

Februar 2018

# artus<sup>®</sup> CMV QS-RGQ Kit: Ytelsesegenskaper

R4

IVD

CE  
0197

REF

4503363, artus CMV QS-RGQ Kit, versjon 1.

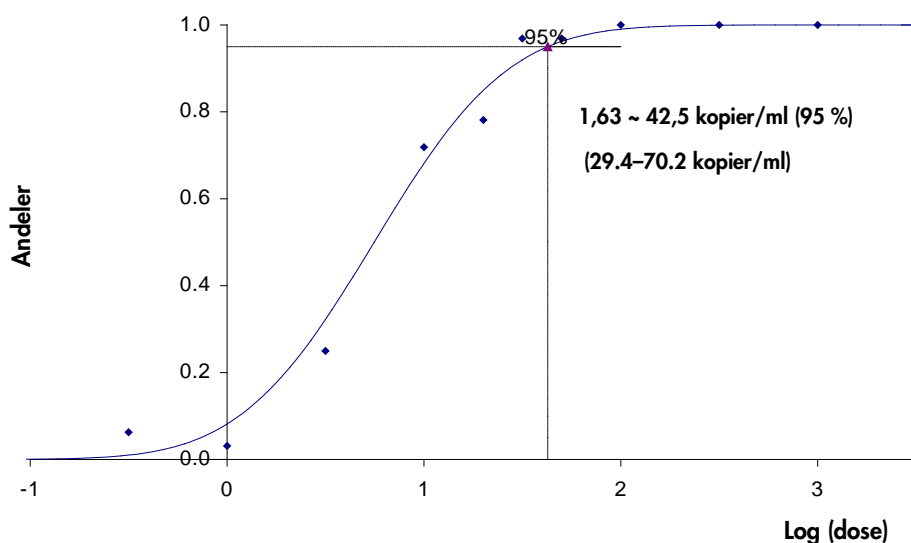


Se etter nye elektroniske dokumentasjonsoppdateringer på [www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx) før testen utføres.

## Deteksjonsgrense – plasma

Deteksjonsgrensen (LOD) med hensyn til rensingen (følsomhetsgrense) ble vurdert for *artus* CMV QS-RGQ Kit ved bruk av CMV-positive kliniske prøver i kombinasjon med ekstraheringen på QIAAsymphony® SP.

For plasma ble LOD med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit bestemt ved bruk av en dilusjonsserie av CMV-virusmateriale fra 1000 til nominelt 0,316 CMV kopier/ml tilsatt i kliniske plasmaprøver. Disse ble utsatt for DNA-ekstrahering ved bruk av QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombinasjon med Cellfree1000\_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60 µl). Hver av de 10 fortyningene ble analysert med *artus* CMV QS-RGQ Kit på 4 ulike dager i 4 kjøringene med 8 replikater i hver. Resultatene ble bestemt av en probitanalyse. En grafisk illustrasjon av probitanalysen er vist i figur 1. LOD med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit i kombinasjon med Rotor-Gene Q er 42,5 kopier/ml ( $p = 0,05$ ). Dette betyr at det er en sannsynlighet på 95 % for at 42,5 kopier/ml (tilsvarende 69,7 IU/ml) vil bli påvist.



**Figur 1. Probitanalyse: plasma, CMV (Rotor-Gene Q).** Deteksjonsgrense med hensyn til rensingen (plasma, ved bruk av QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) til *artus* CMV QS-RGQ Kit på Rotor-Gene Q.

## Spesifisitet – plasma

Spesifisiteten til *artus* CMV QS-RGQ Kit er først og fremst sikret gjennom valget av primere og prober, samt valget av strenge reaksjonsbetingelser. Primere og prober ble kontrollert for mulige

homologier for alle sekvenser som er utgitt i genbanker etter sekvenssammenligningsanalyse. Påvisningsevnen for alle relevante genotyper har dermed blitt sikret.

Videre ble spesifiteten validert med 100 ulike CMV-negative plasmaprøver. Disse genererte ikke noen signaler med de CMV-spesifikke primerne og probene, som er inkludert i CMV RG Master.

