

Oktober 2015

# artus<sup>®</sup> VZV QS-RGQ Kit: Prestatiekenmerken

artus VZV QS-RGQ Kit, versie 1

**REF**

4502363

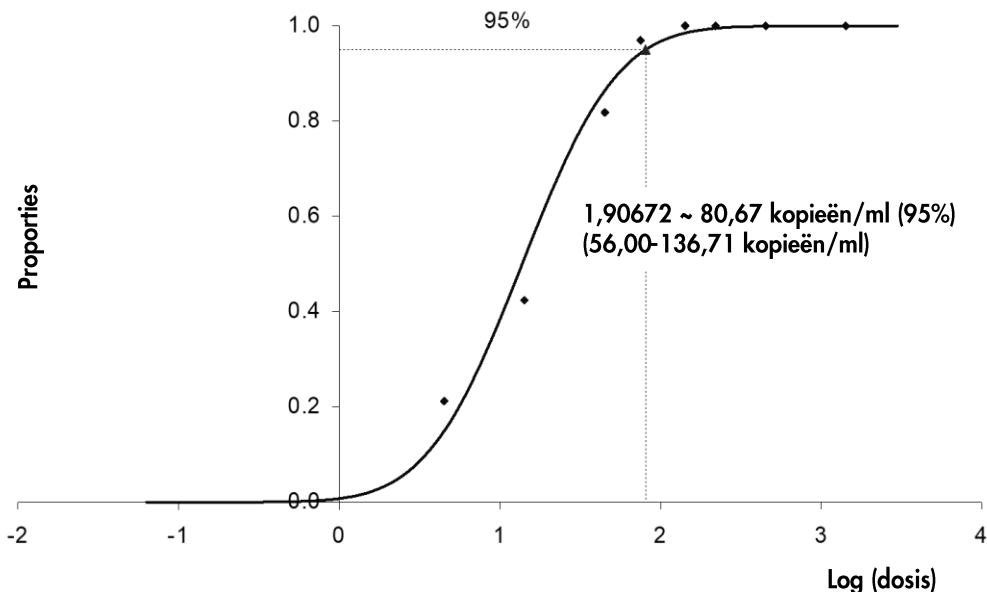


Controleer voordat u een test gaat uitvoeren of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op [www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx). De status van de huidige herziening is aangegeven door middel van de uitgiftedatum (in de vorm maand/jaar).

## Analytische sensitiviteit – CSF

De analytische detectielimiet, rekening houdend met de zuivering (de sensitiviteitslimiet) voor de *artus* VZV QS-RGQ Kit, werd beoordeeld aan de hand van VZV-positieve klinische monsters in combinatie met de extractie op de QIAAsymphony® SP.

De analytische sensitiviteit rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werd vastgesteld aan de hand van een verdunningsreeks van VZV-virusmateriaal uit de Ellen-stam van 1420 tot nominaal 4,5 VZV-kopieën/ml in verrijkte klinische CSF-monsters. Hieruit werd DNA geëxtraheerd met de QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit in combinatie met het Cellfree200\_DSP-protocol (extractievolume: 0,2 ml, elutievolume: 60 µl). Elk van de 8 verdunningen werd op 3 verschillende dagen geanalyseerd met de *artus* VZV QS-RGQ Kit in 3 runs van elk 11 herhalingen. De resultaten werden bepaald via een probitanalyse. Afbeelding 1 toont een grafische illustratie van de probitanalyse. De analytische detectielimiet rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit in combinatie met de Rotor-Gene Q is 80,67 kopieën/ml ( $p = 0,05$ ). Dit betekent dat er een waarschijnlijkheid van 95% is dat er 80,67 kopieën/ml zullen worden gedetecteerd.



**Afbeelding 1. Probitanalyse: CSF, VZV (Rotor-Gene Q).** Analytische sensitiviteit, rekening houdend met de zuivering (QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) van de *artus* VZV QS-RGQ Kit op Rotor-Gene Q.

## Specificiteit – CSF

De specificiteit van de *artus* VZV QS-RGQ Kit wordt in de eerste plaats gegarandeerd door de selectie van de primers en probes, en daarnaast door de selectie van strikte reactiecondities. De primers en probes zijn door middel van sequentievergelijkinganalyse gecontroleerd op mogelijke homologieën ten opzichte van alle sequenties die in genbibliotheken gepubliceerd zijn. Zo is de detecteerbaarheid van alle relevante genotypen geverifieerd.

Verder werd de specificiteit gevalideerd met 30 verschillende VZV-negatieve CSF-monsters. Deze genereerden geen signalen met de VZV-specifieke primers en probes die zijn inbegrepen in de VZV RG Master.

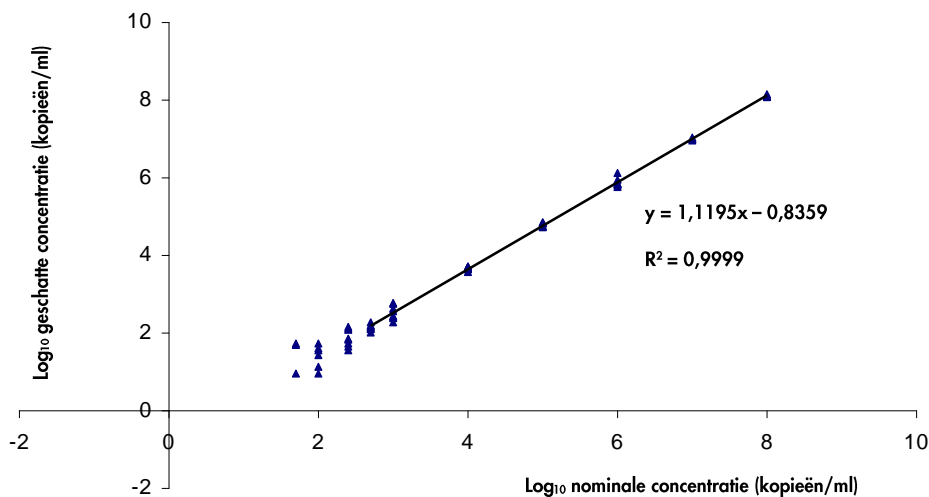
Potentiële kruis-reactiviteit van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werd getest met de controlegroep die in tabel 1 wordt vermeld. Geen van de geteste pathogenen was reactief. Er bleken geen kruisreactiviteiten bij gemengde infecties.

Tabel 1. Tests van de specificiteit van de kit met mogelijk kruisreactieve pathogenen (CSF)

Controlegroep	VZV (Cycling Green)	Interne controle (Cycling Orange)
Humaan herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	–	+
Humaan herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	–	+
Humaan herpesvirus 4 (epstein-barrvirus)	–	+
Humaan herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	–	+
Humaan herpesvirus 6A	–	+
Humaan herpesvirus 6B	–	+
Humaan herpesvirus 7	–	+
Humaan herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus)	–	+
Hepatitis A-virus	–	+
Hepatitis B-virus	–	+
Hepatitis C-virus	–	+
Humaan immunodeficiëntievirus 1	–	+
Humaan T-celleukemievirus 1	–	+
Humaan T-celleukemievirus 2	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Westnijlvirus	–	+

## Lineair bereik – CSF

Het lineaire bereik rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werd vastgesteld door analyse van een verdunningsreeks van ATCC®-standaardmateriaal VR-1367 VZV Ellen-stam van  $1,00 \times 10^8$  kopieën/ml tot  $5,00 \times 10^1$  kopieën/ml. De zuivering werd uitgevoerd in herhalingen ( $n = 4$  voor concentraties  $\geq 1,00 \times 10^7$  kopieën/ml;  $n = 8$  voor concentraties  $< 1,00 \times 10^7$  kopieën/ml) met de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit in combinatie met het Cellfree200\_DSP-protocol (extractievolumen: 0,2 ml, elutievolumen: 60  $\mu$ l). Elk van de monsters werd geanalyseerd met de *artus* VZV QS-RGQ Kit. Het lineaire bereik rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werd vastgesteld voor concentraties vanaf  $5,00 \times 10^2$  kopieën/ml tot  $1,00 \times 10^8$  kopieën/ml (afbeelding 2).



**Afbeelding 2.** Lineair bereik van de *artus* VZV QS-RGQ Kit (CSF). Berekening van het lineaire bereik. De rechte lijn werd bepaald door een lineaire regressie van de op basis van  $\log_{10}$  berekende concentraties met de  $\log_{10}$  nominale concentraties. De vergelijking van de regressielijn is in de afbeelding opgenomen.

## Robuustheid – CSF

Op basis van de verificatie van de robuustheid kan het totale faalpercentage van de *artus* VZV QS-RGQ Kit worden bepaald. Om de robuustheid te verifiëren werden 30 VZV-negatieve CSF-monsters verrijkt met 300 kopieën/ml VZV-virusmateriaal (ongeveer driemaal de concentratie van de analytische sensitiviteitslimiet). Na extractie met de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit in combinatie met het Cellfree200\_DSP-protocol (extractievolume: 0,2 ml, elutievolume: 60 µl) werden deze monsters geanalyseerd met de *artus* VZV QS-RGQ Kit.

Daarnaast werd de robuustheid van de interne controle beoordeeld door zuivering en analyse van de 30 verrijkte CSF-monsters. Remmingen werden niet waargenomen. De robuustheid van de *artus* VZV QS-RGQ Kit is dus  $\geq 99\%$ .

## Interfererende substanties – CSF

Erythrocyten en genomisch DNA zijn twee endogene stoffen die interferentie met de assays kunnen veroorzaken als ze aanwezig zijn in CSF. Het effect van deze stoffen op de prestaties van de assay werd geëvalueerd om hun mogelijke interferentie te onderzoeken. Dit gebeurde aan de hand van CSF-monsters die VZV bevatten in een concentratie van ongeveer 10 maal de waarde van de detectielimiet (LOD) (1000 kopieën/ml). Deze geteste stoffen toonden geen interferentie aan met de *artus* VZV QS-RGQ Kit-reagentia (zie tabel 2).

Tabel 2. Stoffen met een storende werking in CSF-monsters

VZV-concentratie (kopieën/ml)	Interfererende substantie		$C_{T(IC)}$			$C_{T(IC) IS} - C_{T(IC) Control}$
	Item	Concentratie	Gemiddelde $C_T$	SD	CV (%)	Absoluut
1000	Erythrocyten	–	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
	Controle	–	23,58	0,06	0,26	–

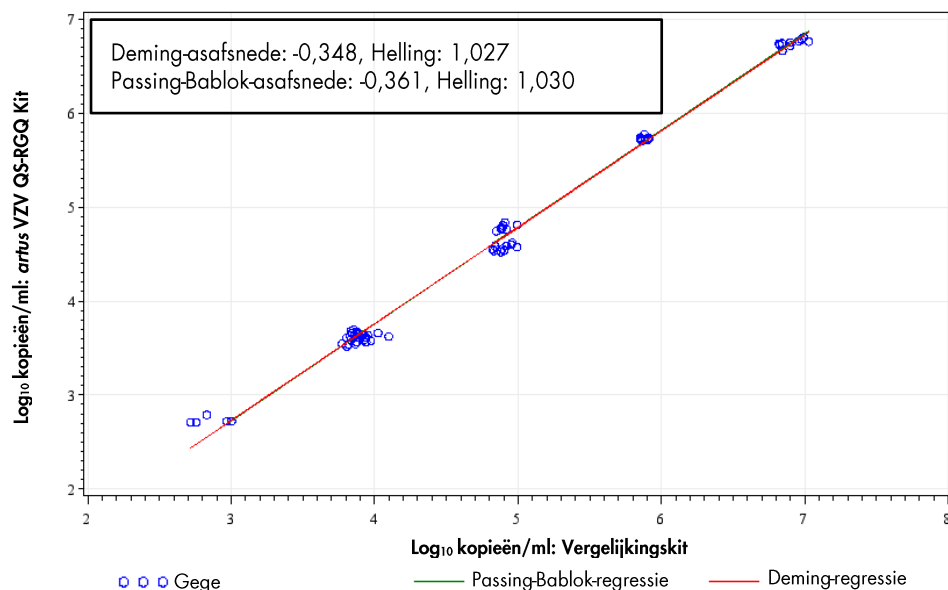
CV: variatiecoëfficiënt; IC: interne controle; IS: interfererende substantie; SD: standaardafwijking.

## Klinische evaluatie – CSF

De klinische prestaties van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werden geëvalueerd door in totaal 163 kunstmatige monsters te testen en de bevindingen te analyseren aan de hand van de resultaten van een vergelijkbare methode bij een extern klinisch laboratorium. De resultaten werden in twee delen geanalyseerd: deel een was een categorische analyse van het percentage positieve overeenstemming (positive percent agreement, PPA), het percentage negatieve overeenstemming (negative percent agreement, NPA) en het percentage totale overeenstemming (overall percent agreement, OPA). Deel twee was een analyse van de resultaten van in totaal 75 CSF-monsters die binnen het gemeenschappelijke dynamische bereik van de assays vielen met Passing-Bablok- en Deming-regressieanalyses. De bevindingen werden gerapporteerd met de bijbehorende intercept en helling (zie tabel 3 en afbeelding 3).

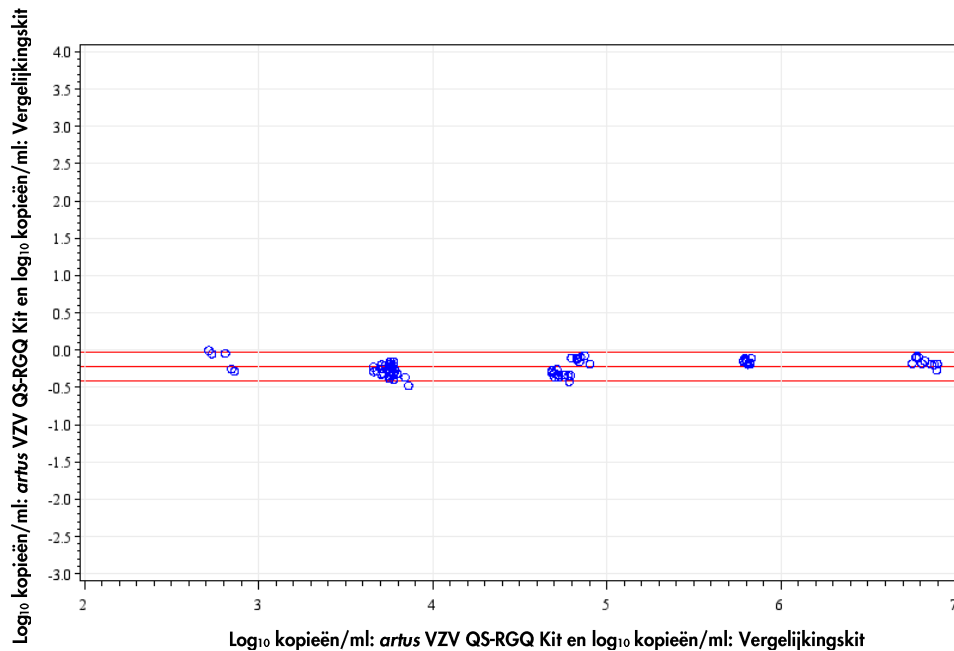
Tabel 3. Onderzoeksgegevens klinische prestaties voor EDTA-plasmamonsters

Mate van overeenstemming	Frequenties	Percentage overeenstemming	(Exacte) binomiale tweezijdige 95% betrouwbaarheidsondergrens volgens Clopper-Pearson	(Exacte) binomiale tweezijdige 95% betrouwbaarheidsbovgrens volgens Clopper-Pearson
Totaal percentage overeenstemming	163/163	100,00	97,76	100,00
Percentage positieve overeenstemming	100/100	100,00	96,38	100,00
Percentage negatieve overeenstemming	63/63	100,00	94,31	100,00



Afbeelding 3. Regressielijn met Passing-Bablok- en Deming-lijnen voor CSF-monsters. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering en de bovengrens voor kwantificering vielen, werden in de analyse opgenomen.

Het Bland-Altman-diagram in afbeelding 4 toont aan dat het geschatte gemiddelde logverschil tussen de kits 0,22 is en dat verschil niet wordt beïnvloed door de testconcentratie.



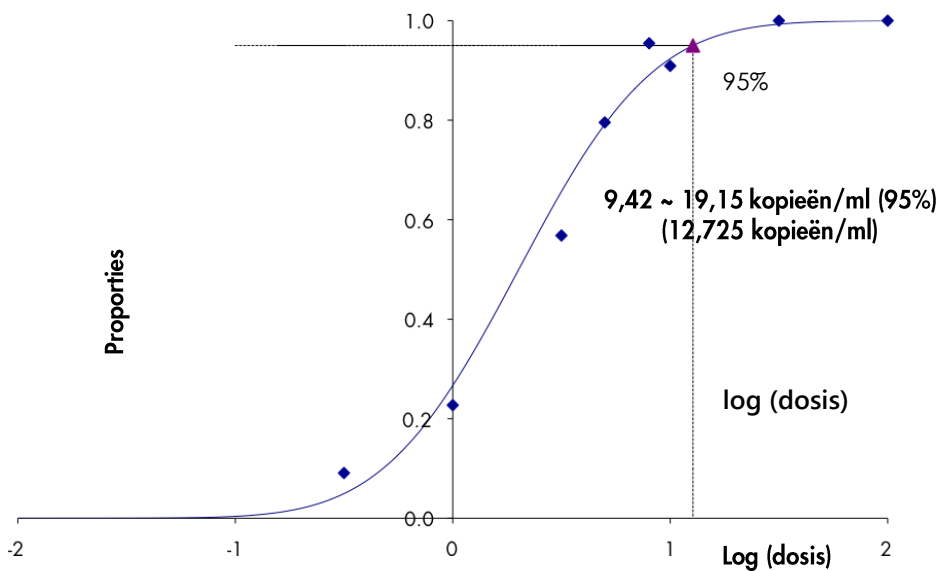
**Afbeelding 4. Bland-Altman-lijn (plasma).** De horizontale referentielijnen bevinden zich bij -0,22, -0,42 en -0,03 en geven het gemiddelde verschil aan ( $\log_{10}$  kopieën/ml: *artus* VZV QS-RGQ Kit –  $\log_{10}$  kopieën/ml: vergelijkingskit) en het bijbehorende voorspellingsinterval van 95%. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering en de bovengrens voor kwantificering vielen, werden in de analyse opgenomen.

## Analytische sensitiviteit – plasma

De analytische sensitiviteit voor plasma, rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit, werd vastgesteld met een verdunningsreeks van humaan plasma verrijkt met virusmateriaal van 100 tot 0,316 kopieën/ml.

Hieruit werd DNA geëxtraheerd met de QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000\_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60  $\mu$ l). Elk van de 8 verdunningen werd op 4 verschillende dagen geanalyseerd met de *artus* VSV QS-RGQ Kit in 4 runs van elk 11 herhalingen. De resultaten werden bepaald via een probitanalyse.

Afbeelding 5 toont een grafische illustratie van de probitanalyse. De analytische detectielimiet voor VZV, rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit in combinatie met de Rotor-Gene Q, is 12,725 kopieën/ml ( $p = 0,05$ ). Dit betekent dat er een waarschijnlijkheid van 95% is dat er 12,725 kopieën/ml zullen worden gedetecteerd.



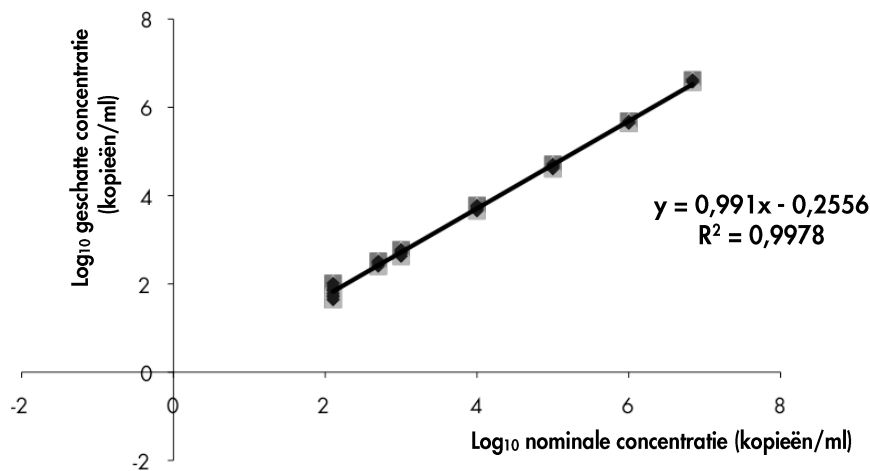
**Afbeelding 5. Probitanalyse: plasma, VZV (Rotor-Gene Q).** Analytische sensitiviteit, rekening houdend met de zuivering (met gebruik van de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) van de *artus* VZV QS-RGQ Kit op de Rotor-Gene Q.

## Lineair bereik – plasma

Het lineaire bereik, rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit, werd vastgesteld door analyse van een verdunningsreeks van virusmateriaal in plasma van  $6,92 \times 10^6$  kopieën/ml tot  $1,0 \times 10^1$  kopieën/ml. De zuivering werd uitgevoerd in herhalingen ( $n = 4$  voor concentraties  $\geq 1,00 \times 10^6$  kopieën/ml;  $n = 8$  voor concentraties  $< 1,00 \times 10^6$  kopieën/ml) met de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-kit in combinatie met het Cellfree1000\_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60  $\mu$ l). Elk van de monsters werd geanalyseerd met de *artus* VZV QS-RGQ Kit.



Het lineaire bereik in plasma, rekening houdend met de zuivering van de *artus* VZV QS-RGQ Kit voor VZV-materiaal, werd vastgesteld voor concentraties vanaf 127 kopieën/ml tot  $6,92 \times 10^6$  kopieën/ml (afbeelding 6).



)]

**Afbeelding 6. Lineair bereik van de *artus* VZV QS-RGQ Kit (plasma).** Berekening van het lineaire bereik. De rechte lijn werd bepaald door een lineaire regressie van de op basis van  $\log_{10}$  berekende concentraties met de  $\log_{10}$  nominale concentraties. De vergelijking van de regressielijn is in de afbeelding opgenomen.

## Robuustheid – plasma

Op basis van de verificatie van de robuustheid in plasma kan het totale faalpercentage van de *artus* VZV QS-RGQ Kit worden bepaald. Om de robuustheid te verifiëren werden 30 VZV-negatieve plasmamonsters verrijkt met 38,175 kopieën/ml VZV-materiaal (ongeveer driemaal de concentratie van de analytische sensitiviteitslimiet). Na extractie met de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000\_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60  $\mu$ l) werden deze monsters geanalyseerd met de *artus* VZV QS-RGQ Kit. Voor robuustheid in doeltests voor VZV werden 100% van de monsters (30/30) aangemerkt als positief voor VZV.

Daarnaast werd de robuustheid van de interne controle beoordeeld na zuivering en analyse van 116 verrijkte plasmamonsters. Deze monsters waren 100% negatief voor VZV en 100% positief voor het interne controledoel. Remmingen werden niet waargenomen. De robuustheid van de *artus* VZV QS-RGQ Kit is dus  $\geq 99\%$ .

## Interfererende substanties – plasma

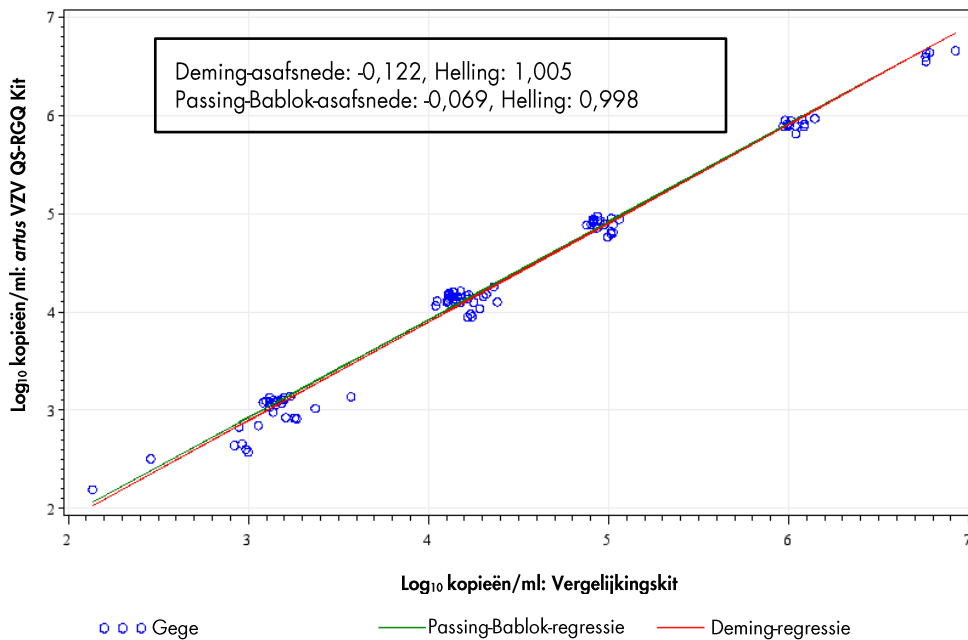
Er zijn vier endogene stoffen (bilirubine, hemoglobine, triglyceride en albumine-eiwit) bij een verhoogde concentratie geïdentificeerd als mogelijke interfererende stoffen die aanwezig zijn in plasmamonsters. Hun effecten waren verhoogd in plasma dat 10 keer meer VZV bevatte dan de LOD-waarde (127,25 kopieën/ml). VZV-verrijkte plasmamonsters zonder toevoeging van interfererende stoffen werden gebruikt als controle. Alle monsters, met of zonder toevoeging van interfererende stoffen, werden in 4 herhalingen geanalyseerd met behulp van de QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000\_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60  $\mu$ l). Voor monsters die verhoogde niveaus endogene remmende stoffen bevatten (bilirubine, hemoglobine, triglyceride en albumine-eiwit) werd er geen interferentie geobserveerd voor VZV-detectie.

## Klinische evaluatie – plasma

De klinische prestaties van de *artus* VZV QS-RGQ Kit werden geëvalueerd door in totaal 161 kunstmatige EDTA-plasmamonsters te testen en de bevindingen te analyseren aan de hand van de resultaten van een vergelijkbare methode op een externe locatie. De resultaten werden in twee delen geanalyseerd: deel een was een categorische analyse van het percentage positieve overeenstemming (positive percent agreement, PPA), het percentage negatieve overeenstemming (negative percent agreement, NPA) en het percentage totale overeenstemming (overall percent agreement, OPA). Deel twee was een analyse van de resultaten van in totaal 97 EDTA-plasmamonsters die binnen het gemeenschappelijke dynamische bereik van de assays vielen met Passing-Bablok- en Deming-regressieanalyses. De bevindingen werden gerapporteerd met de bijbehorende intercept en helling (zie tabel 4 en afbeelding 7).

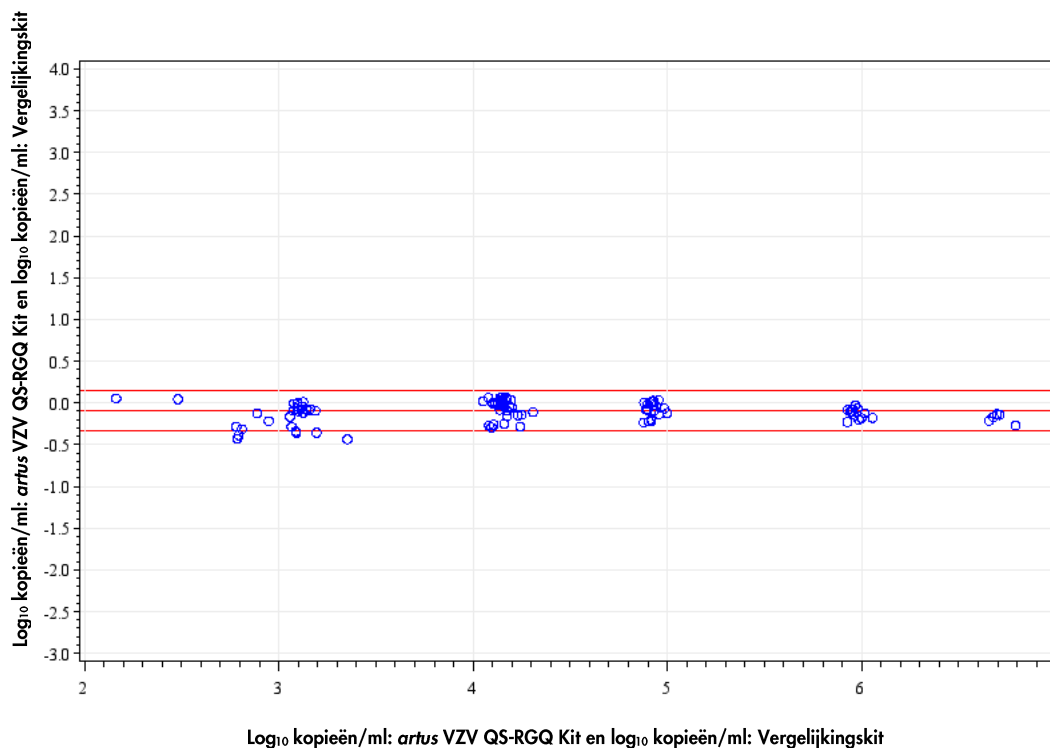
Tabel 4. Onderzoeksgegevens klinische prestaties voor EDTA-plasmamonsters

Mate van overeenstemming	Frequenties	Percentage overeenstemming	(Exacte) binomiale tweezijdige 95% betrouwbaarheidsondergrens volgens Clopper-Pearson	(Exacte) binomiale tweezijdige 95% betrouwbaarheidsbovengrens volgens Clopper-Pearson
Totaal percentage overeenstemming	161/161	100,00	97,73	100,00
Percentage positieve overeenstemming	101/101	100,00	96,41	100,00
Percentage negatieve overeenstemming	60/60	100,00	94,04	100,00



Afbeelding 7. Regressielijn met Passing-Bablok- en Deming-lijnen voor plasmamonsters. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering en de bovengrens voor kwantificering vielen, werden in de analyse opgenomen.

Het Bland-Altman-diagram in afbeelding 8 toont aan dat het geschatte gemiddelde logverschil tussen de kits -0,10 is en dat het verschil niet wordt beïnvloed door de testconcentratie.



**Afbeelding 8. Bland-Altman-lijn (plasma).** De horizontale referentielijnen bevinden zich bij -0,10, -0,34 en 0,14 en geven het gemiddelde verschil aan ( $\log_{10}$  kopieën/ml: *artus* VZV QS-RGQ Kit –  $\log_{10}$  kopieën/ml: vergelijkingskit) en het bijbehorende voorspellingsinterval van 95%. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering en de bovengrens voor kwantificering vielen, werden in de analyse opgenomen.

## Precisie

De precisiegegevens van de *artus* VZV QS-RGQ Kit maken bepaling van de totale variantie van de assay mogelijk. De totale variantie bestaat uit de intra-analysevariabiliteit (variabiliteit van meerdere resultaten van monsters van dezelfde concentratie binnen één experiment), de inter-analysevariabiliteit (variabiliteit van meerdere resultaten van de assay, gegenereerd op verschillende apparaten van hetzelfde type door verschillende operators binnen één laboratorium) en de inter-batchvariabiliteit (variabiliteit van meerdere resultaten van de assay met gebruikmaking van verschillende batches). De verkregen gegevens werden gebruikt voor het bepalen van de standaarddeviatie, de variantie en de variatiecoëfficiënt voor de pathogeenspecifieke PCR en de interne-controle-PCR.

Analytische nauwkeurigheidgegevens van de *artus* VZV QS-RGQ Kit (geen rekening houdend met de zuivering) werden verzameld met gebruikmaking van de kwantificatiestandaard met de laagste concentratie (QS 4; 10 kopieën/ $\mu$ l). De tests werden uitgevoerd met 8 replica's. De nauwkeurigheidgegevens werden berekend op basis van de  $C_T$ -waarden van de amplificatiecurven ( $C_T$ : drempelcyclus [threshold cycle], zie tabel 2). Bovendien werden nauwkeurigheidgegevens voor

kwantitatieve resultaten in kopieën/ $\mu$ l bepaald met gebruikmaking van de corresponderende  $C_T$ -waarden (tabel 3). Op basis van deze resultaten is de totale statistische spreiding van een gegeven monster met de genoemde concentratie 0,45% ( $C_T$ ) of 8,32% (concentratie), en 2,81% ( $C_T$ ) voor de detectie van de interne controle. Deze waarden zijn gebaseerd op het geheel van alle enkelvoudige waarden van de bepaalde variabiliteiten.

**Tabel 5. Nauwkeurighedsgegevens voor VZV op basis van de  $C_T$ -waarden**

	Standaarddeviatie	Variantie	Variatiecoëfficiënt (%)
Intra-assayvariabiliteit: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Intra-assayvariabiliteit: Interne controle	0,04	0,002	0,17
Interassayvariabiliteit: VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Interassayvariabiliteit: Interne controle	0,39	0,15	1,63
Interbatchvariabiliteit: VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Interbatchvariabiliteit: Interne controle	0,66	0,43	2,65
Totale variantie: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Totale variantie: Interne controle	0,68	0,47	2,81

**Tabel 6. Nauwkeurighedsgegevens voor VZV op basis van de kwantitatieve resultaten (in kopieën/ml)**

	Standaarddeviatie	Variantie	Variatiecoëfficiënt (%)
Intra-assayvariabiliteit: VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Interassayvariabiliteit: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Interbatchvariabiliteit: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Totale variantie: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

---

## Reproduceerbaarheid

Reproduceerbaarheidsgegevens maken een regelmatige prestatiebeoordeling van de *artus* VZV QS-RGQ Kit mogelijk, alsook een efficiëntievergelijking met andere producten. Deze gegevens worden verkregen door de deelname aan gevestigde bekwaamheidsprogramma's.

## Kruiscontaminatie

De afwezigheid van kruiscontaminatie tussen monsters gedurende de gehele workflow voor een representatief *artus* QS-RGQ-systeem werd aangetoond door de correcte detectie van alle zoals bekend positieve en negatieve monsters in afwisselende posities (schaakbordpatroon).

---

Deze pagina is met opzet leeg.

---

Bijbehorende producten en bestelinformatie is te vinden in de handleiding voor de *artus* EBV QS-RGQ PCR Kit.

Raadpleeg voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de desbetreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection).  
Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd 10/2015 HB-0401-D01-002  
© 2012-2015 QIAGEN, alle rechten voorbehouden

Bestellen [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Technische ondersteuning [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---