

Oktober 2015

artus® VZV QS-RGQ-kit: Prestandaegenskaper

artus VZV QS-RGQ-kit, version 1

REF

4502363

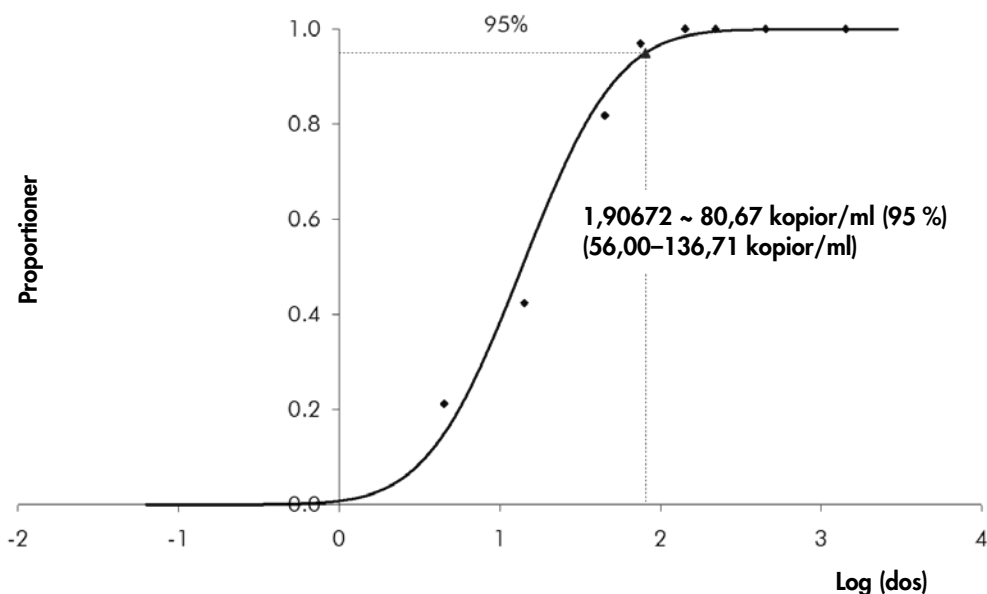


Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).

Analytisk sensitivitet – CSF

Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen (sensitivitetsgräns) utvärderades för *artus* VZV QS-RGQ-kitet med hjälp av VZV-positiva kliniska prover i kombination med extraktionen på QIASymphony® SP.

Den analytiska sensitiviteten med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet fastställdes med hjälp av en spädningsserie av Ellen-virusmaterial från VZV-stammen från 1 420 till nominella 4,5 VZV-kopior/ml som tillsatts till kliniska CSF-prover. Dessa utsattes för DNA-extraktion med användning av QIASymphony DSP virus/patogen mini-kit i kombination med Cellfree200_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 0,2 ml, elueringsvolym: 60 µl). Var och en av de 8 spädningarna analyserades med *artus* VZV QS-RGQ-kitet på 3 olika dagar i 3 körningar med 11 replikat vardera. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 1. Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet i kombination med Rotor-Gene Q är 80,67 kopior/ml ($p = 0,05$). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 80,67 kopior/ml kommer att detekteras.



Figur 1. Probitanalys: CSF, VZV (Rotor-Gene Q). Analytisk sensitivitet med hänsyn till reningen (QIASymphony DSP virus/patogen mini-kit) av *artus* VZV QS-RGQ-kitet på Rotor-Gene Q.

Specificitet – CSF

Specificiteten för *artus* VZV QS-RGQ-kitet garanteras först och främst genom valet av primrar och prober, samt genom valet av strikta reaktionsvillkor. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed säkerställs att alla relevanta genotyper kan detekteras.

Dessutom validerades specificiteten med 30 olika VZV-negativa kliniska CSF-prover. Dessa alstrade inga signaler med de VZV-specifika primrar och prober som ingår i VZV RG Master.

