

Σεπτέμβριος 2015

artus[®] BK Virus QS-RGQ Kit: Χαρακτηριστικά απόδοσης

artus BK Virus QS-RGQ Kit, Έκδοση 1

REF

4514363

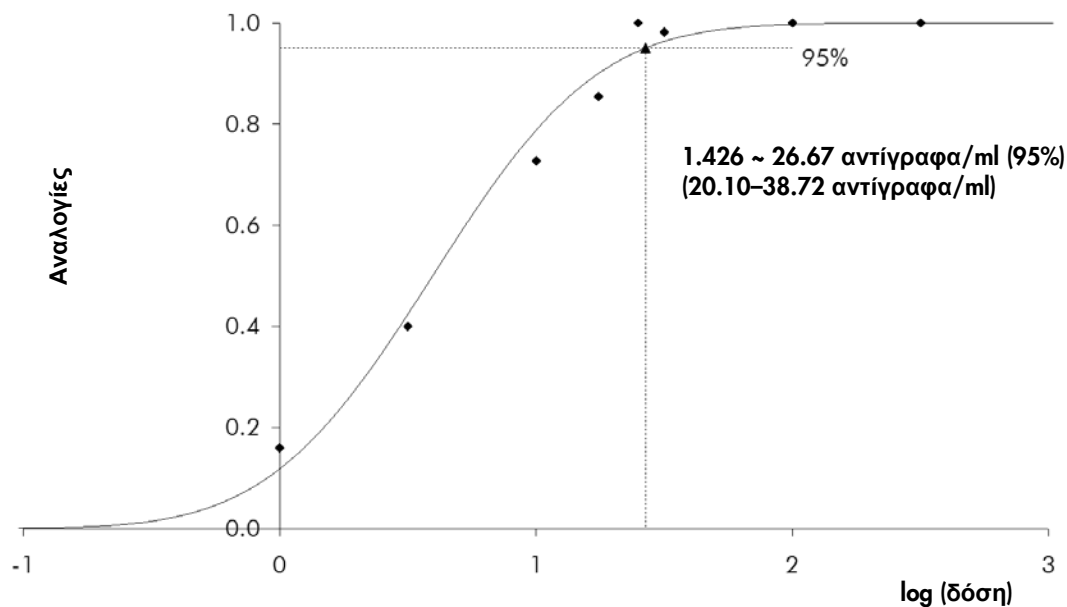


Ελέγξτε τη διαθεσιμότητα νέων ηλεκτρονικών αναθεωρήσεων
επισήμανσης στη
διεύθυνση www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx προτού
εκτελέσετε τη δοκιμασία. Η τρέχουσα κατάσταση αναθεώρησης
υποδεικνύεται από την ημερομηνία έκδοσης (μορφή: μήνας/έτος).

Αναλυτική ευαισθησία — πλάσμα

Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης όσον αφορά στον καθαρισμό (όριο ευαισθησίας) αξιολογήθηκε για το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ με χρήση θετικών για τον ιό BK κλινικών δειγμάτων σε συνδυασμό με την εκχύλιση στο όργανο QIAAsymphony® SP.

Για το πλάσμα, η αναλυτική ευαισθησία σχετικά με τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ καθορίστηκε με χρήση μιας σειράς αραιώσεων υλικού BKV (Acrometrix®) από 316 σε ονομαστικά 1 αντίγραφο BKV/ml, με εμβολιασμό σε κλινικά δείγματα πλάσματος. Αυτά τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εκχύλιση DNA με χρήση του κιτ QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Cellfree1000 DSP (όγκος εκχύλισης: 1 ml, όγκος έκλουσης: 60 μl). Καθεμιά από τις 8 αραιώσεις αναλύθηκε με το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ σε 5 διαφορετικές ημέρες, σε 5 εκτελέσεις με 11 θυγατρικούς κλώνους έκαστη. Τα αποτελέσματα καθορίστηκαν μέσω ανάλυσης probit. Μια γραφική αναπαράσταση της ανάλυσης probit παρουσιάζεται στην Εικόνα 1. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης για τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ σε συνδυασμό με το Rotor-Gene® Q είναι 26,67 αντίγραφα/ml ($p = 0,05$). Αυτό σημαίνει πως υπάρχει 95% πιθανότητα ανίχνευσης 26,67 αντιγράφων/ml.



Εικόνα 1. Ανάλυση probit: πλάσμα, ιός BK (Rotor-Gene Q). Αναλυτική ευαισθησία όσον αφορά στον καθαρισμό (πλάσμα, με χρήση του κιτ QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi) του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ στο Rotor-Gene Q.

Ειδικότητα — πλάσμα

Η ειδικότητα του kit *artus* BK Virus QS-RGQ διασφαλίζεται κατά κύριο λόγο από την επιλογή των εκκινητών και των ανιχνευτών, καθώς και από την τήρηση αυστηρών συνθηκών για την αντίδραση. Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές ελέγχθηκαν ως προς πιθανές ομολογίες με όλες τις δημοσιευμένες ακολουθίες σε τράπεζες γονιδίων μέσω ανάλυσης σύγκρισης ακολουθιών. Η ανιχνευσιμότητα όλων των σχετικών γονότυπων διασφαλίστηκε με ευθυγράμμιση βάσης δεδομένων και μία εκτέλεση PCR σε όργανα Rotor-Gene Q με τους ακόλουθους γονότυπους (βλέπε Πίνακα 1).

Πίνακας 1. Εξέταση της ειδικότητας σχετικών στελεχών

Ιός	Στέλεχος	Προέλευση	Ιός BK (Cycling Green)	Εσωτερικός μάρτυρας (Cycling Orange)
Ιός BK	Dunlop	ATCC®	+	+
Ιός BK	Gardner	ATCC	+	+
Ιός BK	AB269822	Geneart	+	+
Ιός BK	S72390	Geneart	+	+

ATCC: American Type Culture Collection.

Εκτός αυτού, η ειδικότητα επαληθεύτηκε με 30 διαφορετικά αρνητικά για τον ιό BK δείγματα πλάσματος. Αυτά δεν παρήγαγαν κανένα σήμα με τους ειδικούς για τον ιό BK ενισχυτές και ανιχνευτές, που περιλαμβάνονται στο BK Virus RG Master.

