control kombinert med bærer-RNA for hver prøve. Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 400 μ l prøver og eluert i 90 μ l elueringsbuffer (AVE). PCR ble utført på Abbott *m2000rt*.

Tabell 1. Prøvekilde og nedstrømsanalyser som brukes til bestemmelse av lineært område for utbytter med EZ1 DSP Virus-protokollen

Virus	Kilde	Nedstrømsanalyse	Benyttet analysehåndbok
HIV-1	BBI (Boston Biomedica, Inc., Boston, USA) defekt HIV, BBI-rekalsifisert plasma	Abbott RealTime HIV-1 (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HIV-1
HCV	ProMedDx (ProMedDx LLC Norton, MA, USA) pasientprøve, gruppert normalt humant serum	Abbott RealTime HCV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HCV
HBV	Teragenix (Teragenix Coporate, Ft. Lauderdale, FL, USA) pasientprøve, rekalsifisert humant plasma	Abbott RealTime HBV (Abbott Molecular Inc.)	Abbott RealTime HBV





Figur 1. Lineært område for utbytter ved hjelp av EZ1 DSP Virus-protokollen. Det lineære området for EZ1 DSP Virus-protokollen ble bestemt ved hjelp av virale fortynningsserier og Abbott RealTime-analyser (Tabell 1) **A** for HIV-1, **B** for HCV og **C** for HBV.

Presisjon

Standardavvik og variasjonskoeffisienter (coefficients of variation, CV-er) ble bestemt for HIV-1, HCV- og HBV-fortynningsserier i det lineære området av de egnede nedstrømsanalysene. For presisjonsanalyse ble de samme nedstrømsanalysene brukt som for bestemmelse av det lineære området (Tabell 1). Presisjonsdataene mellom analyser vises i tabell 2-4. For hvert panelmedlem ble 12 replikater ekstrahert i 12 separate kjøringar på BioRobot EZ1 DSP. PCR ble utført i 2 kjøringar à 6 replikater hver på Abbott m2000rt.

Tabell 2. Presisjon mellom analyser for EZ1 DSP Virus-protokollen ved hjelp av Abbott RealTime HIV-1-analysen

Panelmedlem	n	Kopier/ml	CV (%)	Loggkopier/ml	SD (loggkopier/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. Presisjon mellom analyser for EZ1 DSP Virus-protokollen ved hjelp av Abbott RealTime HCV-analysen

Panelmedlem	n	IE/ml	CV (%)	Logg IE/ml	SD (logg 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

Tabell 4. Presisjon mellom analyser for EZ1 DSP Virus-protokollen ved hjelp av Abbott RealTime HBV-analysen

Panelmedlem	n	Kopier/ml	CV (%)	Loggkopier/ml	SD (loggkopier/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

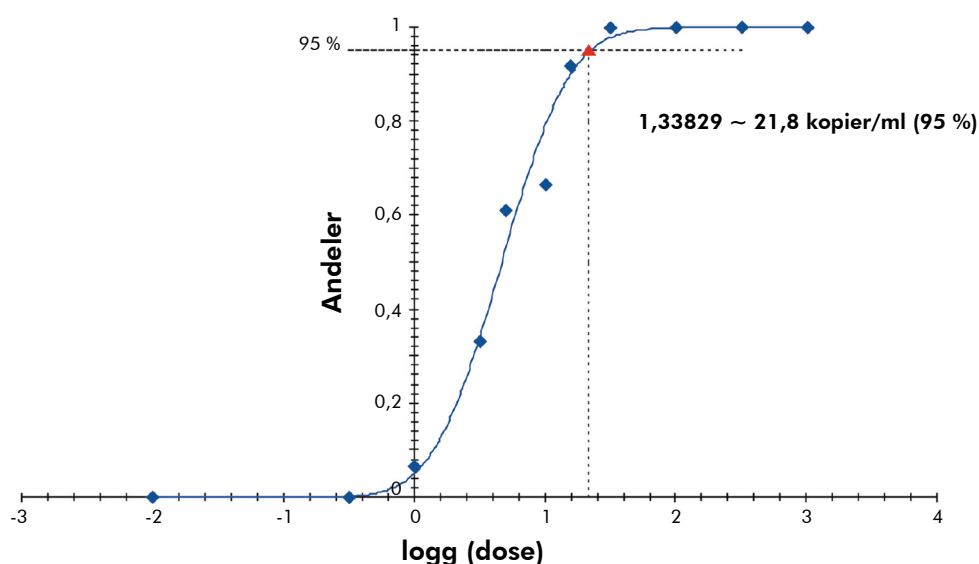
Påvisningsgrense

Påvisningsgrensen ble bestemt av 95 %-probit-verdien for EZ1 DSP Virus-systemet ved hjelp av HIV-1 WHO internasjonal virusstandard 97/656, HBV WHO internasjonal virusstandard 97/746 og kvantifisert CMV-cellekultursupernatant. Påvisningsgrensen ble bestemt ved å behandle fortynningsserier av de relevante virusene. Virusene ble fortynnet i HIV-, HBV-, og CMV-negativ normal human EDTA-plasmagruppe. Hvert fortynningstrinn ble klargjort i minst 3 uavhengige kjøringar med minst 6 replikater per fortynning. 400 µl plasma ble brukt til prøveklargjøring på BioRobot EZ1 DSP med eluering i 60 µl.

artus[®] HBV PCR-sett ble brukt til påvisning av HBV DNA og *artus*[®] CMV PCR-sett til påvisning av CMV DNA. Prøvene ble analysert på et LightCycler[®] 1.2 Instrument (Roche), en Rotor-Gene[®] 3000 (Corbett Research) og en ABI PRISM[®] 7000 SDS (Applied BioSystems). COBAS[®] AmpliCor[®] HIV-1Monitor[®] Test (versjon 1.5) ble brukt til påvisning av HIV RNA ved hjelp av COBAS AmpliCor Analyzer. De kombinerte dataene for alle prøver ble evaluert ved hjelp av probit-analyse. Dataene presenteres i tabell 5–6, med representative probit-plott på figur 2–3.