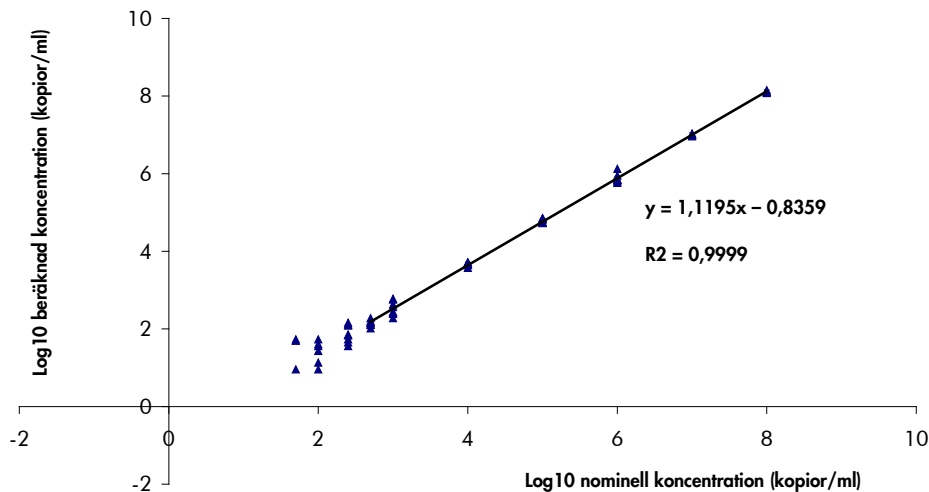
En potentiell korsreaktivitet för *artus* VZV QS-RGQ-kitet testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 1. Ingen av de testade patogenerna var reaktiv. Inga korsreaktiviteter visade sig med blandade infektioner.

Tabell 1. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener (CSF)

Kontrollgrupp	VZV (Cycling Green)	Intern kontroll (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 (Kaposis sarkom-associerat herpesvirus)	–	+
Hepatit A-virus	–	+
Hepatit B-virus	–	+
Hepatit C-virus	–	+
Humant immunbristvirus 1	–	+
Humant T-cell-leukemivirus 1	–	+
Humant T-cell-leukemivirus 2	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
West Nile-virus	–	+

Linjärt område – CSF

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet fastställdes genom analys av en spädningsserie av ATCC® VR-1367 VZV-stam Ellen-standardmaterial inom området $1,00 \times 10^8$ kopior/ml till $5,00 \times 10^1$ kopior/ml. Reningen utfördes i replikat (n = 4 för koncentrationer $\geq 1,00 \times 10^7$ kopior/ml; n = 8 för koncentrationer $< 1,00 \times 10^7$ kopior/ml) med användning av QIASymphony DSP virus/patogen mini-kitet i kombination med Cellfree200_DSP -protokollet (extraktionsvolym: 0,2 ml, elueringsvolym: 60 μ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* VZV QS-RGQ-kitet. Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet har konstaterats täcka koncentrationer från $5,00 \times 10^2$ kopior/ml till $1,00 \times 10^8$ kopior/ml (figur 2).



Figur 2. Linjärt område för *artus* VZV QS-RGQ-kitet (CSF). Beräkning av det linjära området. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de log10-beräknade koncentrationerna jämfört med de log10-nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

Robusthet – CSF

Genom verifiering av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* VZV QS-RGQ-kitet. För att verifiera robustheten spetsades 30 VZV-negativa prover av CSF med 300 kopior/ml av VZV-virusmaterial (en ungefär tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extrahering med användning av QIA Symphony DSP virus/patogen mini-kitet i kombination med Cellfree200_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 0,2 ml, elueringsvolym: 60 µl) analyserades proverna med *artus* VZV QS-RGQ-kitet.

Dessutom utvärderades robustheten i den interna kontrollen genom rening och analys av de 30 spetsade CSF-proverna. Inhibitioner observerades inte. Robustheten för *artus* VZV QS-RGQ-kitet är alltså $\geq 99\%$.