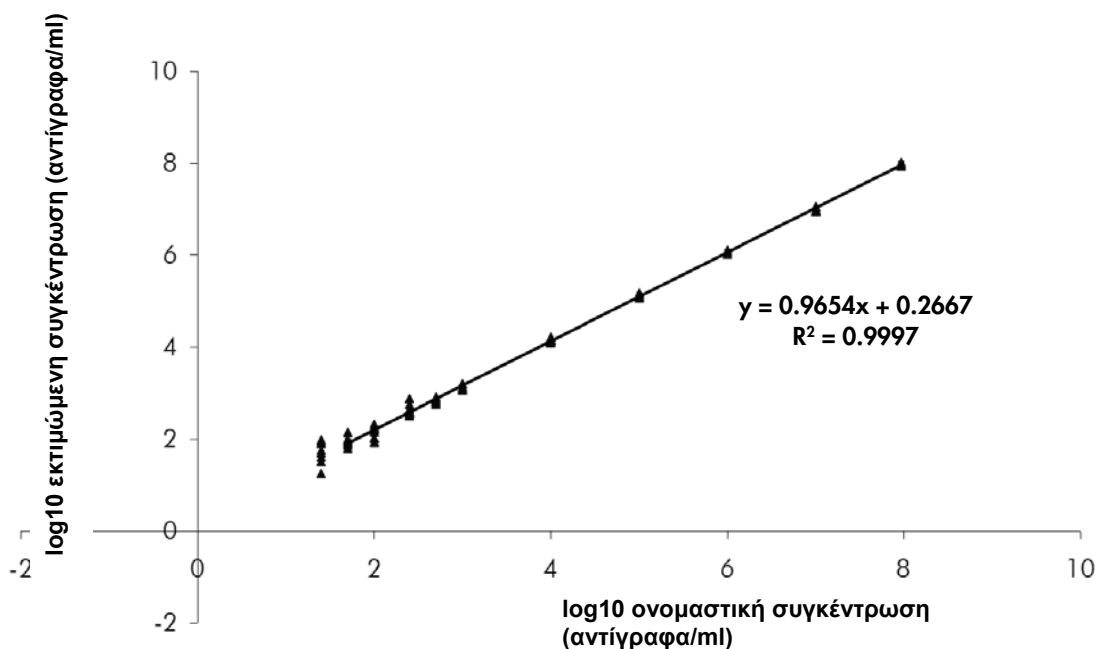
Ελέγχθηκε μία πιθανή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα του kit *artus* BK Virus QS-RGQ με χρήση της ομάδας μαρτύρων που παρατίθεται στον Πίνακα 2. Κανένα από τα παθογόνα που ελέγχθηκαν δεν βρέθηκε να είναι αντιδραστικό. Δεν παρουσιάστηκαν διασταυρούμενες αντιδραστικότητες σε μικτές λοιμώξεις

Πίνακας 2. Έλεγχος της ειδικότητας του kit με δυνητικώς διασταυρούμενα αντιδρώντα παθογόνα

Ομάδα ελέγχου	Ιός BK (Cycling Green)	Εσωτερικός μάρτυρας (Cycling Orange)
Κυτταρομεγαλοϊός	–	+
Ιός Epstein-Barr	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 1 (ιός απλού έρπητα 1)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 2 (ιός απλού έρπητα 2)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 3 (ιός varicella-zoster)	–	+
Ανθρώπινος ιός έρπητα 6	–	+
Ιός JC	–	+
Ιός πιθήκου 40	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+

Γραμμικό εύρος — πλάσμα

Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε με ανάλυση μιας σειράς αραιώσεων υλικού Acrometrix BKV από $9,26 \times 10^7$ αντίγραφα/ml έως $2,50 \times 10^1$ αντίγραφα/ml στο πλάσμα. Ο καθαρισμός διεξήχθη σε θυγατρικούς κλώνους ($n = 4$ για συγκεντρώσεις $\geq 1,00 \times 10^7$ αντίγραφα/ml, $n = 8$ για συγκεντρώσεις $< 1,00 \times 10^7$ αντίγραφα/ml) με χρήση του κιτ QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Cellfree1000 DSP (όγκος εκχύλισης: 1 ml, όγκος έκλουσης: 60 μ l). Καθένα από τα δείγματα αναλύθηκε με το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ. Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε ότι καλύπτει συγκεντρώσεις από $5,00 \times 10^1$ αντίγραφα/ml έως $9,26 \times 10^7$ αντίγραφα/ml για πλάσμα (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Γραμμικό εύρος του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ (πλάσμα). Υπολογισμός του γραμμικού εύρους. Η ευθεία γραμμή προσδιορίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση των \log_{10} υπολογιζόμενων συγκεντρώσεων με τις \log_{10} ονομαστικές συγκεντρώσεις. Η εξίσωση της γραμμής παλινδρόμησης περιλαμβάνεται στην εικόνα

Ανθεκτικότητα — πλάσμα

Η επικύρωση της ανθεκτικότητας επιτρέπει τον καθορισμό του συνολικού ποσοστού αποτυχίας του kit *artus* BK Virus QS-RGQ. Για την επικύρωση της ανθεκτικότητας, 30 αρνητικά ως προς τον ιό BK δείγματα πλάσματος εμβολιάστηκαν με 80 αντίγραφα/ml υλικού ιού BK (περίπου τριπλάσια συγκέντρωση από το όριο αναλυτικής ευαισθησίας). Ύστερα από εκχύλιση με χρήση του kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Cellfree1000_DSP (όγκος εκχύλισης: 1 ml, όγκος έκλουσης: 60 μl), τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα του εσωτερικού μάρτυρα αξιολογήθηκε με καθαρισμό και ανάλυση των 30 εμβολιασμένων δειγμάτων πλάσματος. Δεν παρατηρήθηκαν αναστολές. Για το λόγο αυτό, η ανθεκτικότητα του kit *artus* BK Virus QS-RGQ είναι $\geq 99\%$.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες – πλάσμα

