

## Parametry skuteczności

artus HBV QS-RGQ Kit, wersja 1, **REF** 4506363, 4506366



Przed wykonaniem testu należy sprawdzić dostępność nowych elektronicznych wersji oznakowania pod adresem [www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx). Status aktualnej wersji jest wskazywany przez datę wydania (format: miesiąc/rok).

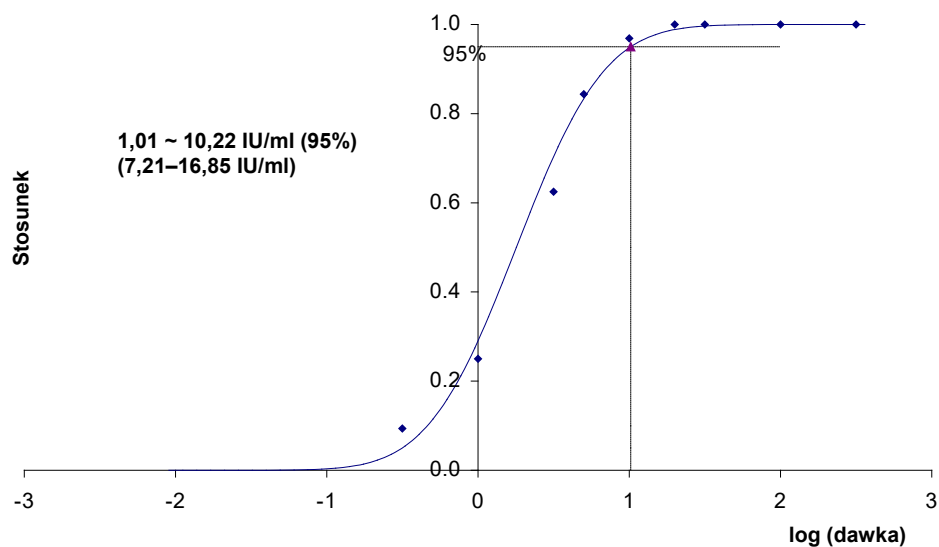
## Czułość analityczna — osocze

Analityczną granicę wykrywalności z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki (granica czułości) wyznaczono dla zestawu artus HBV QS-RGQ Kit, korzystając z próbek klinicznych pozytywnych pod względem wirusa HBV w połączeniu z izolacją w aparacie QIASymphony<sup>®</sup> SP.

Czułość analityczną z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu artus HBV QS-RGQ Kit wyznaczono za pomocą serii rozcieńczeń 2. międzynarodowego standardu dla technik amplifikacji kwasu nukleinowego DNA wirusa zapalenia wątroby typu B Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) (kod NIBSC 97/750) od stężenia 316 do stężenia nominalnego 0,316 IU HBV/ml dodanych do próbek klinicznych osocza. Z próbek tych wyizolowano DNA za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000 (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60 µl). Każde z 9 rozcieńczeń przeanalizowano za pomocą zestawu artus HBV QS-RGQ Kit w 4 różnych dniach, w 4 reakcjach z 8 powtórzeniami w każdej. Wyniki określono poprzez analizę probitową. Ryc. 1 zawiera graficzne przedstawienie analizy probitowej. Analityczna granica wykrywalności z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu artus HBV QS-RGQ Kit w połączeniu z aparatem Rotor-Gene Q wynosi 10,22 IU/ml ( $p = 0,05$ ). Oznacza to, że istnieje 95-procentowe prawdopodobieństwo wykrycia wirusa przy stężeniu 10,22 IU/ml.

Maj 2012





**Ryc. 1. Analiza probitowa: osocze, HBV (Rotor-Gene Q).** Czulość analityczna z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki (osocze, za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit stosowanego na aparacie Rotor-Gene Q.

