

September 2015

artus[®] BK Virus QS-RGQ Kit: Leistungsmerkmale

artus BK Virus QS-RGQ Kit, Version 1

REF

4514363



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckit.aspx. Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).

Analytische Sensitivität – Plasma

Die analytische Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Sensitivitätsgrenze) wurde für den *artus* BK Virus QS-RGQ Kit bestimmt anhand von BK-Virus-positiven Proben bei Aufreinigung mit dem QIASymphony® SP.

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für Plasma eine Verdünnungsreihe mit BKV-Material (Acrometrix®) von 316 BKV-Kopien/ml bis nominal 1 BKV-Kopie/ml in klinischen Plasmaproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits aus diesen Proben die DNA nach dem Protokoll Cellfree1000 DSP isoliert (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 8 Verdünnungsstufen wurde an 5 verschiedenen Tagen in 5 Analyserläufen mit jeweils 11 Replikaten unter Verwendung des *artus* BKV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 1 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse. Demzufolge liegt für das *artus* BK Virus QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene® Q die analytische Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung bei 26,67 Kopien/ml ($p = 0,05$). Dies bedeutet, dass 26,67 Kopien/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können.

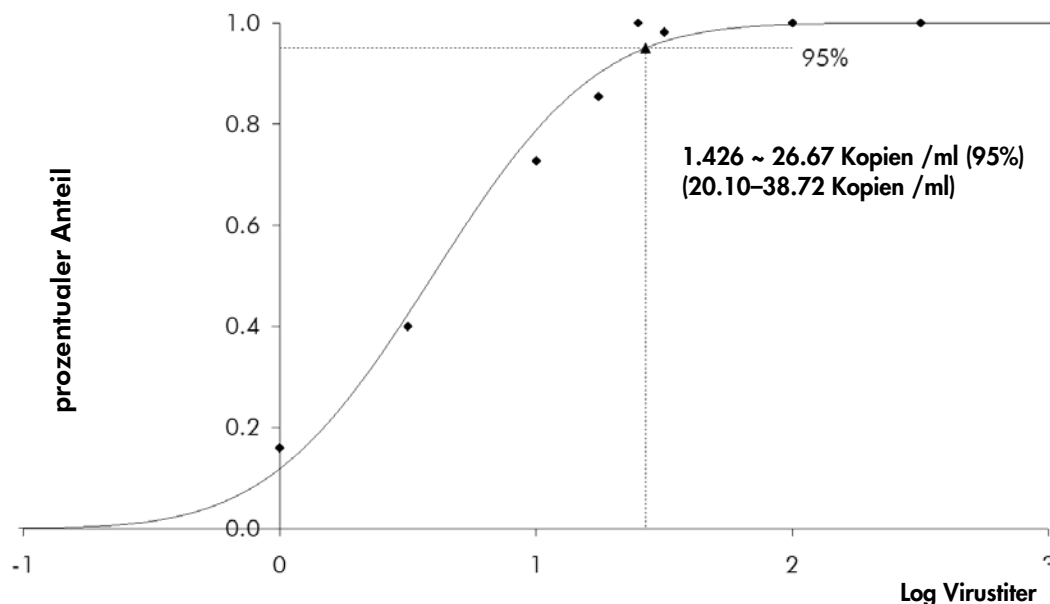


Abbildung 1. Probit-Analyse: Plasma, BK-Virus (Rotor-Gene Q). Analytische Sensitivität unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Plasma, unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q.

Spezifität – Plasma

Die Spezifität des *artus* BK Virus-1 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-Gene Q mit den folgenden Genotypen (siehe Tabelle 1) sichergestellt.

Tabelle 1. Spezifitätstestung relevanter Stämme

Virus	Stamm	Quelle	BK-Virus (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Orange)
BK virus	Dunlop	ATCC®	+	+
BK virus	Gardner	ATCC	+	+
BK virus	AB269822	Geneart	+	+
BK virus	S72390	Geneart	+	+

ATCC: American Type Culture Collection.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 30 verschiedenen BK-Virus-negativen Plasmaproben. Bei diesen wurde mit den im BK Virus RG Master enthaltenen BK-Virus-spezifischen Primern und Sonden kein Signal erzeugt.

Für die Überprüfung einer potentiellen Kreuzreaktivität des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits wurde die in Tabelle 2 aufgeführte Gruppe von Kontrollen untersucht. Bei keinem der getesteten Erreger trat eine Reaktion auf. Bei Mischinfektionen traten keine Kreuzreaktivitäten auf.