Χολερυθρίνη, αιμοσφαιρίνη και τριγλυκερίδια δεν έδειξαν καμία παρεμβολή στο kit *artus* BK Virus QS-RGQ στις συγκεντρώσεις που παρατίθενται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Παρεμβαλλόμενες ουσίες σε δείγματα πλάσματος EDTA

Συγκέντρωση ιού BK (αντίγραφα/ml)	Παρεμβαλλόμενη ουσία		$C_{T(BKV)}$			$C_{T(BKV)IS} - C_{T(BKV)}$ μάρτυρας
	Προϊόν	Συγκέντρωση	Μέση τιμή C_T	SD	CV (%)	Απόλυτη
270	Χολερυθρίνη	30 mg/dl	33,52	0,29	0,87	0,19
	Αιμοσφαιρίνη	2 g/dl	33,63	0,33	0,97	0,07
	Τριγλυκερίδια	1 g/dl	33,56	0,14	0,42	0,15
	Λευκωματίνη	6 g/dl	34,15	0,26	0,77	0,45
	Μάρτυρας	-	33,71	0,20	0,60	-

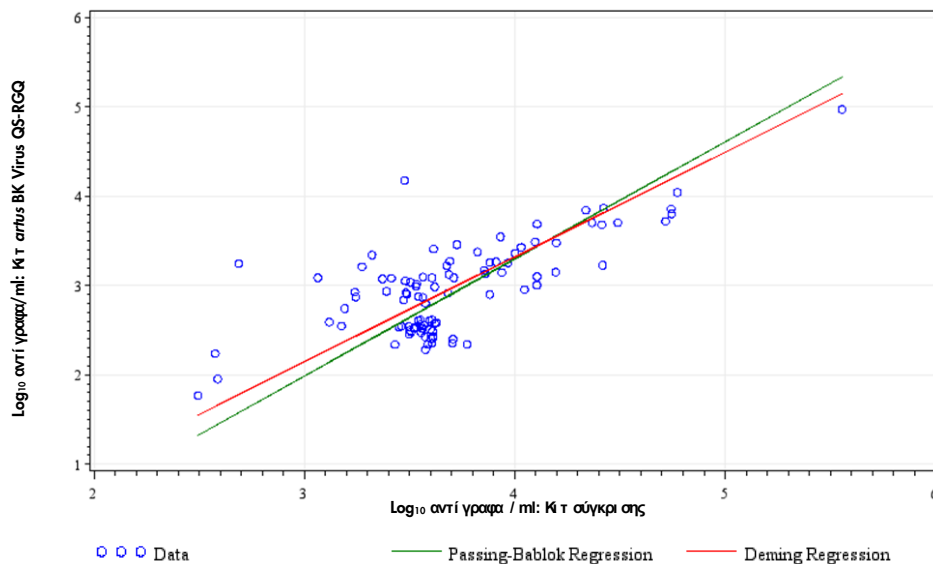
BKV: Ιός BK, CV: συντελεστής διακύμανσης, IS: παρεμβαλλόμενη ουσία, SD: τυπική απόκλιση

Κλινική αξιολόγηση – πλάσμα

Η κλινική απόδοση του kit *artus* BK Virus QS-RGQ αξιολογήθηκε εξετάζοντας κλινικά δείγματα και αναλύοντας τα ευρήματα έναντι των αποτελεσμάτων από μια συγκριτική μέθοδο. Ένα σύνολο 159 δειγμάτων πλάσματος EDTA που συλλέχθηκαν από ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό BK καθώς και από αρνητικούς μάρτυρες εξετάστηκαν με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ και τη συγκριτική μέθοδο σε ένα εξωτερικό κέντρο. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν σε δύο μέρη: το πρώτο μέρος ήταν μια ανάλυση συμφωνίας κατηγορικών δεδομένων θετικής ποσοστιαίας συμφωνίας (PPA), αρνητικής ποσοστιαίας συμφωνίας (NPA) και συνολικής ποσοστιαίας συμφωνίας (OPA), βλέπε Πίνακα 4, ενώ το δεύτερο μέρος ήταν μια ανάλυση των αποτελεσμάτων από ένα σύνολο 101 δειγμάτων πλάσματος EDTA τα οποία βρίσκονταν εντός του κοινού δυναμικού εύρους δοκιμασίας με χρήση αναλύσεων παλινδρόμησης Passing-Bablok και Deming, βλέπε Εικόνα 3.

Πίνακας 4. Δεδομένα μελέτης κλινικής απόδοσης για δείγματα πλάσματος EDTA

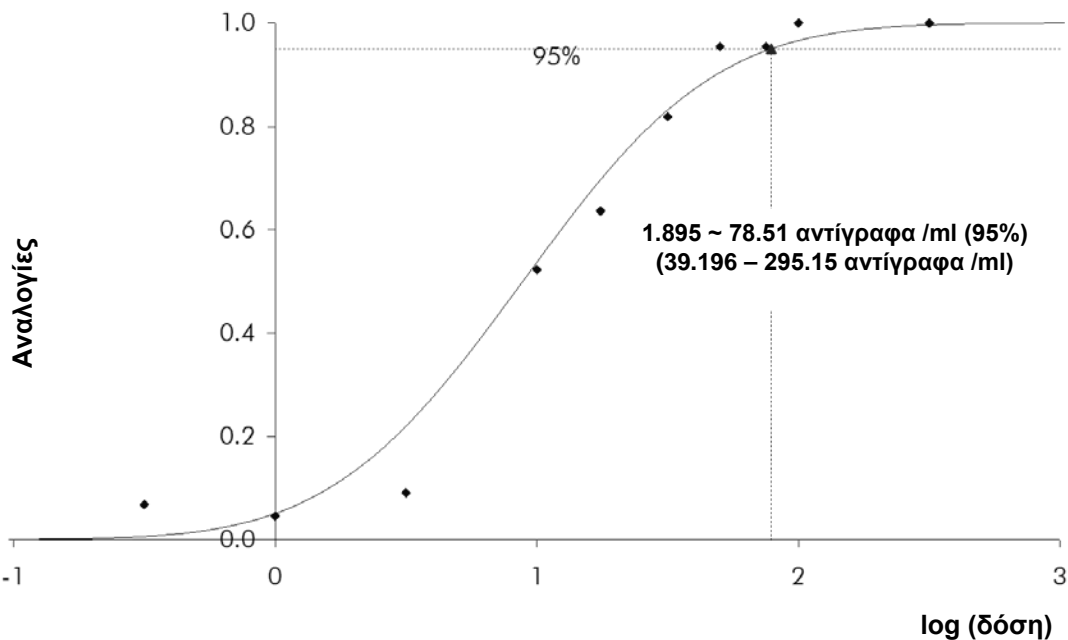
Μέτρο συμφωνίας	Συχνότητες	Ποσοστιαία συμφωνία	Clopper-Pearson (ακριβής) διωνυμική Κάτω όριο εμπιστοσύνης διπλής κατεύθυνσης 95%	Clopper-Pearson (ακριβής) διωνυμική Άνω όριο εμπιστοσύνης διπλής κατεύθυνσης 95%
Συνολική ποσοστιαία συμφωνία	159/159	100,00	97,71	100,00
Θετική ποσοστιαία συμφωνία	99/99	100,00	96,34	100,00
Αρνητική ποσοστιαία συμφωνία	60/60	100,00	94,04	100,00



