

artus[®] HCV QS-RGQ Kit

Leistungsmerkmale

artus HCV QS-RGQ Kit, Version 1, REF 4518363, 4518366

Angaben zur Version

Dieses Dokument sind die artus HCV QS-RGQ Kit Leistungsmerkmale, Version 1, R3.



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/products/artushcvcrgpckitce.aspx.

Nachweisgrenze (LOD)

Die Nachweisgrenze (LOD) unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Sensitivitätsgrenze) wurde für den artus HCV QS-RGQ Kit anhand HCV-positiver klinischer Proben zusammen mit der Extraktion auf dem QIAasymphony[®] SP bestimmt.

Zur Bestimmung der LOD des artus HCV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde eine Verdünnungsreihe mit einem HCV-Standard von Acrometrix[®] (der Standard wurde nach dem 2nd International Standard der WHO kalibriert) von 150 bis nominal 0,316 HCV-IU/ml in klinischen Plasmaproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits aus diesen Proben die RNA nach dem Protokoll Cellfree1000 isoliert (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 8 Verdünnungsstufen wurde an 4 verschiedenen Tagen in 4 Analyseläufen mit jeweils bis zu 15 Replikaten unter Verwendung des artus HCV QS-RGQ Kits analysiert. Der LOD-Wert wurde durch eine Probit-Analyse bestimmt und mit zusätzlichen Chargen des QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits und artus HCV QS-RGQ Kits bei 20 IU/ml verifiziert (analysiert an 4 verschiedenen Tagen in 4 Läufen mit 15 Replikaten pro Lauf). Die Trefferraten des Probit-Experiments und des Verifizierungsexperiments werden in Tabelle 1 gezeigt. Demzufolge liegt für den artus HCV QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene Q die LOD unter Berücksichtigung der Aufreinigung mit Probit-Analyse bei 21 IU/ml ($p = 0,05$, 95 % Vertrauensbereich von 16 - 33 IU/ml). Dies bedeutet, dass 21 IU/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können.

Januar 2014



Sample & Assay Technologies

Tabelle 1. Analyse der Trefferraten für HCV-LOD-Studie (Daten wurden verwendet für Studie der Probit-Analyse und Verifizierung)

HCV-Titer (IU/ml)	Gesamtzahl Replikate	Gesamtzahl positiver Ergebnisse	Prozentanteil positiver Ergebnisse
Probit-Analyse			
150	12	12	100
100	12	12	100
50	12	12	100
30	32	32	100
20	60	59	98
15	60	51	85
5	60	40	67
0,316	57	3	5
Verifizierung			
20	60	57	95,00

Spezifität

Die Spezifität des *artus* HCV QS-RGQ Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichs-Analyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Die Nachweisbarkeit aller relevanten Genotypen wurde sowohl durch ein Datenbank-Alignment als auch durch eine PCR auf dem Rotor-Genen mit den folgenden Genotypen (siehe Tabelle 2) sichergestellt.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 100 verschiedenen HCV-negativen Plasmaproben. Bei diesen wurde mit den HCV-spezifischen Primern und Sonden, die in den Hepatitis C Virus RG Mastern enthalten sind, kein Signal erzeugt.

Für die Überprüfung einer potentiellen Kreuzreaktivität des *artus* HCV QS-RGQ Kits wurde die in Tabelle 3 aufgeführte Gruppe von Kontrollen untersucht (Seite 4). Bei keinem der getesteten Erreger trat eine Reaktion auf. Bei Mischinfektionen traten keine Kreuzreaktivitäten auf.

Tabelle 2. Spezifitätstest relevanter Genotypen

Virus	Genotyp	Quelle	HCV (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Orange)
Hepatitis- C-Virus	1	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+
Hepatitis- C-Virus	2	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+
Hepatitis- C-Virus	3	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+
Hepatitis- C-Virus	4	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+
Hepatitis- C-Virus	5	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+
Hepatitis- C-Virus	6	NIBSC, HemaCare, Universität Essen	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire (Nationales Institut für biologische Normen und Kontrolle), Großbritannien.

Tabelle 3. Spezifitätstestung des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen

Kontrollgruppe	HCV (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Orange)
Humanes Immundefizienz-Virus 1	–	+
Hepatitis-A-Virus	–	+
Hepatitis-B-Virus	–	+
Humanes Herpesvirus 1 (Herpes-simplex-Virus 1)	–	+
Humanes Herpesvirus 2 (Herpes-simplex-Virus 2)	–	+
Humanes Herpesvirus 3 (Varicella-Zoster-Virus)	–	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	–	+
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1 und Typ 2	–	+
Humanes Herpesvirus 6A	–	+
Humanes Herpesvirus 6B	–	+
Humanes Herpesvirus 8 (Kaposi-Sarkom-assoziertes Herpesvirus)	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Dengue-Fieber	–	+
Gelbfieber	–	+
<i>Aspergillus flavus</i>	–	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	–	+
<i>Candida albicans</i>	–	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	–	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	–	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	–	+

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite

Tabelle 3. (Fortsetzung)

Kontrollgruppe	HCV (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Orange)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	–	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+

Linearer Bereich der Quantifizierung

Der lineare Bereich der Quantifizierung unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für den *artus* HCV QS-RGQ Kit bestimmt durch Analyse einer Verdünnungsreihe eines HCV-Standards von Acrometrix über einen Konzentrationsbereich von $1,77 \times 10^7$ IU/ml bis $2,50 \times 10^1$ IU/ml. Die Aufreinigung wurde in mehreren Replikaten ($n = 4$ für Konzentrationen $\geq 1,00 \times 10^5$ IU/ml; $n = 8$ für Konzentrationen $< 1,00 \times 10^5$ IU/ml) mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000 durchgeführt (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 μ l). Jede Probe wurde mit dem *artus* HCV QS-RGQ Kit analysiert. Der lineare Bereich des *artus* HCV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung erstreckt sich demnach über Konzentrationen von $3,50 \times 10^1$ U/ml bis $1,77 \times 10^7$ IU/ml.

