

Februari 2018

artus[®] CMV QS-RGQ Kit: Prestandaegenskaper

R4

IVD

CE
0197

REF

4503363, *artus* CMV QS-RGQKit, Version 1.

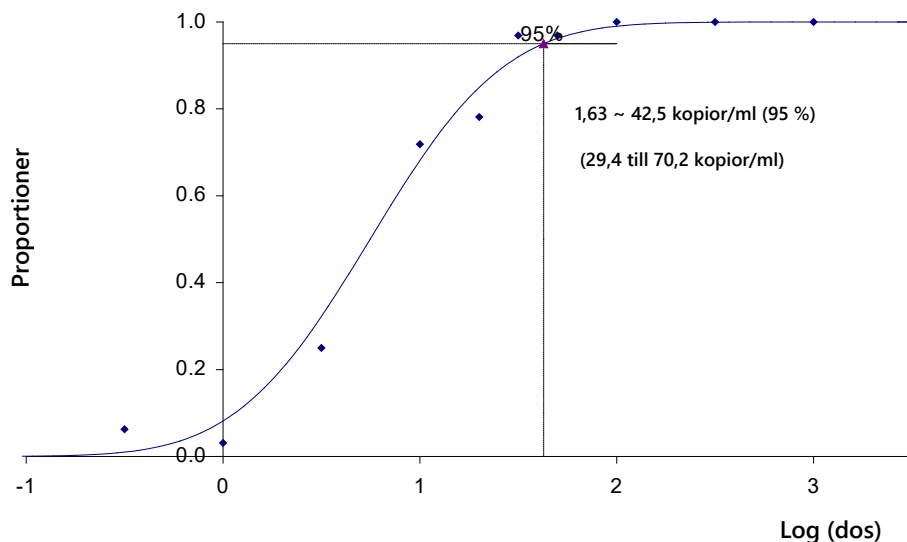


Kontrollera om det finns nya elektroniska märkningsrevisioner på www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx innan testet utförs.

Detektionsgräns – plasma

Den analytiska detektionsgränsen (LOD) med hänsyn till reningen (sensitivitetsgräns) utvärderades för *artus* CMV QS-RGQKit med hjälp av CMV-positiva kliniska prover i kombination med extraktion på QIASymphony® SP.

Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQKit fastställdes med hjälp av spädningsserier av CMV-virusmaterial från 1000 till nominellt 0,316 CMV kopior/ml spetsade i kliniska plasmaprover. Dessa utsattes för DNA-extraktion med användning av QIASymphony DSP Virus/Pathogen MidiKit i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl). Var och en av de 10 spädningarna analyserades med *artus* CMV QS-RGQ Kit under 4 olika dagar i 4 körningar med 8 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* CMV QS-RGQKit i kombination med Rotor-Gene Q är 42,5 kopior/ml ($p = 0,05$). Det innebär att det finns en 95 % sannolikhet att 42,5 kopior/ml av (motsvarar 69,7 IU/ml) kommer att detekteras.



Figur 1. Probitanalys: plasma, CMV (Rotor-Gene Q). Detektionsgräns med hänsyn till reningen (plasma, med användning av QIASymphony DSP virus/patogen MidiKit) av *artus* CMV QS-RGQKit på Rotor-Gene Q.

Specificitet – plasma

Specificiteten för *artus* CMV QS-RGQKit 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 utvärderades specificiteten med hundra olika negativa plasmaprover av CMV. Dessa alstrade inga signaler med de CMV-specifika primrar och prober som ingår i CMV RG Master.

