

Oktober 2015

artus® VZV QS-RGQ-kit: Ydelsesegenskaber

artus VZV QS-RGQ Kit, version 1

REF

4502363

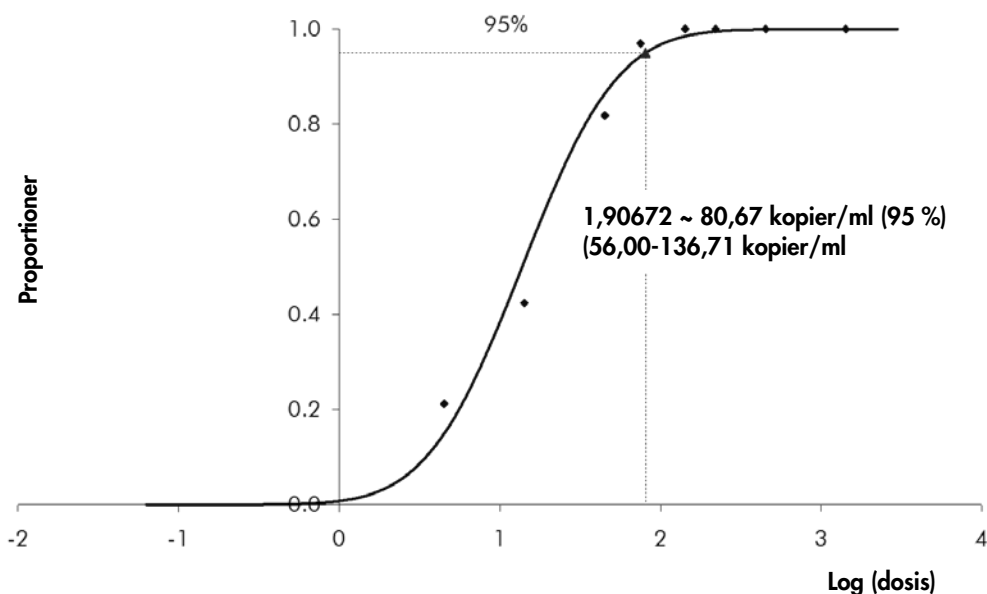


Kontroller, hvilke nye reviderede udgaver af elektronisk mærkning der er tilgængelige på www.qiagen.com/products/artusvzvpckitce.aspx, inden testen udføres. Den aktuelle revisionsstatus er angivet med udstedelsesdato (format: måned/år).

Analysesensitivitet – CSF

Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen (sensitivitetsgrænsen) blev vurderet for *artus* VZV QS-RGQ-kit ved hjælp af VZV-positive kliniske prøver i kombination med ekstraktion på QIASymphony® SP.

Analysesensitiviteten med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet blev bestemt ved hjælp af en fortyndingsserie af VZV-virusmateriale (Ellen-stamme) fra 1420 til nominelt 4,5 VZV-kopier/ml tilsat i kliniske CSF-prøver. Disse blev underkastet DNA-ekstraktion ved hjælp af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini-kittet i kombination med Cellfree200_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 0,2 ml, elueringsvolumen: 60 µl). Hver af de 8 fortyndinger blev analyseret med *artus* VZV QS-RG-kittet på 3 forskellige dage i 3 kørsler med hver 11 replika. Resultatet blev udarbejdet ved hjælp af en probit-analyse. En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 1. Den analytiske detektionsgrænse med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet i kombination med Rotor-Gene Q er 80,67 kopier/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 80,67 kopier/ml vil blive detekteret.



Figur 1. Probitanalyse: CSF, VZV (Rotor-Gene Q).Analysesensitiviteten med hensyn til oprensningen (QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini-kit) af *artus* VZV QS-RGQ-kittet på Rotor-Gene Q.

Specificitet – CSF

Specificiteten af *artus* VZV QS-RGQ-kittet sikres først og fremmest af valget af primere og prober samt valget af stringente reaktionsbetingelser. Primere og prober blev kontrolleret for mulige homologier med alle sekvenser, der er publiceret i genbanker, med sekvenssammenligningsanalyse. Detekterbarheden for alle relevante genotyper er således blevet sikret.

Desuden blev specificiteten valideret med 30 forskellige VZV-negative CSF-prøver. Disse genererede ikke nogen signaler med VZV-specifikke primere og prober, som indgår i VZV RG Master.