Störande substanser – CSF

Erythrocyter och genomiskt DNA är två endogena substanser som har potentialen att störa analyser när de finns i CSF. För att undersöka deras störande potential utvärderades vilken effekt dessa substanser hade på prestandan för analysen. För detta användes CSF-prover som innehöll VZV vid en koncentration som var cirka 10 gånger högre än detektionsgränsen (LOD) (1 000 kopior/ml). Dessa testade substanser uppvisade ingen störning med reagenser i *artus* VZV QS-RGQ-kitet (se tabell 2).

Tabell 2. Störande substanser i CSF-prover

VZV-koncentration (kopior/ml)	Störande substans		CT(IC)			CT(IC) IS – CT(IC) Kontroll
	Objekt	Koncentration	Genomsnitt CT	SD	CV (%)	Absolut
1000	Erythrocyter	–	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
	Kontroll	–	23,58	0,06	0,26	–

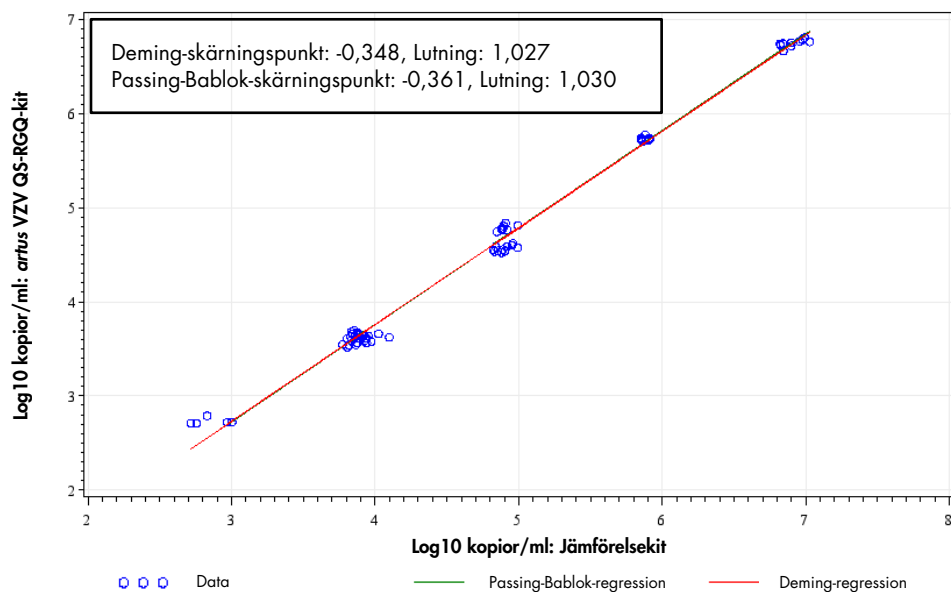
CV: variationskoefficient; IC: intern kontroll; IS: störande substans; SD: standardavvikelse.

Klinisk bedömning – CSF

Den kliniska prestandan för *artus* VZV QS-RGQ-kitet utvärderades genom att totalt 163 anskaffade prover testades och fynden analyserades mot resultaten från en jämförbar metod vid ett externt kliniskt laboratorium. Resultaten analyserades i två delar: del ett var en kategorisk överensstämmelseanalys av positiv procentuell överensstämmelse (PPA), negativ procentuell överensstämmelse (NPA) och total procentuell överensstämmelse (OPA); del två var en analys av resultaten från totalt 75 CSF-prover som låg inom det dynamiska intervallet för en vanlig analys enligt Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalyser, med resultaten rapporterade med motsvarande korrelationskoefficient (se tabell 3 och bild 3).