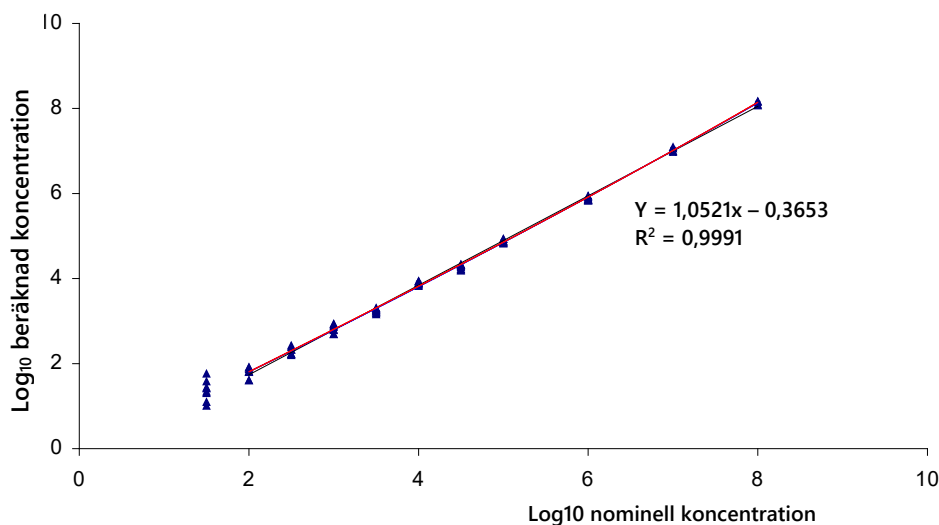
Potentiell kors-reaktivitet i *artus* CMV QS-RGQKit testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 1 (nedan). Ingen av de testade patogenerna var reaktiva. Inga förekomster av kors-reaktivitet observerades vid blandade infektioner.

Tabell 1. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener.

Kontrollgrupp	CMV (Cycling Green)	Intern kontroll (Cycling Yellow)
Humant herpesvirus 1 (Herpes simplex-virus 1)	–	+
Humant herpesvirus 2 (Herpes simplex-virus 2)	–	+
Humant herpesvirus 3 (varicella zoster-virus)	–	+
Humant herpesvirus 4 (Epstein-Barr-virus)	–	+
Humant herpesvirus 6A	–	+
Humant herpesvirus 6B	–	+
Humant herpesvirus 7	–	+
Humant herpesvirus 8 (Kaposi 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	–	+
West Nile-virus	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

Linjärt område — plasma

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQKit fastställdes genom analys av en spädningsserie av CMV-material inom intervallet $1,00 \times 10^8$ kopior/ml till $3,16 \times 10^1$ kopior/ml i plasma. Reningen utfördes i replikat ($n = 4$ vardera för koncentrationer $\geq 1,00 \times 10^7$ kopior/ml; $n = 8$ vardera för koncentrationer $< 1,00 \times 10^7$ kopior/ml) med användning av QIASymphony DSP virus/patogen midiKit i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 μ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* CMV QS-RGQKit. Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQKit har konstaterats täcka koncentrationer från $7,94 \times 10^1$ kopior/ml till $1,00 \times 10^8$ kopior/ml (motsvarar $1,30 \times 10^2$ till $1,64 \times 10^8$ IU/ml) för plasma (Figur 2).



Figur 2. Linjärt intervall för *artus* CMV QS-RGQKit (plasma). Beräkning av det linjära intervallet. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de \log_{10} -beräknade koncentrationerna jämfört med de \log_{10} -nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

Robusthet – plasma

Genom verifiering av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* CMV QS-RGQKit. För att verifiera robustheten spetsades 100 CMV-negativa prover av plasma med 130 kopior/ml av CMV (ungefär en tre gånger så stor koncentration av den analytiska detektionsgränsen). Efter extrahering på QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombination med Cellfree1000_DSP-protokollet för plasma (extraheringsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 μ l) analyserades proverna med *artus* CMV QS-RGQKit. Dessutom utvärderades