Tabelle 2. Spezifitätstestung des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen

Kontrollgruppe	BK-Virus (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Orange)
Cytomegalovirus	-	+
Epstein-Barr-Virus	-	+
Humanes Herpesvirus 1 (Herpes-simplex-Virus 1)	-	+
Humanes Herpesvirus 2 (Herpes-simplex-Virus 2)	-	+
Humanes Herpesvirus 3 (Varicella-Zoster-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 6	-	+
JC-Virus	-	+
Simian-Virus 40	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+

Linearer Bereich der Quantifizierung – Plasma

Der lineare Bereich der Quantifizierung unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Reinigung wurde für den *artus* BK Virus QS-RGQ Kit durch Analyse einer Verdünnungsreihe mit Acrometrix BKV-Material über einen Konzentrationsbereich von $9,26 \times 10^7$ Kopien/ml bis $2,50 \times 10^1$ Kopien/ml in Plasma bestimmt. Die Nukleinsäure-Reinigung wurde in mehreren Replikaten durchgeführt ($n = 4$ für Konzentrationen $\geq 1,00 \times 10^7$ Kopien/ml; $n = 8$ für Konzentrationen $< 1,00 \times 10^7$ Kopien/ml) mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000 DSP (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 μ l). Jede Probe wurde mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Für Plasmaproben erstreckt sich der lineare Bereich des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Reinigung demnach über Konzentrationen von $5,00 \times 10^1$ Kopien/ml bis $9,26 \times 10^7$ Kopien/ml (siehe Abb. 2)

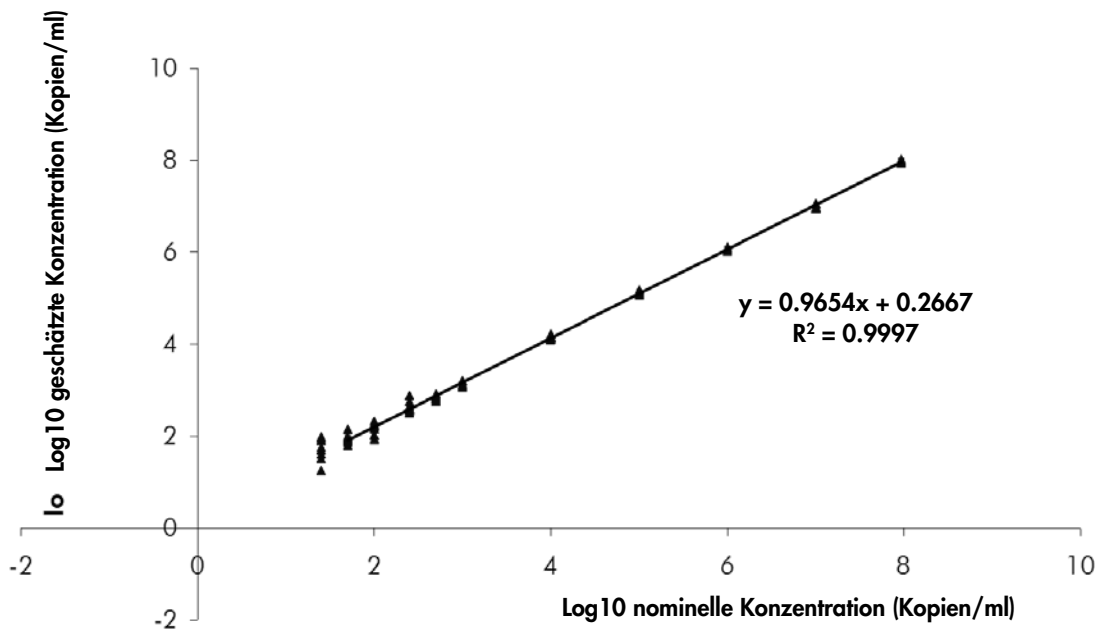


Abbildung 2. Linearer Bereich des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits (Plasma). Berechnung des linearen Bereichs der Quantifizierung: Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der \log_{10} -Werte der berechneten Konzentrationen mit den \log_{10} -Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben.

Robustheit – Plasma

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits. Hierzu wurden 30 BK-Virus-negative Plasmaproben mit je 80 Kopien/ml BK-Virusmaterial (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) dotiert. Nach Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000_DSP (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl) wurden die Proben mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 30 dotierten Proben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits ≥ 99 %.

Störsubstanzen – Plasma

Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride zeigten keine Störungen des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits bei den in Tabelle 3 gezeigten Konzentrationen.