## Swoistość — osocze

Swoistość zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit wynika przede wszystkim z doboru starterów i sond oraz z zachowania rygorystycznych warunków reakcji. Startery i sondy sprawdzono za pomocą analizy porównawczej sekwencji pod kątem możliwego występowania obszarów homologicznych ze wszystkimi sekwencjami opublikowanymi w bankach genów. Wykrywalność wszystkich odnośnych genotypów zapewniono dzięki zestawieniu ich z bazą danych oraz przeprowadzeniu reakcji PCR na aparatach Rotor-Gene z wykorzystaniem następujących genotypów (patrz Tabela 1).

**Tabela 1. Badanie swoistości odnośnych szczepów**

Wirus	Genotyp	Źródło	Wirus BK (zielony kanał fluorescencyjny)	Kontrola wewnętrzna (żółty kanał fluorescencyjny)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonezja)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonezja)	Teragenix	+	+
HBV	C (Wenezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Wybrzeże Kości Słoniowej)	Teragenix	+	+
HBV	F (Wenezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nikaragua)	Teragenix	+	+

\* Teragenix Corporation, Floryda, USA.

Do dalszych badań swoistości wykorzystano szczepy HBV ze znanymi różnicami sekwencji w regionie przedrdzeniowym genomu wirusa HBV (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Floryda, USA). Przy użyciu zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit możliwe było wykrycie wszystkich 9 szczepów z mutacją w regionie przedrdzeniowym.

Ponadto swoistość testu poddano walidacji za pomocą 100 różnych próbek osocza negatywnych względem wirusa HBV. Nie generowały one żadnego sygnału ze swoistymi dla HBV starterami i sondami wchodzącymi w skład mieszaniny HBV RG/TM Master.

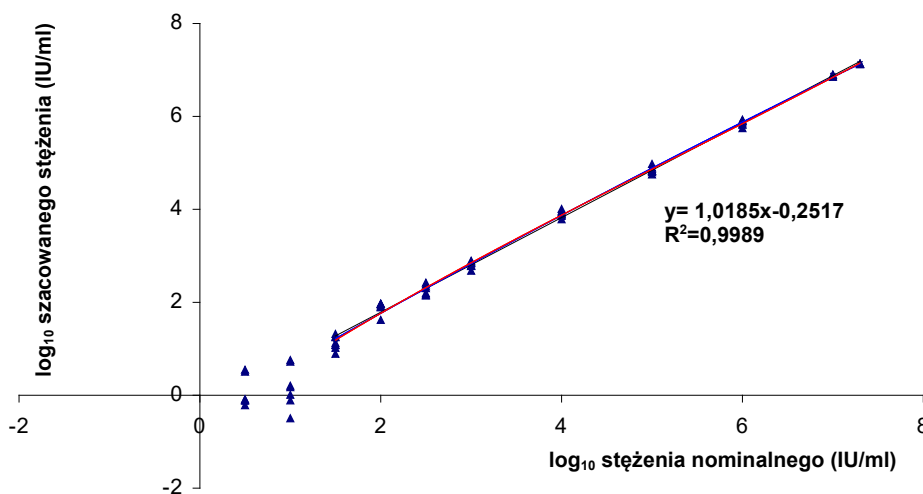
Potencjalną reaktywność krzyżową zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit przebadano za pomocą grupy kontrolnej podanej w Tabeli 2. Żaden z badanych patogenów nie był reaktywny. Reakcja krzyżowa nie wystąpiła w przypadku zakażeń mieszanych.

**Tabela 2. Badanie swoistości zestawu z patogenami mogącymi wywołać reakcję krzyżową**

<b>Grupa kontrolna</b>	<b>HBV (zielony kanał fluorescencyjny)</b>	<b>Kontrola wewnętrzna (żółty kanał fluorescencyjny)</b>
Ludzki herpeswirus typu 1 (wirus opryszczki pospolitej 1)	–	+
Ludzki herpeswirus typu 2 (wirus opryszczki pospolitej 2)	–	+
Ludzki herpeswirus typu 3 (wirus ospy wietrznej i półpaśca)	–	+
Ludzki herpeswirus typu 4 (wirus Epsteina-Barr)	–	+
Ludzki herpeswirus typu 5 (cytomegalowirus)	–	+
Ludzki herpeswirus typu 6	–	+
Ludzki wirus niedoboru odporności typu 1 (HIV-1)	–	+
Wirus zapalenia wątroby typu A	–	+
Wirus zapalenia wątroby typu C	–	+
Parwowirus B19	–	+
Wirus żółtej gorączki	–	+
Ludzki wirus białaczki z komórek T typu 1 i typu 2	–	+
Wirus Coxsackie B3	–	+
Wirus dengi 1–4	–	+
Escherichia coli	–	+

