

Ekim 2015

artus[®] VZV QS-RGQ Kiti: Performans özellikleri

artus VZV QS-RGQ Kiti, Versiyon 1

REF

4502363

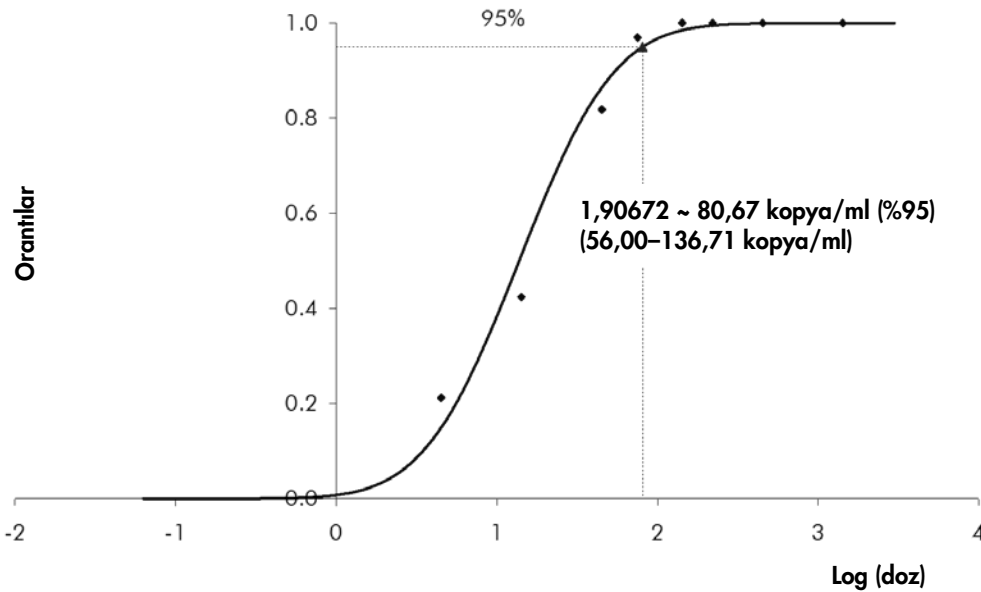


Testi gerçekleştirmeden önce www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının varlığını kontrol edin. Mevcut revizyon tarihi çıkış tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.

Analitik hassasiyet – BOS

QIAAsymphony® SP üzerinde ekstraksiyon ile kombinasyon halinde VZV pozitif klinik numuneler kullanılarak *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma açısından fiziksel saptama limiti (hassasiyet limiti) değerlendirilmiştir.

artus VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırmayla ilişkili analitik hassasiyet klinik BOS numunelerine eklenmiş 1420 ila nominal 4,5 VZV kopya/ml şeklinde VZV suşu Ellen virüsü materyali dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kiti ile kombinasyon halinde Cellfree200_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyona tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 0,2 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 8 dilüsyonun her biri *artus* VZV QS-RGQ Kitiyle 3 farklı günde her birinde 11 replikatlık 3 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene Q ile kombinasyon halinde *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma açısından analitik saptama limiti 80,67 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 80,67 kopya/ml saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 1. Probit analizi: BOS, VZV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırmayla (QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kiti) dikkate alınarak analitik hassasiyet.

Özgüllük – BOS

artus VZV QS-RGQ Kiti özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 30 farklı VZV negatif BOS örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar VZV RG Master'a dahil edilen VZV'ye spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

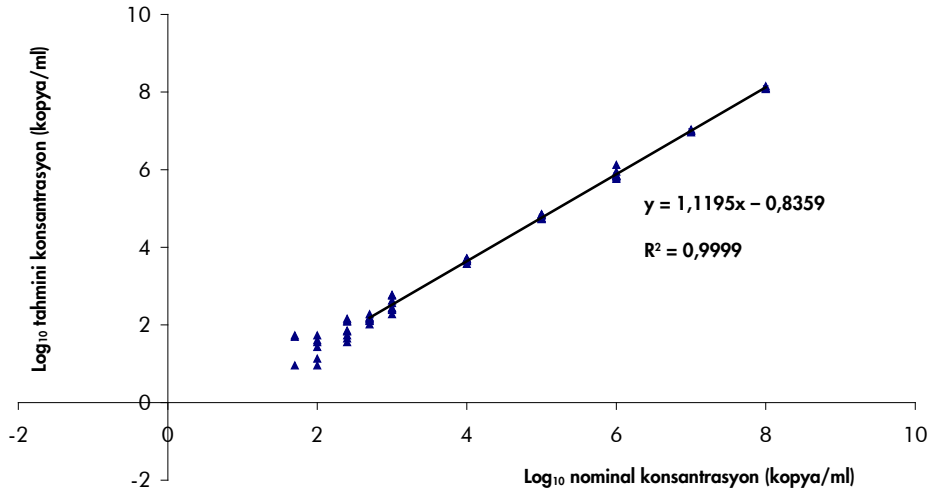
artus VZV QS-RGQ Kiti olası çapraz reaktivitesi Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbirisi reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Tablo 1. Kiti özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi (BOS)

Kontrol grubu	VZV (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Orange)
İnsan herpesvirüsü 1 (herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpesvirüsü 2 (herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpesvirüsü 4 (Epstein-Barr virüsü)	-	+
İnsan herpesvirüsü 5 (sitomegalovirüs)	-	+
İnsan herpesvirüsü 6A	-	+
İnsan herpesvirüsü 6B	-	+
İnsan herpesvirüsü 7	-	+
İnsan herpesvirüsü 8 (Kaposi sarkomu ilişkili herpes virüsü)	-	+
Hepatit A virüsü	-	+
Hepatit B virüsü	-	+
Hepatit C virüsü	-	+
İnsan immünyetmezlik virüsü 1	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 1	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 2	-	+
Enterovirüs	-	+
Parvovirüs B19	-	+
Bati Nil virüsü	-	+

Lineer aralık – BOS

artus VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma ile ilgili olarak lineer aralık $1,00 \times 10^8$ kopya/ml ile $5,00 \times 10^1$ kopya/ml aralığındaki ATCC® VR-1367 VZV suşu Ellen standart materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini Kiti kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 4$; $< 1,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 8$) şeklinde Cellfree200_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 0,2 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Örneklerin her biri *artus* VZV QS-RGQ Kiti kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma ile ilgili olarak lineer aralık $5,00 \times 10^2$ kopya/ml ile $1,00 \times 10^8$ kopya/ml konsantrasyonları kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *artus* VZV QS-RGQ Kitinin (BOS) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük – BOS

Güçlülüğün doğrulanması *artus* VZV QS-RGQ Kitinin *toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar*. Güçlülüğünü doğrulamak için, 30 VZV negatif BOS örneğine 300 kopya/ml VZV virüsü materyali eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini Kiti ile kombinasyon halinde Cellfree200_DSP protokolü (ekstraksiyon hacmi: 0,2 ml, elüsyon hacmi: 60 µl) kullanılarak ekstraksiyondan sonra bu örnekler *artus* VZV QS-RGQ Kiti ile analiz edilmiştir.

Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 30 ekleme yapılmış BOS örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* VZV QS-RGQ Kiti güçlülüğü $\geq 99\%$ 'dir.

Olumsuz etkileyen maddeler – BOS

Eritrositler ve genomik DNA, BOS içinde bulduklarında analizleri olumsuz etkileme potansiyeli olan iki endojen maddedir. Olumsuz etkileme potansiyellerini incelemek için bu maddelerin analizin yapılması üzerindeki etkileri, saptama limiti (LOD) değerinin yaklaşık 10 katı konsantrasyonda (1000 kopya/ml) VZV içeren BOS örneklerinde değerlendirilmiştir. Bu test edilen maddeler *artus* VZV QS-RGQ Kiti reaktiflerini olumsuz etkilememiştir (bkz. Tablo 2).