Tabelle 3. Störsubstanzen in EDTA-Plasmaproben

BK-Virus-Konzentration (Kopien/ml)	Störsubstanz		Mittelwert C_T	C_T (BKV)		C_T (BKV) SS – C_T (BKV) Kontrolle
	Parameter	Konzentration		SA	VK (%)	Absolut
270	Bilirubin	30 mg/dl	33,52	0,29	0,87	0,19
	Hämoglobin	2 g/dl	33,63	0,33	0,97	0,07
	Triglycerid	1 g/dl	33,56	0,14	0,42	0,15
	Albumin	6 g/dl	34,15	0,26	0,77	0,45
	Kontrolle	-	33,71	0,20	0,60	-

BKV: BK-Virus; VK: Variationskoeffizient; SS: Störsubstanz; SA: Standardabweichung

Klinische Bewertung – Plasma

Die klinische Leistung des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits wurde durch Testen klinischer Proben und Analysieren der Befunde gegen die Ergebnisse aus einem vergleichbaren Verfahren bewertet. Insgesamt wurden 159 EDTA-Plasmaproben, die von BK-Virus-infizierten Patienten sowie von negativen Kontrollen entnommen wurden, mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit und dem Vergleichsverfahren an einem externen Ort getestet. Die Ergebnisse wurden in zwei Teilen analysiert: Teil Eins war eine kategorische Übereinstimmungsanalyse der positiven prozentualen Übereinstimmung (PPA, Positive Percent Agreement), der negativen prozentualen Übereinstimmung (NPA, Negative Percent Agreement) und der gesamten prozentualen Übereinstimmung (OPA, Overall Percent Agreement), siehe Tabelle 4; Teil Zwei war eine Analyse der Ergebnisse von insgesamt 101 EDTA-Plasmaproben, die in den gemeinsamen dynamischen Bereich des Assays unter Verwendung der Regressionsanalysen nach Passing-Bablok und Deming fielen, siehe Abbildung 3.

Tabelle 4. Daten der klinischen Leistungsstudie für EDTA-Plasmaproben

Übereinstimmungsmessung	Häufigkeiten	Prozentuale Übereinstimmung	(Exakte) binominale zweiseitige untere 95%-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson	(Exakte) binominale zweiseitige obere 95%-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	159/159	100,00	97,71	100,00
Prozentuale positive Übereinstimmung	99/99	100,00	96,34	100,00
Prozentuale negative Übereinstimmung	60/60	100,00	94,04	100,00

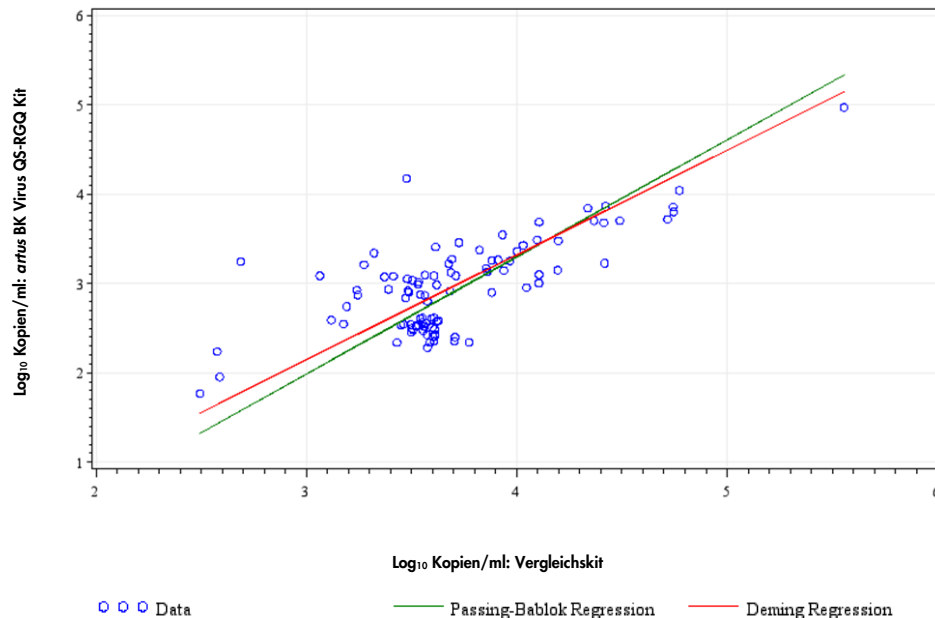


Abbildung 3. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien (Plasma) Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze (LLOQ, Lower Limit Of Quantification) und der oberen Quantifizierungsgrenze (ULOQ, Upper Limit Of Quantification) lagen, wurden in die Analyse einbezogen.

Analytischen Sensitivität – Urin 800 µl

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für Urin eine Verdünnungsreihe mit BKV-Material von 316 BKV-Kopien/ml bis nominal 0,316 BKV-Kopie/ml in klinischen Urinproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits aus diesen Proben die DNA nach dem Protokoll Complex800 DSP isoliert (Extraktionsvolumen: 800 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 10 Verdünnungsstufen wurde an 4 verschiedenen Tagen in 4 Analyseläufen mit jeweils 11 Replikaten unter Verwendung des *artus* BKV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 4 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse. Demzufolge liegt für das *artus* BK Virus QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene Q die analytische Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung bei 78,5 Kopien/ml ($p = 0,05$). Dies bedeutet, dass 78,5 Kopien/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können.