Präzision

Die Präzisionsdaten des *artus* HCV QS-RGQ Kits erlauben die Ermittlung der Totalvarianz (Gesamtstreuung) des Testsystems. Diese Totalvarianz setzt sich zusammen aus der Intra-Assay-Variabilität (Streuung von Proben derselben Konzentration innerhalb eines Versuchsansatzes), der Inter-Assay-Variabilität (Streuung bei Anwendung durch verschiedene Personen innerhalb eines Labors unter Benutzung verschiedener Geräte gleichen Typs) und der Chargenvariabilität (Streuung bei Verwendung unterschiedlicher Chargen). Aus den erhaltenen Daten wurden jeweils die Standardabweichung, die Varianz und der Variationskoeffizient sowohl für die erregerspezifische PCR als auch für die PCR der internen Kontrolle berechnet.

Die Daten zur analytischen Präzision des *artus* HCV QS-RGQ Kits (ohne Berücksichtigung der Aufreinigung) wurden mit dem Quantifizierungsstandard mit der geringsten Konzentration (QS 4; 10 IU/ μ l) erhoben. Die Untersuchungen wurden in Form von Achtfach-Bestimmungen durchgeführt.

Die Auswertung der Ergebnisse wurde anhand der C_T -Werte der Amplifikationskurven (C_T : threshold cycle, siehe Tabelle 4) vorgenommen. Zusätzlich wurden auch die Präzisionsdaten der quantitativen Werte in IU/ μ l mittels der entsprechenden C_T -Werte ermittelt (Tabelle 5, Seite 7). Demnach beträgt die Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 1,52 % (C_T) bzw. 25,71 % (Konzentration) und für den Nachweis der internen Kontrolle 0,75 % (C_T). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 4. Ergebnisse der Präzision auf Basis der C_T -Werte

	C_T -Wert	Standardabweichung	Variations-koeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Intra-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Inter-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Inter-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Chargenvariabilität Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Chargenvariabilität Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Totalvarianz Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Totalvarianz Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabelle 5. Ergebnisse der Präzision auf Grundlage der quantitativen Werte (in IU/ μ l)

	Standardabweichung	Varianz	Variations-koeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Inter-Assay-Variabilität Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Chargenvariabilität Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Totalvarianz Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Die Daten zur Präzision des *artus* HCV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurden mit klinischen Plasmaproben erhoben, die mit HCV-Standardmaterial von Acrometrix in einer Konzentration von $1,00 \times 10^3$ IU/ μ l dotiert wurden. Die Tests wurden mit dem QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000 durchgeführt (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 μ l). Tests mit 36 Replikaten wurden durchgeführt unter Verwendung einer Matrix aus verschiedenen Chargen des QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits und des *artus* HCV QS-RGQ Kits. Demnach beträgt die statistische Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 0,95 % (C_T) bzw. 20,07 % (Konzentration) und für den Nachweis der internen Kontrolle 1,26 % (C_T) (Tabellen 6 und 7). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der unter Berücksichtigung der Aufreinigung ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 6. Präzision (Totalvarianz) auf Grundlage der C_T -Werte

	Standardabweichung	Varianz	Variations-koeffizient (%)
HCV-Standard Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,30	0,09	0,95
Interne Kontrolle (HCV, $1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,43	0,18	1,26

Tabelle 7. Präzision (Totalvarianz) auf Grundlage der quantitativen Ergebnisse (in IU/ml)

	Mittelwert	Standardabweichung	Variations-koeffizient (%)
HCV-Standard Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	2,37 x 10 ³	4,76 x 10 ²	20,07

Robustheit

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* HCV QS-RGQ Kits. Zum Verifizieren der Robustheit wurden 100 HCV-negative Plasmaproben mit je 110 IU/ml HCV dotiert (ca. dreifache Konzentration der LOD). Nach Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000_DSP (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl) wurden die Proben mit dem *artus* HCV QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 100 dotierten Proben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* HCV QS-RGQ Kits ≥ 99 %.

Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Reproduzierbarkeit erlauben eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* HCV QS-RGQ Kits sowie einen Leistungsvergleich mit anderen Produkten. Diese Daten werden durch die Teilnahme an Ringversuchen erhoben.

Kreuzkontaminationen

Die Abwesenheit von Kreuzkontaminationen zwischen Proben während des gesamten Arbeitsablaufs wurde durch korrekten Nachweis aller abwechselnd angeordneten Positiv- und Negativproben (Schachbrettmuster) mit einem repräsentativen *artus* QS-RGQ System gezeigt.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN-Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN-Kits sind unter www.qiagen.com abrufbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Distributor angefordert werden.

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

Januar-14 HB-0372-D01-003 © 2012–2014 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800-281011

Belgium ■ 0800-79612

Brazil ■ 0800-557779

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 800-988-0325

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

India ■ 1-800-102-4114

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800-787980

Japan ■ 03-6890-7300

Korea (South) ■ 080-000-7145

Luxembourg ■ 8002 2076

Mexico ■ 01-800-7742-436

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 1800-742-4368

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

Taiwan ■ 0080-665-1947

UK ■ 0808-2343665

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies