

Leistungsmerkmale

artus HBV QS-RGQ Kit, Version 1, REF 4506363, 4506366



Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.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 HBV QS-RGQ Kit anhand HBV-positiver klinischer Proben zusammen mit der Extraktion auf dem QIASymphony[®] SP bestimmt.

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des artus HBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde eine Verdünnungsreihe des 2nd WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC-Code 97/750) von 316 bis nominal 0,316 HBV IU/ml in klinischen Plasmaproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits aus diesen Proben die DNA nach dem „Cellfree1000“-Protokoll isoliert (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 9 Verdünnungsstufen wurde an 4 verschiedenen Tagen in 4 Analyseläufen mit jeweils 8 Replikaten unter Verwendung des artus HBV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 1 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse. Demzufolge liegt für den artus HBV QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene Q die analytische Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung bei 10,22 IU/ml ($p = 0,05$). Dies bedeutet, dass 10,22 IU/ml mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % nachgewiesen werden können.

Mai 2012



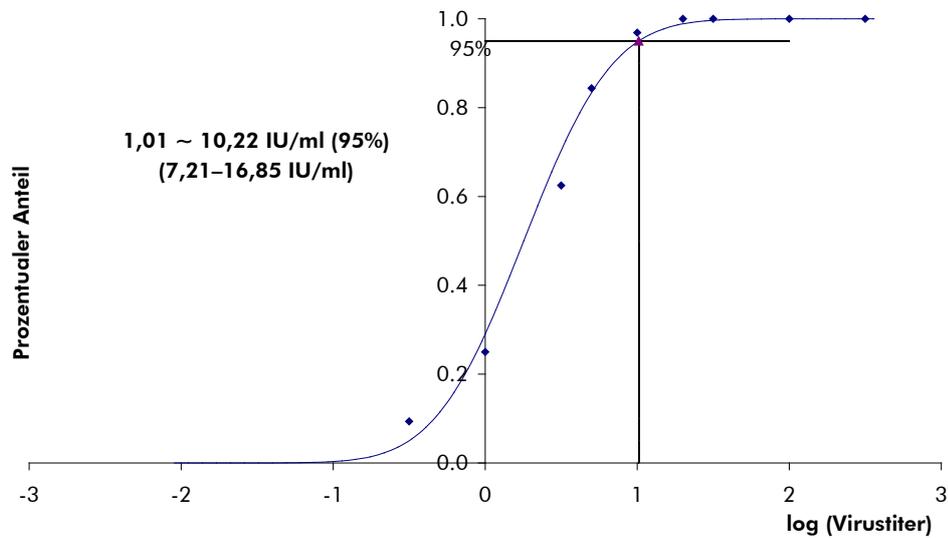


Abbildung 1. Probit-Analyse: Plasma, HBV (Rotor-Gene Q). Analytische Sensitivität unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Plasma, unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des *artus* HBV QS-RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q.

Spezifität – Plasma

Die Spezifität des *artus* HBV 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 Sequenzvergleichsanalyse 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 mit den folgenden Genotypen (siehe Tabelle 1) sichergestellt.

Tabelle 1. Spezifitätstest relevanter Stämme

Virus	Genotyp	Quelle	BK Virus (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonesien)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Elfenbeinküste)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nicaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA

Für weitere Spezifitätstests wurden HBV-Stämme herangezogen, für die im Genombereich der Pre-Core-Region Sequenzunterschiede bekannt sind (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, USA). Alle 9 Pre-Core-Mutantenstämme des Panels konnten mit dem *artus* HBV QS-RGQ Kit nachgewiesen werden.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 100 verschiedenen HBV-negativen Plasmaproben. Bei diesen wurde mit den im HBV RG/TM Master enthaltenen HBV-spezifischen Primern und Sonden kein Signal erzeugt.

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

Tabelle 2. Spezifitätstest des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen

Kontrollgruppe	HBV (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow)
Humanes Herpesvirus 1 (Virus Herpes simplex 1)	-	+
Humanes Herpesvirus 2 (Virus Herpes simplex 2)	-	+
Humanes Herpesvirus 3 (Virus Varicella zoster)	-	+
Humanes Herpesvirus 4 (Epstein-Barr-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	-	+
Humanes Herpesvirus 6	-	+
Humanes Immundefizienz-Virus 1	-	+
Hepatitis-A-Virus	-	+
Hepatitis-C-Virus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Gelbfieberevirus	-	+
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1 und Typ 2	-	+
Coxsackievirus B3	-	+
Denguevirus 1-4	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+

Linearer Bereich der Quantifizierung

Der lineare Bereich der Quantifizierung unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für den *artus* HBV QS-RGQ Kit bestimmt durch Analyse einer Verdünnungsreihe eines HBV-Standards von Acrometrix® über einen Konzentrationsbereich von $2,00 \times 10^7$ IU/ml bis $3,16 \times 10^0$ IU/ml. Die Aufreinigung wurde in mehreren Replikaten ($n = 4$ für Konzentrationen $\geq 1,00 \times 10^7$ IU/ml; $n = 8$ für Konzentrationen $< 1,00 \times 10^7$ IU/ml) mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit unter Verwendung des „Cellfree1000“-Protokolls durchgeführt (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 μ l). Jede der Proben wurde mit dem *artus* HBV QS-RGQ Kit analysiert. Der lineare Bereich des *artus* HBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung erstreckt sich demnach über Konzentrationen von $3,16 \times 10^1$ U/ml bis $2,00 \times 10^7$ IU/ml (Abbildung 2).