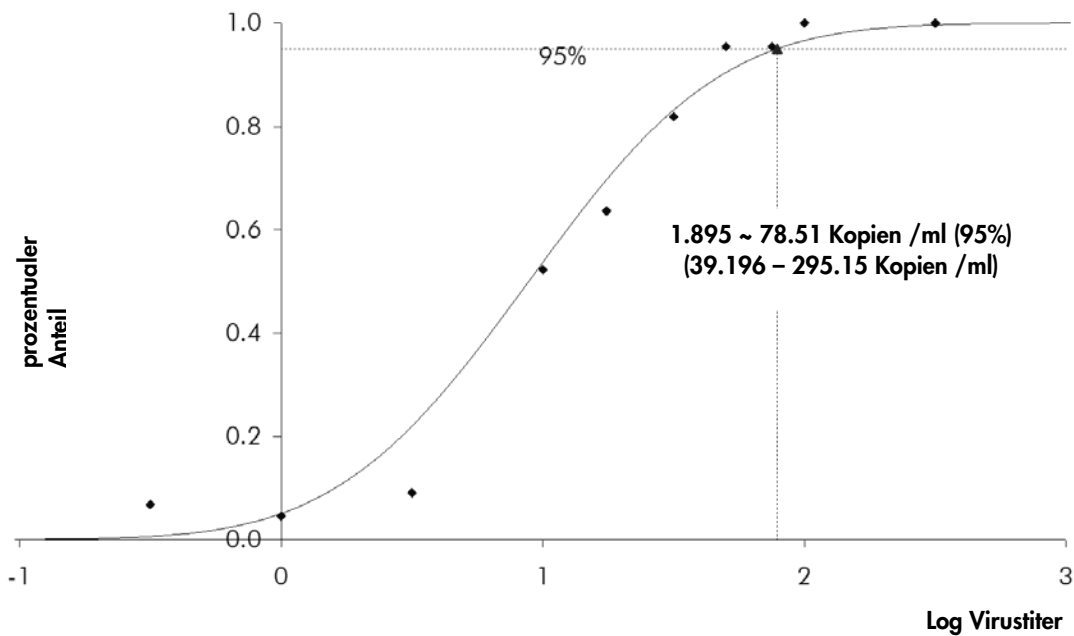


Abbildung 4. Probit-Analyse: Urin 800 µl, BK-Virus (Rotor-Gene Q). Analytische Sensitivität unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Urin, unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q

Spezifität – Urin 800 µl

Die Spezifität des *artus* BK Virus-1 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 ist durch ein Datenbank-Alignment sichergestellt.

Linearer Bereich – Urin 800 µl

Der lineare Bereich der Quantifizierung unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Reinigung wurde für den *artus* BK Virus QS-RGQ Kit durch Analyse einer Verdünnungsreihe mit BKV-Material über einen Konzentrationsbereich von $1,00 \times 10^9$ Kopien/ml bis $2,50 \times 10^1$ Kopien/ml in Urin bestimmt. Die Nukleinsäure-Reinigung wurde in mehreren Replikaten durchgeführt ($n = 4$ für Konzentrationen $\geq 1,00 \times 10^8$ Kopien/ml; $n = 8$ für Konzentrationen $< 1,00 \times 10^8$ Kopien/ml) mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Complex800 DSP (Extraktionsvolumen: 800 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede Probe wurde mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Für Urinproben erstreckt sich der lineare Bereich des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-

Reinigung demnach über Konzentrationen von $1,00 \times 10^2$ Kopien/ml bis $1,00 \times 10^9$ Kopien/ml (siehe Abb. 5).

