Sada *artus*® HBV QS-RGQ

Výkonnostní charakteristiky

Sada *artus* HBV QS-RGQ, verze 1, REF 4506363, 4506366

CE 0197

Před samotným testem si ověřte dostupnost nových revizí elektronického značení na adrese www.qiagen.com/products/artushbvrgpcrkitce.aspx. Současný stav revize je vyznačen datem vydání (formát: měsíc/rok).

Analytická senzitivita — plazma

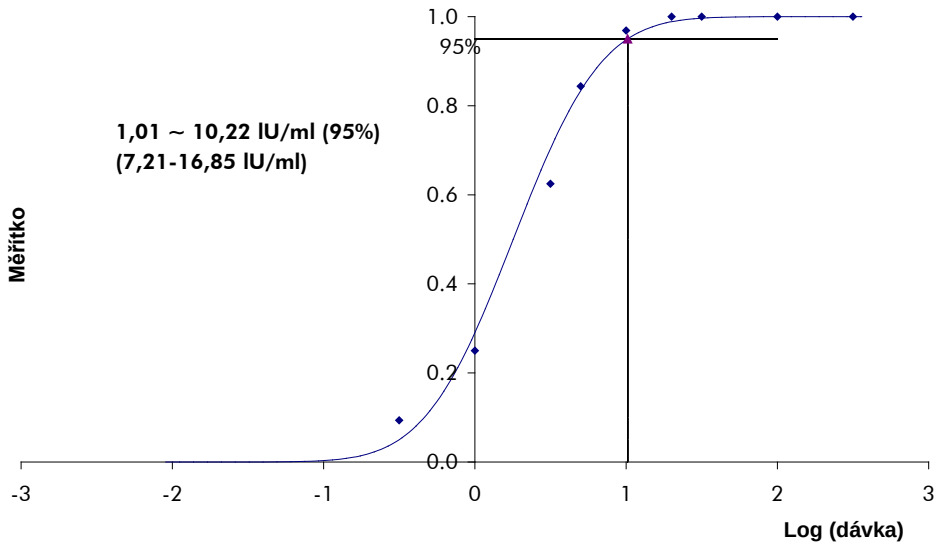
Analytický limit detekce s ohledem na izolaci (limit senzitivity) byl pro soupravu sadu *artus* HBV QS-RGQ určen na základě HBV pozitivních klinických vzorků v kombinaci s extrakcí na přístroji QIAsymphony® SP.

Analytická citlivost, když se vezme v úvahu čištění sady *artus* HBV QS-RGQ, byla stanovena pomocí řady ředění 2. mezinárodního standardu WHO pro amplifikační techniky DNA nukleové kyseliny viru hepatitidy B (NIBSC, kód 97/750) od 316 po jmenovitých 0,316 HBV IU/ml s přídavkem v klinických vzorcích plazmy. Tyto vzorky byly podrobeny izolaci DNA pomocí sady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaci s protokolem Cellfree1000 (extrakční objem: 1 ml, eluční objem: 60 µl). Každé ředění z celkově 9 bylo za užití sady *artus* HBV QS-RGQ analyzováno ve 4 bězích ve 4 různých dnech formou osminásobných určení. Výsledky byly zjištěny probitovou analýzou. Grafické znázornění probitové analýzy naleznete v obrázku 1. Mez analytické detekce, když se vezme v úvahu čištění sady *artus* HBV QS-RGQ, v kombinaci s přístrojem Rotor-Gene Q je 10,22 IU/ml (p = 0,05). To znamená, že bude s 95 % pravděpodobností detekováno 10,22 IU/ml.

Květen 2012

QIAGEN®

Sample & Assay Technologies



Obrázek 1. Probitová analýza: plazma, HBV (Rotor-Gene Q). Analytická senzitivita s ohledem na izolaci (plazma, za užití midisady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen) sady *artus* HBV QS-RGQ na přístroji Rotor-Gene Q.

Specificita — plazma

Specificita sady *artus* HBV QS-RGQ je v první řadě zaručena výběrem primerů a sond, jakož i volbou nejpřísnějších reakčních podmínek. Primery a sondy byly na základě sekvenční analýzy přezkoušeny na eventuální homologie se všemi sekvencemi publikovanými v genových bankách. Detekovatelnost všech relevantních genotypů tak byla zajištěna sladěním databáze a pomocí běhu PCR na přístrojích Rotor-Gene s následujícími genotypy (viz tabulka 1).

Tabulka 1. Testování specificity relevantních kmenů

Virus	Genotyp	Zdroj	BK Virus (Cycling Green)	Interní kontrola (Cycling Yellow)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonésie)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonésie)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Pobřeží slonoviny	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nikaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA.

Pro další testování specificity se používají kmeny HBV se známými rozdíly v sekvenci v regionu před jádrem genomu HBV (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, USA). Všech 9 kmenů mutantů před jádrem tohoto panelu by bylo možné detekovat pomocí sady *artus* HBV QS-RGQ.