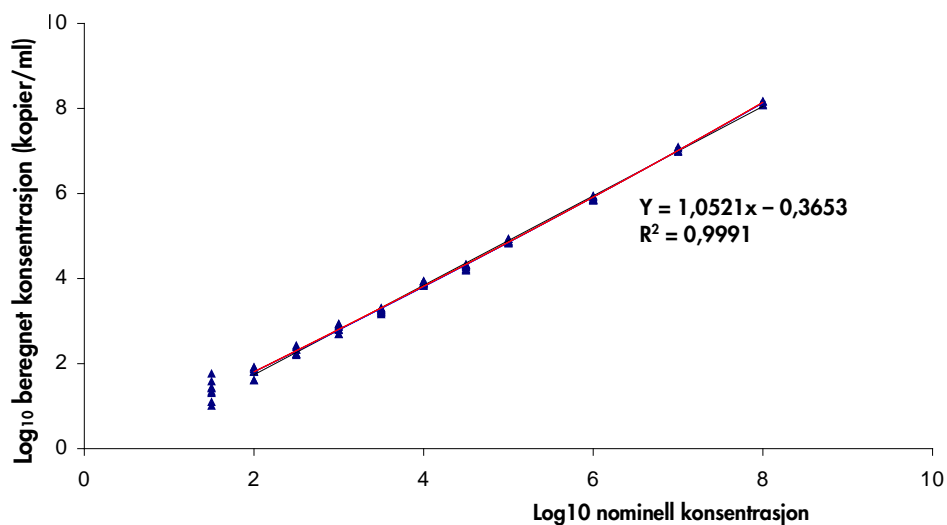
En potensiell kryssreaktivitet for *artus* CMV QS-RGQ Kit ble testet ved bruk av kontrollgruppen som er opplistet i tabell 1 (nedenfor). Ingen av de testede patogenene har vært reaktive. Ingen tilfeller av kryssreaktivitet ble observert med blandede infeksjoner.

**Tabell 1. Testing av spesifisiteten til settet med potensielt kryssreaktive patogener**

Kontrollgruppe	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 (herpesvirus assosiert med Kaposis sarkom)	-	+
Hepatitt A-virus	-	+
Hepatitt B-virus	-	+
Hepatitt C-virus	-	+
Humant immunsviktivirus 1	-	+
Humant T-celleleukemivirus 1	-	+
Humant T-celleleukemivirus 2	-	+
Vestnilvirus	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+

## Lineært område – plasma

Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit ble bestemt ved å analysere en fortyningsserie av CMV-virusmateriale som strekker seg fra  $1,00 \times 10^8$  kopier/ml til  $3,16 \times 10^1$  kopier/ml i plasma. Rensingen ble utført i replikater ( $n = 4$  hver for konsentrasjoner  $\geq 1,00 \times 10^7$  kopier/ml;  $n = 8$  hver for konsentrasjoner  $< 1,00 \times 10^7$  kopier/ml) ved bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombinasjon med Cellfree1000\_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60  $\mu$ l). Hver av prøvene ble analysert ved bruk av *artus* CMV QS-RGQ Kit. Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit har blitt fastsatt til å dekke konsentrasjoner fra  $7,94 \times 10^1$  kopier/ml til  $1,00 \times 10^8$  kopier/ml (tilsvarende  $1,30 \times 10^2$  til  $1,64 \times 10^8$  IU/ml) for plasma (figur 2).



**Figur 2. Lineært område for *artus* CMV QS-RGQ Kit (plasma).** Beregning av det lineære området. Den rette linjen ble bestemt ved en lineær regresjon av  $\log_{10}$ -kalkulerte konsentrasjoner med  $\log_{10}$  nominelle konsentrasjoner. Ligningen til regresjonslinjen er inkludert på figuren.

## Robusthet – plasma

Verifiseringen av robustheten gjør det mulig å fastsette den totale feilraten for *artus* CMV QS-RGQ Kit. For å verifisere robustheten ble 100 CMV-negative plasmaprøver tilsatt med 130 kopier/ml av CMV (omtrent 3-dobbelt konsentrasjon av LOD).