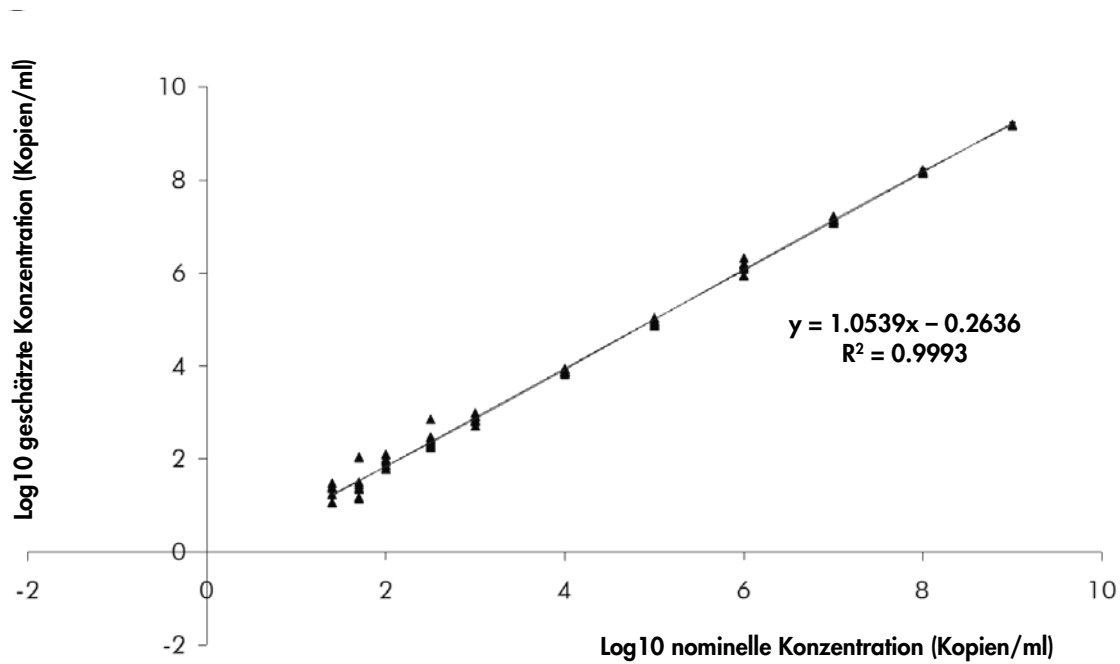


Abbildung 5. Linearer Bereich des artus BK Virus QS-RGQ Kits (Urin 800 µl). Berechnung des linearen Bereichs der Quantifizierung: Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der \log_{10} -Werte der berechneten Konzentrationen mit den \log_{10} -Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben

Robustheit – Urin 800 µl

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits. Hierzu wurden 30 BK-Virus-negative Urinproben mit je 236 Kopien/ml BK-Virusmaterial (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) dotiert. Nach Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Complex800_DSP (Extraktionsvolumen: 800 µl, Elutionsvolumen: 60 µl) wurden die Proben mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 30 dotierten Urinproben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits ≥ 99 %.

Präzision – Urin 800 µl

Die Daten zur Präzision des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurden mit Urinproben erhoben, die mit BKV-Material in einer Konzentration von $1,125 \times 10^3$ Kopien/ml dotiert wurden. Die Tests wurden mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit unter Verwendung des Protokolls Complex800_DSP durchgeführt (Extraktionsvolumen: 800 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Tests mit 36 Replikaten wurden durchgeführt unter Verwendung einer Matrix aus verschiedenen Chargen des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits und des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits. Demnach beträgt die statistische Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 0,97 % (C_T) bzw. 28,42 % (Konzentration) und für den Nachweis der internen Kontrolle 2,61 % (C_T) (Tabellen 5 und 6). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der unter Berücksichtigung der Aufreinigung ermittelten Variabilitäten

Ta Tabelle 5. Präzision (Totalvarianz) auf Grundlage der C_T -Werte

	Standardabweichung	Varianz	Variations-koeffizient (%)
BK-Virus ($1,125 \times 10^3$ Kopien/ml)	32.32	0.31	0.97
Interne Kontrolle (BK-Virus, $1,125 \times 10^3$ Kopien/ml)	25.09	0.65	2.61

Tabelle 6. Präzision (Totalvarianz) auf Grundlage der quantitativen Ergebnisse (in Kopien/ml)

	Mittelwert	Standardabweichung	Variations-koeffizient (%)
BK-Virus ($1,125 \times 10^3$ Kopien/ml)	7.98×10^2	2.27×10^2	28.42

Störsubstanzen – Urin 800 µl

Ein Störtest wurde an einer Auswahl endogener Substanzen durchgeführt. Es wurde keine Störung des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits für die in Tabelle 7 aufgeführten Substanzen bei den gegebenen Konzentrationen beobachtet.

Tabelle 7. Störsubstanzen in EDTA-Plasmaproben

BK-Virus-Konzentration (Kopien/ml)	Störsubstanz		Mittelwert C_T	C_T (BKV)		$\Delta C_{TSS} - \text{Kontrolle}$ Absolut
	Parameter	Konzentration		SA	VK (%)	
785	Protein (HAS)	1 mg/ml	32,71	0,45	1,38	-0,19
	Glucose	10 mg/ml	32,56	0,12	0,37	-0,34
	gDNA	35 ng/Probe	32,89	0,31	0,94	-0,02
	gDNA	350 ng/Probe	32,86	0,22	0,67	-0,05
	Erythrozyten	10 µg/Probe	32,16	1,36	4,22	-0,75
	Kontrolle	–	32,91	0,57	1,72	–

BKV: BK-Virus; VK: Variationskoeffizient; gDNA: genomische DNA; SS: Störsubstanz; SA: Standardabweichung

