

Şubat 2018

artus[®] CMV QS-RGQ Kit: Performans özellikleri

R4

IVD

CE
0197

REF

4503363, *artus* CMV QS-RGQ Kit, Versiyon 1.



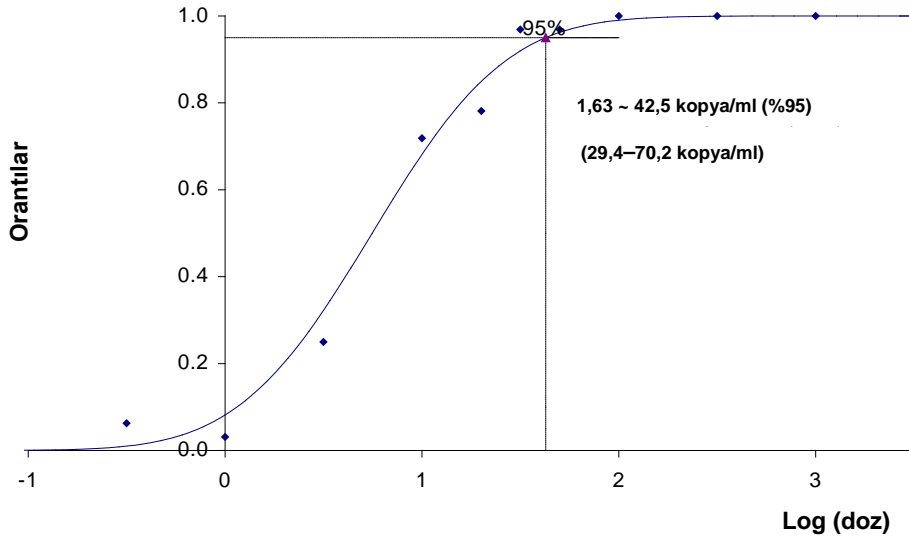
Testi gerçekleştirmeden önce

www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının bulunup bulunmadığını kontrol edin.

Tespit sınırı – plazma

QIAsymphony® SP üzerinde ekstraksiyon ile kombinasyon halinde CMV pozitif klinik numuneler kullanılarak *artus* CMV QS-RGQ Kit için saflaştırma (hassasiyet limiti) açısından saptama limiti (limit of detection, LOD) değerlendirilmiştir.

Plazma için *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilişkili LOD klinik plazma örnekleri eklenmiş 1000 ila nominal 0,316 CMV kopya/ml şeklinde CMV virüs materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIAsymphony QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 10 dilüsyonun her biri *artus* CMV QS-RGQ Kit ile 4 farklı günde her birinde 8 replikatlık 4 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene Q ile kombinasyon halinde *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması açısından LOD 42,5 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 42,5 kopya/ml'nin (69,7 IU/ml'ye tekabül eder) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 1. Probit analizi: plazma, CMV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması (plazma, QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit kullanılarak) dikkate alınarak saptama limiti.

Özgüllük – plazma

artus CMV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 100 farklı CMV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar CMV RG Master'a dahil edilen CMV'ye spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