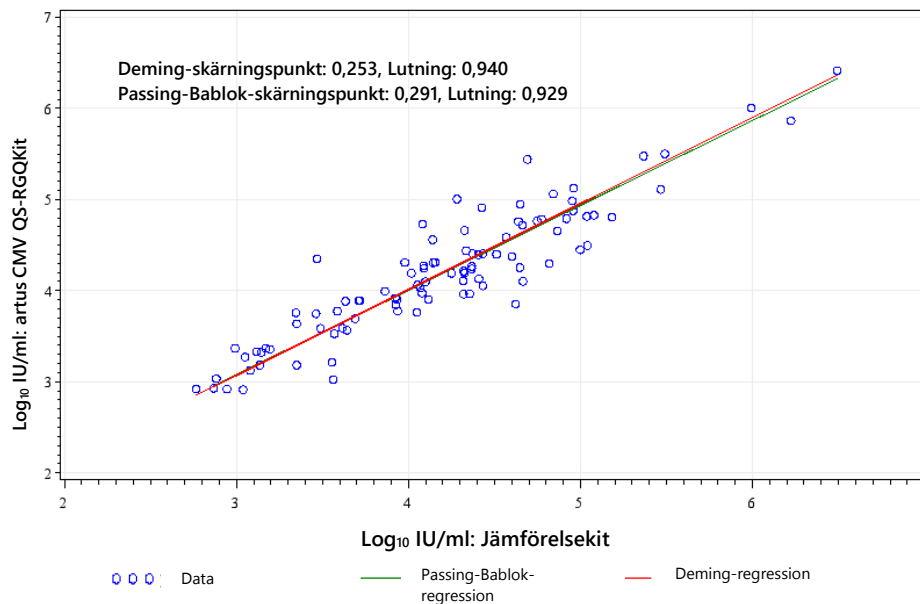
robustheten i den interna kontrollen genom rening och analys av de 100 spetsade plasmaproverna. Inga inhiberingar observerades. Robustheten för *artus* CMV QS-RGQKit är därmed ≥ 99 %.

Störande substanser – plasma

Fyra endogena substanser (bilirubin, hemoglobin, triglycerid och albuminprotein) vid en förhöjd koncentration har identifierats som potentiella störande substanser som finns i EDTA-plasmaprover. Deras effekter utvärderades i plasma som innehöll ungefär 10 gånger så mycket CMV som LOD-värdet (425 kopior/ml). Som en kontroll ingick plasmaprover med tillsatt CMV 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 midiKit i kombination med Cellfree1000-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 μ l). För prover som innehåller förhöjda nivåer av endogena hämmare (bilirubin 30mg/dl, hemoglobin 2g/dl, triglycerid 1g/dl och albuminprotein 6g/dl), sågs ingen interferens för CMV-detektion.

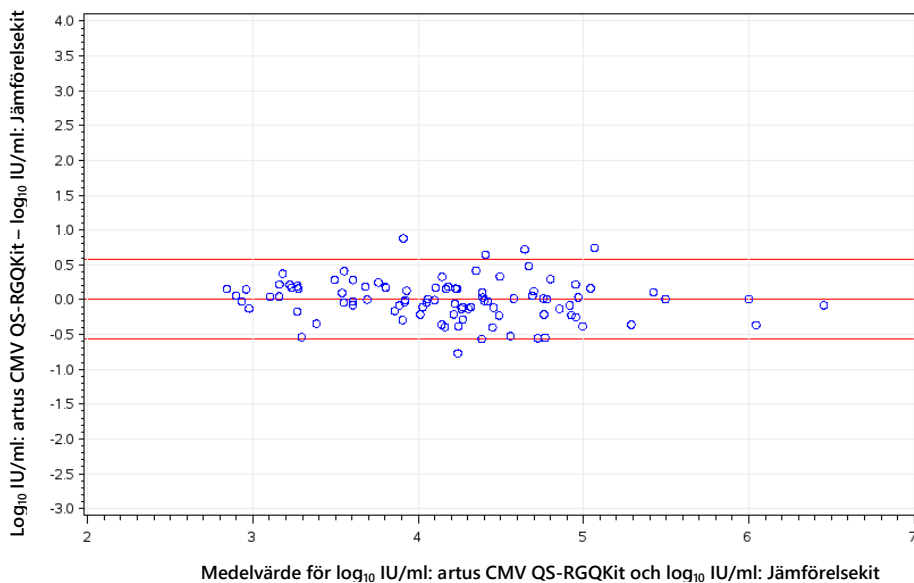
Klinisk bedömning – plasma

Den kliniska prestandan hos *artus* CMV QS-RGQKit bedömdes genom testning av kliniska prover och analys av resultaten jämfört med resultat från en jämförbar metod. Totalt 174 plasmaprover som samlats in i EDTA-rör från CMV-infekterade patienter eller som beretts artificiellt med hjälp av den första WHO-standarden för CMV liksom från negativa kontroller testades med *artus* CMV QS-RGQKit och jämförelsemetoden på en extern plats. Den kvalitativa överensstämmelsen hos båda kiten var 100 %. Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalys utfördes med testresultatet för QIAGENKit på Y-axeln och jämförelsetestets resultat på X-axeln (se figur 3). Den uppskattade skillnaden i \log_{10} (IU/ml) vid den medicinska beslutspunkten (1 000 IU/ml) mellan QIAGENKit och jämförelsekitet var 0,074 \log_{10} IU/ml, enligt beräkningarna från Deming-regressionen.