Klinische Bewertung – Urin 800 µl

Die klinische Leistung des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits wurde durch Testen klinischer Proben und Analysieren der Befunde gegen die Ergebnisse aus einem vergleichbaren Verfahren bewertet. Insgesamt wurden 154 Urinproben, die von BK-Virus-infizierten Patienten sowie von negativen Kontrollen entnommen wurden, mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit und dem Vergleichsverfahren an einem externen Ort getestet. Die Ergebnisse wurden in zwei Teilen analysiert: Teil Eins war eine kategorische Übereinstimmungsanalyse der PPA, der NPA und der OPA, siehe Tabelle 8; Teil Zwei war eine Analyse der Ergebnisse von insgesamt 90 Urinproben, die in den gemeinsamen dynamischen Bereich des Assays unter Verwendung der Regressionsanalysen nach Passing-Bablok und Deming fielen, siehe Abbildung 6.

Tabelle 8. Daten der klinischen Leistungsstudie für Urinproben

Übereinstimmungsmessung	Häufigkeiten	Prozentuale Übereinstimmung	(Exakte) binominale zweiseitige untere 95%-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson	(Exakte) binominale zweiseitige obere 95%-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	150/154	97,40	93,48	99,29
Prozentuale positive Übereinstimmung	97/100	97,00	91,48	99,38
Prozentuale negative Übereinstimmung	53/54	98,15	90,11	99,95

Hinweis: In Tabelle 8 wurden nur Diskrepanzen in den Ergebnissen beobachtet bei Proben, die Viruskonzentrationen nahe der Detektionsgrenze (LOD, Limit Of Detection) enthielten.

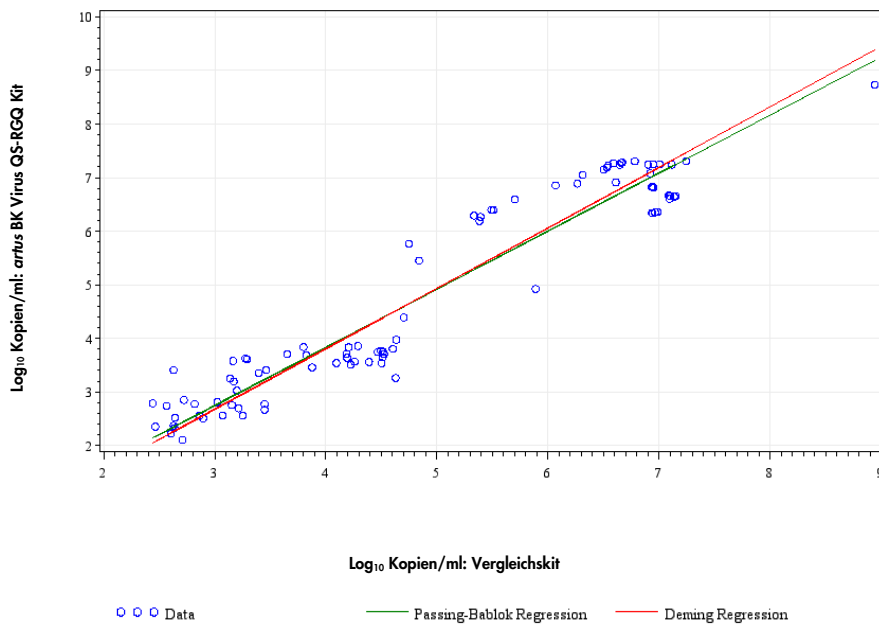


Abbildung 6. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien (Urin) Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze (LLOQ, Lower Limit Of Quantification) und der oberen Quantifizierungsgrenze (ULOQ, Upper Limit Of Quantification) lagen, wurden in die Analyse einbezogen.

Analytischen Sensitivität – Urin 400 µl

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für Urin eine Verdünnungsreihe mit BKV-Material von 1.000 BKV-Kopien/ml bis nominal 3,16 BKV-Kopie/ml in klinischen Urinproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits aus diesen Proben die DNA nach dem Protokoll Complex400 DSP isoliert (Extraktionsvolumen: 400 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 8 Verdünnungsstufen wurde an 4 verschiedenen Tagen in 4 Analyseläufen mit jeweils 11 Replikaten unter Verwendung des *artus* BKV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 7 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse. Demzufolge liegt für das *artus* BK Virus QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene Q die analytische Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung bei 81,83 Kopien/ml ($p = 0,05$). Dies bedeutet, dass 81,83 Kopien/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können.

