

artus[®] HI Virus-1 QS-RGQ Kit

Parametry skuteczności

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

Zarządzanie wersjami

Niniejszy dokument to *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit — parametry skuteczności, wersja R1, R2.



Przed wykonaniem testu należy sprawdzić dostępność nowych elektronicznych wersji oznakowania pod adresem www.qiagen.com/products/artushivirusrp-PCRkitce.aspx.

Granica wykrywalności (LOD)

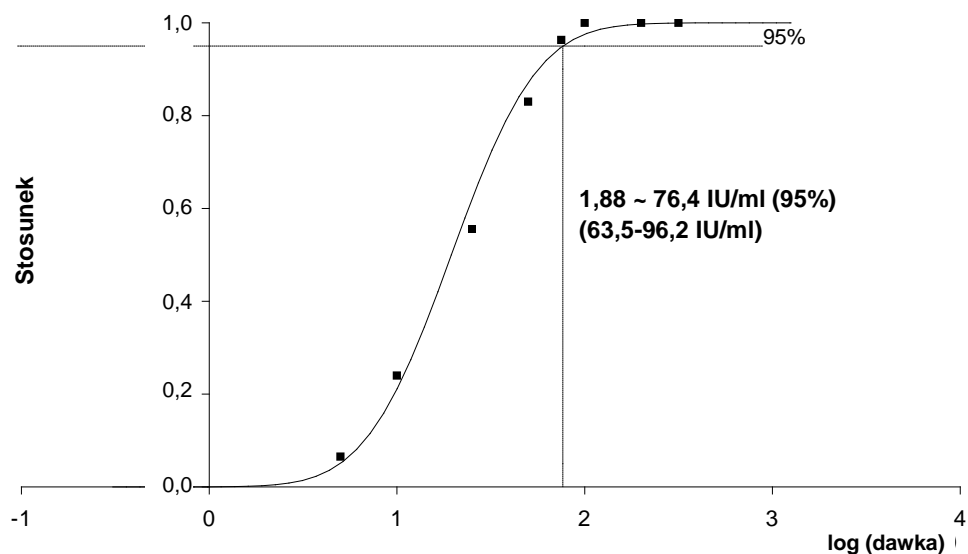
Granice wykrywalności (limit of detection, LOD) uwzględniającą stopień oczyszczenia próbki (granica czułości) oceniono dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit, korzystając z próbek klinicznych pozytywnych pod względem wirusa HIV w połączeniu z izolacją w aparacie QIASymphony[®] SP.

Wartość LOD z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit wyznaczono za pomocą serii rozcieńczeń 2. międzynarodowego standardu Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO) dla RNA wirusa HIV-1 (kod NIBSC 97/650) od stężenia 316 do stężenia nominalnego 5 IU/ml dodanych do próbek klinicznych osocza. Z próbek tych wyizolowano RNA za pomocą zestawu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000 (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60 µl). Każde z 8 rozcieńczeń przeanalizowano za pomocą zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit w 4 różnych dniach, w 5 reakcjach z 11 powtórzeniami w każdej. Wyniki określono poprzez analizę probitową. Ryc. 1 zawiera graficzne przedstawienie analizy probitowej. Wartość LOD uwzględniająca stopień oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit w połączeniu z aparatem Rotor-Gene[®] Q wynosi 76,4 IU/ml ($p = 0,05$). Oznacza to, że istnieje 95-procentowe prawdopodobieństwo wykrycia wirusa przy stężeniu 76,4 IU/ml (co odpowiada stężeniu 34,4 kopii/ml).

Styczeń 2014



Sample & Assay Technologies



Ryc. 1. Analiza probitowa: HIV-1 (Rotor-Gene Q). Wartość LOD z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki (QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit) dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit stosowanego na aparacie Rotor-Gene Q.

Swoistość

Swoistość zestawu *artus* HI Virus-1 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 RT-PCR na aparacie Rotor-Gene z wykorzystaniem następujących genotypów (patrz Tabela 1).

Tabela 1. Badanie swoistości odnośnych genotypów

Wirus	Genotyp	Źródło	HIV (Cycling Green) (zielony kanał fluorescencyjny)	Kontrola wewnętrzna (Cycling Orange) (pomarańczowy kanał fluorescencyjny)
HIV-1	A	NIBSC*	+	+
HIV-1	B	NIBSC	+	+
HIV-1	C	NIBSC	+	+
HIV-1	D	NIBSC	+	+
HIV-1	E	NIBSC	+	+
HIV-1	F	NIBSC	+	+
HIV-1	G	NIBSC	+	+
HIV-1	H	NIBSC	+	+

* Narodowy Instytut Wzorców Biologicznych i Kontroli (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC), Hertfordshire.

Ponadto swoistość testu poddano walidacji za pomocą 100 różnych próbek osocza negatywnych względem wirusa HIV. Nie generowały one żadnego sygnału ze swoistymi dla wirusa HIV-1 starterami i sondami wchodzącymi w skład mieszanin HI Virus-1 RG Masters.

Potencjalną reaktywność krzyżową zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit przebadano za pomocą grupy kontrolnej wymienionej w tabeli 2 (strona 4). Żaden z badanych patogenów nie był reaktywny. Reakcja krzyżowa nie wystąpiła w przypadku zakażeń mieszanych.