Tabell 5. Påvisningsgrense for HBV og CMV DNA ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet og *artus*[®] PCR-sett

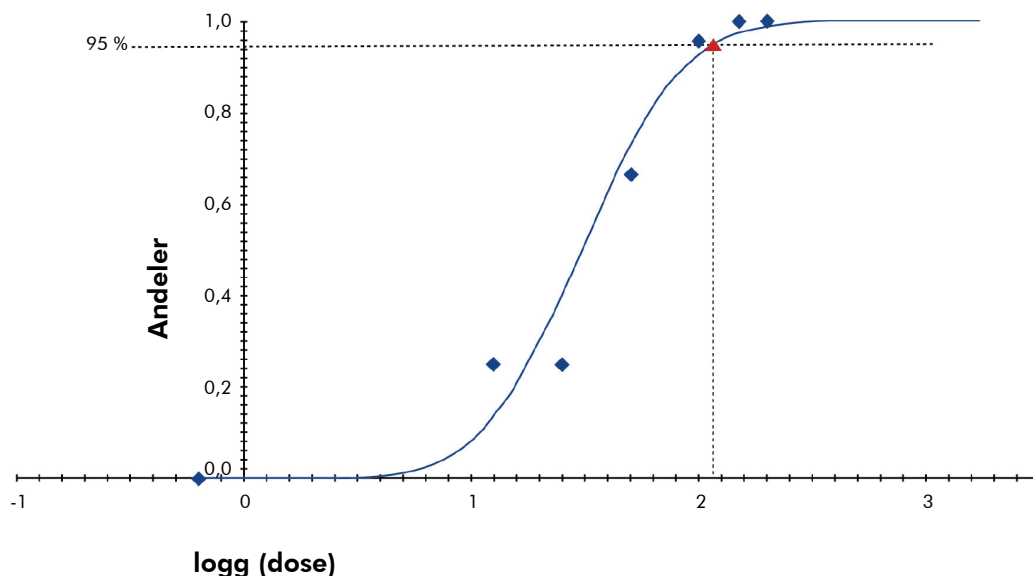
Virus	Tilførselstiter	Treff (LightCycler)	Treff (Rotor-Gene)	Treff (ABI PRISM)
HBV	95 %-probit-verdi (IE/ml)	45,7	14,4	13,2
	Konfidensintervall (IE/ml)	28–102	9,5–26,5	9,0–23,1
CMV	95 %-probit-verdi (kopier/ml)	67,2	21,8	38,3
	Konfidensintervall (kopier/ml)	41,8–142	14,5–44,1	21,5–89,8



Figur 2. Probit-analyse for påvisning av CMV DNA ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet og *artus*[®] CMV RG PCR Kit. Virale nukleinsyrer ble renset ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet, og *artus*[®] CMV PCR RG Kit ble brukt til påvisning av CMV DNA på Rotor-Gene 3000. 95 %-probit-verdien var 21,8 kopier/ml.

Tabell 6. Påvisningsgrense for HIV RNA ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet og COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test, versjon 1.5

Tilførselstiter (IE/ml)	Treff
95 %-probit-verdi (IE/ml)	114,5
Konfidensintervall (IE/ml)	82,9–194,3



Figur 3. Probit-analyse for påvisning av HIV RNA ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet og COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test, versjon 1.5. Virale nukleinsyrer ble rensed ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet, med 400 µl prøvetilførsel og 60 µl eluering. COBAS Amplicor HIV-1 Monitor Test ble brukt for påvisning av HIV RNA på COBAS Amplicor Analyser i ultrasensitiv modus. 95 %-probit-verdien var 114,5 IE/ml.

Utelukkelse av prøvedriving

Ni kjøring hver på BioRobot EZ1 DSP-, EZ1 Advanced- og EZ1 Advanced XL-instrumenter ble utført for å evaluere risikoen for krysskontamineringshendelser under og mellom EZ1 DSP Virus-prosedyrer. Testene ble utført ved hjelp av en kvantifisert parvovirus B19-pasientprøve. Virusmengden av positive prøver som ble brukt til medrivingstestene, var $1,0 \times 10^8$ IE/ml. For fortyning av positive prøver og, som negative kontrollprøver, ble det brukt en human parvovirus B19-negativt EDTA-plasmagruppe.

For å påvise medriving fra prøve til prøve ble 2 kjøring utført på hvert instrument med et vekslende sjakk-mønster oppsett av negative og svært positive prøver. Hver tredje kjøring ble utført ved hjelp av kun negative prøver for å overvåke mulig medriving fra kjøring til kjøring. Dette prøveoppsettet ble gjentatt tre ganger til i alt ni kjøring for hvert instrument. Parvovirus B19 DNA ble påvist og kvantifisert ved hjelp av det CE-IVD-merkede *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit på

Rotor-Gene 3000. Den analytiske påvisningsgrensen for *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit bestemmes til 0,2 IE/μl i eluatet (p = 0,05). Dette angir at det er en 95 % sannsynlighet for at 0,2 IE/μl i eluatet blir påvist.

Alle de svært positive prøvene ble påvist å være positive ved hjelp av *artus*[®] Parvo B19 RG PCR Kit. Alle negative prøver, i de sjakkmønstrede kjøringene og de helnegative kjøringene, reagerte ikke (Tabell 7 viser resultatene på BioRobot EZ1 DSP). Disse forsøkene viser at EZ1 DSP Virus-protokollen ikke gir noen prøvemedring under disse betingelsene.