Εικόνα 3. Γράφημα παλινδρόμησης με γραμμές Passing-Bablok και Deming (πλάσμα). Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν δείγματα που ήταν μεταξύ του κάτω ορίου ποσοτικοποίησης (LLOQ) και του άνω ορίου ποσοτικοποίησης (ULOQ) και για τα δύο κιτ.

Αναλυτική ευαισθησία — ούρα 800 μl

Για τα ούρα, η αναλυτική ευαισθησία σχετικά με τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ καθορίστηκε με χρήση μιας σειράς αραιώσεων υλικού του BKV από 316 σε ονομαστικά 0,316 αντίγραφα BKV/ml, με εμβολιασμό σε δείγματα ούρων. Αυτά τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εκχύλιση DNA με χρήση του κιτ QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex800 DSP (όγκος εκχύλισης: 800 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl). Καθεμιά από τις 10 αραιώσεις αναλύθηκε με το κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ σε 4 διαφορετικές ημέρες, σε 4 εκτελέσεις με 11 θυγατρικούς κλώνους έκαστη. Τα αποτελέσματα καθορίστηκαν μέσω ανάλυσης probit. Μια γραφική αναπαράσταση της ανάλυσης probit παρουσιάζεται στην Εικόνα 4. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης για τον καθαρισμό του κιτ *artus* BK Virus QS-RGQ σε συνδυασμό με το Rotor-Gene Q είναι 78,5 αντίγραφα/ml ($p = 0,05$). Αυτό σημαίνει πως υπάρχει 95% πιθανότητα ανίχνευσης 78,5 αντιγράφων/ml.



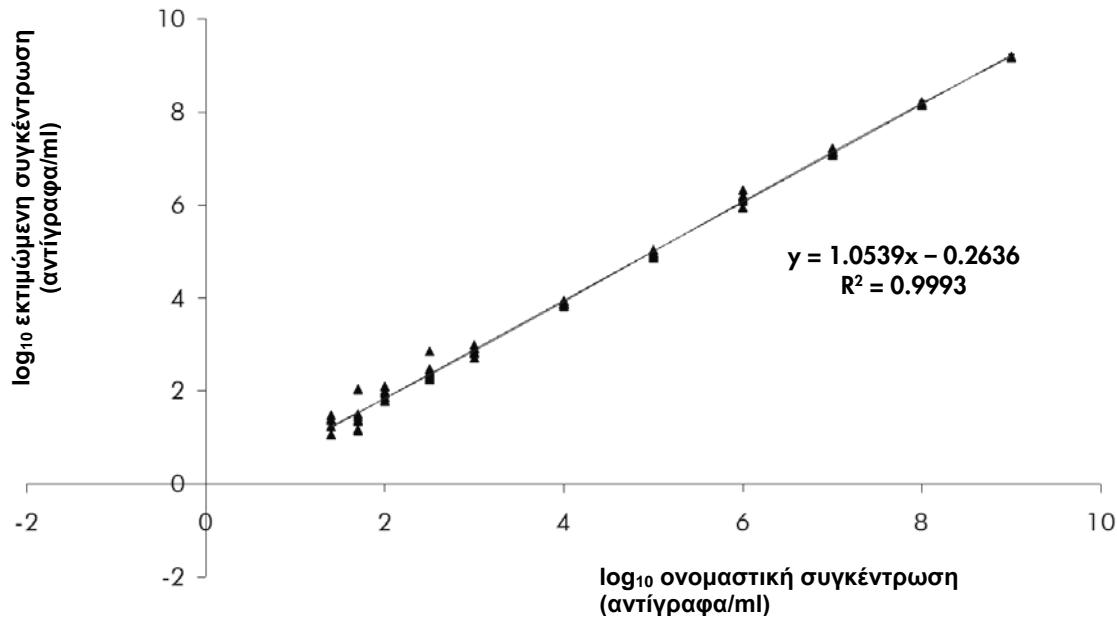
Εικόνα 4. Ανάλυση probit: ούρα 800 µl, ιός BK (Rotor-Gene Q). Αναλυτική ευαισθησία όσον αφορά στον καθαρισμό (ούρα, με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) του kit *artus* BK Virus QS-RGQ στο Rotor-Gene Q.

Ειδικότητα — ούρα 800 µl

Η ειδικότητα του kit *artus* BK Virus QS-RGQ διασφαλίζεται κατά κύριο λόγο από την επιλογή των εκκινητών και των ανιχνευτών, καθώς και από την τήρηση αυστηρών συνθηκών για την αντίδραση. Οι εκκινητές και οι ανιχνευτές ελέγχθηκαν ως προς πιθανές ομολογίες με όλες τις δημοσιευμένες ακολουθίες σε τράπεζες γονιδίων μέσω ανάλυσης σύγκρισης ακολουθιών. Η ανιχνευσιμότητα όλων των σχετικών γονότυπων διασφαλίστηκε συνεπώς με ευθυγράμμιση βάσης δεδομένων.