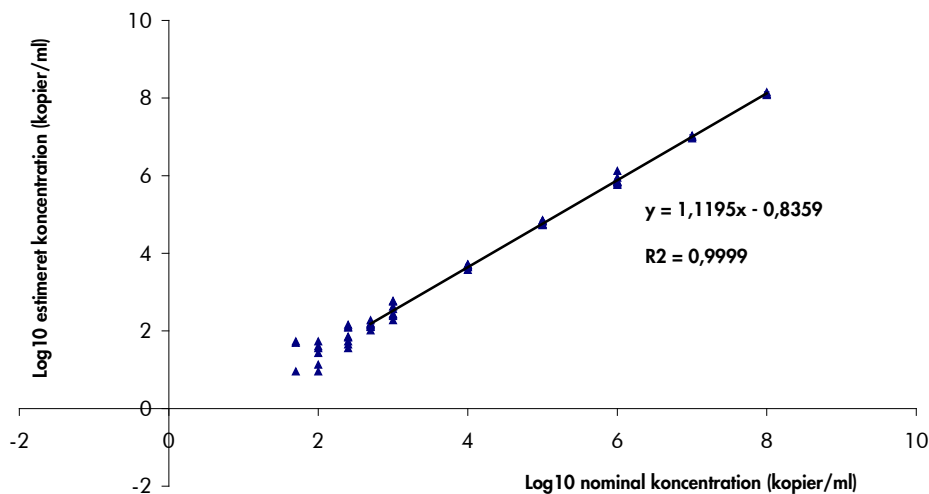
En mulig krydsreaktivitet af *artus* VZV QS-RGQ-kittet blev testet vha. kontrolgruppen angivet i tabel 1. Ingen af de testede smitstoffer var reaktive. Der viste sig ingen krydsreaktiviteter ved blandede infektioner.

Tabel 1. Test af kittets specificitet med potentielt krydsreaktive patogener (CSF)

Kontrolgruppe	VZV (Cycling Green)	Intern kontrol (Cycling Orange)
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	-	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	-	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-barr-virus)	-	+
Humant herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	-	+
Humant herpesvirus 6A	-	+
Humant herpesvirus 6B	-	+
Humant herpesvirus 7	-	+
Humant herpesvirus 8 (herpesvirus forbundet med Kaposis sarkom)	-	+
Hepatitis A-virus	-	+
Hepatitis B-virus	-	+
Hepatitis C-virus	-	+
Humant immundefektvirus 1	-	+
Humant T-celleleukæmi-virus 1	-	+
Humant T-celleleukæmi-virus 2	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
West Nile-virus	-	+

Lineært område – CSF

Det lineære område med hensyn til oprensning af *artus* VZV QS-RGQ-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsserie af ATCC® VR-1367 VZV-virusmateriale (Ellen-stamme) fra $1,00 \times 10^8$ kopier/ml til $5,00 \times 10^1$ kopier/ml. Oprensningen blev udført i replika ($n = 4$ for koncentrationer $\geq 1,00 \times 10^7$ kopier/ml; $n = 8$ for koncentrationer $< 1,00 \times 10^7$ kopier/ml) ved brug af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini-kittet i kombination med Cellfree200_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 0,2 ml, elueringsvolumen: 60 μ l). Hver enkelt af prøverne blev analyseret ved hjælp af *artus* VZV QS-RGQ-kittet. Det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet er blevet bestemt til at dække koncentrationer fra $5,00 \times 10^2$ kopier/ml til $1,00 \times 10^8$ kopier/ml (figur 2).



Figur 2. Lineært område for *artus* VZV QS-RGQ-kittet (CSF). Udregning af det lineære område af kvantificeringen. Den lige linje blev bestemt ved en lineær regression af de beregnede log10-koncentrationer med de nominelle log10-koncentrationer. Formlen for regressionslinjen er medtaget i figuren.

Robusthed – CSF

Verificeringen af robustheden muliggør bestemmelse af den samlede fejlrate for *artus* VZV QS-RGQ-kittet. For at verificere robustheden fik 30 VZV-negative CSF-prøver tilsat 300 kopier/ml VZV-virusmateriale (cirka tre gange koncentrationen af den analytiske sensitivitetsgrænse). Efter ekstraktion med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini-kittet i kombination med Cellfree200_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 0,2 ml, elueringsvolumen: 60 µl) blev disse prøver analyseret med *artus* VZV QS-RGQ-kittet.