Tabell 7. Testoppsett for krysskontaminering og C_T-verdier for påvisning av parvovirus B19 DNA ved hjelp av BioRobot EZ1 DSP

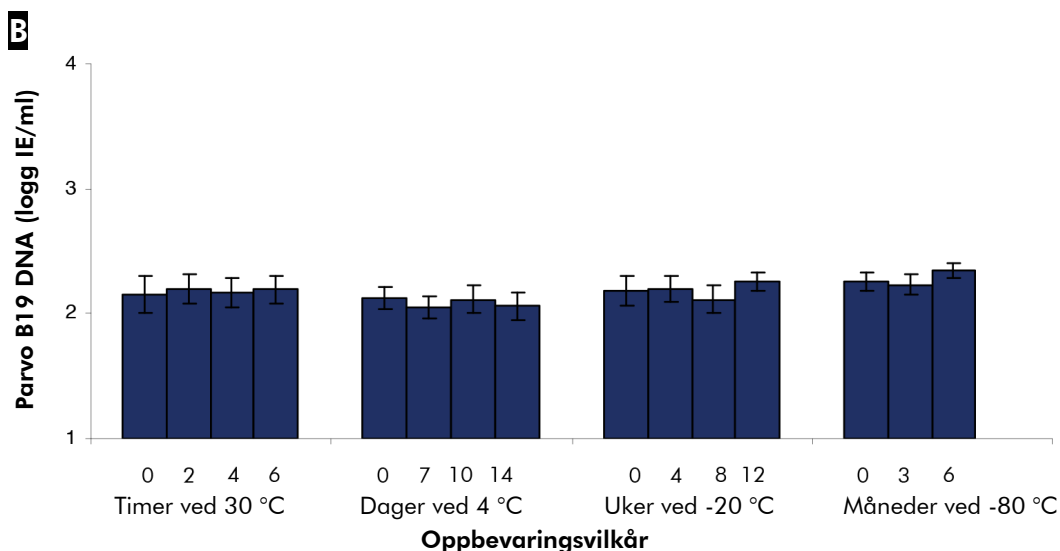
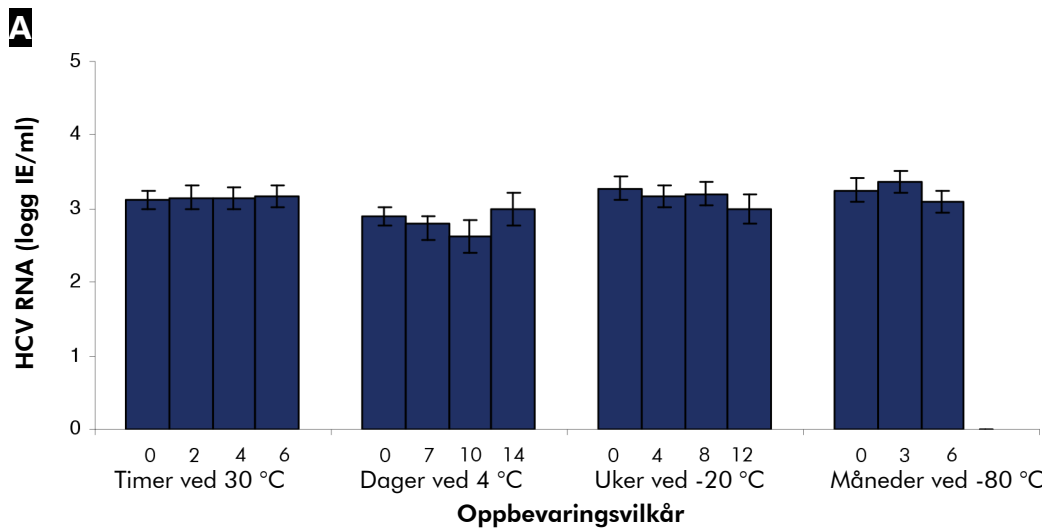
Kjøring	Posisjon					
	1	2	3	4	5	6
1	15,47	X	15,41	X	15,36	X
2	X	15,48	X	15,53	X	15,32
3	X	X	X	X	X	X
4	15,35	X	15,2	X	15,27	X
5	X	15,21	X	15,13	X	15,43
6	X	X	X	X	X	X
7	15,62	X	15,48	X	15,23	X
8	X	15,31	X	15,83	X	15,62
9	X	X	X	X	X	X

Gjennomsnittlig C_T-verdi av alle prøver = 15,40 ± 0,18 (CV = 1,14 %)

X: Reagerer ikke etter 45 PCR-sykluser.

Stabilitet

Stabiliteten til viralt RNA og DNA i eluater generert ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit ble bestemt. Humant EDTA-plasma ble tilsatt 1 x 10³ IE/ml HCV Acrometrix OptiQuant[®] HCV RNA- og Parvo B19 VQC-standardmateriale. Iht. testtidspunkt og inkuberingsvilkår ble 18 replikater behandlet ved hjelp av EZ1 DSP Virus-systemet. Eluater som inneholder Parvo B19 DNA og HCV RNA, ble inkubert i opptil 6 timer ved 30 °C, opptil 14 dager ved 4 °C, opptil 12 uker ved -20 °C, og opptil 9 måneder ved -80 °C. Studien pågår fortsatt. Eluatene ble analysert ved hjelp av en validert intern HCV RT-PCR og *artus*[®] Parvo B19 RG PCR. Én RT-PCR-feil av 18 replikater ble observert for HCV RNA etter oppbevaring ved 4 °C i 14 dager (Figur 4).