Tablo 2. BOS örneklerinde olumsuz etkileyen maddeler

VZV konsantrasyonu (kopya/ml)	Olumsuz etkileyen madde		C _T (IC)			C _T (IC) IS – C _T (IC) Kontrol
	Madde	Konsantrasyon	Ortalama C _T	SS	CV (%)	Mutlak
1000	Eritrositler	–	23,45	0,06	0,24	0,13
	gDNA	10.000	23,51	0,02	0,09	0,07
	gDNA	100.000	23,78	0,11	0,45	0,20
	Kontrol	–	23,58	0,06	0,26	–

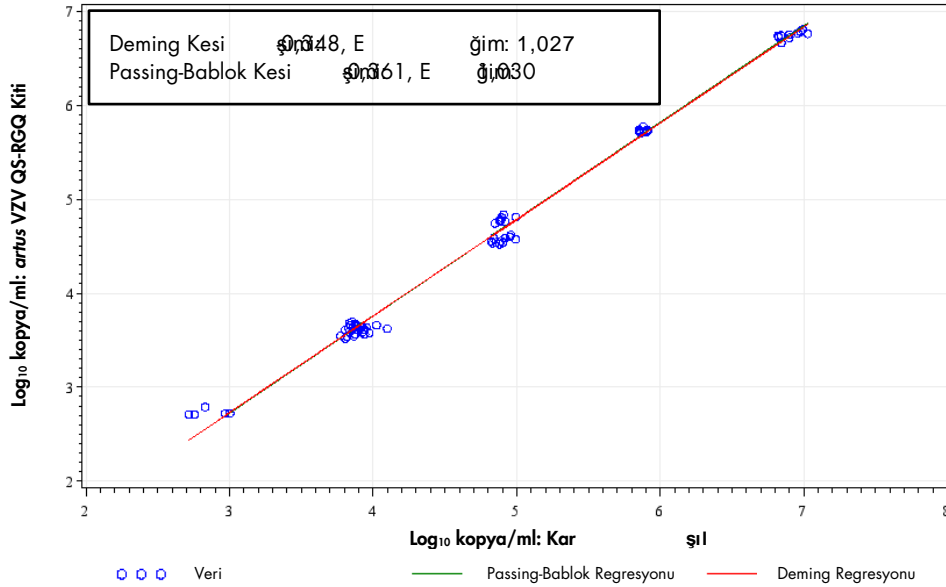
CV: varyasyon katsayısı; IC: dahili kontrol; IS: olumsuz etkileyen madde; SS: standart sapma.

Klinik değerlendirme – BOS

artus VZV QS-RGQ Kitinin klinik performansı toplam 163 oluşturulmuş örneğin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle bir harici klinik laboratuvarında elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar iki kısımda analiz edilmiştir: kısım bir Pozitif Yüzde Anlaşma (PPA), Negatif Yüzde Anlaşma (NPA) ve Genel Yüzde Anlaşma (OPA) için kategorik bir anlaşma analizidir; kısım iki Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak analiz dinamik aralığı içindeki toplam 75 BOS örneğinden sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen kesişim ve eğim ile bildirilmiştir (bakınız Tablo 3 ve Şekil 3).

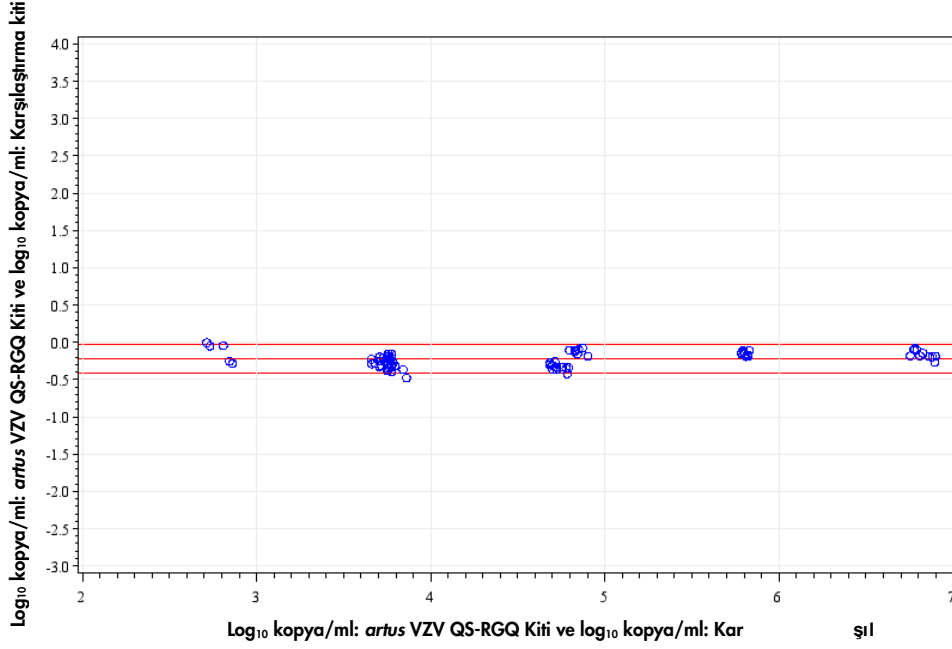
Tablo 3. EDTA plazma örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Yüzde anlaşma	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	163/163	100,00	97,76	100,00
Pozitif yüzde anlaşma	100/100	100,00	96,38	100,00
Negatif yüzde anlaşma	63/63	100,00	94,31	100,00