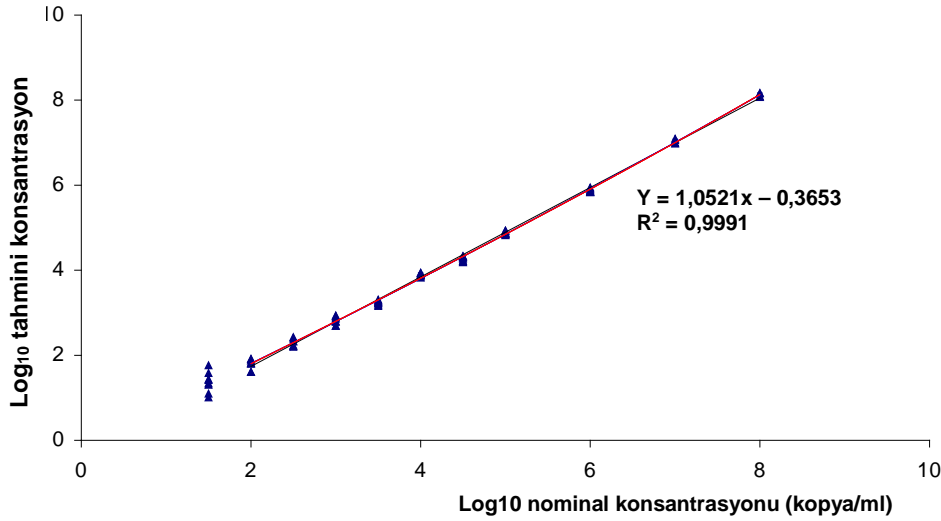
artus CMV QS-RGQ Kit'in olası çapraz reaktivitesi Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (aşağıda). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Mikst enfeksiyonlarla çapraz-reaktivite durumları görülmemiştir.

Tablo 1. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	CMV (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Yellow)
İnsan herpesvirüsü 1 (Herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpesvirüsü 2 (Herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpesvirüsü 3 (Varisella-zoster virüsü)	-	+
İnsan herpesvirüsü 4 (Epstein-Barr virüsü)	-	+
İnsan herpesvirüsü 6A	-	+
İnsan herpesvirüsü 6B	-	+
İnsan herpesvirüsü 7	-	+
İnsan herpesvirüsü 8 (Kaposi sarkomu ilişkili herpes virüsü)	-	+
Hepatit A virüsü	-	+
Hepatit B virüsü	-	+
Hepatit C virüsü	-	+
İnsan immünyetmezlik virüsü 1	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 1	-	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 2	-	+
Bati Nil virüsü	-	+
Enterovirüs	-	+
Parvovirüs B19	-	+

Lineer aralık — plazma

artus CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili lineer aralık plazmada $1,00 \times 10^8$ kopya/ml ile $3,16 \times 10^1$ kopya/ml aralığındaki CMV virüs materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma Cellfree1000_DSP protokolü ile kombinasyon halinde QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^7$ kopya/ml her bir konsantrasyon için $n=4$; $< 1,00 \times 10^7$ kopya/ml her bir konsantrasyon için $n=8$) kullanılarak yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 μ l). Örneklerin her biri *artus* CMV QS-RGQ Kit kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili olarak lineer aralık plazma için $7,94 \times 10^1$ kopya/ml ile $1,00 \times 10^8$ kopya/ml konsantrasyonları ($1,30 \times 10^2$ ila $1,64 \times 10^8$ IU/ml'ye tekabül eder) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *artus* CMV QS-RGQ Kit'in (plazma) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi \log_{10} nominal konsantrasyonlarla \log_{10} hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük — plazma

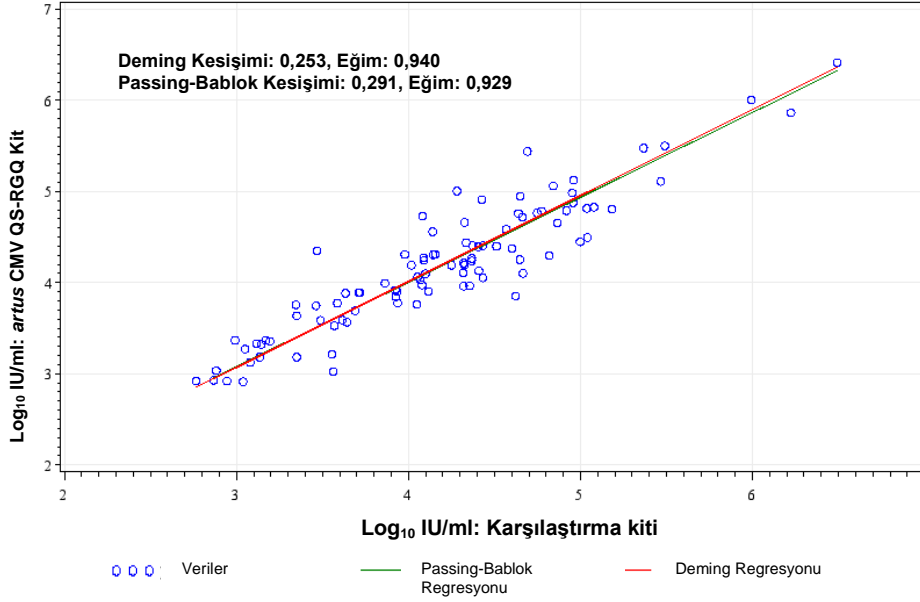
Güçlülüğün doğrulanması *artus* CMV QS-RGQ Kit'in toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 100 CMV negatif plazma örneğine 130 kopya/ml CMV eklenmiştir (LOD'nin yaklaşık 3 katı konsantrasyon). QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit ile kombinasyon halinde plazma için Cellfree1000_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 μ l) bu örnekler *artus* CMV QS-RGQ Kit ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 100 ekleme yapılmış plazma örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* CMV QS-RGQ Kit güçlülüğü $\geq 99\%$ 'dur.