Figur 4. Stabilitet for virale nukleinsyrer. Stabiliteten til viralt RNA og DNA i eluater generert ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit ble bestemt for **A HCV RNA og **B** Parvo B19 DNA.**

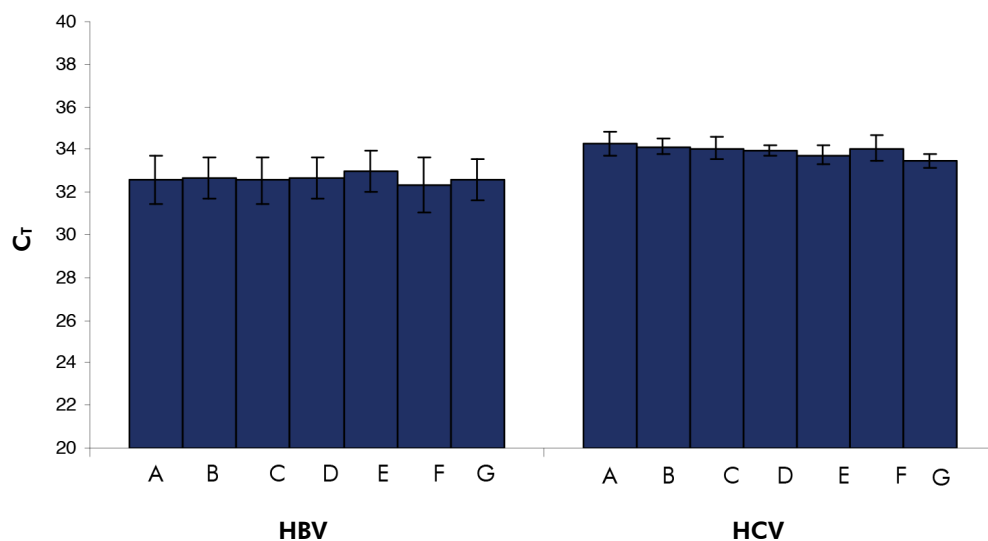
Reproduserbarhet

Reproduserbarheten ble bestemt ved hjelp av 3 BioRobot EZ1 DSP-instrumenter på 3 forskjellige dager (se Tabell 8, neste side). For hver test (A–G) ble 12 replikater behandlet i 2 kjøringer på BioRobot EZ1 DSP. Humant EDTA-plasma ble tilsatt 1×10^4 IE/ml Acrometrix OptiQuant HCV RNA og 1×10^3 IE/ml Acrometrix OptiQuant HBV DNA. HBV DNA ble bestemt ved hjelp av *artus*[®] HBV RG PCR Kit og HCV RNA ved hjelp av en validert intern HCV RT-PCR-analyse.

Den automatiserte prosedyren er svært reproducerbar som vist ved sammenlignbare resultater fra rensing av virale nukleinsyrer på 3 forskjellige BioRobot EZ1 DSP-instrumenter på 3 forskjellige dager (Figur 5).

Tabell 8. Testoppsett for reproducerbarhet

Testoppsett	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 ble bestemt på tre forskjellige BioRobot EZ1 DSP-instrumenter på tre forskjellige dager.

Urin

Ytelsen til EZ1 DSP Virus Kit for bruk med urinprøver ble evaluert ved sammenligning med plasma ved hjelp av kvantifiserte viruspaneler av CMV (DNA-virus) og HCV (RNA-virus) fortynnet i respektive prøvemateriale. Urin- og plasmaprøver ble behandlet i henhold til håndboken for EZ1 DSP Virus Kit, og tilsvarende prøvevolumer ble ekstrahert med EZ1 DSP Virus Kit. Virale nukleinsyrer ble påvist ved hjelp av *artus*[®] CMV RG PCR og *artus*[®] HCV RG RT-PCR Kit. Vurdering av ytelsen til EZ1 DSP Virus Kit for sammenligning av urin og plasma viste et avvik på bare ~2 % (basert på C_T-verdier) for både CMV og HCV (Tabell 9).

Tabell 9. Sammenligning av EZ1 DSP Virus-prosedyren for bruk med urin- og plasmaprøver

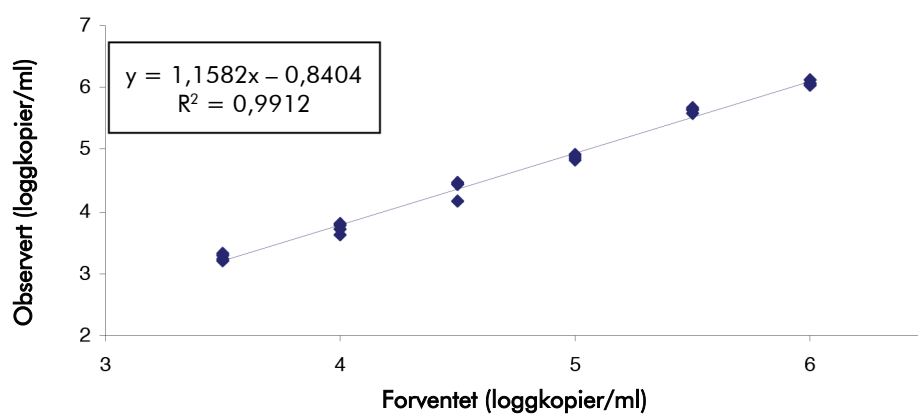
Prøvetype	n	CT-verdi	Forhold urin/plasma (CT-verdi)	Kopier/ml	Forhold urin/plasma (kopier/ml)
CMV					
Urin	4	31,60	0,98	6 250	1,51
Plasma	5	32,17		4 130	
HCV					
Urin	4	37,83	1,02	278	0,77
Plasma	5	37,25		363	

Fullblod

Lineært område

Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit ble evaluert ved hjelp av EBV som DNA-virus. Testene ble utført med fortynninger av kvantifiserte viruspaneler i EBV-negativt humant fullblod. Fortynningsserie med seks forskjellige virustiterte ble testet med 4 replikater hver. Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 200 μ l fullblod (blandet med 200 μ l Buffer ATL*) og eluert i 60 μ l elueringsbuffer (AVE). Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit-proseduren har blitt 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 utbytter ved hjelp av EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] EBV RG PCR-analysen for ekstraksjon av EBV fra fullblod.