Şekil 3. BOS örnekleri için Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon plotu. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Şekil 4'teki Bland-Altman plotu kitleler arasında gözlenen yaklaşık ortalama log farkın 0,22 olduğunu göstermektedir ve bu fark test konsantrasyonundan etkilenmez.



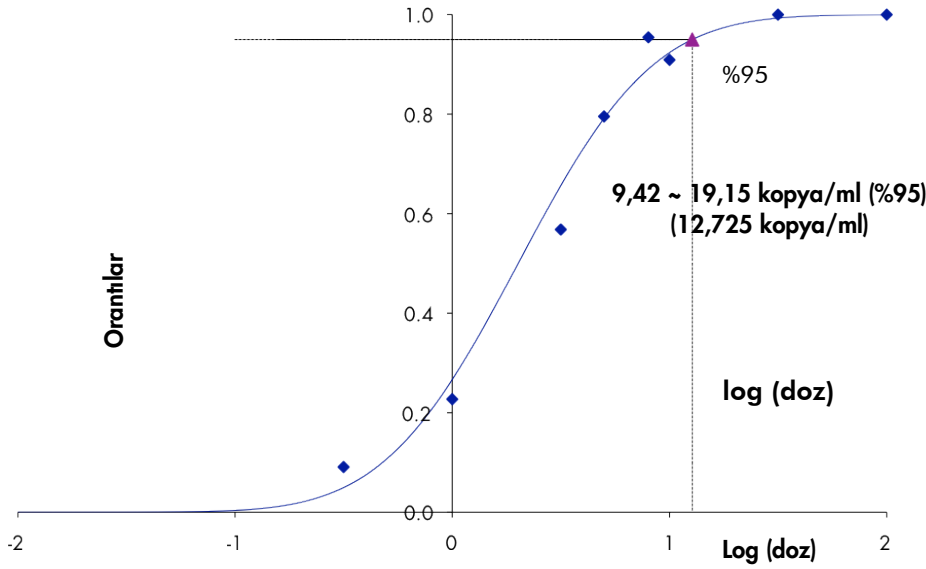
Şekil 4. Bland-Altman plotu (plazma). Yatay referans çizgileri -0,22, -0,42 ve -0,03 değerlerindedir ve ortalama farkı (\log_{10} kopya/ml: artus VZV QS-RGQ Kiti – \log_{10} kopya/ml: karşılaştırma kiti) ve karşılık gelen %95 öngörme aralığını gösterir. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Analitik hassasiyet – plazma

Plazma için artus VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırmayla ilişkili analitik hassasiyet insan plazmasına eklenmiş 100 ila 0,316 kopya/ml şeklinde virüs materyali dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir.

Bunlar QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 8 dilüsyonun her biri artus VSV QS-RGQ Kitiyle 4 farklı günde her birinde 11 replikatlık 4 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir.

Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 5'te verilmiştir. Rotor-Gene Q ile kombinasyon halinde *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma açısından VZV için analitik saptama limiti 12,725 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 12,725 kopya/ml saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.