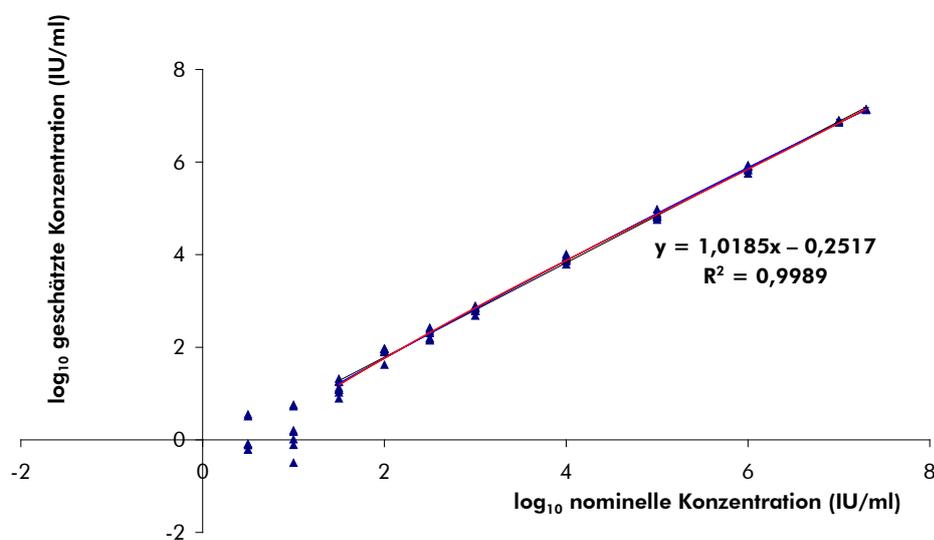


Abbildung 2. Linearer Bereich des *artus* HCV QS-RGQ Kits. Berechnung des linearen Bereichs der Quantifizierung: Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der log₁₀-Werte der berechneten Konzentrationen mit den log₁₀-Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben.

Präzision

Die Ergebnisse der Präzision des *artus* HBV QS-RGQ Kits erlauben die Ermittlung der Totalvarianz (Gesamtstreuung) des Assays. 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* HBV QS-RGQ Kits (ohne Berücksichtigung der Aufreinigung) wurden mit dem Quantifizierungsstandard mit der geringsten Konzentration (QS 5; 10 IU/ μ l) erhoben. Die Tests wurden mit 8 Replikaten durchgeführt. Die Ergebnisse für die Präzision wurden anhand der C_T -Werte der Amplifikationskurven berechnet (C_T : threshold cycle, siehe Tabelle 3) vorgenommen.

Tabelle 3. Präzision auf Grundlage der C_T -Werte

	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay- Variabilität: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Intra-Assay- Variabilität: Interne Kontrolle	0,10	0,01	1,06
Inter-Assay- Variabilität: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Inter-Assay- Variabilität: Interne Kontrolle	0,29	0,08	1,00
Inter- Chargenvariabilität: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Inter- Chargenvariabilität: Interne Kontrolle	0,62	0,39	2,23
Totalvariabilität: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Totalvarianz: Interne Kontrolle	0,52	0,27	1,87

Zusätzlich wurde auch die Präzision der quantitativen Werte in IU/ μ l mittels der entsprechenden C_T -Werte ermittelt (Tabelle 4). Demnach beträgt die Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 1,29 % (C_T) bzw. 8,99 % (Konzentration) und für den Nachweis der internen Kontrolle 1,87 % (C_T). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der ermittelten Variabilitäten.

Tabelle 4. Ergebnisse der Präzision auf Grundlage der quantitativen Werte (in IU/ μ l)

	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
Intra-Assay-Variabilität: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Inter-Assay-Variabilität: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Inter-Chargenvariabilität: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Totalvariabilität: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Präzision – Plasma

Die Daten zur Präzision des *artus* HBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurden mit klinischen Plasmaproben erhoben, die mit HBV-Standardmaterial von Acrometrix in einer Konzentration von $1,00 \times 10^3$ IU/ml dotiert wurden. Die Tests wurden mit dem QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit unter Verwendung des „Cellfree1000“-Protokolls durchgeführt (Extraktionsvolumen 1 ml, Elutionsvolumen 60 μ l). Es wurden Tests mit 36 Replikaten durchgeführt unter Verwendung einer Matrix aus verschiedenen Chargen des QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kits und des *artus* QS-RGQ Kits. Demnach beträgt die statistische Gesamtstreuung einer beliebigen Probe der genannten Konzentration 1,22 % (C_T) bzw. 20,56 % (Konzentration) und für den Nachweis der internen Kontrolle 1,29 % (C_T) (Tabellen 5 und 6). Diese Werte basieren auf der Gesamtheit aller Einzelwerte der unter Berücksichtigung der Aufreinigung ermittelten Variabilitäten.

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

	Standardabweichung	Varianz	Variationskoeffizient (%)
HBV-Standard Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,37	0,13	1,22
Interne Kontrolle (HBV, 1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,37	0,14	1,29

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

	Mittelwert	Standardabweichung	Variationskoeffizient (%)
HBV-Standard Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	1,12 x 10 ³	2,29 x 10 ²	20,56

Robustheit

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* HBV QS-RGQ Kits. Zum Verifizieren der Robustheit wurden 100 HBV-negative Plasmaproben mit je 30 IU/ml HBV dotiert (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze). Nach Extraktion mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit unter Verwendung des „Cellfree1000_DSP“-Protokolls (Extraktionsvolumen 1 ml, Elutionsvolumen 60 µl) wurden die Proben mit dem *artus* HBV QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 100 dotierten Plasmaproben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* HBV QS-RGQ Kits ≥99 %.

Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Reproduzierbarkeit erlauben eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* HBV QS-RGQ Kits sowie einen Effizienzvergleich 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.

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 Händler angefordert werden.

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

Mai-12 © 2012 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

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