Γραμμικό εύρος — ούρα 800 µl

Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε με ανάλυση μιας σειράς αραιώσεων υλικού BKV από $1,00 \times 10^9$ αντίγραφα/ml έως $2,50 \times 10^1$ αντίγραφα/ml στα ούρα. Ο καθαρισμός διεξήχθη σε θυγατρικούς κλώνους ($n = 4$ για συγκεντρώσεις $\geq 1,00 \times 10^8$ αντίγραφα/ml, $n = 8$ για συγκεντρώσεις $< 1,00 \times 10^8$ αντίγραφα/ml) με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex800 DSP (όγκος εκχύλισης: 800 µl, όγκος έκλουσης: 60 µl). Καθένα από τα δείγματα αναλύθηκε με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ. Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε ότι καλύπτει συγκεντρώσεις από $1,00 \times 10^2$ αντίγραφα/ml έως $1,00 \times 10^9$ αντίγραφα/ml για ούρα (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Γραμμικό εύρος του kit *artus BK Virus QS-RGQ* (ούρα 800 μl). Υπολογισμός του γραμμικού εύρους. Η ευθεία γραμμή προσδιορίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση των log₁₀ υπολογιζόμενων συγκεντρώσεων με τις log₁₀ ονομαστικές συγκεντρώσεις. Η εξίσωση της γραμμής παλινδρόμησης περιλαμβάνεται στην εικόνα.

Ανθεκτικότητα — ούρα 800 μl

Η επικύρωση της ανθεκτικότητας επιτρέπει τον καθορισμό του συνολικού ποσοστού αποτυχίας του kit *artus BK Virus QS-RGQ*. Για την επικύρωση της ανθεκτικότητας, 30 αρνητικά ως προς τον ιό BK δείγματα ούρων εμβολιάστηκαν με 236 αντίγραφα/ml υλικού ιού BK (περίπου τριπλάσια συγκέντρωση από το όριο αναλυτικής ευαισθησίας). Ύστερα από εκχύλιση με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex800_DSP (όγκος εκχύλισης: 800 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl), τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με το kit *artus BK Virus QS-RGQ*. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα του εσωτερικού μάρτυρα αξιολογήθηκε με καθαρισμό και ανάλυση των 30 εμβολιασμένων δειγμάτων ούρων. Δεν παρατηρήθηκαν αναστολές. Για το λόγο αυτό, η ανθεκτικότητα του kit *artus BK Virus QS-RGQ* είναι $\geq 99\%$.

Ακρίβεια — ούρα 800 μl

Τα δεδομένα ακρίβειας για τον καθαρισμό του kit *artus BK Virus QS-RGQ* συλλέχθηκαν με χρήση υλικού BKV σε συγκέντρωση $1,125 \times 10^3$ αντίγραφα/ml με εμβολιασμό σε δείγματα ούρων. Η δοκιμασία εκτελέστηκε με το kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex800 (όγκος εκχύλισης: 800 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl). Η δοκιμασία εκτελέστηκε σε 36 θυγατρικούς κλώνους

με χρήση ενός πίνακα διαφόρων παρτίδων του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen και του kit *artus* BK Virus QS-RGQ. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η γενική στατιστική διασπορά οποιουδήποτε δείγματος με την αναφερθείσα συγκέντρωση είναι 0,97% (C_T) ή 28,42% (συγκέντρωση) και 2,61% (C_T) για την ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα (Πίνακες 5 και 6). Αυτές οι τιμές βασίζονται στο σύνολο όλων των μεμονωμένων τιμών των καθορισμένων μεταβλητοτήτων όσον αφορά στον καθαρισμό

Πίνακας 5. Δεδομένα ακρίβειας (συνολική διασπορά) με βάση τις τιμές C_T

	Τυπική απόκλιση	Διασπορά	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Ιός BK ($1,125 \times 10^3$ αντίγραφα/ml)	32,32	0,31	0,97
Εσωτερικός μάρτυρας (Ιός BK, $1,125 \times 10^3$ αντίγραφα/ml)	25,09	0,65	2,61

Πίνακας 6. Δεδομένα ακρίβειας (συνολική διασπορά) με βάση τα ποσοτικά αποτελέσματα (σε αντίγραφα/ml)

	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Ιός BK ($1,125 \times 10^3$ αντίγραφα/ml)	7.98×10^2	2.27×10^2	28,42

Παρεμβαλλόμενες ουσίες – ούρα 800 μl

Έλεγχοι παρεμβολής διενεργήθηκαν σε επιλεγμένες ενδογενείς ουσίες. Δεν παρατηρήθηκε παρεμβολή στο kit *artus* BK Virus QS-RGQ για τις ουσίες που παρατίθενται στον Πίνακα 7 στις αναφερόμενες συγκεντρώσεις.

Πίνακας 7. Παρεμβαλλόμενες ουσίες σε δείγματα πλάσματος EDTA

Συγκέντρωση ιού BK (αντίγραφα/ml)	Παρεμβαλλόμενη ουσία		Μέση τιμή C_T	$C_{T(BKV)}$		ΔC_{TIS} – Μάρτυρας
	Προϊόν	Συγκέντρωση		SD	CV (%)	Απόλυτη
785	Πρωτεΐνη (HAS)	1 mg/ml	32,71	0,45	1,38	-0,19
	Γλυκόζη	10 mg/ml	32,56	0,12	0,37	-0,34
	gDNA	35 ng/δείγμα	32,89	0,31	0,94	-0,02
	gDNA	350 ng/δείγμα	32,86	0,22	0,67	-0,05
	Ερυθροκύτταρα	10 μg/δείγμα	32,16	1,36	4,22	-0,75
	Μάρτυρας	-	32,91	0,57	1,72	-

BKV: Ιός BK, CV: συντελεστής διακύμανσης, gDNA: γονιδιωματικό DNA, IS: παρεμβαλλόμενη ουσία, SD: τυπική απόκλιση