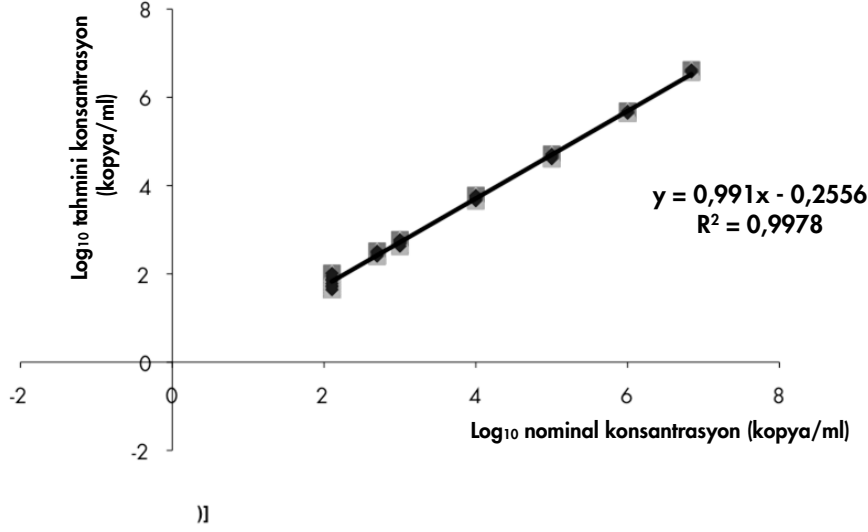


Şekil 5. Probit analizi: plazma, VZV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırma (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti kullanılarak) dikkate alınarak analitik hassasiyet.

Lineer aralık – plazma

artus VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırmayla ilgili olarak lineer aralık plazmada $6,92 \times 10^6$ kopya/ml ile $1,0 \times 10^1$ kopya/ml aralığındaki virüs materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^6$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 4$; $< 1,00 \times 10^6$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 8$) şeklinde Cellfree1000_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 μ l). Örneklerin her biri *artus* VZV QS-RGQ Kiti kullanılarak analiz edilmiştir.

Plazmada VZV materyali için *artus* VZV QS-RGQ Kiti için saflaştırmayla ilgili olarak lineer aralık 127 kopya/ml ile $6,92 \times 10^6$ kopya/ml konsantrasyonları kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. artus VZV QS-RGQ Kitinin (plazma) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük – plazma

Plazmada güçlülüğün doğrulanması *artus VZV QS-RGQ Kiti toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar*. Güçlülüğünü doğrulamak için, 30 VZV negatif plazma örneğine 38,175 kopya/ml VZV materyali eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl) kullanılarak ekstraksiyondan sonra bu örnekler *artus VZV QS-RGQ Kiti ile analiz edilmiştir*. VZV hedef testinde güçlülük açısından, örneklerin %100'ü (30/30) VZV için pozitif olarak saptanmıştır.

Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 116 ekleme yapılmış plazma örneğinin saflaştırılması ve analizinden sonra değerlendirilmiştir. Bu örnekler VZV hedefleri için %100 negatif ve dahili kontrol hedefi için %100 pozitifdir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus VZV QS-RGQ Kiti güçlülüğü ≥%99'dur*.