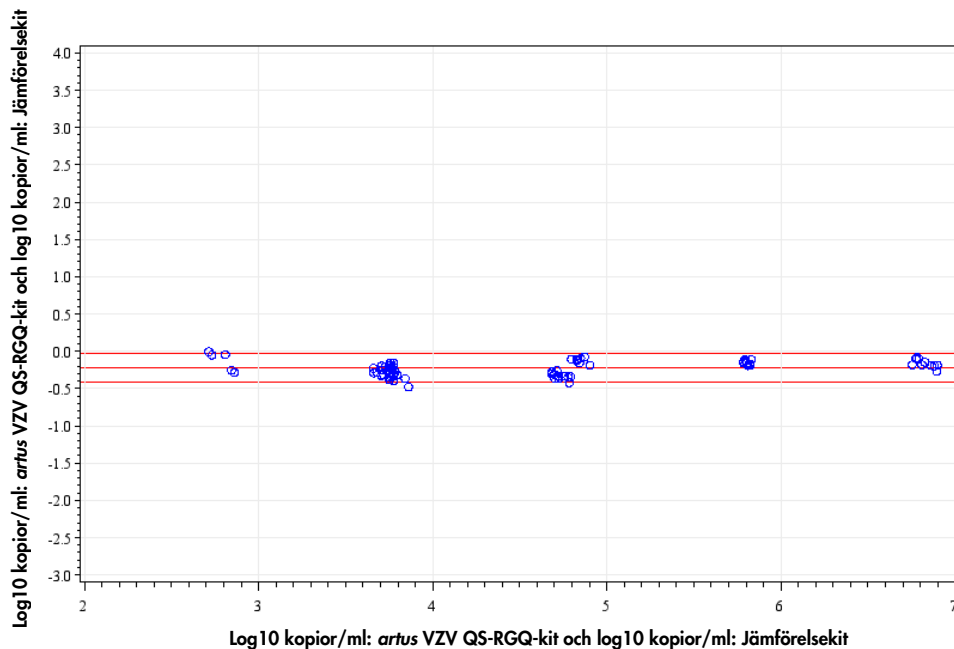
Tabell 3. Data från undersökning av klinisk prestanda för EDTA-plasmaprover

Mått på överensstämmelse	Frekvenser	Procentuell överensstämmelse	Clopper-Pearson (exakt) binomial undre tvåsidig 95 % konfidensgräns	Clopper-Pearson (exakt) binomial övre tvåsidig 95 % konfidensgräns
Total procentuell överensstämmelse	163/163	100,00	97,76	100,00
Positiv procentuell överensstämmelse	100/100	100,00	96,38	100,00
Negativ procentuell överensstämmelse	63/63	100,00	94,31	100,00



Figur 3. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer för CSF-prover. Prover som ligger mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten togs med i analysen.

Bland-Altman-diagrammet i figur 4 visar att den ungefärliga genomsnittliga log-skillnaden som observeras mellan kiten är 0,22, och denna skillnad påverkas inte av testkoncentrationen.



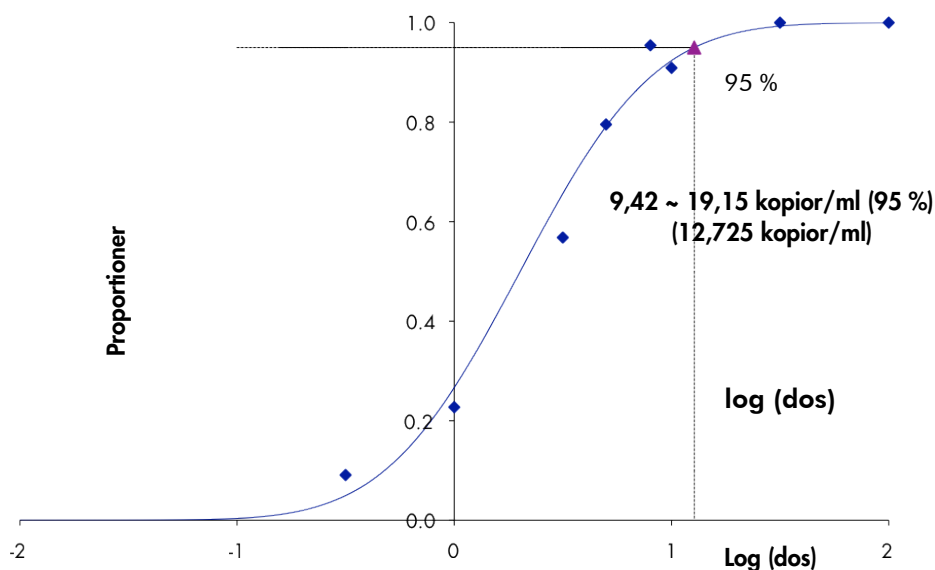
Figur 4. Bland-Altman-diagram (plasma). Horisontella referenslinjer ligger på $-0,22$, $-0,42$ och $-0,03$ och anger genomsnittlig skillnad (\log_{10} kopior/ml: *artus* VZV QS-RGQ-kit – \log_{10} kopior/ml: jämförelsekit) och dess motsvarande 95-procentiga prediktionsintervall. Prover som låg mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten togs med i analysen.