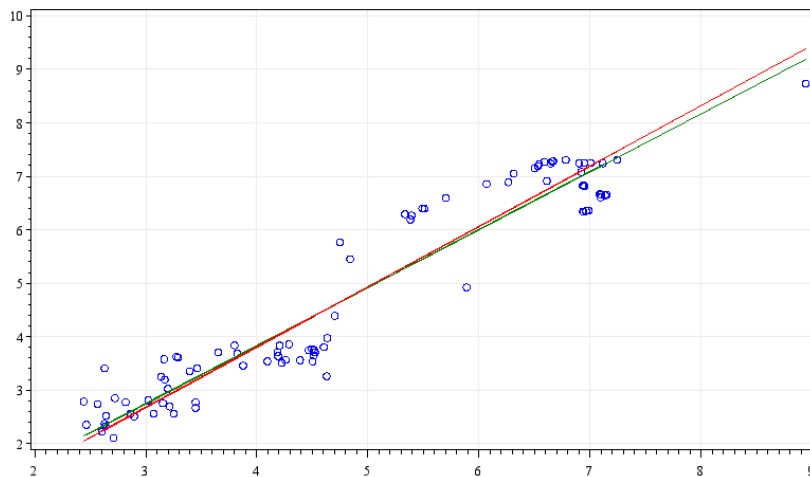
Κλινική αξιολόγηση – ούρα 800 μl

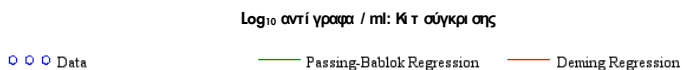
Η κλινική απόδοση του kit *artus* BK Virus QS-RGQ αξιολογήθηκε εξετάζοντας κλινικά δείγματα και αναλύοντας τα ευρήματα έναντι των αποτελεσμάτων από μια συγκριτική μέθοδο. Ένα σύνολο 154 δειγμάτων ούρων που συλλέχθηκαν από ασθενείς με λοίμωξη από τον ιό BK καθώς και από αρνητικούς μάρτυρες εξετάστηκαν με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ και τη συγκριτική μέθοδο σε ένα εξωτερικό κέντρο. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν σε δύο μέρη: το πρώτο μέρος ήταν μια ανάλυση συμφωνίας κατηγορικών δεδομένων PPA, NPA και OPA, βλέπε Πίνακα 8, ενώ το δεύτερο μέρος ήταν μια ανάλυση των αποτελεσμάτων από ένα σύνολο 90 δειγμάτων ούρων τα οποία βρισκονταν εντός του κοινού δυναμικού εύρους δοκιμασίας με χρήση αναλύσεων παλινδρόμησης Passing-Bablok και Deming, βλέπε Εικόνα 6.

Πίνακας 8. Δεδομένα μελέτης κλινικής απόδοσης για δείγματα ούρων

Μέτρο συμφωνίας	Συχνότητες	Ποσοστιαία συμφωνία	Clopper-Pearson (ακριβής) διωνυμική Κάτω όριο εμπιστοσύνης διπλής κατεύθυνσης 95%	Clopper-Pearson (ακριβής) διωνυμική Άνω όριο εμπιστοσύνης διπλής κατεύθυνσης 95%
Συνολική ποσοστιαία συμφωνία	150/154	97,40	93,48	99,29
Θετική ποσοστιαία συμφωνία	97/100	97,00	91,48	99,38
Αρνητική ποσοστιαία συμφωνία	53/54	98,15	90,11	99,95

Σημείωση: Στον Πίνακα 8, ασυμφωνίες στα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν μόνο με δείγματα που περιείχαν ιικά φορτία κοντά στο όριο ανίχνευσης (LOD).

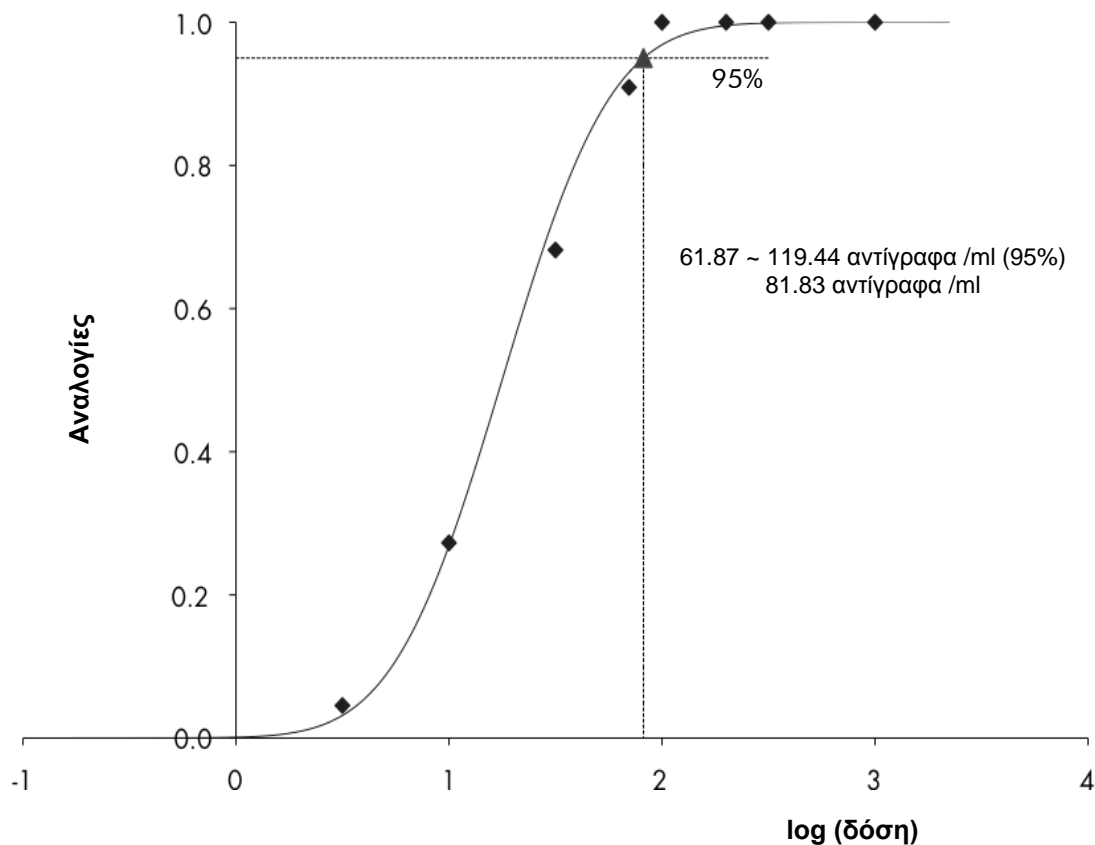




Εικόνα 6. Γράφημα παλινδρόμησης με γραμμές Passing-Bablok και Deming (ούρα). Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν δείγματα που ήταν μεταξύ του κάτω ορίου ποσοτικοποίησης (LLOQ) και του άνω ορίου ποσοτικοποίησης (ULOQ) και για τα δύο kit.