Presisjon

Standardavvik og variasjonskoeffisienter (coefficients of variation, CV-er) for fullblod ble bestemt for CMV ved hjelp av *artus*[®] CMV RG PCR Kit på Rotor-Gene Q-instrumentet. Presisjonsdataene mellom analyser vises i Tabell 10. Fullblod avledet av 13 blodgivere ble testet i 5 replikater i separate kjøringar på EZ1 Advanced XL. Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 200 μ l fullblod (blandet med 200 μ l Buffer ATL*) og eluert i 120 μ l elueringsbuffer (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 939016

Tabell 10. Presisjon mellom analyser for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] CMV RG PCR Kit for ekstraksjon av CMV fra fullblod

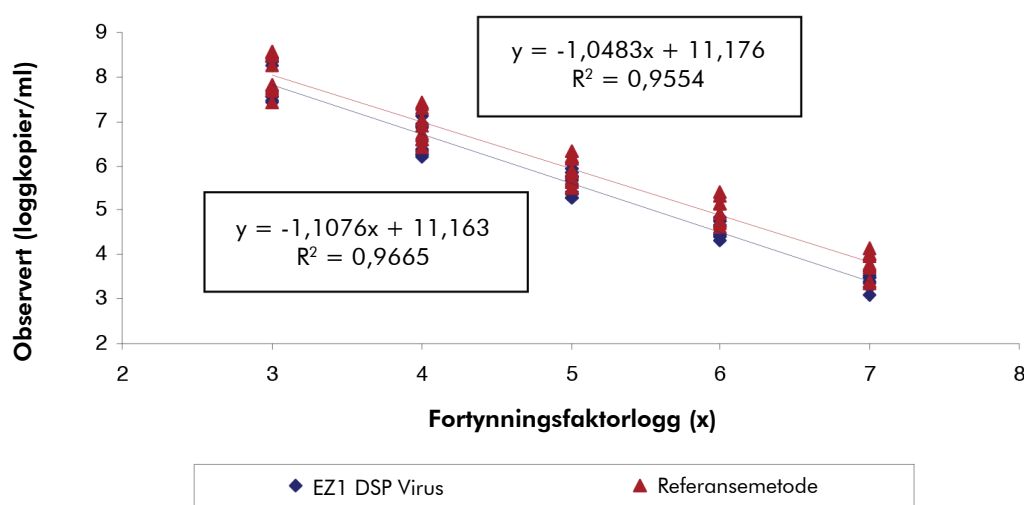
Giver		Kopier/ml	CV (%)	loggkopier/ml	SD (loggkopier/ml)
1	5	7 209	13	3,86	0,06
2	5	7 404	24	3,87	0,10
3	5	7 313	14	3,86	0,06
4	5	7 185	17	3,86	0,08
5	5	7 803	28	3,89	0,12
6	5	7 257	39	3,86	0,17
7	5	7 870	20	3,90	0,08
8	5	7 583	26	3,88	0,12
9	5	8 571	24	3,93	0,10
10	5	7 177	30	3,86	0,13
11	5	8 294	24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

Avføring

Lineært område

Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit ble evaluert ved hjelp av Adenovirus 5 som DNA-virus. Testene ble utført med serielle 10-gangers fortynninger av cellekultursupernatant i adenovirusnegativ avføring. Fortynningsserie med fem forskjellige virusfortynninger ble testet med 10 replikater hver. Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 200 μ l prøver (1:10 resuspendert i Buffer ASL*) og eluert i 120 μ l elueringsbuffer (AVE). Det lineære området for EZ1 DSP Virus-prosedyren har blitt bestemt i kombinasjon med Adenovirus R-Gene™ PCR-analysen (Argene SA, Frankrike, art.nr. 96-010B) på Rotor-Gene Q-instrumentet sammenlignet med en referanseekstraksjonsmetode (Figur 7).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082



Figur 7. Lineært område for utbytter ved hjelp av EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med Adenovirus R-Gene™ PCR-analysen for ekstraksjon av Adenovirus 5 fra avføring.

Presisjon

Standardavvik og variasjonskoeffisienter (coefficients of variation, CV-er) for avføring ble bestemt for Adenovirus 5 ved hjelp av Adenovirus R-Gene™ PCR-analysen (Argene SA, Frankrike, art.nr. 96-010B) på Rotor-Gene Q-instrumentet. Adenovirusnegativ avføring ble tilsatt Adenovirus 5-cellekultursupernatant, og viralt DNA ble ekstrahert fra 200 μ l prøver (1:10 resuspensjon i Buffer ASL*) og eluert i 120 μ l elueringsbuffer (AVE). Sju EZ1-kjøringer med 9 eller 10 replikater hver ble utført på tre dager, med tre EZ1 Advanced XL-instrumenter og tre EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ASL-partikombinasjoner. Alle prøver ble analysert i samme PCR-kjøring. Presisjonsdataene (Tabell 11) ble beregnet ved å ta hensyn til resultater fra forskjellige instrumenter, dager, partier og alle EZ1-kjøringer sammen (totalt).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082

Tabell 11. Presisjon for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med Adenovirus R-Gene™ PCR-analyse for ekstraksjon av Adenovirus 5 fra avføring

Kjøring	n	Kopi/ml	Logg kopi/ml	SD (logg-kopi/ml)	Innen- for analyse	CV c/ml (%)			Totalt
						3 Adv. XL	3 dager	3 partier	
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	–	–	–	–