Figur 3. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer (plasma). Prover som låg mellan den undre kvantifieringsgränsen (lower limit of quantification, LLOQ) och den övre kvantifieringsgränsen (upper limit of quantification, ULOQ) för båda kiten togs med i analysen.

Ett Bland-Altman-diagram skapades för att titta på skillnaden i beräknad log₁₀ (IU/ml). Dessutom beräknades skillnaden i genomsnittlig log₁₀ (IU/ml) och dess motsvarande 95-procentsintervall, och lades över diagrammet (se figur 4).



Figur 4. Bland-Altman-diagram (plasma). Horisontella referenslinjer ligger på 0,00, -0,57 och 0,58 och anger genomsnittlig skillnad (log₁₀ IU/ml: artus CMV QS-RGQKit – log₁₀ IU/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.

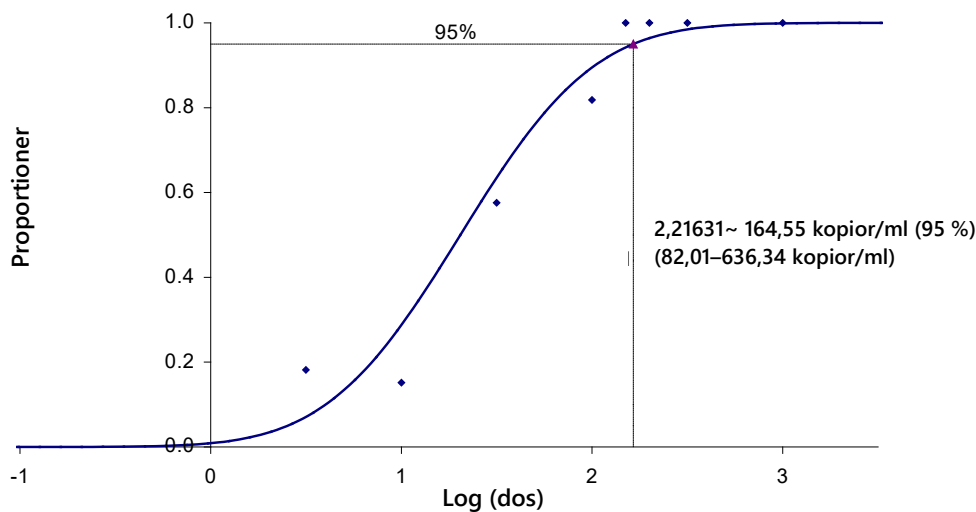
Detektionsgräns – helblod

Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen (sensitivitetsgräns) utvärderades för *artus* CMV QS-RGQKit med hjälp av CMV-positiva kliniska prover i kombination med extraktion på QIASymphony SP.

För helblod fastställdes den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQ Kit med hjälp av spädningsserier av CMV-virusmaterial från 1000 till nominellt 3,16 CMV-kopior/ml spetsade i humana helblodsprover.

Dessa användes för att extrahera DNA med hjälp av QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200_DSP-protokollet (extraheringsvolym: 200 µl, elueringsvolym: 60 µl). Var och en av de 8 spädningarna analyserades med *artus* CMV QS-RGQ Kit under 3 olika dagar i 6 körningar med 11 replikat vardera. Resultaten fastställdes genom en probitanalys.

En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 5. Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQKit i kombination med Rotor-Gene Q är 164,55 kopior/ml ($p = 0,05$). Det innebär att det finns en 95 % sannolikhet att 164,55 kopior/ml av (motsvarar 122,59 IU/ml) kommer att detekteras.



Figur 5. Probitanalys: helblod, CMV (Rotor-Gene Q). Detektionsgräns med hänsyn till reningen (helblod, med användning av QIASymphony DNA Mini Kit) för *artus* CMV QS-RGQ Kit på Rotor-Gene Q.