## Zakres liniowy

Zakres liniowy z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit wyznaczono, analizując serię rozcieńczeń materiału wzorcowego wirusa HBV Acrometrix® w stężeniu od  $2,00 \times 10^7$  IU/ml do  $3,16 \times 10^0$  IU/ml. Oczyszczanie przeprowadzono w powtórzeniach ( $n = 4$  dla stężeń  $\geq 1,00 \times 10^7$  IU/ml;  $n = 8$  dla stężeń  $< 1,00 \times 10^7$  IU/ml) za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000 (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60  $\mu$ l). Każdą z próbek poddano analizie za pomocą zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit. Zakres liniowy z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit wyznaczono tak, aby obejmował stężenia od  $3,16 \times 10^1$  IU/ml do  $2,00 \times 10^7$  IU/ml (Ryc. 2).



**Ryc. 2. Zakres liniowy zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit.** Obliczanie zakresu liniowego. Prostą wyznaczono metodą regresji liniowej dla log<sub>10</sub> z obliczonych stężeń w funkcji log<sub>10</sub> nominalnych stężeń. Równanie linii regresji podano na rycinie.

## Precyzja

Dane dotyczące precyzji zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit pozwalają określić całkowitą wariancję testu. Na całkowitą wariancję składa się zmienność wewnątrz oznaczenia (zmienność wyników dla wielu próbek o tym samym stężeniu podczas jednego badania), zmienność pomiędzy różnymi oznaczeniami (zmienność wyników testów przeprowadzonych na różnych aparatach tego samego typu przez różnych operatorów w obrębie jednego laboratorium) oraz zmienność pomiędzy poszczególnymi partiami (zmienność wyników uzyskanych za pomocą zestawów z różnych partii). Uzyskane dane posłużyły do określenia odchylenia standardowego, wariancji i współczynnika zmienności dla swobodnego patogenowo badania PCR z kontrolą wewnętrzną.

Dane precyzji analitycznej dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit (bez uwzględnienia stopnia oczyszczenia próbki) uzyskano z wykorzystaniem wzorca ilościowego o najniższym stężeniu (QS 5; 10 IU/ $\mu$ l). Test przeprowadzono w 8 powtórzeniach. Dane precyzji obliczono na podstawie wartości C<sub>T</sub> krzywych amplifikacji (C<sub>T</sub>: cykl progowy, patrz Tabela 3).

**Tabela 3. Dane precyzji na podstawie wartości  $C_T$**

	<b>Odchylenie standardowe</b>	<b>Wariancja</b>	<b>Współczynnik zmienności (%)</b>
Zmienność wewnątrz oznaczenia: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Zmienność wewnątrz oznaczenia: Kontrola wewnętrzna	0,10	0,01	1,06
Zmienność pomiędzy oznaczeniami: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Zmienność pomiędzy oznaczeniami: Kontrola wewnętrzna	0,29	0,08	1,00
Zmienność pomiędzy testami z różnych partii: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Zmienność pomiędzy testami z różnych partii: Kontrola wewnętrzna	0,62	0,39	2,23
Całkowita wariancja: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Całkowita wariancja: Kontrola wewnętrzna	0,52	0,27	1,87

Ponadto dane precyzji dla wyników ilościowych w IU/μl zostały wyznaczone z wykorzystaniem odpowiednich wartości  $C_T$  (Tabela 4). W oparciu o te wyniki całkowity rozrzut statystyczny dla dowolnej próbki o podanym powyżej stężeniu wynosi 1,29% ( $C_T$ ) lub 8,99% (stężenie) i 1,87% ( $C_T$ ) dla detekcji kontroli wewnętrznej. Powyższe wartości są oparte na całości wszystkich pojedynczych wartości o określonych zmiennościach.