Tabela 2. Test swoistości zestawu z patogenami mogącymi wywołać reakcję krzyżową

Grupa kontrolna	HIV (Cycling Green) (zielony kanał fluorescencyjny)	Kontrola wewnętrzna (Cycling Orange) (pomarańczowy kanał fluorescencyjny)
Wirus zapalenia wątroby typu A	–	+
Wirus zapalenia wątroby typu B	–	+
Wirus zapalenia wątroby typu C	–	+
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 5 (cytomegalowirus)	–	+
Ludzki wirus białaczki z komórek T typu 1 i typu 2	–	+
Enterowirus	–	+
Parwowirus B19	–	+
Wirus żółtej gorączki	–	+
<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</i> sp.	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+

Zakres liniowy

Zakres liniowy z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS RGQ Kit wyznaczono, analizując serię rozcieńczeń materiału wzorcowego wirusa HIV Acrometrix® w stężeniu od $1,00 \times 10^8$ IU/ml do $2,50 \times 10^1$ 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 QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000 (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60 μ l). Każdą z próbek poddano analizie za pomocą zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit. Zakres liniowy z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit wyznaczono tak, aby obejmował stężenia od $1,00 \times 10^2$ IU/ml do $1,00 \times 10^8$ IU/ml (co odpowiada zakresowi od $4,5 \times 10^1$ do $4,5 \times 10^7$ kopii/ml).

Precyzja

Dane dotyczące precyzji zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit pozwalają określić całkowitą wariancję testu. Na całkowitą wariancję składa się zmienność wewnątrz oznaczenia (zmienność wielu wyników dla próbek o tym samym stężeniu podczas jednego badania), zmienność pomiędzy różnymi oznaczeniami (zmienność wielu wyników dla oznaczenia otrzymanych na różnych aparatach tego samego typu przez różnych operatorów w obrębie jednego laboratorium) oraz zmienność pomiędzy poszczególnymi partiami (zmienność wielu wyników dla oznaczenia uzyskanych za pomocą zestawów z różnych partii). Uzyskane dane posłużyły do określenia odchylenia standardowego, wariancji i współczynnika zmienności dla reakcji PCR swoistej patogenowo oraz reakcji PCR dla kontroli wewnętrznej.

Dane precyzji analitycznej dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit (bez uwzględnienia stopnia oczyszczenia próbki) uzyskano z wykorzystaniem wzorca ilościowego o najniższym stężeniu (QS4; 10 IU/ μ l). Test przeprowadzono w 8 powtórzeniach. Dane precyzji obliczono na podstawie wartości C_T krzywych amplifikacji (C_T : cykl progowy, patrz Tabela 3). W oparciu o te wyniki całkowity rozrzut statystyczny dla dowolnej próbki o podanym powyżej stężeniu wynosi 1,66% (C_T) i 2,15% (C_T) dla detekcji kontroli wewnętrznej. Powyższe wartości są oparte na całości wszystkich pojedynczych wartości o określonych zmiennościach.

Tabela 3. Dane precyzji na podstawie wartości C_T

	Wartość C_T	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności (%)
Zmienność wewnątrz oznaczenia: HI Virus-1 RG QS 4	35,62	0,45	1,26
Zmienność wewnątrz oznaczenia: Kontrola wewnętrzna	31,24	0,18	0,58
Zmienność pomiędzy oznaczeniami: HI Virus-1 RG QS 4	35,75	0,56	1,55
Zmienność pomiędzy oznaczeniami: Kontrola wewnętrzna	31,65	0,36	1,13
Zmienność pomiędzy testami z różnych partii: HI Virus-1 RG QS 4	35,40	0,61	1,73
Zmienność pomiędzy testami z różnych partii: Kontrola wewnętrzna	31,20	0,55	1,76
Całkowita wariancja: HI Virus-1 RG QS 4	35,58	0,59	1,66
Całkowita wariancja: Kontrola wewnętrzna	31,40	0,67	2,15

Dane precyzji z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit uzyskano z wykorzystaniem materiału wzorcowego wirusa HIV 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 µl). Badania wykonywano na 36 powtórzeniach za pomocą matrycy różnych partii zestawów QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit i *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit. W oparciu o te wyniki całkowity rozrzut statystyczny dla dowolnej próbki o podanym powyżej stężeniu wynosi 1,45% (C_T) lub 31,34% (stężenie) i 1,47% (C_T) dla detekcji kontroli wewnętrznej (Tabela 4 i 5). Powyższe wartości są oparte na całości wszystkich pojedynczych wartości o określonych zmiennościach z uwzględnieniem stopnia oczyszczenia próbki.

Tabela 4. Dane precyzji (całkowita wariancja) na podstawie wartości C_T

	Odchylenie standardowe	Wariancja	Współczynnik zmienności (%)
Wzorzec wirusa HIV Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,48	0,24	1,45
Kontrola wewnętrzna (HIV, 1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,51	0,26	1,47

Tabela 5. Dane precyzji (całkowita wariancja) na podstawie wyników ilościowych (w IU/ml)

	Średnia	Odchylenie standardowe	Współczynnik zmienności (%)
Wzorzec wirusa HIV Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	1,54 x 10 ³	4,84 x 10 ²	31,34

Odporność

Weryfikacja odporności testu pozwala na wyznaczenie całkowitej częstości niepowodzeń dla zestawu *artus* HI Virus-1 QS-RGQ Kit. Aby sprawdzić odporność testu, do 100 próbek osocza negatywnych względem wirusa HIV dodano wirus HIV w stężeniu 230 IU/ml (w przybliżeniu trzykrotność stężenia dla wartości LOD). Po izolacji za pomocą zestawu QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit, stosując protokół Cellfree1000_DSP (objętość próbki do izolacji: 1 ml, objętość elucji: 60 µl), próbki te zbadano zestawem *artus* HI Virus-1 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* HI Virus-1 QS-RGQ Kit wynosi $\geq 99\%$.

Odtwarzalność

Dane dotyczące odtwarzalności umożliwiają ocenę regularności działania zestawu *artus* HI Virus-1 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 szachownicę).

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. 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).

Sty-14 HB-0371-D01-002 © 2012–2014 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

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