Analytisk sensitivitet – plasma

Den analytiska sensitiviteten för plasma med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet fastställdes med hjälp av spädningsserier av virusmaterial som tillsatts i human plasma från 100 till 0,316 kopior/ml.

Dessa användes för att extrahera DNA med användning av QIA-symphony DSP virus/patogen midi-kitet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraheringsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 μ l). Var och en av de 8 spädningarna analyserades med *artus* VZV QS-RGQ-kitet på 4 olika dagar i 4 körningar med 11 replikat vardera. Resultaten fastställdes genom en probitanalys.

En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 5. Den analytiska detektionsgränsen för VZV med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet i kombination med Rotor-Gene Q är 12,725 kopior/ml ($p = 0,05$). Detta innebär att det finns en 95-procentig sannolikhet att 12,725 kopior/ml kommer att detekteras.

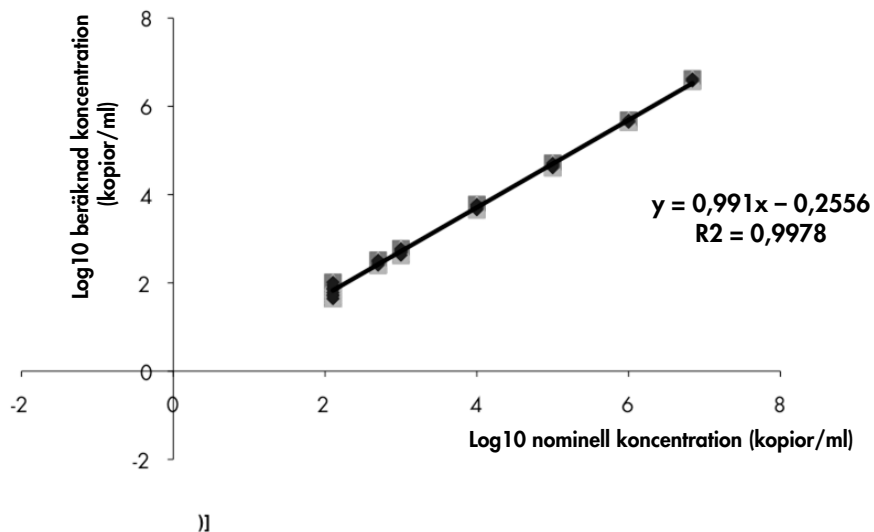


Figur 5. Probitanalys: plasma, VZV (Rotor-Gene Q). Analytisk sensitivitet med hänsyn till reningen (med användning av QIASymphony DSP virus/patogen midi-kitet) och *artus* VZV QS-RGQ-kitet på Rotor-Gene Q.

Linjärt område – plasma

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet fastställdes genom analys av en spädningsserie av virusmaterial i plasma inom området $6,92 \times 10^6$ kopior/ml till $1,0 \times 10^1$ kopior/ml. Reningen utfördes i replikat ($n = 4$ för koncentrationer $\geq 1,00 \times 10^6$ kopior/ml; $n = 8$ för koncentrationer $< 1,00 \times 10^6$ kopior/ml) med användning av QIASymphony DSP virus/patogen midi-kitet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 μ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* VZV QS-RGQ-kitet.