**Tabela 4. Dane precyzji na podstawie wyników ilościowych (w IU/ $\mu$ l)**

	<b>Odchylenie standardowe</b>	<b>Wariancja</b>	<b>Współczynnik zmienności (%)</b>
Zmienność wewnątrz oznaczenia: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Zmienność pomiędzy oznaczeniami: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Zmienność pomiędzy testami z różnych partii: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Całkowita wariancja: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

## Precyzja — osocze

Dane precyzji z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit uzyskano z wykorzystaniem materiału wzorcowego wirusa HBV Acrometrix w stężeniu  $1,00 \times 10^3$  IU/ml dodanego do próbek klinicznych osocza. Badania wykonywano za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000 (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60  $\mu$ l). Badania wykonywano na 36 powtórzeniach za pomocą matrycy różnych partii zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i *artus* HBV QS-RGQ Kit. W oparciu o te wyniki całkowity rozrzut statystyczny dla dowolnej próbki o podanym powyżej stężeniu wynosi 1,22% ( $C_T$ ) lub 20,56% (stężenie) i 1,29% ( $C_T$ ) dla detekcji kontroli wewnętrznej (Tabela 5 i 6). Powyższe wartości są oparte na całości wszystkich pojedynczych wartości o określonych zmiennościach z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki.

**Tabela 5. Dane precyzji (całkowita wariancja) na podstawie wartości  $C_T$** 

	<b>Odchylenie standardowe</b>	<b>Wariancja</b>	<b>Współczynnik zmienności (%)</b>
Wzorzec wirusa HBV Acrometrix ( $1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,37	0,13	1,22
Kontrola wewnętrzna (HBV, $1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,37	0,14	1,29

**Tabela 6. Dane precyzji (całkowita wariancja) na podstawie wyników ilościowych (w IU/ml)**

	<b>Średnia</b>	<b>Odchylenie standardowe</b>	<b>Współczynnik zmienności (%)</b>
Wzorzec wirusa HBV Acrometrix (1,00 x 10 <sup>3</sup> IU/ml)	1,12 x 10 <sup>3</sup>	2,29 x 10 <sup>2</sup>	20,56

## **Odporność**

Weryfikacja odporności testu pozwala na wyznaczenie całkowitej częstości niepowodzeń dla zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit. Aby sprawdzić odporność testu, do 100 próbek osocza negatywnych względem wirusa HBV dodano wirus HBV w stężeniu 30 IU/ml (w przybliżeniu trzykrotność stężenia dla granicy czułości analitycznej). Po izolacji za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000\_DSP (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60 µl), próbki te zbadano zestawem *artus* HBV QS-RGQ Kit. Ponadto sprawdzono odporność kontroli wewnętrznej, oczyszczając i analizując 100 próbek osocza z domieszką. Nie zaobserwowano inhibicji reakcji. Wynika z tego, że odporność zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit wynosi  $\geq 99\%$ .

## **Odtwarzalność**

Dane dotyczące odtwarzalności umożliwiają regularną ocenę działania zestawu *artus* HBV QS-RGQ Kit, jak również porównanie wydajności w stosunku do innych produktów. Dane te uzyskuje się, uczestnicząc w ustalonych programach badań biegłości.

## **Zanieczyszczenie krzyżowe**

Udowodniono brak zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami w reprezentatywnym systemie *artus* QS-RGQ w czasie całej procedury laboratoryjnej poprzez prawidłowe oznaczenie wszystkich znanych pozytywnych i negatywnych próbek ułożonych naprzemiennie (w szachownicy).



Aktualne informacje licencyjne oraz dotyczące wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawów QIAGEN są dostępne pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

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

Maj-12 © 2012 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

[www.qiagen.com](http://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