Desuden blev robustheden af den interne kontrol vurderet ved oprensning og analyse af de 30 CSF-prøver med tilsætning. Der blev ikke observeret nogen hæmninger. Robustheden af *artus* VZV QS-RGQ-kittet er dermed ≥ 99 %.

Interfererende stoffer – CSF

Erythrocytter og genomt DNA er to endogene stoffer med potentiale til at interferere med analyserne, når de findes i CSF. For at undersøge interfererende potentiale blev virkningen af disse stoffer på analysens ydelse vurderet på CSF-prøver med VZV i en koncentration på ca. 10 gange værdien for detektionsgrænsen (LOD) (1000 kopier/ml). Disse testede stoffer udviste ingen interferens med reagenserne i *artus* VZV QS-RGQ-kittet (se tabel 2).

Tabel 2. Interfererende stoffer i CSF-prøver

VZV-koncentration (kopier/ml)	Interfererende stof		CT(IC)			CT(IC) IS – CT(IC) kontrol
	Stof	Koncentration	Gennemsnitlig CT	SD	CV (%)	Absolut
1000	Erythrocytter	–	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	–

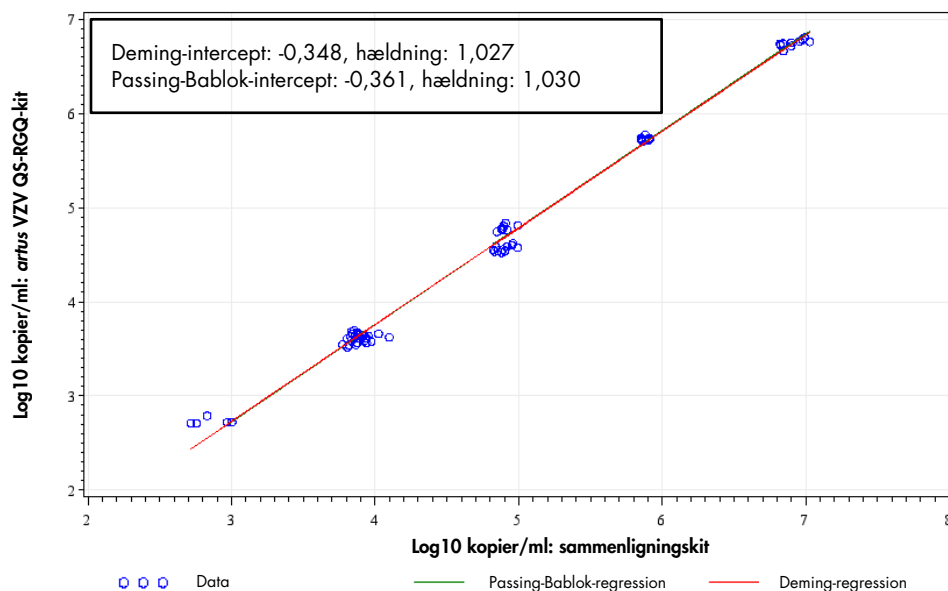
CV: variationskoefficient, IC: intern kontrol, IS: interfererende stof, SD: standardafvigelse

Klinisk vurdering – CSF

artus VZV QS-RGQ-kittets kliniske ydelse blev vurderet ved at teste i alt 163 kunstige prøver og analysere resultaterne i forhold til resultaterne af en sammenlignelig metode på et eksternt klinisk laboratorium. Resultaterne blev analyseret i to dele: Første del var en kategorisk overensstemmelsesanalyse af positiv procentvis overensstemmelse (PPA), negativ procentvis overensstemmelse (NPA) og samlet procentvis overensstemmelse (OPA). Anden del var en analyse af resultaterne fra i alt 75 CFS-prøver, som faldt inden for det almindelige dynamiske analyseområde, ved hjælp af Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalyser. Resultaterne blev rapporteret sammen med den tilsvarende korrelationskoefficient og hældning (se tabel 3 og figur 3).