Olumsuz etkileyen maddeler – plazma

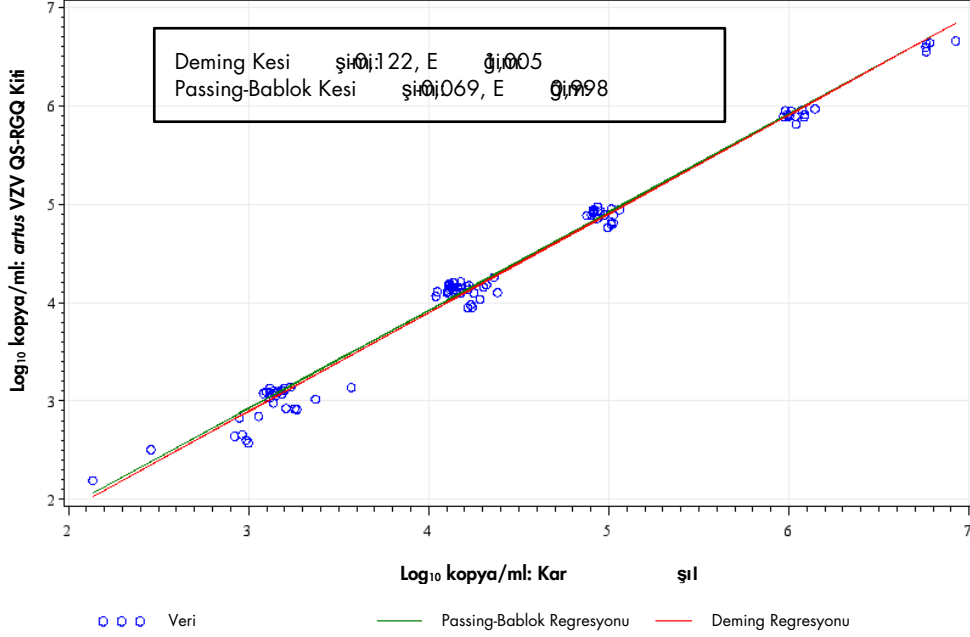
Artmış konsantrasyonda dört endojen madde (bilirubin, hemoglobin, trigliserit ve albumin protein), plazma örneklerinde bulunan olumsuz etkileyebilecek maddeler olarak tanımlanmıştır. Etkileri LOD değerinin yaklaşık 10 katında VZV içeren plazmada değerlendirilmiştir (127,25 kopya/ml). Kontrol olarak VZV eklenmiş plazma örnekleri herhangi bir olumsuz etkileyen madde eklenmeden dahil edilmiştir. Olumsuz etkileyen maddelerin eklenmesiyle veya olmadan tüm örnekler QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti Cellfree1000_DSP protokolü ile kombinasyon halinde kullanılarak 4 replikat halinde analiz edilmiştir (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Artmış endojen inhibitör (bilirubin, hemoglobin, trigliserit, albumin, protein) düzeyleri içeren örnekler için VZV saptama açısından bir olumsuz etkileme gözlenmemiştir.

Klinik değerlendirme – plazma

artus VZV QS-RGQ Kitinin klinik performansı toplam 161 oluşturulmuş EDTA plazma örneklerinin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle bir harici çalışma yerinde elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar iki kısımda analiz edilmiştir: kısım bir Pozitif Yüzde Anlaşma (PPA), Negatif Yüzde Anlaşma (NPA) ve Genel Yüzde Anlaşma (OPA) için kategorik bir anlaşma analizidir; kısım iki Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak analiz dinamik aralığı içindeki toplam 97 EDTA plazma örneğinden sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen kesişim ve eğim ile bildirilmiştir (bakınız Tablo 4 ve Şekil 7).

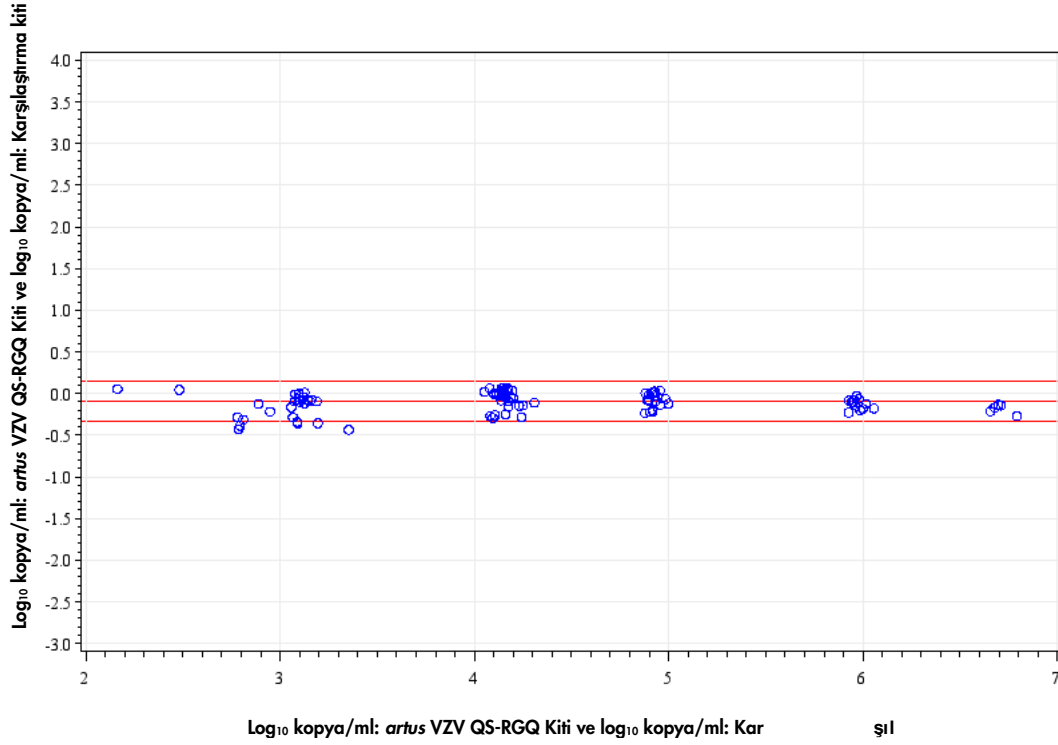
Tablo 4. EDTA plazma örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Yüzde anlaşma	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	161/161	100,00	97,73	100,00
Pozitif yüzde anlaşma	101/101	100,00	96,41	100,00
Negatif yüzde anlaşma	60/60	100,00	94,04	100,00



