

artus[®] HI Virus-1 QS-RGQ Kit

Performans Özellikleri

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit, Versiyon 1, **REF** 4513363, 4513366

Sürüm yönetimi

Bu belge, artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit Performans Özellikleri, Versiyon R1, R2 belgesidir.

CE
0197



Testi gerçekleştirmeden önce www.qiagen.com/products/artushivirust-PCRkitce.aspx adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının bulunup bulunmadığını kontrol edin.

Saptama limiti (LOD)

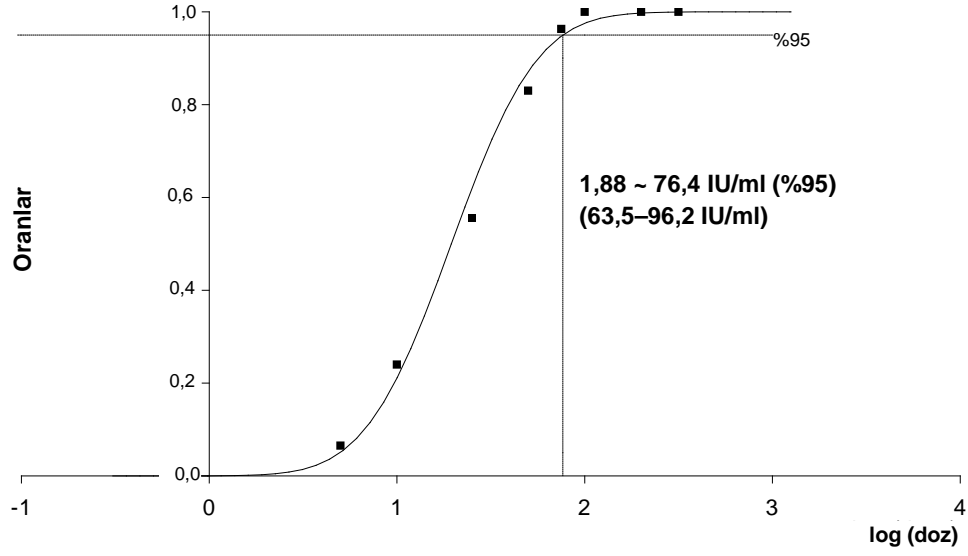
QIASymphony[®] SP üzerinde ekstraksiyon ile kombinasyon halinde HIV pozitif klinik numuneler kullanılarak artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit için saflaştırma (hassasiyet limiti) açısından saptama limiti (limit of detection, LOD) değerlendirilmiştir.

artus HI Virus 1 QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilişkili LOD, klinik plazma örneklerine eklenmiş 316 ila nominal 5 IU/ml'den HIV-1 RNA (NIBSC kodu 97/650) için 2. WHO Uluslararası Standardının bir dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ile kombinasyon halinde Cellfree1000 protokolü kullanılarak RNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 8 dilüsyonun her biri artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit ile 4 farklı günde her birinde 11 replikatlık 5 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene Q[®] ile kombinasyon halinde artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in saflaştırılması açısından LOD 76,4 IU/ml şeklindedir (p = 0,05). Bu 76,4 IU/ml'nin (34,4 kopya/ml'ye tekabül eder) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.

Ocak 2014



Sample & Assay Technologies



Şekil 1. Probit analizi: HI Virus-1 (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in saflaştırılması (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit) dikkate alınarak LOD.

Özgüllük

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in özgüllüğü öncelikle primer ve propların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve proplar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği bu şekilde bir Rotor-Gene aleti üzerinde şu genotiplerle bir RT-PCR çalışması ve veri tabanı hizalama ile sağlanmıştır (bkz. Tablo 1).

Tablo 1. İlgili genotiplerin özgülüğünün test edilmesi

| Virüs | Genotip | Kaynak | HIV (Cycling Green) (Yeşil Döngü) | Dahili kontrol (Cycling Orange) (Turuncu Döngü) |
|--------------|----------------|---------------|--|--|
| HI virüs-1 | A | NIBSC* | + | + |
| HI virüs-1 | B | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | C | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | D | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | E | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | F | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | G | NIBSC | + | + |
| HI virüs-1 | H | NIBSC | + | + |

* National Institute for Biological Standards and Control (Ulusal Biyoloji Standartları ve Kontrol Enstitüsü), Hertfordshire.

Ayrıca özgülük 100 farklı HIV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar HI Virus-1 RG Master'lara dahil edilen HIV-1'e spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit olası çapraz reaktivitesi Tablo 2'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (sayfa 4). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Tablo 2. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

| Kontrol grubu | HIV (Cycling Green (Yeşil Döngü)) | Dahili kontrol (Cycling Orange (Turuncu Döngü)) |
|---|---|---|
| Hepatit A virüsü | - | + |
| Hepatit B virüsü | - | + |
| Hepatit C virüsü | - | + |
| İnsan herpesvirüsü 1 (herpes simpleks virüsü 1) | - | + |
| İnsan herpesvirüsü 2 (herpes simpleks virüsü 2) | - | + |
| İnsan herpes virüsü 3 (varisella-zoster virüsü) | - | + |
| İnsan herpesvirüsü 5 (sitomegalovirüs) | - | + |
| İnsan T hücreli lösemi virüsü tip 1 ve tip 2 | - | + |
| Enterovirüs | - | + |
| Parvovirüs B19 | - | + |
| Sarı humma | - | + |
| <i>Aspergillus flavus</i> | - | + |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | - | + |
| <i>Candida albicans</i> | - | + |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | - | + |
| <i>Cryptosporidium parvum</i> | - | + |
| <i>Filobasidiella neoformans</i> | - | + |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | - | + |
| <i>Pneumocystis carinii</i> | - | + |
| <i>Staphylococcus sp.</i> | - | + |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | - | + |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | - | + |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | - | + |

Lineer aralık

artus HI Virus-1 QS RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili lineer aralık $1,00 \times 10^8$ IU/ml ile $2,50 \times 10^1$ IU/ml aralığındaki Acrometrix® HIV standart materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma Cellfree1000 protokolü ile kombinasyon halinde QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^7$ IU/ml konsantrasyonlar için n=4; $< 1,00 \times 10^7$ IU/ml konsantrasyonlar için n=8) kullanılarak yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Örneklerin her biri *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili olarak lineer aralık $1,00 \times 10^2$ IU/ml ile $1,00 \times 10^8$ IU/ml konsantrasyonları ($4,5 \times 10^1$ ile $4,5 \times 10^7$ kopya/ml'ye tekabül eder) kapsayacak şekilde belirlenmiştir.

Kesinlik

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in kesinlik verileri testin toplam varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans, analiz içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), analizler arası değişkenlik (bir laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerde oluşturulan birden fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve partiler arası değişkenlikten (çeşitli partiler kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in analitik kesinlik verileri (saflaştırma dikkate alınmadan) en düşük konsantrasyonun kantitasyon standardı (QS4; 10 IU/µl) kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bkz. Tablo 3). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım dahili kontrolün saptanması için %1,66 (C_T) ve %2,15 (C_T) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 3. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri

| | C _T değeri | Standart sapma | Varyasyon katsayısı (%) |
|--|-----------------------|----------------|-------------------------|
| Tahliller içi değişkenlik: HI Virus-1 RG QS 4 | 35,62 | 0,45 | 1,26 |
| Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol | 31,24 | 0,18 | 0,58 |
| Tahliller arası değişkenlik: HI Virus-1 RG QS 4 | 35,75 | 0,56 | 1,55 |
| Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol | 31,65 | 0,36 | 1,13 |
| Gruplar arası değişkenlik: HI Virus-1 RG QS 4 | 35,40 | 0,61 | 1,73 |
| Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol | 31,20 | 0,55 | 1,76 |
| Toplam varyans: HI Virus-1 RG QS 4 | 35,58 | 0,59 | 1,66 |
| Toplam varyans: Dahili kontrol | 31,40 | 0,67 | 2,15 |

artus HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili kesinlik verileri klinik plazma örneklerine eklenmiş $1,00 \times 10^3$ IU/ml konsantrasyonda Acrometrix HIV standart materyali kullanılarak toplanmıştır. Testler QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ile Cellfree1000 protokolü kombinasyon halinde kullanılarak yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Testler 36 replikat üzerinde QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ve *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in çeşitli gruplarının bir matrisi kullanılarak yapılmıştır. Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım dahili kontrolün saptanması için %1,45 (C_T) veya %31,34 (konsantrasyon) ve %1,47 (C_T) şeklindedir (Tablo 4 ve 5). Bu değerler saflaştırma açısından belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 4. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri (toplam varyans)

| | Standart sapma | Varyans | Varyasyon katsayısı (%) |
|--|----------------|---------|-------------------------|
| Acrometrix HIV standardı (1,00 x 10 ³ IU/ml) | 0,48 | 0,24 | 1,45 |
| Dahili kontrol (HIV, 1,00 x 10 ³ IU/ml) | 0,51 | 0,26 | 1,47 |

Tablo 5. Kantitatif sonuçlar (IU/ml olarak) temelinde kesinlik verileri (toplam varyans)

| | Ortalama | Standart sapma | Varyasyon katsayısı (%) |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------|
| Acrometrix HIV standardı (1,00 x 10 ³ IU/ml) | 1,54 x 10 ³ | 4,84 x 10 ² | 31,34 |

Güçlülük

Güçlülüğün doğrulanması *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğü doğrulamak için, 100 HIV negatif plazma örneğine 230 IU/ml HIV eklenmiştir (LOD'nin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl) bu örnekler *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 100 ekleme yapılmış plazma örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in güçlülüğü $\geq 99\%$ 'dur.

Yeniden üretilebilirlik

Tekrar üretilebilirlik verileri *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit'in düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımla elde edilir.

Çapraz kontaminasyon

Tüm iş akışı için örnekler arasında çapraz kontaminasyon yokluğu temsili bir *artus* QS-RGQ sistemi için alternatif pozisyonlarda (dama tahtası paterni) tüm bilinen pozitif ve negatif örneklerin doğru saptanmasıyla ispatlanmıştır.

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanıcı el kitapları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servis veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); Acrometrix® (Life Technologies).

Oca-14 HB-0371-D01-002 © 2012–2014 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

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