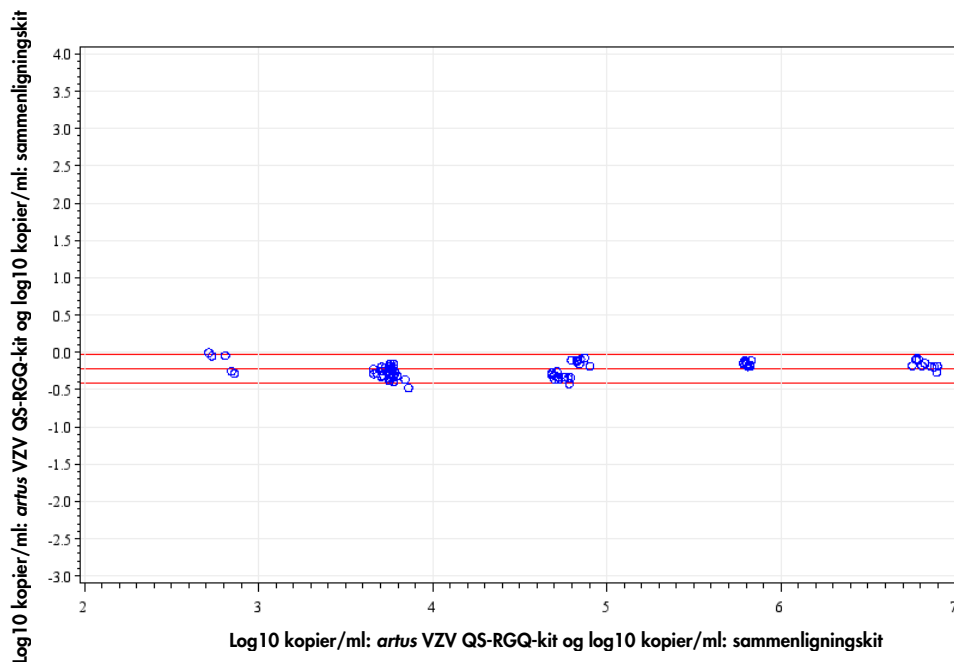
Tabel 3. Data fra undersøgelse af klinisk ydeevne for EDTA-plasmaprøver

Mål for overensstemmelse	Hyppigheder	Procentvis overensstemmelse	Clopper-Pearson (eksakt) binomial nedre tosidede 95 % konfidensgrænse	Clopper-Pearson (eksakt) binomial øvre tosidede 95 % konfidensgrænse
Samlet procentvis overensstemmelse	163/163	100,00	97,76	100,00
Positiv procentvis overensstemmelse	100/100	100,00	96,38	100,00
Negativ procentvis overensstemmelse	63/63	100,00	94,31	100,00



Figur 3. Regressionsplot med Passing-Bablok- og Deming-linjer for CSF-prøver. Prøver, som ligger mellem den nedre kvantificeringsgrænse og den øvre kvantificeringsgrænse for begge kit, blev medtaget i analysen.

Bland-Altman-plottet i figur 4 viser, at den omtrentlige gennemsnitlige logforskelle, der observeredes mellem kittene, er 0,22, og at denne forskel ikke påvirkes af testkoncentrationen.



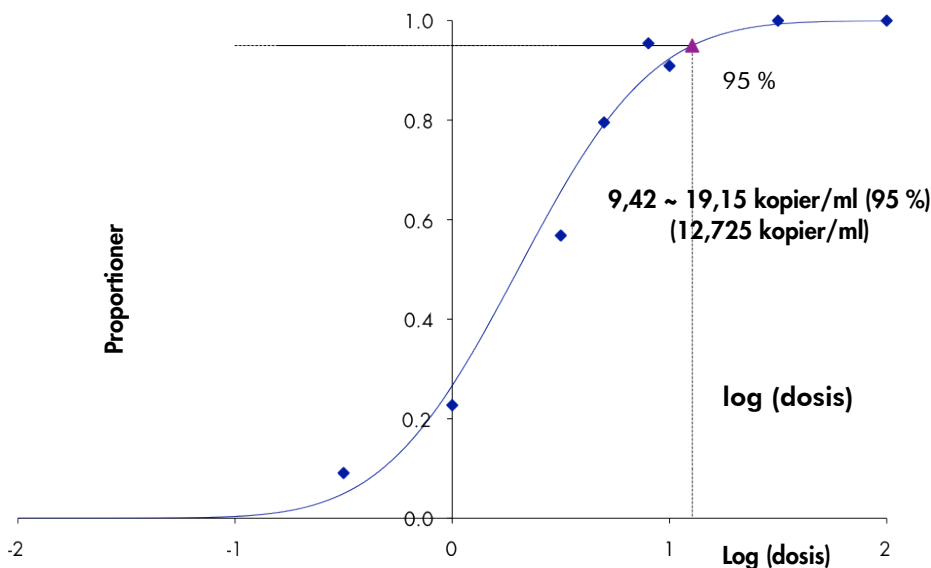
Figur 4. Bland-Altman-plot (plasma). De vandrette referencelinjer er ved -0,22, -0,42 og -0,03 og angiver den gennemsnitlige forskel (\log_{10} kopier/ml:artus VZV QS-RGQ-kit – \log_{10} kopier/ml: sammenligningskit) og dets tilsvarende 95 % prognoseinterval. Prøver, som lå mellem den nedre kvantificeringsgrænse og den øvre kvantificeringsgrænse for begge kit, blev medtaget i analysen.