Korrelasjonsstudie

En korrelasjonsstudie ble gjennomført for EZ1 DSP Virus-prosedyren sammenlignet med en referansem metode for ekstraksjon av Norovirus Genogroup II fra 66 pasientavføringsprøver. Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 200 µl prøver (1:10 resuspendert i Buffer ASL*) og eluert i 120 µl elueringsbuffer (AVE). Analyse ble utført med en intern RT PCR-analyse mot Norovirus Genogroup II (Tabell 12).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 19082

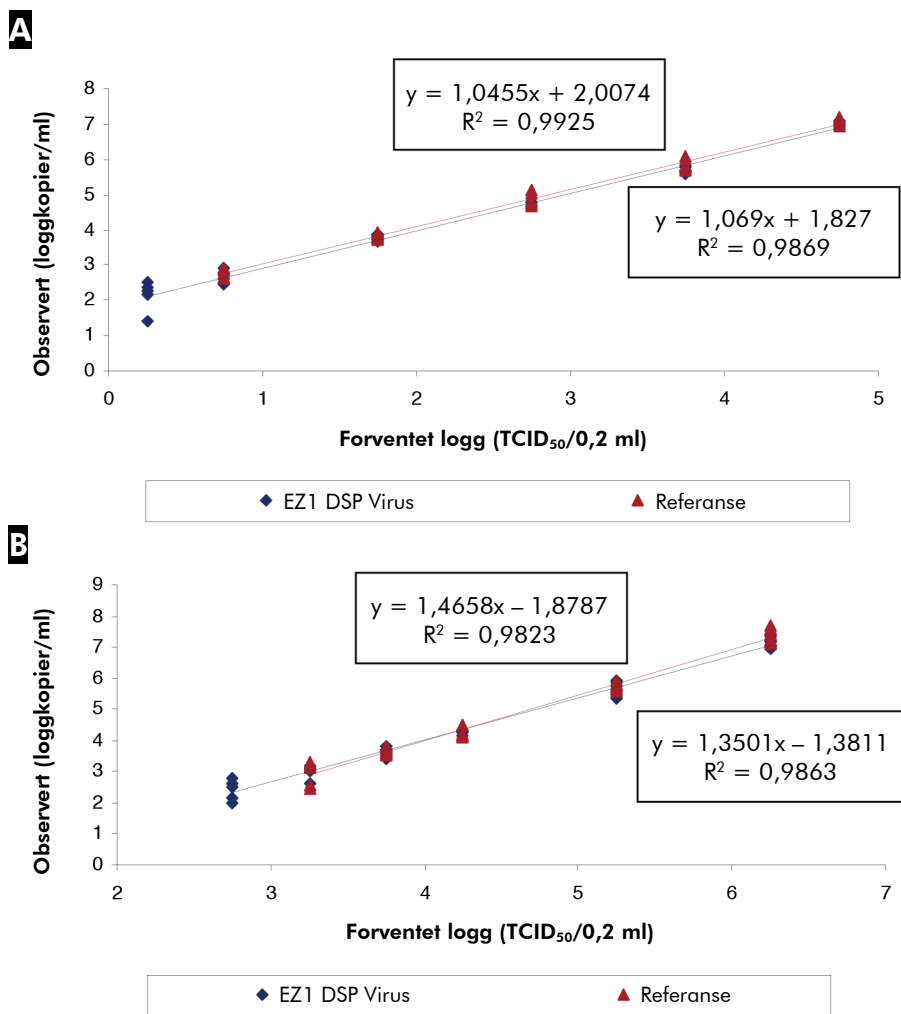
Tabell 12. Korrelasjon av EZ1 DSP Virus-prosedyren med en referansem metode

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

Transportmedium

Lineært område

Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit ble evaluert ved å ekstrahere HSV-1 og *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) fra PreservCyt®-medium (Cytoc Corporation, art.nr. 0200011). Testene ble utført med fortynninger av kvantifiserte viruspaneler i transportmedium. Fortynningsserie med seks forskjellige virustiterte ble testet i 5 eller 6 replikater hver. Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit har blitt bestemt sammenlignet med en referansem metode med *artus*® HSV1/2 TM PCR- og *artus*® *C. trachomatis* TM PCR-analysen (Figur 8). Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 200 µl prøver og eluert i 90 µl elueringsbuffer (AVE).



Figur 8. Lineært område for utbytter ved hjelp av EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*® *C. trachomatis* PCR (A)- og *artus*® HSV1/2 TM PCR (B)-analyse for ekstraksjon av HSV-1 og *C. trachomatis* fra transportmedium. Studien ble utført sammenlignet med en referansem metode.

Presisjon

Standardavvik og variasjonskoeffisienter (coefficients of variation, CV-er) for transportmedium ble bestemt for HSV-1 og *C. trachomatis* ved hjelp av *artus*[®] HSV1/2 TM PCR- og *artus*[®] *C. trachomatis* TM PCR-analysen. Viralt og bakterielt DNA ble ekstrahert fra 400 µl medium og eluert i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Fem transportmedium ble ekstrahert i 12 replikater hver i seks EZ1-kjøringer, på tre dager og med tre EZ1 DSP Virus Kit-partier. Alle prøver ble analysert i samme PCR-kjøring. Den intermedieære presisjonen for *C. trachomatis* (Tabell 13) og HSV-1 (Tabell 14) ble beregnet ved å ta hensyn til alle replikater av hvert transportmedium (forskjellige EZ1-kjøringer, dager og partier).