I plasma har det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* VZV QS-RGQ-kitet för VZV-material konstaterats täcka koncentrationer från 127 kopior/ml till $6,92 \times 10^6$ kopior/ml (figur 6).



Figur 6. Linjärt område för artus VZV QS-RGQ-kitet (plasma). Beräkning av det linjära området. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de log10-beräknade koncentrationerna jämfört med de log10-nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

Robusthet – plasma

Genom verifiering av robustheten i plasma går det att fastställa den totala felrekvensen för artus VZV QS-RGQ-kitet. För att verifiera robustheten spetsades 30 VZV-negativa prover av plasma med 38,175 kopior/ml av VZV-material (en ungefär tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extrahering med användning av QIASymphony DSP virus/patogen midi-kitet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl) analyserades proverna med artus VZV QS-RGQ-kitet. För robusthet vid VZV-målfestning detekterades 100 % (30/30) prover som positiva för VZV.

Dessutom utvärderades robustheten för den interna kontrollen efter rening och analys av 116 spetsade plasmaprover. Dessa prover var till 100 % negativa för VZV, och till 100 % positiva för intern kontroll-mål. Inhibitioner observerades inte. Robustheten för artus VZV QS-RGQ-kitet är alltså ≥ 99 %.

Störande substanser – plasma

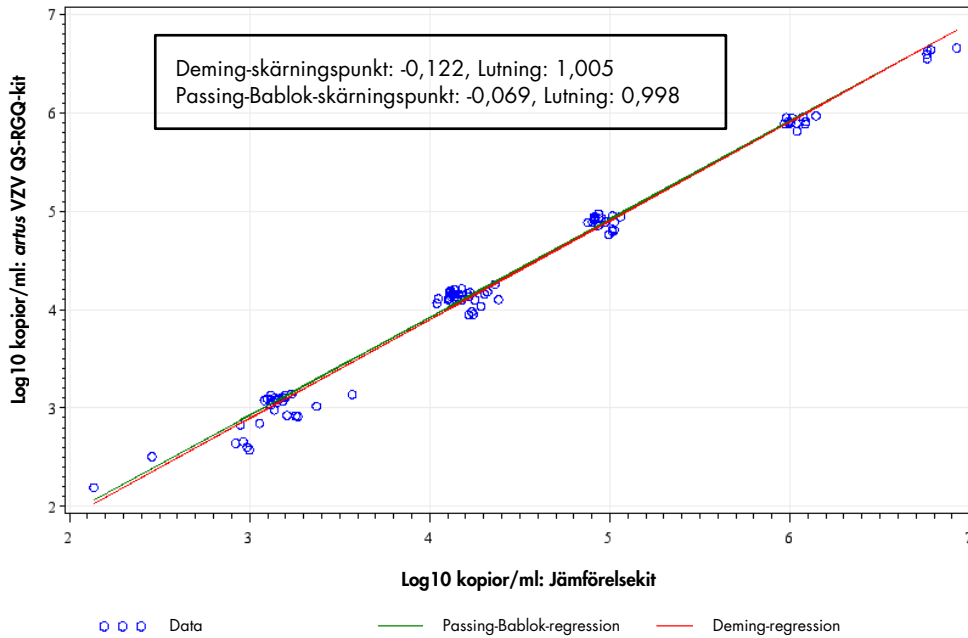
Fyra endogena substanser (bilirubin, hemoglobin, triglycerid och albuminprotein) vid en förhöjd koncentration har identifierats som potentiella störande substanser som finns i plasmaprover. Deras effekter utvärderades i plasma som innehöll ungefär 10 gånger så mycket VZV som LOD-värdet (127,25 kopior/ml). Som en kontroll ingick plasmaprover med tillsatt VZV men utan tillsats av några störande substanser. Alla prover, med eller utan tillsats av störande substanser, analyserades i 4 replikat med användning av QIASymphony DSP virus/patogen midi-kitet i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl). För prover som innehåller förhöjda nivåer av endogena hämmare (bilirubin, hemoglobin, triglycerid och albuminprotein), sågs ingen interferens för VZV-detektion.