Şekil 7. Plazma örnekleri için Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon plotu. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Şekil 8'teki Bland-Altman plotu kitler arasında gözlenen yaklaşık ortalama log farkın -0,10 olduğunu göstermektedir ve bu fark test konsantrasyonundan etkilenmez.



Şekil 8. Bland-Altman plotu (plazma). Yatay referans çizgileri $-0,10$, $-0,34$ ve $0,14$ değerlerindedir ve ortalama farkı (\log_{10} kopya/ml: *artus* VZV QS-RGQ Kiti – \log_{10} kopya/ml: Karşılaştırma kiti) ve karşılık gelen %95 öngörme aralığını gösterir. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Kesinlik

artus VZV QS-RGQ Kitinin kesinlik verileri analizin 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 analiz sonucunun değişkenliği) ve gruplar arası değişkenlikten (çeşitli gruplar kullanılarak analizin 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 VZV QS-RGQ Kitinin analitik kesinlik verileri (saflaştırma dikkate alınmadan) en düşük konsantrasyonun kantifikasyon standardı (QS 4; 10 kopya/ μ l) kullanılarak toplanmıştır. Testler 8 replikatla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bakınız Tablo 2). Ayrıca karşılık gelen C_T değerleri kullanılarak kopya/ μ l cinsinden kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri belirlenmiştir (Tablo 3). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım dahili kontrolün saptanması için %0,45 (C_T) veya

%8,32 (konsantrasyon) ve %2,81 (C_T) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 5. C_T değerleri temelinde VZV kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Analiz içi değişkenlik: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Analiz içi değişkenlik: Dahili kontrol	0,04	0,002	0,17
Analizler arası değişkenlik: VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Analizler arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,39	0,15	1,63
Gruplar arası değişkenlik: VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,66	0,43	2,65
Toplam varyans: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Toplam varyans: Dahili kontrol	0,68	0,47	2,81

Tablo 6. Kantitatif sonuçlar (kopya/ml olarak) temelinde VZV kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Analiz içi değişkenlik: VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Analizler arası değişkenlik: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Gruplar arası değişkenlik: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Toplam varyans: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Tekrar Üretilirlik

Tekrar üretilirlik verileri *artus* VZV QS-RGQ Kitinin 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 alternan pozisyonlarda (dama tahtası paterni) tüm bilinen pozitif ve negatif örneklerin doğru saptanmasıyla ispatlanmıştır.

Bu sayfa bilerek boş bırakılmıştır.

İlgili ürünler ve sipariş bilgisi *artus* VZV QS-RGQ PCR Kiti için el kitabında liste halinde verilmiştir

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne spesifik red beyanları için ilgili QIAGEN® kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakınız. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunmaktadır veya QIAGEN Teknik Servisi veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection).
Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu şekilde işaretlenmemiş olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünülmemelidir. 10/2015 HB-0401-D01-002
© 2012–2015 QIAGEN, tüm hakları saklıdır

Sipariş www.qiagen.com/contact | Teknik Destek support.qiagen.com | Web sitesi www.qiagen.com