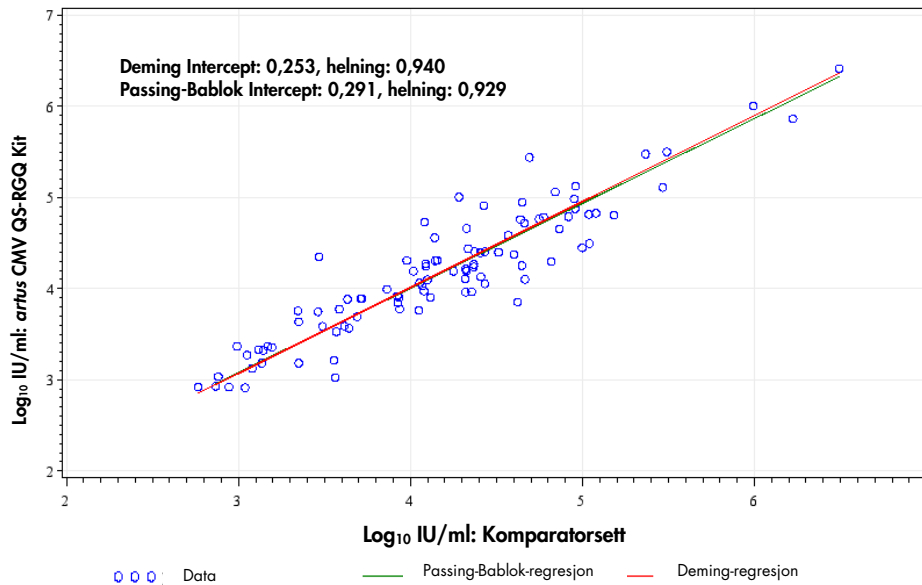
Etter ekstraksjon ved hjelp av QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombinasjon med Cellfree1000\_DSP protokoll for plasma (ekstraksjonsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60 µl) ble disse prøvene analysert med *artus* CMV QS-RGQ Kit. I tillegg ble robustheten for den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av de 100 tilsatte plasmaprøvene. Inhiberinger ble ikke observert. Dermed er robustheten til *artus* CMV QS-RGQ Kit  $\geq 99$  %.

## Forstyrrende substanser – plasma

Fire endogene substanser (bilirubin, hemoglobin, triglyserid og albuminprotein) ved en forhøyet konsentrasjon er identifisert som potensielt forstyrrende substanser som forekommer i EDTA-plasmaprøver. Effektene deres ble evaluert i plasma inneholdende CMV ved ca. 10 ganger LOD-verdien (425 kopier/ml). Som en kontroll ble CMV-tilsatte plasmaprøver uten tilsetning av forstyrrende substanser, inkludert. Alle prøver, med eller uten tilsetning av forstyrrende substanser, ble analysert i 4 replikater ved bruk av QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombinasjon med Cellfree1000-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60 µl). For prøver som inneholder forhøyede nivåer av endogene hemmere (bilirubin 30 mg/dl, hemoglobin 2 g/dl, triglyserid 1 g/dl og albuminprotein 6 g/dl), ble ingen interferens observert for CMV-deteksjon.