Klinisk bedömning – plasma

Den kliniska prestandan för *artus* VZV QS-RGQ-kitet utvärderades genom att totalt 161 anskaffade EDTA-prover testades och fynden analyserades mot resultaten från en jämförbar metod vid en extern enhet. Resultaten analyserades i två delar: del ett var en kategorisk överensstämmelseanalys av positiv procentuell överensstämmelse (PPA), negativ procentuell överensstämmelse (NPA) och total procentuell överensstämmelse (OPA); del två var en analys av resultaten från totalt 97 EDTA-plasmaprover som låg inom det dynamiska intervallet för en vanlig analys enligt Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalyser, med resultaten rapporterade med motsvarande korrelationskoefficient (se tabell 4 och bild 7).

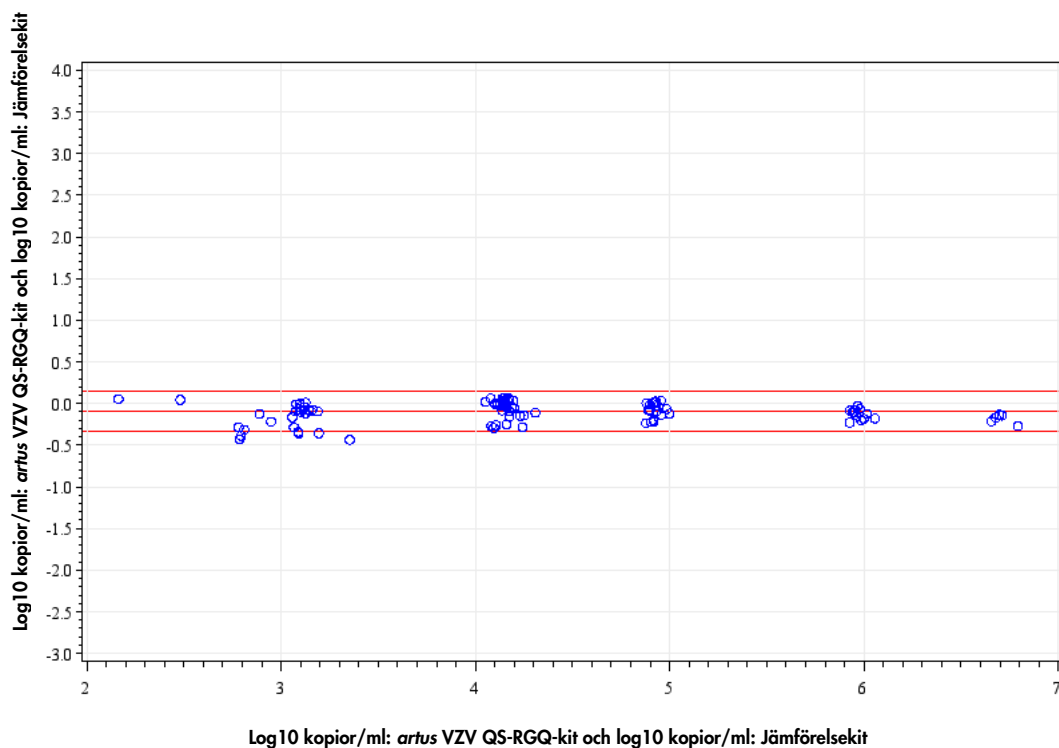
Tabell 4. Data från undersökning av klinisk prestanda för EDTA-plasmaprover

Mått på överensstämmelse	Frekvenser	Procentuell överensstämmelse	Clopper-Pearson (exakt) binomial undre tvåsidig 95 % konfidensgräns	Clopper-Pearson (exakt) binomial övre tvåsidig 95 % konfidensgräns
Total procentuell överensstämmelse	161/161	100,00	97,73	100,00
Positiv procentuell överensstämmelse	101/101	100,00	96,41	100,00
Negativ procentuell överensstämmelse	60/60	100,00	94,04	100,00



Figur 7. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer för plasmaprover. Prover som ligger mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten togs med i analysen.