Analysesensitivitet – plasma

For plasma blev analysesensitiviteten for fuldblod med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet bestemt ved hjælp af en fortyndingsserie af virusmateriale fra 100 til 0,316 kopier/ml tilsat i humant plasma.

Disse blev underkastet DNA-ekstraktion ved hjælp af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 1 ml, elueringsvolumen: 60 μ l). Hver af de 8 fortyndinger blev analyseret med *artus* VSV QS-RG-kittet på 4 forskellige dage i 4 kørsler med hver 11 replika. Resultatet blev udarbejdet ved hjælp af en probit-analyse.

En grafisk illustration af probitanalysen er vist i figur 5. Den analytiske detektionsgrænse for VZV med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet i kombination med Rotor-Gene Q er 12,725 kopier/ml ($p = 0,05$). Det vil sige, at der er 95 % sandsynlighed for, at 12,725 kopier/ml vil blive detekteret.

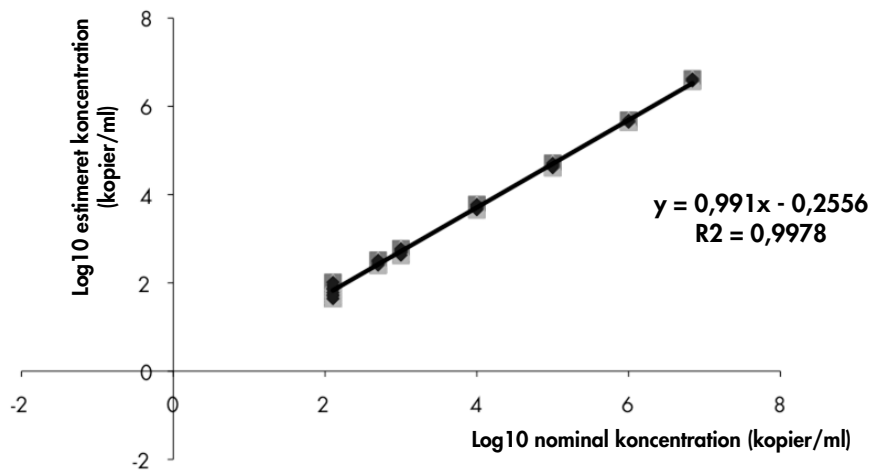


Figur 5. Probitanalyse: plasma, VZV (Rotor-Gene Q). Analysesensitiviteten med hensyn til oprensningen (vha. QIA-symphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet) af *artus* CMV QS-RGQ-kittet på Rotor-Gene Q.

Lineært område – plasma

Det lineære område med hensyn til oprensning af *artus* VZV QS-RGQ-kittet blev bestemt ved at analysere en fortyndingsserie af virusmateriale i plasma fra $6,92 \times 10^6$ kopier/ml til $1,0 \times 10^1$ kopier/ml. Oprensningen blev udført i replika ($n = 4$ for koncentrationer $\geq 1,00 \times 10^6$ kopier/ml; $n = 8$ for koncentrationer $< 1,00 \times 10^6$ kopier/ml) ved brug af QIA-symphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 1 ml, elueringsvolumen: 60 μ l). Hver enkelt af prøverne blev analyseret ved hjælp af *artus* VZV QS-RGQ-kittet.

I plasma er det lineære område med hensyn til oprensningen af *artus* VZV QS-RGQ-kittet for VZV-materiale blevet bestemt til at dække koncentrationer fra 127 kopier/ml til $6,92 \times 10^6$ kopier/ml (figur 6).



)]

Figur 6. Lineært område for *artus* VZV QS-RGQ-kittet (plasma). Udregning af det lineære område af kvantificeringen. Den lige linje blev bestemt ved en lineær regression af de beregnede log10-koncentrationer med de nominelle log10-koncentrationer. Formlen for regressionslinjen er medtaget i figuren.

Robusthed – plasma

Verificeringen af robustheden i plasma muliggør bestemmelse af den samlede fejlrate for *artus* VZV QS-RGQ-kittet. For at verificere robustheden fik 30 VZV-negative plasma-prøver tilsat 38,175 kopier/ml VZV-materiale (cirka tre gange koncentrationen af den analytiske sensitivitetegrænse). Efter ekstraktion med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 1 ml, elueringsvolumen: 60 µl) blev disse prøver analyseret med *artus* VZV QS-RGQ-kittet. For robusthed i VZV-måltest blev 100 % (30/30) prøver detekteret positive for VZV.

Desuden blev robustheden af den interne kontrol vurderet ved oprensning og analyse af de 116 plasma-prøver med tilsætning. Disse prøver var 100 % negative for VZV, og 100 % positive for intern kontrol-mål. Der blev ikke observeret nogen hæmninger. Robustheden af *artus* VZV QS-RGQ-kittet er dermed ≥ 99 %.

Interfererende stoffer – plasma

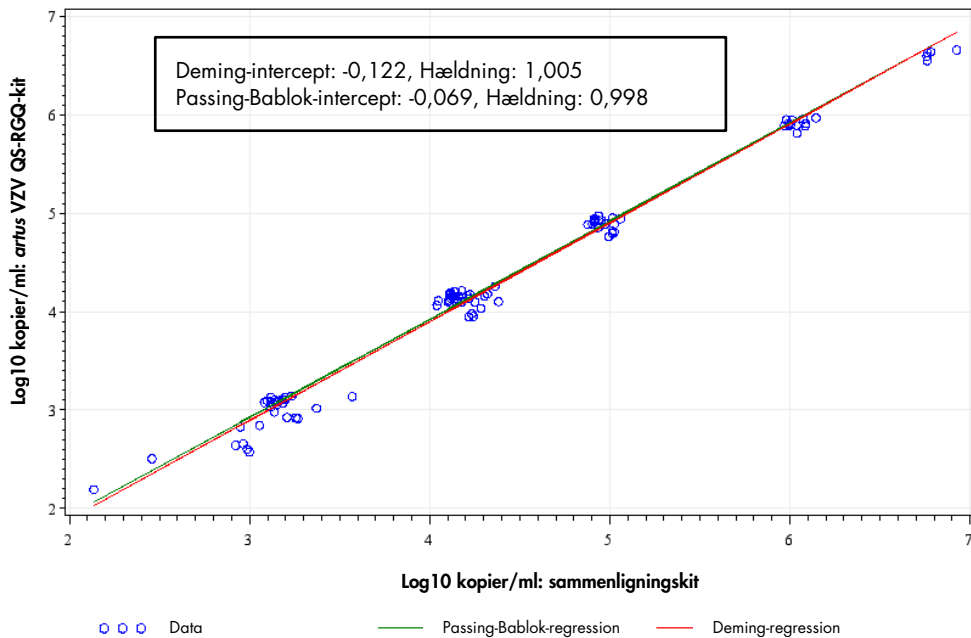
Fire endogene stoffer (bilirubin, hæmoglobin, triglycerid og albuminprotein) ved en forhøjet koncentration er identificeret som potentielt interfererende stoffer i plasmaprøver. Deres effekter blev evalueret i plasma med VZV ca. 10 gange LOD-værdien (127,25 kopier/ml). Som kontrol blev der medtaget VZV-tilsatte plasmaprøver uden tilsætning af interfererende stof. Alle prøver, med eller uden tilsætning af interfererende stoffer, blev analyseret i 4 replika med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kittet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraktionsvolumen: 1 ml, elueringsvolumen: 60 µl). For prøver med forhøjede niveauer af endogene hæmmere (bilirubin, hæmoglobin, triglycerid, og albuminprotein) blev der ikke observeret nogen interferens med henblik på VZV-detektion.

Klinisk vurdering – plasma

artus VZV QS-RGQ-kittets kliniske ydelse blev vurderet ved at teste i alt 161 kunstige EDTA-plasmaprøver og analysere resultaterne i forhold til resultaterne af en sammenlignelig metode på et eksternt center. Resultaterne blev analyseret i to dele: Første del var en kategorisk overensstemmelsesanalyse af positiv procentvis overensstemmelse (PPA), negativ procentvis overensstemmelse (NPA) og samlet procentvis overensstemmelse (OPA). Anden del var en analyse af resultaterne fra i alt 97 EDTA-plasmaprøver, som faldt inden for det almindelige dynamiske analyseområde, ved hjælp af Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalyser. Resultaterne blev rapporteret sammen med den tilsvarende korrelationskoefficient og hældning (se tabel 4 og figur 7).

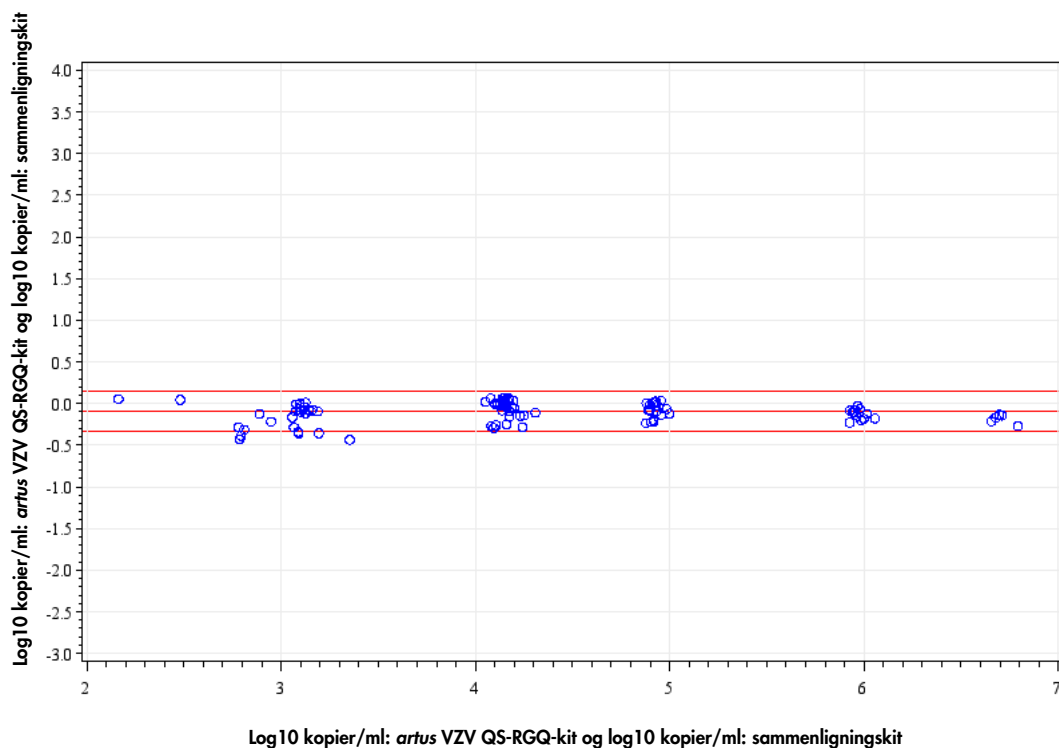
Tabel 4. Data fra undersøgelse af klinisk ydeevne for EDTA-plasmaprøver

Mål for overensstemmelse	Hyppigheder	Procentvis overensstemmelse	Clopper-Pearson (eksakt) binomial nedre tosidede 95 % konfidensgrænse	Clopper-Pearson (eksakt) binomial øvre tosidede 95 % konfidensgrænse
Samlet procentvis overensstemmelse	161/161	100,00	97,73	100,00
Positiv procentvis overensstemmelse	101/101	100,00	96,41	100,00
Negativ procentvis overensstemmelse	60/60	100,00	94,04	100,00



Figur 7. Regressionsplot med Passing-Bablok- og Deming-linjer for plasmaprøver. Prøver, som ligger mellem den nedre kvantificeringsgrænse og den øvre kvantificeringsgrænse for begge kit, blev medtaget i analysen.

Bland-Altman-plottet i figur 8 viser, at den omtrentlige gennemsnitlige logforskel, der observeredes mellem kittene, er -0,10, og at denne forskel ikke påvirkes af testkoncentrationen.



Figur 8. Bland-Altman-plot (plasma). De vandrette referencelinjer er ved -0,10, -0,34 og 0,14 og angiver den gennemsnitlige forskel (\log_{10} kopier/ml: artus VZV QS-RGQ-kit – \log_{10} kopier/ml: sammenligningskit) og dets tilsvarende 95 % prognoseinterval. Prøver, som lå mellem den nedre kvantificeringsgrænse og den øvre kvantificeringsgrænse for begge kit, blev medtaget i analysen.

Præcision

artus VZV QS-RGQ-kittets præcisionsdata tillader bestemmelse af analysens totale varians. Den totale varians består af variabilitet inden for analysen (variabiliteten af flere resultater af prøver med samme koncentration inden for et eksperiment), variabiliteten mellem analyser (variabiliteten af flere resultater af analysen genereret på forskellige instrumenter af samme type af forskellige operatører inden for et laboratorium) og variabiliteten mellem batches (variabiliteten af flere resultater af analysen ved brug af forskellige batches). De opnåede data blev brugt til at bestemme standardafvigelsen, variansen og variationskoefficienten for den patogenspecifikke og den interne kontrol-PCR.

artus VZV QS-RGQ-kittets analytiske præcisionsdata (uden hensyntagen til oprensningen) blev indsamlet ved hjælp af kvantiteringsstandarder for den laveste koncentration (QS 4; 10 kopier/ μ l). Testene blev foretaget med 8 replika. Præcisionsdata blev beregnet på basis af CT værdierne af amplifikationskurverne (CT: tærskelcyklus, se tabel 2). Desuden blev præcisionsdata for kvantitative resultater i kopier/ μ l bestemt ved hjælp af de tilsvarende CT-værdier (tabel 3). Baseret på disse resultater er den samlede statistiske spredning af enhver given prøve med den nævnte koncentration 0,45 % (CT) eller 8,32 % (koncentration)

og 2,81 % (CT) for detektion af den interne kontrol. Disse værdier er baseret på helheden af enkeltværdierne af alle konstaterede variationer.

Tabel 5. Præcisionsdata for VZV på grundlag af CT-værdier

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Variabilitet inden for analysen: Intern kontrol	0,04	0,002	0,17
Variabilitet mellem analyser: VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Variabilitet mellem analyser: Intern kontrol	0,39	0,15	1,63
Variabilitet mellem batches: VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Variabilitet mellem batches: Intern kontrol	0,66	0,43	2,65
Total varians: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Total varians: Intern kontrol	0,68	0,47	2,81

Tabel 6. Præcisionsdata på basis af de kvantitative resultater (i kopier/µl)

	Standardafvigelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Variabilitet inden for analysen: VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Variabilitet mellem analyser: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Variabilitet mellem batches: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Total varians: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Reproducerbarhed

Reproducerbarhedsdata muliggør en jævnlig præstationsvurdering af *artus* VZV QS-RGQ-kittet samt en effektivitetssammenligning med andre produkter. Disse data indhentes ved deltagelse i standardiserede præstationsprogrammer.

Krydskontaminering

Fravær af krydskontaminering mellem prøverne for hele arbejdsgangen blev bevist ved korrekt detektion af alle kendte positive og negative prøver i skiftende positioner (skakbrætmønster) for et repræsentativt *artus* QS-RGQ-system.

Denne side skal være tom.

Relaterede produkter and bestillingsinformation er angivet i håndbogen til *artus* VZV QS-RGQ PCR-kittet

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN® kithåndbog eller brugervejledning. QIAGEN-kithåndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection).
Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, skal ikke betragtes som værende juridisk ubeskyttede. 10/2015 HB-0401-D01-002
© 2012-2015 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes

Bestilling www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com