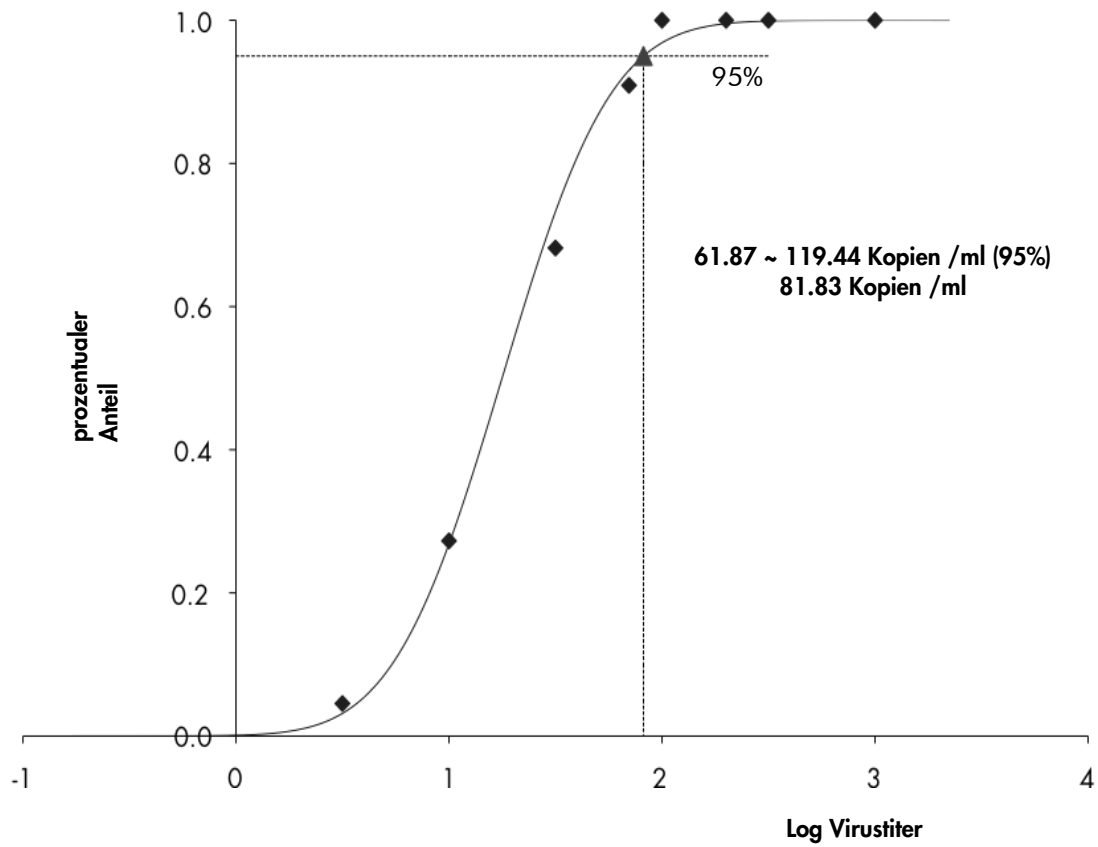


Abbildung 7. Probit-Analyse: Urin 400 µl, BK-Virus (Rotor-Gene Q). Analytische Sensitivität unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Urin, unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des artus BK Virus QS-RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q.

Linearer Bereich— Urin 400 µl

Der lineare Bereich der Quantifizierung unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Reinigung wurde für den *artus* BK Virus QS-RGQ Kit durch Analyse einer Verdünnungsreihe mit BKV-Material über einen Konzentrationsbereich von $1,00 \times 10^9$ Kopien/ml bis $2,50 \times 10^1$ Kopien/ml in Urin bestimmt. Die Nukleinsäure-Reinigung wurde in mehreren Replikaten durchgeführt ($n = 4$ für Konzentrationen $\geq 1,00 \times 10^8$ Kopien/ml; $n = 8$ für Konzentrationen $< 1,00 \times 10^8$ Kopien/ml) mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Complex400 DSP (Extraktionsvolumen: 400 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede Probe wurde mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Für Urinproben erstreckt sich der lineare Bereich des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Reinigung demnach über Konzentrationen von $2,5 \times 10^2$ Kopien/ml bis $1,00 \times 10^9$ Kopien/ml (siehe Abb. 8)

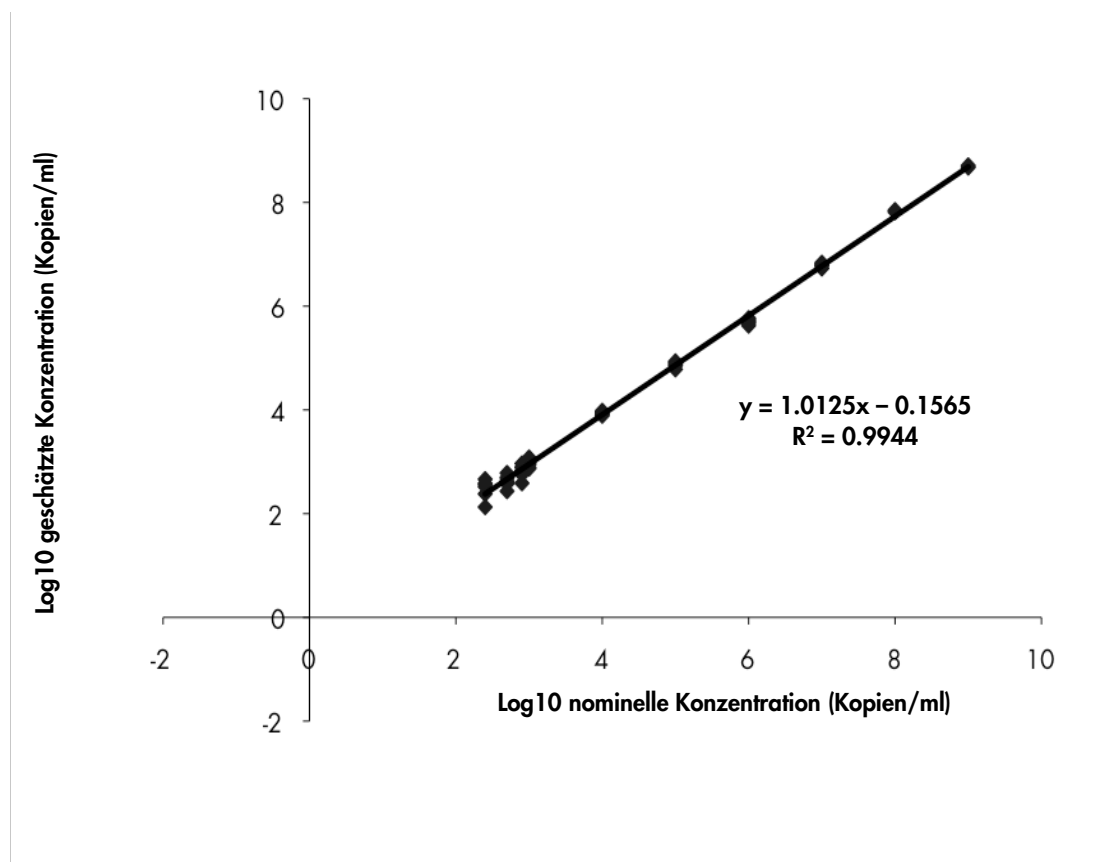


Abbildung 8. Linearer Bereich des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits (Urin 400 µl). Berechnung des linearen Bereichs der Quantifizierung: Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der \log_{10} -Werte der berechneten Konzentrationen mit den \log_{10} -Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben.

Robustheit – Urin 400 µl

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits. Hierzu wurden 30 BK-Virus-negative Urinproben mit je 245 Kopien/ml BK-Virusmaterial (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) dotiert. Nach Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Complex400 (Extraktionsvolumen: 400 µl, Elutionsvolumen: 60 µl) wurden die Proben mit dem *artus* BK Virus QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 30 dotierten Urinproben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* BK Virus QS-RGQ Kits ≥ 99 %.

Präzision

Die Präzisionsdaten des *artus* BK Virus 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* BK Virus QS-RGQ Kits (ohne Berücksichtigung der Aufreinigung) wurden mit dem Quantifizierungsstandard mit der geringsten Konzentration (QS 4; 10 Kopien/µl) 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 9) vorgenommen. Demnach beträgt die Gesamtstreuung einer beliebigen Probe mit der genannten Konzentration 2,11 % (C_T) und für den Nachweis der internen Kontrolle 3,59 % (C_T). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 9. Präzision auf Grundlage der C_T -Werte

	C_T-Wert	Standardabweichung	Variations-koeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität BK-Virus RG QS 4	29.45	0.17	0.56
Intra-Assay-Variabilität Interne Kontrolle	24.31	0.12	0.49
Inter-Assay-Variabilität BK-Virus RG QS 4	29.42	0.25	0.85
Inter-Assay-Variabilität Interne Kontrolle	23.30	0.77	3.30

Chargenvariabilität BK-Virus RG QS 4	30.31	0.64	2.10
Chargenvariabilität Interne Kontrolle	22.53	0.40	1.78
Totalvarianz BK-Virus RG QS 4	29.80	0.63	2.11
Totalvarianz Interne Kontrolle	23.12	0.83	3.59

Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Reproduzierbarkeit erlauben eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* BK Virus 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.

Verwandte Produkte und Bestellinformationen sind im Handbuch für das artus BKV QS-RGQ Kit zu finden.

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®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); Acrometrix® (Life Technologies). Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, gelten als gesetzlich geschützt. 09/2015 HB-0399-D01-002.
© 2012–2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com