Bland-Altman-diagrammet i figur 8 visar att den ungefärliga genomsnittliga log-skillnaden som observeras mellan kiten är $-0,10$, och denna skillnad påverkas inte av testkoncentrationen.



Figur 8. Bland-Altman-diagram (plasma). Horisontella referenslinjer ligger på $-0,10$, $-0,34$ och $-0,14$ och anger genomsnittlig skillnad (\log_{10} kopior/ml:artus VZV QS-RGQ-kit – \log_{10} kopior/ml: jämförelsekit) och dess motsvarande 95-procentiga prediktionsintervall. Prover som låg mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten togs med i analysen.

Precision

Precisionsuppgifterna för *artus* VZV QS-RGQ-kitet gör det möjligt att fastställa analysens totala varians. Den totala variansen består av intra-analysvariabilitet (variabilitet för flera resultat av prover med samma koncentration inom ett experiment), inter-analysvariabilitet (variabilitet för flera resultat av analysen som genererats på olika instrument av samma typ av olika operatörer inom ett laboratorium) och inter-batchvariabilitet (variabilitet för flera resultat av analysen med användning av olika batcher). De uppgifter som erhöles användes för att fastställa standardavvikelsen, variansen, variationskoefficienten för den specifika patogenen och den interna kontrollen för PCR.

Analytiska precisionsdata för *artus* VZV QS-RGQ-kitet (utan hänsyn tagen till reningen) samlades in med hjälp av kvantifieringsstandarden för den lägsta koncentrationen (QS 4; 10 kopior/ μ l). Testning utfördes med 8 replikat. Precisionsdata beräknades med utgångspunkt från CT-värdena för amplifieringskurvorna (CT: tröskelcykel, se tabell 2). Dessutom fastställdes precisionsdata för kvantitativa resultat i kopior/ μ l med hjälp av motsvarande CT-värden (tabell 3). Baserat på dessa resultat är den totala statistiska spridningen för ett givet prov med nämnd koncentration 0,45 % (CT) eller 8,32 % (koncentration) och 2,81 % (CT) för

detektionen av den interna kontrollen. Dessa värden baseras på slutsumman för alla enskilda värden av de fastställda variabiliteterna.

Tabell 5. Precisionsdata för VZV med utgångspunkt från CT-värdena

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Intraanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,04	0,002	0,17
Interanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Interanalysvariabilitet: Intern kontroll	0,39	0,15	1,63
Interbatchvariabilitet: VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Interbatchvariabilitet: Intern kontroll	0,66	0,43	2,65
Total varians: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Total varians: Intern kontroll	0,68	0,47	2,81

Tabell 6. Precisionsdata för VZV med utgångspunkt från de kvantitativa resultaten (i kopior/ml)

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Interanalysvariabilitet: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Interbatchvariabilitet: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Total varians: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera prestandan för *artus* VZV QS-RGQ-kitet och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa uppgifter erhålls vid deltagande i etablerade kunskapsprogram.

Korskontamination

Frånvaro av korskontamination mellan prover i hela arbetsflödet bevisades genom korrekt detektion av alla kända positiva och negativa prover i växlande positioner (schackrutigt mönster) för ett representativt *artus* QS-RGQ-system.

Denna sida är avsiktligt tom.

Relaterade produkter och beställningsinformation anges i handboken till *artus* VZV QS-RGQ PCR-kitet

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen till respektive QIAGEN®-kit. QIAGEN-kithandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN:s tekniska serviceavdelning eller från lokal återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIA Symphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection).
Registrerade namn, varumärken, etc. som används i detta dokument, även om de inte angetts som sådana, ska inte anses som oskyddade i lag. 10/2015 HB-0401-D01-002
© 2012–2015 QIAGEN, med ensamrätt

Beställning www.qiagen.com/contact | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com