Αναλυτική ευαισθησία — ούρα 400 μl

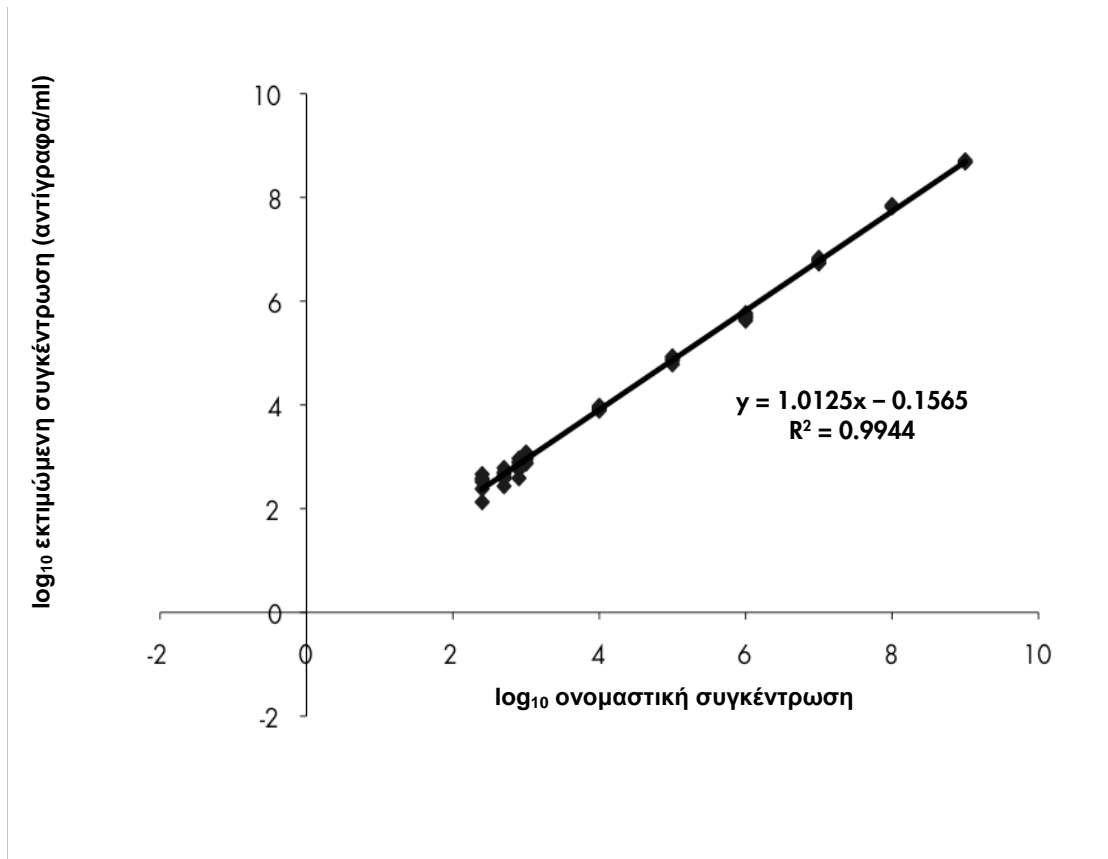
Για τα ούρα, η αναλυτική ευαισθησία σχετικά με τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ καθορίστηκε με χρήση μιας σειράς αραιώσεων υλικού BKV από 1.000 σε ονομαστικά 3,16 αντίγραφα BKV/ml, με εμβολιασμό σε δείγματα ούρων. Αυτά τα δείγματα υποβλήθηκαν σε εκχύλιση DNA με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex400 DSP (όγκος εκχύλισης: 400 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl). Καθεμιά από τις 8 αραιώσεις αναλύθηκε με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ σε 4 διαφορετικές ημέρες, σε 4 εκτελέσεις με 11 θυγατρικούς κλώνους έκαστη. Τα αποτελέσματα καθορίστηκαν μέσω ανάλυσης probit. Μια γραφική αναπαράσταση της ανάλυσης probit παρουσιάζεται στην Εικόνα 7. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης για τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ σε συνδυασμό με το Rotor-Gene Q είναι 81,83 αντίγραφα/ml ($p = 0,05$). Αυτό σημαίνει πως υπάρχει 95% πιθανότητα ανίχνευσης 81,83 αντιγράφων/ml.



Εικόνα 7. Ανάλυση probit: ούρα 400 μl, ιός BK (Rotor-Gene Q). Αναλυτική ευαισθησία όσον αφορά στον καθαρισμό (ούρα, με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) του kit *artus* BK Virus QS-RGQ στο Rotor-Gene Q

Γραμμικό εύρος — ούρα 400 μl

Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε με ανάλυση μιας σειράς αραιώσεων υλικού BKV από $1,00 \times 10^9$ αντίγραφα/ml έως $2,50 \times 10^1$ αντίγραφα/ml στα ούρα. Ο καθαρισμός διεξήχθη σε θυγατρικούς κλώνους ($n = 4$ για συγκεντρώσεις $\geq 1,00 \times 10^8$ αντίγραφα/ml, $n = 8$ για συγκεντρώσεις $< 1,00 \times 10^8$ αντίγραφα/ml) με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex400 DSP (όγκος εκχύλισης: 400 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl). Καθένα από τα δείγματα αναλύθηκε με το kit *artus* BK Virus QS-RGQ. Το γραμμικό εύρος για τον καθαρισμό του kit *artus* BK Virus QS-RGQ προσδιορίστηκε ότι καλύπτει συγκεντρώσεις από $2,5 \times 10^2$ αντίγραφα/ml έως $1,00 \times 10^9$ αντίγραφα/ml για ούρα (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Γραμμικό εύρος του kit *artus BK Virus QS-RGQ* (ούρα 400 μl). Υπολογισμός του γραμμικού εύρους. Η ευθεία γραμμή προσδιορίστηκε με γραμμική παλινδρόμηση των \log_{10} υπολογιζόμενων συγκεντρώσεων με τις \log_{10} ονομαστικές συγκεντρώσεις. Η εξίσωση της γραμμής παλινδρόμησης περιλαμβάνεται στην εικόνα.