Specificita byla navíc validováno pomocí 100 různých vzorků plazmy HBV negativních. Ty negenerovaly žádné signály s HBV specifickými priméry a sondami, které jsou začleněny do masteru HBV RG/TM.

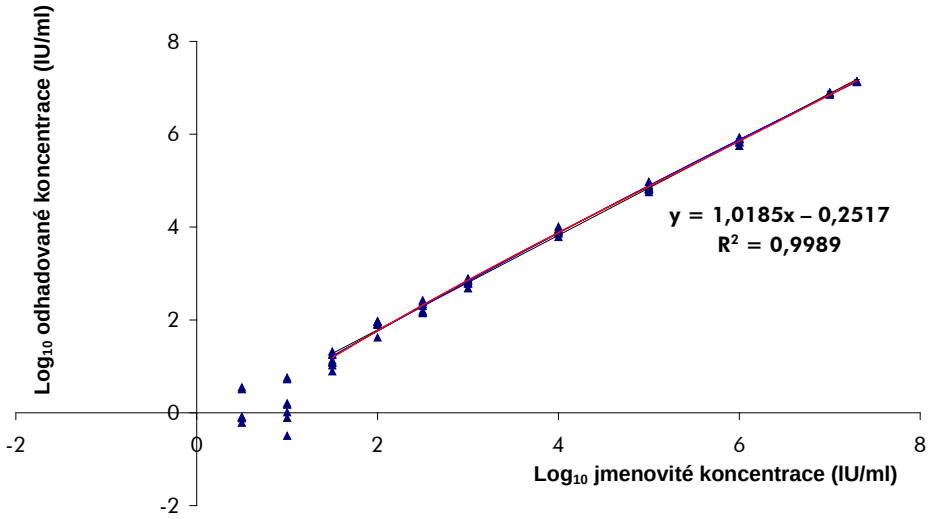
Potenciální křížová reaktivita sada *artus* HBV QS-RGQ byla testována pomocí kontrolní skupiny uvedené v tabulce 2. Žádný z testovaných původců nebyl reaktivní. Při smíšených infekcích se nevyskytly žádné křížové reaktivity.

Tabulka 2. Testování specificity diagnostické soupravy pomocí potenciálně křížově reaktivních patogenů

Kontrolní skupina	HBV (Cycling Green)	Interní kontrola (Cycling Yellow)
Lidský herpesvirus 1 (herpes simplex virus 1)	–	+
Lidský herpesvirus 2 (herpes simplex virus 2)	–	+
Lidský herpesvirus 3 (varicella-zoster virus)	–	+
Lidský herpesvirus 4 (virus Epsteina a Barrové)	–	+
Lidský herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	–	+
Lidský herpesvirus 6	–	+
Virus lidské imunodeficience 1	–	+
Virus hepatitidy A	–	+
Virus hepatitidy C	–	+
Parvovirus B19	–	+
Virus žluté horečky	–	+
Virus lidské T-buněčné leukémie typ 1 a typ 2	–	+
Coxsackie virus B3	–	+
Dengue virus 1–4	–	+
Escherichia coli	–	+

Lineární rozsah

Lineární oblast kvantifikace s ohledem na izolaci sady *artus* HBV QS-RGQ byla určena analýzou řady ředění materiálu standardu Acrometrix® HBV v rozsahu od 2,00 x 10^7 IU/ml do 3,16 x 10^0 IU/ml. Izolace byla provedena v replikátech (n = 4 pro koncentrace ≥1,00 x 10^7 IU/ml; n = 8 pro koncentrace <1,00 x 10^7 IU/ml) za užití sady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaci s Cellfree1000 protokolem (extrakční objem: 1 ml, eluční objem: 60 µl). Všechny vzorky byly analyzovány pomocí sady *artus* HBV QS-RGQ. Lineární oblast kvantifikace s ohledem na izolaci sady *artus* HBV QS-RGQ se vztahuje na koncentrace od 3,16 x10^1 IU/ml do 2,00 x 10^7 IU/ml pro plnou krev (obrázek 2).



Obrázek 2. Lineární rozsah sady *artus* HBV QS-RGQ. Výpočet lineární oblasti kvantifikace. Přímka byla stanovena lineární regresí $\log_{10}$ vypočítaných koncentrací s $\log_{10}$ nominálními koncentracemi. Rovnice regresních přímek je zahrnuta v obrázku.

Přesnost

Údaje o přesnosti sady *artus* HBV QS-RGQ umožňují stanovení celkové variability testovacího systému. Tato celková variabilita se skládá z intraassay variability (variabilita výsledků vzorků stejné koncentrace v rámci jednoho pokusu), z interassay variability (variabilita výsledků rozboru generovaných na různých přístrojích stejného typu a provedených různými osobami v jedné laboratoři) a z interbatch variability (variabilita výsledků rozboru za užití různých šarží). Získaná data byla použita k vypočítání standardní odchylky, variance a koeficientu variace jak pro specifickou PCR původce, tak i pro PCR interní kontroly.

Analytické údaje o přesnosti sady *artus* HBV QS-RGQ (bez ohledu na izolaci) byly stanoveny pomocí kvantifikačního standardu s nejnižší koncentrací (QS 5; 10 IU/µl). Experimenty byly provedeny formou osminásobných určení. Data o přesnosti byla vypočítána na základě C_T hodnot amplifikačních křivek (C_T: prahový cyklus, viz tabulka 3).

Tabulka 3. Data o přesnosti na základě hodnot C_T

	Směrodatná odchylka	Variance	Koeficient variace (%)
Variabilita v rámci jednoho pokusu: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilita v rámci jednoho pokusu: Interní kontrola	0,10	0,01	1,06
Variabilita mezi různými pokusy: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilita mezi různými pokusy: Interní kontrola	0,29	0,08	1,00
Variabilita mezi různými pokusy: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilita mezi různými šaržemi: Interní kontrola	0,62	0,39	2,23
Celková variabilita: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Celková variabilita: Interní kontrola	0,52	0,27	1,87

Údaje o přesnosti pro kvantitativní výsledky v IU/µl byly určeny pomocí odpovídajících C_T hodnot (tabulka 4). Na základě těchto výsledků činí celkový statistický rozptyl libovolného vzorku uvedené koncentrace 1,29 % (C_T) resp. 8,99 % (koncentrace), a 1,87 % (C_T) pro průkaz interní kontroly. Tyto hodnoty se zakládají na souhrnu všech dílčích hodnot zjištěných variabilit.

Tabulka 4. Údaje o přesnosti na základě kvantitativních výsledků (v IU/µl)

	Směrodatná odchylka	Variance	Koeficient variace (%)
Variabilita v rámci jednoho pokusu: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilita mezi různými pokusy: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilita mezi různými šaržemi: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Celková variabilita: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Přesnost — plazma

Údaje o přesnosti při zvážení čištění sady *artus* HBV QS-RGQ byly získány pomocí standardního materiálu Acrometrix HBV o koncentraci 1,00 x 10^3 IU/ml s přídavkem v klinických vzorcích plazmy. Testování bylo provedeno pomocí sady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaci s protokolem Cellfree1000 (extrakční objem: 1 ml, eluční objem: 60 µl). Testování bylo provedeno na 36 replikacích pomocí matice různých šarží sady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen a sady *artus* HBV QS-RGQ. Na základě těchto výsledků činí celkový statistický rozptyl libovolného vzorku uvedené koncentrace 1,22 % (C_T) resp. 20,56 % (koncentrace), a 1,29 % (C_T) pro průkaz interní kontroly (tabulky 5 a 6). Tyto hodnoty se zakládají na souhrnu všech dílčích hodnot zjištěných variabilit při zvážení čištění.

Tabulka 5. Data o přesnosti (celková variance) na základě hodnot C_T

	Směrodatná odchylka	Variance	Koeficient variace (%)
Standard Acrometrix HBV (1,00 x 10^3 IU/ml)	0,37	0,13	1,22
Interní kontrola (HBV, 1,00 x 10^3 IU/ml)	0,37	0,14	1,29

Tabulka 6. Údaje o přesnosti (celková variance) na základě kvantitativních výsledků (v IU/ml)

	Průměr	Směrodatná odchylka	Koeficient variace (%)
Standard Acrometrix HBV ($1{,}00 \times 10^3$ IU/ml)	$1{,}12 \times 10^3$	$2{,}29 \times 10^2$	20,56

Robustnost

Přezkoušení robustnosti slouží k stanovení celkové četnosti chyb sady *artus* HBV QS-RGQ. Za tímto účelem bylo 100 HBV negativních vzorků plazmy smíseno se 30 IU/ml HBV (cca třínásobná koncentrace analytického limitu senzitivity). Po izolaci pomocí sady QIAsymphony DSP Virus/Pathogen v kombinaci s protokolem Cellfree1000_DSP pro plazmu (extrakční objem: 1 ml, eluční objem: 60 µl), byly tyto vzorky analyzovány pomocí sady *artus* HBV QS-RGQ. Robustnost interní kontroly byla přezkoušena izolací a analýzou 100 smísených vzorků plazmy. Inhibice nebyly pozorovány. Robustnost soupravy *artus* HBV QS-RGQ činí tedy ≥99 %.

Reprodukovatelnost

Údaje o reprodukovatelnosti jsou pořizovány za účelem pravidelného hodnocení výkonnosti sady *artus* HBV QS-RGQ a výkonnostního srovnání s ostatními produkty. Tyto údaje jsou získávány na základě účastí v uznávaných programech pro výkonnostní hodnocení.

Křížové kontaminace

Nepřítomnost křížových kontaminací mezi vzorky po dobu celého pracovního procesu byla pro reprezentativní systém *artus* QS-RGQ prokázaná správnou detekcí všech známých pozitivních a negativních vzorků ve střídajících se pozicích (šachovnicové rozmístění).

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro sadu QIAGEN nebo příručce uživatele. Příručky a uživatelské návody sady QIAGEN jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat u Technických služeb QIAGEN nebo svého lokálního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, QIAsymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); Acrometrix® (Life Technologies).

Květen-12 © 2012 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

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