Specificitet – helblod

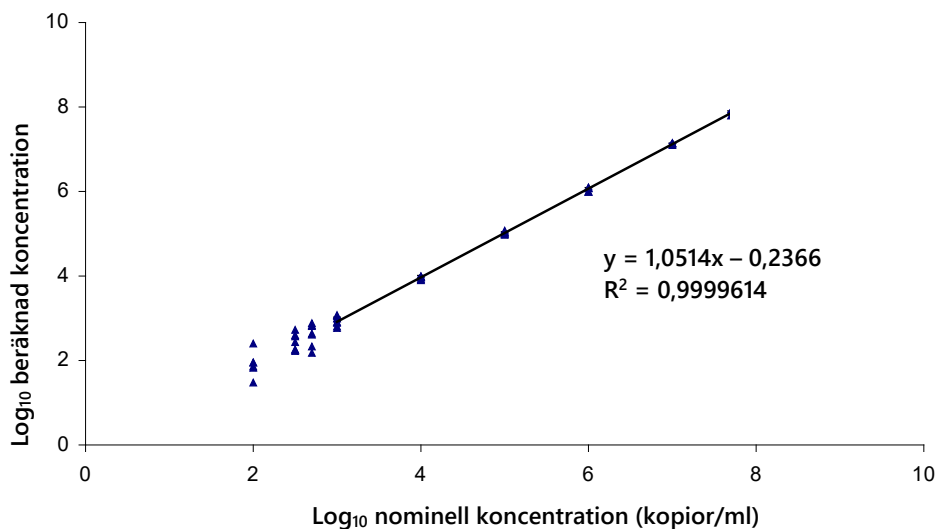
Specificiteten för *artus* CMV QS-RGQKit garanteras först och främst genom valet av primrar och prober, samt genom valet av strikta reaktionsvillkor. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed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

Dessutom utvärderades specificiteten med 100 olika CMV-negativa helblodsprover. Dessa alstrade inga signaler med de CMV-specifika primrar och prober som ingår i CMV RG Master.

Potentiell kors-reaktivitet i *artus* CMV QS-RGQKit testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i Tabell 1 (se sida 3). Ingen av de testade patogenerna var reaktiva. Inga förekomster av korsreaktivitet observerades vid blandade infektioner.

Linjärt intervall – helblod

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQ Kit fastställdes genom att analysera en spädningsserie med CMV-virusmaterial med intervallet $5,00 \times 10^7$ till $1,00 \times 10^2$ i helblod. 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 QIA Symphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlod200_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 200 μ l, elueringsvolym: 60 μ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* CMV QS-RGQKit. Det linjära intervallet med hänsyn till reningen av *artus* CMV QS-RGQKit har konstaterats täcka koncentrationer från $1,00 \times 10^3$ kopior/ml till $5,00 \times 10^7$ kopior/ml (motsvarar $7,45 \times 10^2$ till $3,73 \times 10^7$ IU/ml) för helblod (Figur 6).



Figur 6. Linjärt intervall för artus CMV QS-RGQ Kit (helblod). Beräkning av det linjära intervallet. 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 – helblod

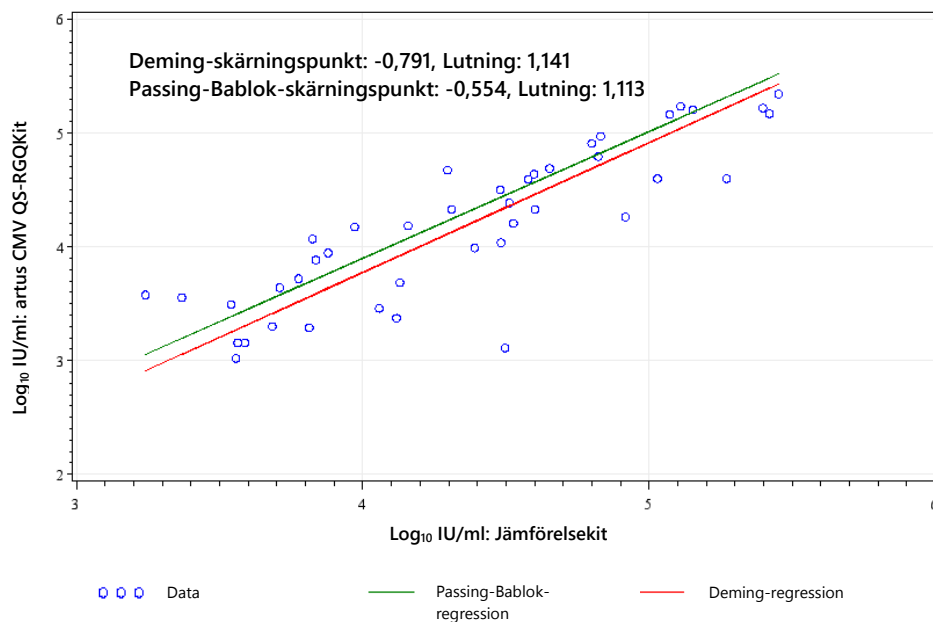
Genom verifiering av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* CMV QS-RGQKit. För att verifiera robustheten spetsades 100 CMV-negativa helblodsprover med 500 kopior/ml av CMV (ungefär en tre gånger så stor koncentration av den analytiska detektionsgränsen). Efter extrahering med QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200_DSP-protokollet för helblod analyserades proverna med *artus* CMV QS-RGQ Kit. Dessutom utvärderades robustheten på den interna kontrollen genom rening och analys av de 100 spetsade helblodsproverna. Inga inhiberingar observerades. Robustheten för *artus* CMV QS-RGQKit är därmed ≥ 99 %.

Störande substanser – helblod

Tre endogena substanser (bilirubin, triglycerin och gDNA) vid en förhöjd koncentration har identifierats som potentiella störande substanser som finns i EDTA-helblodsprover. Deras effekter utvärderades i helblod som innehöll ungefär 10 gånger så mycket CMV som LOD-värdet (1650 kopior/ml). Som en kontroll ingick helblodsprover med tillsatt CMV men utan tillsats av några störande substanser. Alla prover, med eller utan tillsats av störande substanser, analyserades i 4 replikat med användning av QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 0,2 ml, elueringsvolym: 60 µl). För prover som innehåller förhöjda nivåer av endogena hämmare (bilirubin 30mg/dl, triglycerid 1g/dl och gDNA upp till 3µg/prov), sågs ingen interferens för CMV-detektion.

Klinisk bedömning – helblod

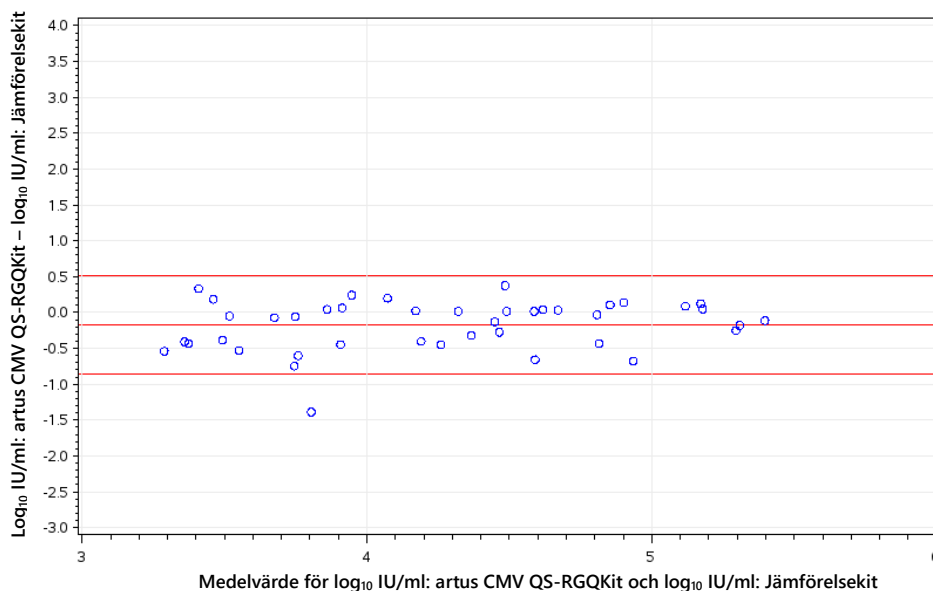
Den kliniska prestandan hos *artus* CMV QS-RGQKit bedömdes genom testning av kliniska prover och analys av resultaten jämfört med resultat från en jämförbar metod. Totalt 115 prover med helblod som samlats in från CMV-infekterade patienter liksom från negativa kontroller testades med *artus* CMV QS-RGQKit och med jämförelsemetoden på en extern plats. Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalys utfördes med testresultatet för QIAGENKit på Y-axeln och jämförelsetestetets resultat på X-axeln (se figur 7).



Figur 7. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer (helblod). Endast kliniska prover togs med i analysen. Prover som låg mellan den undre kvantifieringsgränsen (LLOQ) och den övre kvantifieringsgränsen (ULOQ) för båda kiten togs med i analysen.

Ett Bland-Altman-diagram skapades för att titta på skillnaden i beräknad $\log_{10}(\text{IU/ml})$. Dessutom beräknades skillnaden i genomsnittlig $\log_{10}(\text{IU/ml})$ och dess motsvarande 95-procentsintervall, och lades över diagrammet (se figur 8).

Den genomsnittliga skillnaden i $\log_{10}(\text{IU/ml})$ mellan QIAGENKit och jämförelsekitet var 0,18 $\log_{10} \text{IU/ml}$. Den kvalitativa överensstämmelsen hos båda kiten var 100 %.



Figur 8. Bland-Altman-diagram (helblod). Horisontella referenslinjer ligger på -0,18, -0,86 och 0,51 och anger genomsnittlig skillnad ($\log_{10} \text{IU/ml}$: artus CMV QS-RGQ Kit - $\log_{10} \text{IU/ml}$: jämförelsekit) och dess motsvarande 95 % predikterade intervall. Endast kliniska prover togs med i analysen. Prover som låg mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten togs med i analysen.

Precision

Precisionsuppgifterna för artus CMV QS-RGQKit 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* CMV QS-RGQKit (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 C_T -värdena för amplifieringskurvorna (C_T : tröskelcykel, se tabell 2, sidan 12). Dessutom fastställdes precisionsdata för kvantitativa resultat i kopior/ μ l med hjälp av motsvarande C_T -värden (tabell 3, sidan 12). Baserat på dessa resultat är den totala statistiska spridningen för ett givet prov med nämnd koncentration 1,21% (C_T) eller 14,38% (koncentration) och 1,93% (C_T) för detektionen av den interna kontrollen. Dessa värden baseras på summan av alla enskilda bestämda variabiliteter.

Tabell 2. Precisionsdata på grundval av C_T -värdena

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Intraanalysvariabilitet: Internkontroll	0,31	0,10	1,16
Interanalysvariabilitet: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Interanalysvariabilitet: Internkontroll	0,47	0,22	1,77
Interbatchvariabilitet: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Interbatchvariabilitet: Internkontroll	0,53	0,28	2,02
Total varians: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Total varians: Internkontroll	0,51	0,26	1,93

Tabell 3. Precisionsuppgifter baserade på kvantitativa resultat (i kopior/ μ l)

	Standardavvikelse	Varians	Variationskoefficient (%)
Intraanalysvariabilitet: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Interanalysvariabilitet: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Interbatchvariabilitet: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Total varians: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera prestandan för *artus* CMV QS-RGQKit och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa data erhålls genom deltagande i etablerade kunskapsprogram.

Korskontaminering

Frånvaro av korskontaminering 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.

Relaterade produkter och beställningsinformation anges i handboken till *artus* CMV QS-RGQKit.

Dokumentrevisioner

R4, februari 2018	"Analytisk sensitivitet" ändrades till "detektionsgräns" eller "LOD". Lade till information om "interfererande substanser". Lade till värden i IU/ml (utöver befintliga data i kopior/ml) baserat på konverteringsfaktorinformationen i respektive applikationsblad.
-------------------	---

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive QIAGEN-kithandbok eller -bruksanvisning. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN Kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
Registrerade namn, varumärken etc. som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag även om de inte uttryckligen anges som skyddade. 02/2018 HB-0356-D01-004.
© 2012-2018 QIAGEN, med ensamrätt.

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