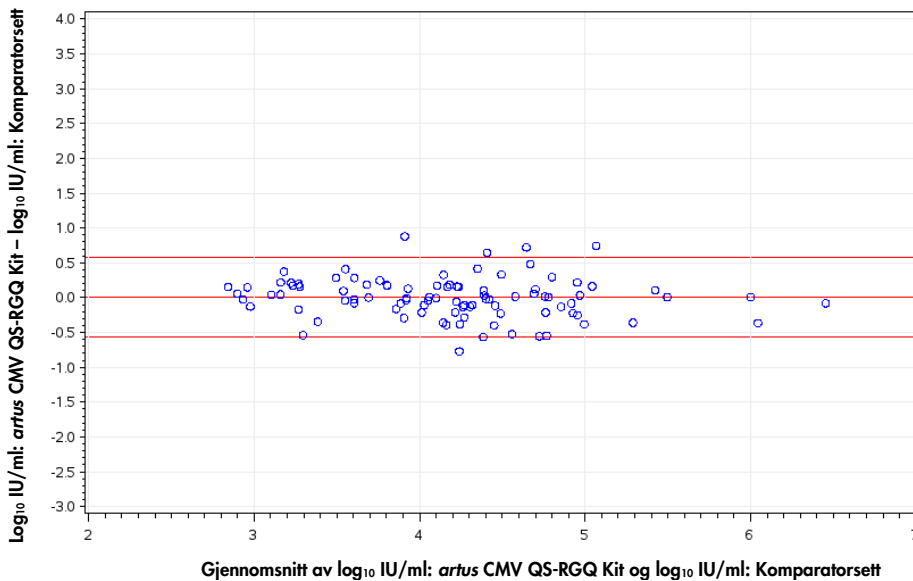
## Klinisk evaluering – plasma

Den kliniske ytelsen til *artus* CMV QS-RGQ Kit ble evaluert ved å teste kliniske prøver og analysere funnene mot resultatene fra en sammenlignbar metode. Totalt 174 plasmaprøver samlet inn i EDTA rør fra CMV-smittede pasienter eller klargjort kunstig ved bruk av den første WHO-standarden for CMV samt fra negative kontroller ble testet med *artus* CMV QS-RGQ Kit og den sammenlignbare metoden ved en ekstern institusjon. Den kvalitative overensstemmelsen for begge sett var 100 %. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse ble utført med testresultatet fra QIAGEN Kit på Y-aksen og testresultatet fra komparatoren på X-aksen (se figur 3). Den anslåtte forskjellen i  $\log_{10}$  (IU/ml) ved det medisinske beslutningspunktet (1000 IU/ml) mellom QIAGEN Kit og komparatorsettet var 0,074  $\log_{10}$  IU/ml, som kalkulert fra Deming-regresjonen.



**Figur 3. Regresjonsplott med Passing-Bablok- og Deming-linjer (plasma).** Prøver som var mellom den nedre kvantifiseringsgrensen (LLOQ) og den øvre kvantifiseringsgrensen (ULOQ) for begge sett ble inkludert i analysen.

Et Bland-Altman-plott ble produsert for å observere forskjellen i kalkulert log<sub>10</sub> (IU/ml). Videre ble gjennomsnittlig log<sub>10</sub> (IU/ml) forskjell og dens tilsvarende 95 % område kalkulert og lagt over plottet (se figur 4).



**Figur 4. Bland-Altman-plott (plasma).** Horisontale referanselinjer er ved 0,00, -0,57 og 0,58 og angir gjennomsnittsforskjellen (log<sub>10</sub> IU/ml: artus CMV QS-RGQ Kit – log<sub>10</sub> IU/ml: Komparatorsett) og dets tilsvarende 95 % prediksjonsintervall. Prøver som var mellom den nedre kvantifiseringsgrensen og øvre kvantifiseringsgrensen for begge sett ble inkludert i analysen.

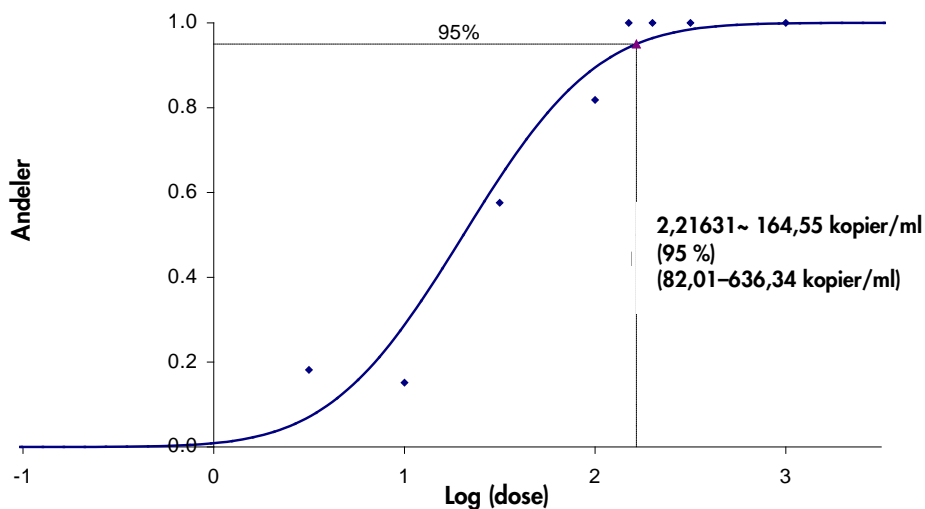
## Deteksjonsgrense – fullblod

LOD med hensyn til rensingen (følsomhetsgrense) ble vurdert for *artus* CMV QS-RGQ Kit ved bruk av CMV-positive kliniske prøver i kombinasjon med ekstraheringen på QIASymphony SP.

For fullblod ble LOD med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit bestemt ved bruk av en fortyngningsserie av CMV-virusmateriale fra 1000 til nominelt 3,16 CMV kopier/ml tilsatt i humane fullblodsprøver.

Disse ble utsatt for DNA-ekstrahering ved bruk av QIASymphony DNA Mini Kit i kombinasjon med VirusBlood200\_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 200 µl, elusjonsvolum: 60 µl). Hver av de 8 fortyngningene ble analysert med *artus* CMV QS-RGQ Kit på 3 ulike dager i 6 kjøringene med 11 replikater i hver. Resultatene ble bestemt av en probitanalyse.

En grafisk illustrasjon av probitanalysen er vist i figur 5. LOD med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit i kombinasjon med Rotor-Gene Q er 164,55 kopier/ml ( $p = 0,05$ ). Dette betyr at det er en sannsynlighet på 95 % for at 164,55 kopier/ml (tilsvarende 122,59 IU/ml) vil bli påvist.



**Figur 5. Probitanalyse: fullblod, CMV (Rotor-Gene Q).** Deteksjonsgrense med hensyn til rensingen (fullblod, ved bruk av QIASymphony DNA Mini Kit) av *artus* CMV QS-RGQ Kit på Rotor-Gene Q.

## Spesifisitet – fullblod

Spesifisiteten til *artus* CMV QS-RGQ Kit er først og fremst sikret gjennom valget av primere og prober, samt valget av strenge reaksjonsbetingelser. Primere og prober ble kontrollert for mulige homologier for alle sekvenser som er utgitt i genbanker etter sekvenssammenligningsanalyse. Påvisningsevnen for alle relevante genotyper har dermed blitt sikret.

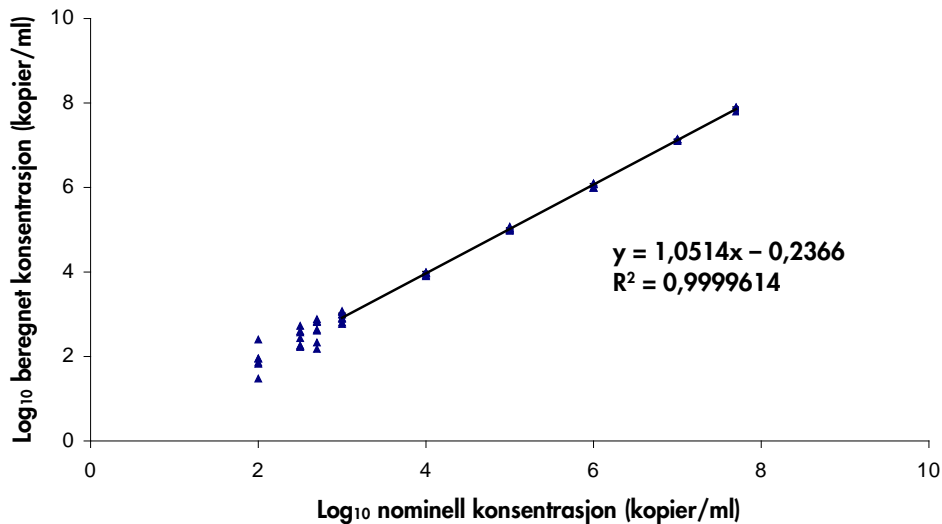
Videre ble spesifiteten validert med 100 ulike CMV-negative helblodprøver. Disse genererte ikke noen signaler med de CMV-spesifikke primerne og probene, som er inkludert i CMV RG Master.

En potensiell kryssreaktivitet for *artus* CMV QS-RGQ Kit ble testet ved bruk av kontrollgruppen som er opplistet i tabell 1 (se side 3). Ingen av de testede patogenene har vært reaktive. Ingen tilfeller av kryssreaktivitet ble observert med blandede infeksjoner.

## Lineært område – fullblod

Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit ble bestemt ved å analysere en fortyningsserie av CMV-virusmateriale som strekker seg fra  $5,00 \times 10^7$  til  $1,00 \times 10^2$  i fullblod. Rensingen ble utført i replikater ( $n = 4$  for konsentrasjoner  $\geq 1,00 \times 10^7$  kopier/ml;  $n = 8$  for konsentrasjoner  $< 1,00 \times 10^7$  kopier/ml) ved bruk av QIASymphony DNA Mini Kit i kombinasjon med VirusBlood200\_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 200  $\mu$ l, elusjonsvolum: 60  $\mu$ l). Hver av prøvene ble analysert ved bruk av *artus* CMV QS-RGQ Kit. Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* CMV QS-RGQ Kit har blitt fastsatt til å dekke konsentrasjoner fra  $1,00 \times 10^3$  kopier/ml til  $5,00 \times 10^7$  kopier/ml (tilsvarende  $7,45 \times 10^2$  til  $3,73 \times 10^7$  IU/ml) for fullblod (figur 6).





**Figur 6. Lineært område for *artus* CMV QS-RGQ Kit (fullblod).** Beregning av det lineære området. Den rette linjen ble bestemt ved en lineær regresjon av log<sub>10</sub>-kalkulerte konsentrasjoner med log<sub>10</sub> nominelle konsentrasjoner. Ligningen til regresjonslinjen er inkludert på figuren.

## Robusthet – fullblod

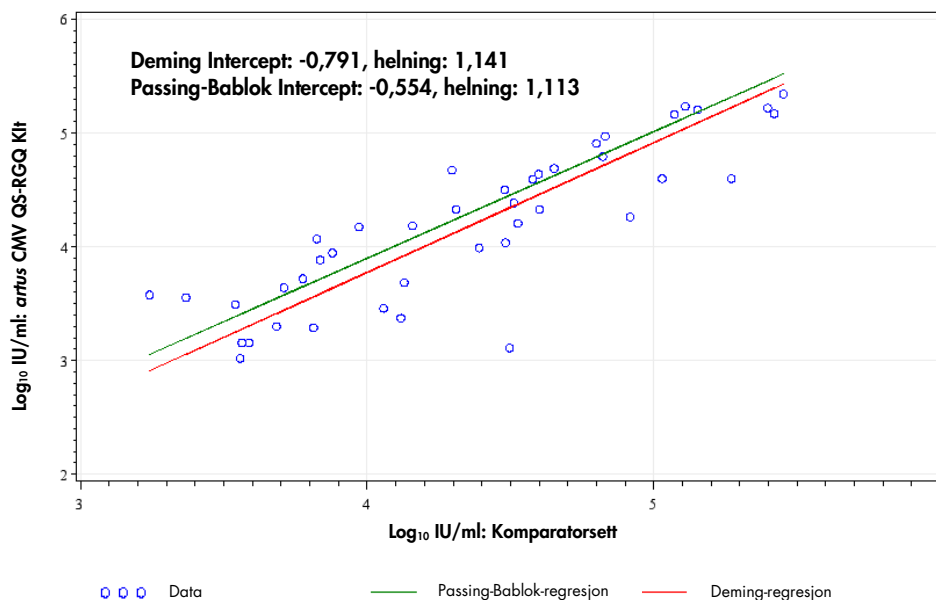
Verifisering av robustheten gjør det mulig å fastsette den totale feilraten for *artus* CMV QS-RGQ Kit. For å verifisere robustheten ble 100 CMV-negative fullblodprøver tilsatt med 500 kopier/ml av CMV (omtrent 3-dobbelt konsentrasjon av LOD). Etter ekstrahering ved bruk av QIA-symphony DNA Mini Kit i kombinasjon med VirusBlood200\_DSP-protokollen for fullblod, ble disse prøvene analysert med *artus* CMV QS-RGQ Kit. I tillegg ble robustheten for den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av de 100 tilsatte fullblodprøvene. Inhiberinger ble ikke observert. Dermed er robustheten til *artus* CMV QS-RGQ Kit  $\geq 99$  %.

## Forstyrrende substanser – fullblod

Tre endogene substanser (bilirubin, triglyserid og gDNA) ved en forhøyet konsentrasjon er identifisert som potensielt forstyrrende substanser som forekommer i EDTA-fullblodprøver. Effektene deres ble evaluert i fullblod inneholdende CMV ved ca. 10 ganger LOD-verdien (1650 kopier/ml). Som en kontroll ble CMV-tilsatte fullblodprøver uten tilsetning av forstyrrende substanser, inkludert. Alle prøver, med eller uten tilsetning av forstyrrende substanser, ble analysert i 4 replikater ved bruk av QIA Symphony DNA Mini Kit i kombinasjon med VirusBlood200\_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 0,2 ml, elusjonsvolum: 60 µl). For prøver som inneholder forhøyede nivåer av endogene hemmere (bilirubin 30 mg/dl, triglyserid 1 g/dl og gDNA opp til 3 µg/prøve), ble ingen interferens observert for CMV-deteksjon.

## Klinisk evaluering – fullblod

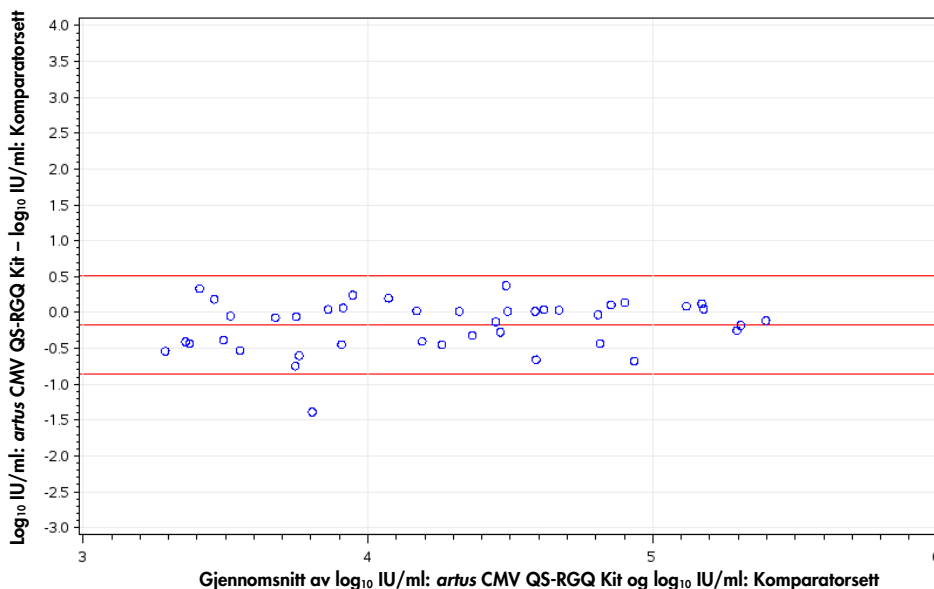
Den kliniske ytelsen til *artus* CMV QS-RGQ Kit ble evaluert ved å teste kliniske prøver og analysere funnene mot resultatene fra en sammenlignbar metode. Totalt 115 kliniske prøver med fullblod samlet inn fra CMV-smittede pasienter samt fra negative kontroller ble testet med *artus* CMV QS-RGQ Kit og den sammenlignbare metoden ved en ekstern institusjon. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse ble utført med testresultatet fra QIAGEN Kit på Y-aksen og testresultatet fra komparatoren på X-aksen (se figur 7).



**Figur 7. Regresjonsplott med Passing-Bablok- og Deming-linjer (fullblod).** Kun kliniske prøver inkludert i analysen. Prøver som var mellom den nedre kvantifiseringsgrensen (LLOQ) og den øvre kvantifiseringsgrensen (ULOQ) for begge sett ble inkludert i analysen.

Et Bland-Altman-plott ble produsert for å observere forskjellen i kalkulert  $\log_{10}(\text{IU/ml})$ . Videre ble gjennomsnittlig  $\log_{10}(\text{IU/ml})$  forskjell og dens tilsvarende 95 % område kalkulert og lagt over plottet (se figur 8).

Gjennomsnittsforskjellen i  $\log_{10}(\text{IU/ml})$  mellom QIAGEN Kit og komparatorsettet var  $0,18 \log_{10} \text{IU/ml}$ . Den kvalitative overensstemmelsen for begge sett var 100 %.



**Figur 8. Bland-Altman-plott (fullblod).** Horisontale referanselinjer er ved  $-0,18$ ,  $-0,86$  og  $0,51$  og angir gjennomsnittsforskjellen ( $\log_{10} \text{IU/ml}$ : artus CMV QS-RGQ Kit –  $\log_{10} \text{IU/ml}$ : komparatorsett) og dens tilsvarende 95 % prediksjonsintervall. Kun kliniske prøver ble inkludert i analysen. Prøver som var mellom den nedre kvantifiseringsgrensen og øvre kvantifiseringsgrensen for begge sett ble inkludert i analysen.

## Presisjon

Presisjonsdata for artus CMV QS-RGQ Kit gjør det mulig å bestemme den totale variansen til analysen. Den totale variasjonen omfatter variabilitet innen analyse (variabilitet for flere resultater av prøver med samme konsentrasjon innenfor ett eksperiment), variabilitet mellom analyser (variabilitet for flere resultater som er generert på ulike instrumenter av samme type, men av ulike brukere på ett laboratorium) og variabilitet mellom partier (variabilitet for flere resultater av analysen ved bruk av ulike partier). Dataene som ble oppnådd ble brukt til å bestemme standardavvik, varians og koeffisient for variasjonen for den patogenspesifikke og den interne kontroll-PCR.

Analytisk presisjonsdata for *artus* CMV QS-RGQ Kit (uten å ta hensyn til rensingen) ble innsamlet ved bruk av kvantifiseringsstandarden for den laveste konsentrasjon (QS 4; 10 kopier/ $\mu$ l). Testingen ble utført med 8 replikater. Presisjonsdata ble kalkulert på grunnlag av  $C_T$ -verdiene for forsterkningskurvene ( $C_T$ : Terskelsyklus, se tabell 2, side 12). I tillegg ble nøyaktighetsdata for kvantitative resultater i kopier/ $\mu$ l bestemt ved bruk av tilsvarende  $C_T$ -verdier (tabell 3, side 12). Basert på disse resultatene er den helhetlige statistiske spredningen av enhver gitt prøve med den nevnte konsentrasjonen 1,21% ( $C_T$ ) eller 14,38% (konsentrasjon) og 1,93% ( $C_T$ ) for påvisningen av den interne kontrollen. Disse verdiene er basert på totaliteten for alle de enkelte verdiene for de bestemte variabilitetene.

**Tabell 2. Presisjonsdata på grunnlag av  $C_T$ -verdiene**

	Standardavvik	Varians	Variasjonskoeffisient (%)
Variabilitet innen analyse: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Variabilitet innen analyse: Intern kontroll	0,31	0,10	1,16
Inter-analysevariabilitet: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Inter-analysevariabilitet: Intern kontroll	0,47	0,22	1,77
Inter-batch variabilitet: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Inter-batch variabilitet: Intern kontroll	0,53	0,28	2,02
Total varians: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Total varians: Intern kontroll	0,51	0,26	1,93

**Tabell 3. Nøyaktighetsdata på grunnlag av kvantitative resultater (i kopier/ $\mu$ l)**

	Standardavvik	Varians	Variasjonskoeffisient (%)
Variabilitet innen analyse: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Inter-analysevariabilitet: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Inter-batch variabilitet: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Total varians: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

## Reproduserbarhet

Reproduserbarhetsdata gjør det mulig med en regelmessig ytelsesvurdering av *artus CMV QS-RGQ* Kit samt en effektivitetssammenligning med andre produkter. Disse dataene oppnås gjennom deltakelsen i etablerte ferdighetsprogrammer.

## Krysskontaminering

Fravær av krysskontaminering mellom prøver for hele arbeidsflyten ble bevist av korrekt påvisning av alle kjent positive og negative prøver i vekslende posisjoner (sjakkbrettmønster) for et representerende *artus QS-RGQ*-system.

Relaterte produkter og bestillingsinformasjon er opplistet i håndboken for *artus CMV QS-RGQ* Kit.

### Dokumentets revisjonshistorikk

R4, februar 2018	“Analytisk sensitivitet” endret til “deteksjonsgrense” eller “LOD”; lagt til informasjon om “forstyrrende stoffer”; lagt til verdier i IU/ml (i tillegg til eksisterende data i kopier/ml) basert på konverteringsfaktor-informasjon i de enkelte applikasjonsarkene.
------------------	---

---

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN Kit eller i bruksanvisningen. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN Kit er tilgjengelige på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan leveres fra QIAGENS tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette. 02/2018 HB-0356-D01-004.  
© 2012-2018 QIAGEN, med enerett.

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettside [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---