Ανθεκτικότητα — ούρα 400 μl

Η επικύρωση της ανθεκτικότητας επιτρέπει τον καθορισμό του συνολικού ποσοστού αποτυχίας του kit *artus BK Virus QS-RGQ*. Για την επικύρωση της ανθεκτικότητας, 30 αρνητικά ως προς τον ιό BK δείγματα ούρων εμβολιάστηκαν με 245 αντίγραφα/ml υλικού ιού BK (περίπου τριπλάσια συγκέντρωση από το όριο αναλυτικής ευαισθησίας). Ύστερα από εκχύλιση με χρήση του kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi σε συνδυασμό με το πρωτόκολλο Complex400 DSP (όγκος εκχύλισης: 400 μl, όγκος έκλουσης: 60 μl), τα δείγματα αυτά αναλύθηκαν με το kit *artus BK Virus QS-RGQ*. Επιπλέον, η ανθεκτικότητα του εσωτερικού μάρτυρα αξιολογήθηκε με καθαρισμό και ανάλυση των 30 εμβολιασμένων δειγμάτων ούρων. Δεν παρατηρήθηκαν αναστολές. Για το λόγο αυτό, η ανθεκτικότητα του kit *artus BK Virus QS-RGQ* είναι $\geq 99\%$.

Ακρίβεια

Τα δεδομένα ακρίβειας του kit *artus* BK Virus QS-RGQ παρέχουν τη δυνατότητα καθορισμού της ολικής διακύμανσης του προσδιορισμού. Η ολική διασπορά αποτελείται από τη μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων δειγμάτων της ίδιας συγκέντρωσης, στα πλαίσια ενός πειράματος), τη μεταβλητότητα μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων του προσδιορισμού που παρήχθησαν σε διαφορετικά όργανα του ίδιου τύπου από διαφορετικούς χειριστές εντός του ίδιου εργαστηρίου) και τη μεταβλητότητα μεταξύ των παρτίδων (μεταβλητότητα πολλαπλών αποτελεσμάτων του προσδιορισμού με χρήση περισσότερων παρτίδων). Τα ληφθέντα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό της τυπικής απόκλισης, της διασποράς και του συντελεστή διακύμανσης για το ειδικό παθογόνο και την PCR εσωτερικού μάρτυρα.

Τα αναλυτικά δεδομένα ακρίβειας του kit *artus* BK Virus QS-RGQ (χωρίς εξέταση του καθαρισμού) συλλέχθηκαν με χρήση του πρότυπου ποσοτικοποίησης της χαμηλότερης συγκέντρωσης (QS 4, 10 αντίγραφα/μl). Η δοκιμασία εκτελέστηκε με 8 θυγατρικούς κλώνους. Τα δεδομένα ακρίβειας υπολογίστηκαν με βάση τις τιμές C_T των καμπυλών ενίσχυσης (C_T : κύκλος κατωφλίου, βλ. Πίνακα 9) Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, η γενική στατιστική διασπορά οποιουδήποτε δείγματος με την αναφερθείσα συγκέντρωση είναι 2,11% (C_T) και 3,59% (C_T) για την ανίχνευση του εσωτερικού μάρτυρα. Αυτές οι τιμές βασίζονται στο σύνολο όλων των μεμονωμένων τιμών της καθορισμένης μεταβλητότητας

Πίνακας 9. Δεδομένα ακρίβειας με βάση τις τιμές C_T

	Τιμή C_T	Τυπική απόκλιση	Συντελεστής διακύμανσης (%)
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: BK Virus RG QS 4	29,45	0,17	0,56
Μεταβλητότητα εντός του προσδιορισμού: Εσωτερικός μάρτυρας	24,31	0,12	0,49
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: BK Virus RG QS 4	29,42	0,25	0,85
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Εσωτερικός μάρτυρας	23,30	0,77	3,30
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: BK Virus RG QS 4	30,31	0,64	2,10
Μεταβλητότητα μεταξύ προσδιορισμών: Εσωτερικός μάρτυρας	22,53	0,40	1,78
Συνολική διασπορά: BK Virus RG QS 4	29,80	0,63	2,11
Συνολική διασπορά: Εσωτερικός μάρτυρας	23,12	0,83	3,59

Αναπαραγωγικότητα

Τα δεδομένα αναπαραγωγικότητας παρέχουν τη δυνατότητα τακτικής αξιολόγησης της απόδοσης του kit *artus* BK Virus QS-RGQ καθώς και μία σύγκριση της αποτελεσματικότητας με άλλα προϊόντα. Αυτά τα δεδομένα λαμβάνονται από τη συμμετοχή σε καθιερωμένα προγράμματα επάρκειας.

Διασταυρούμενη μόλυνση

Η απουσία διασταυρούμενης μόλυνσης μεταξύ δειγμάτων για τη συνολική ροή εργασίας αποδείχθηκε με την ενδεδειγμένη ανίχνευση όλων των γνωστών θετικών και αρνητικών δειγμάτων σε εναλλάξ θέσεις (διάταξη τύπου σκακιέρας) για ένα αντιπροσωπευτικό σύστημα *artus* QS-RGQ

Σχετικά προϊόντα και πληροφορίες παραγγελιών παρατίθενται στο εγχειρίδιο για το kit *artus* BKV QS-RGQ

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Τα εγχειρίδια και οι οδηγίες χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στη διεύθυνση www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Όμιλος QIAGEN)· ATCC® (American Type Culture Collection)· Acrometrix® (Life Technologies). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισμαίνονται ειδικά ως τέτοια. 09/2015 HB-0399-D01-002.
© 2012–2015 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com