Tabell 13. Presisjon for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] *C. trachomatis* RG PCR Kit for ekstraksjon av *C. trachomatis* fra transportmedium

Medium	n	Nominell		Intermedieær presisjon CV kopi/ml (%)	Observert loggkopi/ml	SD (loggkopi/ml)
		logg TCID ₅₀ /0,2 ml	Observert kopi/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, art.nr. R12505; ³ Cytyc Corp., art.nr. 0200011; ⁴ Becton, Dickinson and Company, art.nr. GYN-0001-V; ⁵ Copan Diagnostics Inc., kat.nr. 330C

Tabell 14. Presisjon for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] HSV1/2 RG PCR Kit for ekstraksjon av HSV-1 fra transportmedium

Medium	n	Nominell		Intermediær presisjon CV kopi/ml (%)	Observert loggkopi/ ml	SD (loggkopi/ ml)
		logg TCID ₅₀ / 0,2 ml	Observert kopi/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, art.nr. R12505; ³ Cytoc Corp., art.nr. 0200011; ⁴ Becton, Dickinson and Company, art.nr.. GYN-0001-V; ⁵ Copan Diagnostics Inc., kat.nr. 330C

Klinisk ytelse (HPV)

Alikvoter av DNA rensset fra i alt 108 prøver som omfatter 50 HC2-positive prøver samlet inn i STM, 50 HC2-positive prøver samlet inn i PreservCyt® og 8 HC2-negative prøver i STM ble testet med *digene*® HPV Genotyping RH Test (kat.nr. 613413) og *digene*® HPV Genotyping LQ Test (kat.nr. 613215) sammenlignet med Free University RLB-systemet*.

Resultater ble satt som enten identisk (100 % matchende genotyper), kompatible (minst én genotype til felles) eller avvikende (ingen matchende genotyper). Avvik (avvikende genotypingsresultater) ble løst ved å gjenta begge analyser og, i tilfelle gjenværende avvik, ved etterfølgende analyse med en tredje sensitiv HPV-påvisning og -genotypingsanalyse [SPF10-LiPA25 (versjon 1)].

Resultatene viste et svært lavt nivå av avvikende prøver (2 %) etter løsning av initiale avvikende prøver for begge genotypingsanalyser sammenlignet med referansemotoden (Tabell 15).

Tabell 15. Sammenligning av digene HPV Genotyping RH Test (A) og digene HPV Genotyping LQ Test med Free University RLB-systemet* ved hjelp av EZ1 DSP Virus-prosedyren for ekstraksjon av HPV fra transportmedium

Resultattype	A	B
	% av kliniske prøver	% av kliniske prøver
Identisk	80	58
Kompatibel	18	12
Avvikende	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 ytelse (influenza A)

For å vise klinisk ytelse ble 102 karakteriserte nasofaryngeale avstryksprøver samlet inn i UTM (Copan Diagnostics Inc., kat.nr. 330C) evaluert ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit for nukleinsyreekstraksjon. Influenza A RNA ble påvist ved hjelp av *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit og den EUA-godkjente Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR-testen (2009) (Tabell 16).

Tabell 16. Sammenligning av *artus*[®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR Kit mot den EUA-godkjente Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR-testen ved hjelp av EZ1 DSP Virus Kit for ekstraksjon av sesong-influenza A og 2009 H1N1-influenzavirus fra nasofaryngeale avstryk

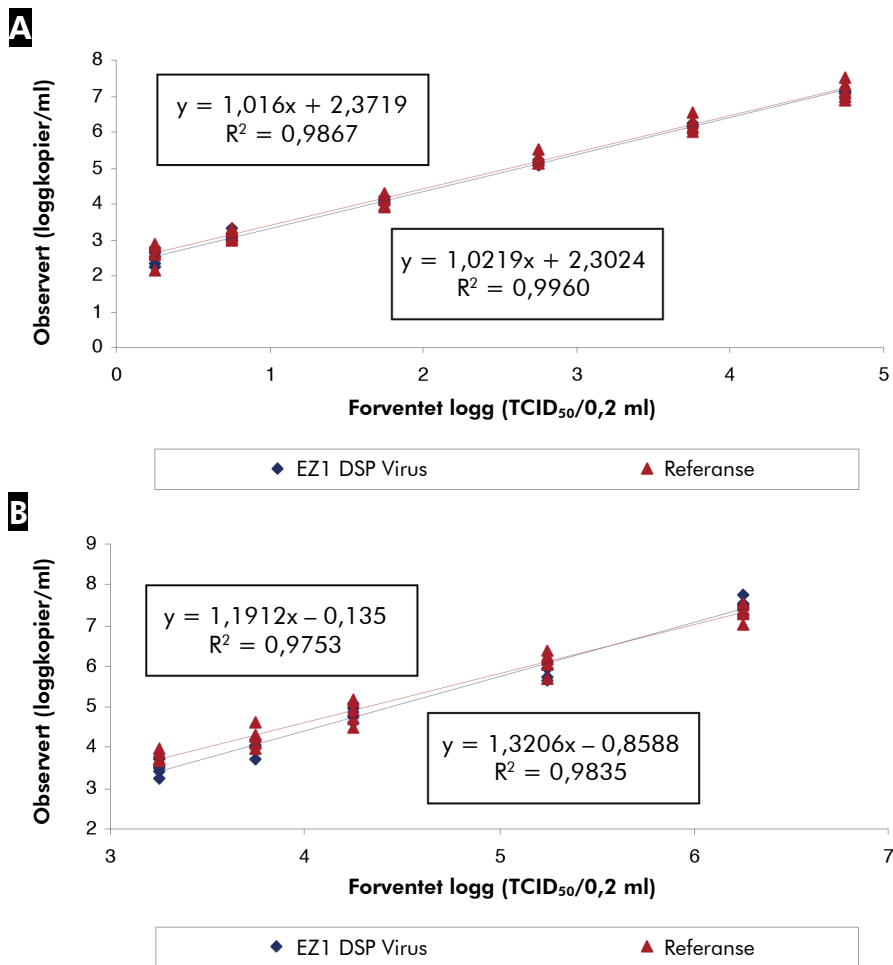
		Focus Influenza A H1N1 (2009) Real-Time RT-PCR			Totalt
		Sesong- infl. A- positiv	2009 H1N1- positiv	Negativ	
<i>artus</i> [®] Inf. A H1N1 2009 LC RT-PCR	Sesong-infl. A-positiv	5	0	2	7
	2009 H1N1- positiv	0	27	1	28
	Negativ	0	0	67	67
	Totalt	5	27	70	102

Tørkede avstryk

Lineært område

Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit ble evaluert ved å ekstrahere HSV-1 og *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) fra Puritan Cotton Swabs (art.nr. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC). Testene ble utført med fortyninger av kvantifisert standardmateriale. Humant negativt spytt ble tilsatt patogen materiale og overført til avstryket. Etter dehydrering ble patogener reisolert fra det tørkede avstryket ved resuspensjon i 600 µl Buffer ATL*. Fortyningsserie med seks forskjellige virusstammer ble testet i 5 eller 6 replikater hver. Det lineære området for EZ1 DSP Virus Kit har blitt bestemt sammenlignet med en referansemethode med *artus*[®] HSV1/2 TM PCR- og *artus*[®] C. trachomatis TM PCR-analysen (Figur 9). Virale nukleinsyrer ble ekstrahert fra 400 µl prøver og eluert i 150 µl elueringsbuffer (AVE).

*QIAGEN GmbH, kat.nr. 939016



Figur 9. Lineært område for utbytter ved hjelp av EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] C. trachomatis PCR (A)- og *artus*[®] HSV1/2 TM PCR (B)-analysen for ekstraksjon av C. trachomatis og HSV-1 fra tørkede bomullsavstryk. Studien ble utført sammenlignet med en referansem metode.

Presisjon

Standardavvik og variasjonskoeffisienter (coefficients of variation, CV-er) for tørkede avstryk ble bestemt for HSV-1 og C. trachomatis ved hjelp av *artus*[®] HSV1/2 TM PCR og *artus*[®] C. trachomatis TM PCR-analysen. Copan Flocked Swabs (kat.nr. 502CS0, Copan Italia S.p.A.) og Puritan Cotton Swabs (art.nr. 25-806 1PC, Puritan Medical Products Co. LLC) Dried Swabs ble klagjort og forbehandlet som beskrevet ovenfor, og viralt og bakterielt DNA ble ekstrahert fra 400 µl prøvevolum og eluert i 60 µl elueringsbuffer (AVE). Ekstraksjon ble utført med tre spyttgivere i 8 eller 9 replikater hver, i seks EZ1-kjøringer, på tre dager og med tre EZ1 DSP Virus Kit/Buffer ATL-partikombinasjoner. Alle prøver ble analysert i samme PCR-kjøring. Den intermedieære presisjonen for C. trachomatis (Tabell 17) og HSV-1 (Tabell 18) ble beregnet ved å ta hensyn til alle replikater av hver giver og avstrykstype (forskjellige EZ1-kjøringer, dager og partier).

Tabell 17. Presisjon for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] C. trachomatis RG PCR Kit for ekstraksjon av *C. trachomatis* fra tørkede avstryk

Avstryks- type	Giver	n	Nominell		Intermediær presisjon CV kopi/ml (%)	Observert loggekopi/ ml	SD (logg- kopier/ ml)
			logg TCID ₅₀ / 0,2 ml	Observert kopi/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

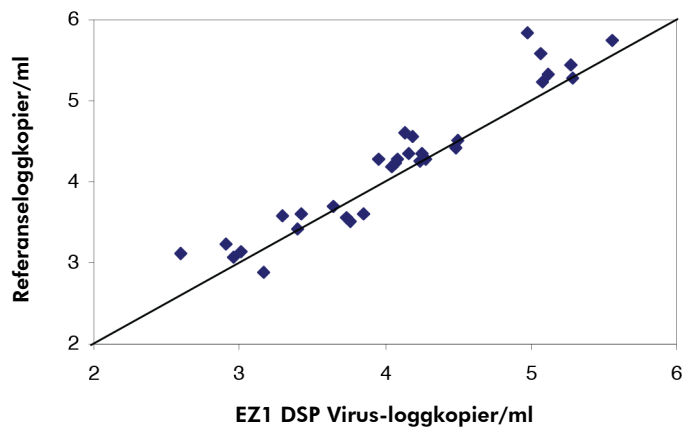
Tabell 18. Presisjon for EZ1 DSP Virus-protokollen i kombinasjon med *artus*[®] HSV1/2 RG PCR Kit for ekstraksjon av HSV-1 fra tørkede avstryk

Avstryks- type	Giver	n	Nominell		Intermediær presisjon CV kopi/ml (%)	Observert loggekopi/ ml	SD (logg- kopier/ ml)
			logg TCID ₅₀ / 0,2 ml	Observert kopi/ml			
Puritan cotton swabs	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

Respirasjonsprøver (spytt)

Korrelasjonsstudie

Det ble gjennomført en korrelasjonsstudie for EZ1 DSP Virus for ekstraksjon av *Mycobacterium tuberculosis* fra negativt humant spytt. En fortyngningsserie med 4 forskjellige virustitere ble testet i enkeltreplikater sammenlignet med en referansemetode. Bakterielt DNA ble ekstrahert fra 200 μ l spytt, forbehandlet med Sputasol (Oxoid Limited, art.nr. SR0233) og lysozym (Sigma-Aldrich, kat.nr. L6876) som beskrevet i håndboken for EZ1 DSP Virus versjon 4, og eluert i 90 μ l elueringsbuffer (AVE). Analyse ble utført med *artus*[®] *M. tuberculosis* RG PCR-analysen (Figur 10).



Figur 10. Korrelasjon av EZ1 DSP Virus-prosedyren med en referansemetode.

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller på forespørsel fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, *artus*®, EZ1®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ABI PRISM® (Applied Biosystems); COBAS®, AMPLICOR® (Roche Molecular Systems, Inc., lisensiert til 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, med enerett.

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