Olumsuz etkileyen maddeler – plazma

Artmış konsantrasyonda dört endojen madde (bilirubin, hemoglobin, trigliserit ve albumin protein), EDTA-plazma örneklerinde bulunan olumsuz etkileyebilecek maddeler olarak tanımlanmıştır. Etkileri LOD değerinin yaklaşık 10 katında CMV içeren plazmada değerlendirilmiştir (425 kopya/ml). Kontrol olarak CMV eklenmiş plazma örnekleri herhangi bir enterferans yapıcı madde eklenmeden dahil edilmiştir. Enterferans yapıcı maddeler eklenerek veya eklenmeden tüm örnekler, Cellfree1000 protokolü ile kombinasyon halinde QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit kullanılarak 4 replikat halinde analiz edilmiştir (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Artmış endojen inhibitör (bilirubin 30 mg/dl, hemoglobin 2 g/dl, trigliserit 1 g/dl ve albumin protein 6 g/dl) düzeyleri içeren örnekler için CMV saptama açısından bir enterferans gözlenmemiştir.

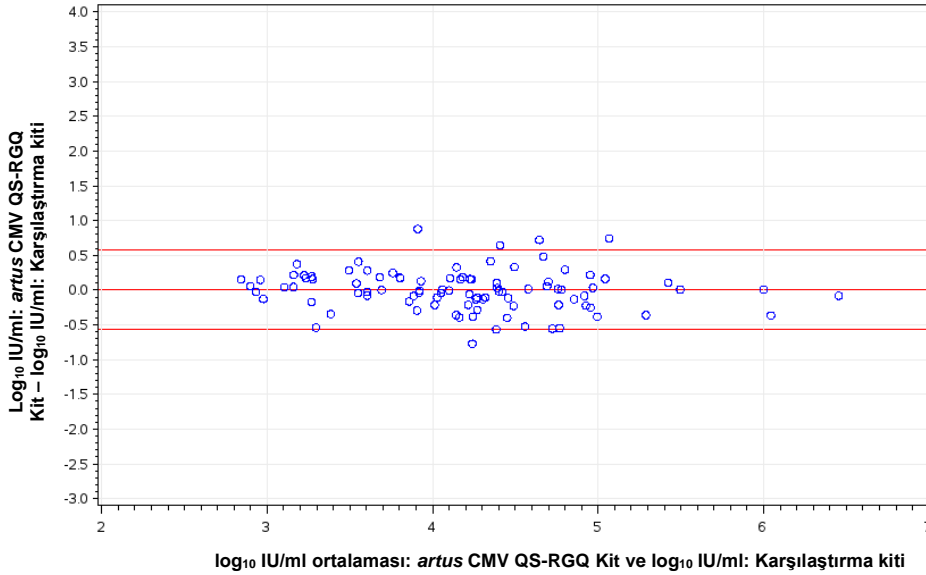
Klinik değerlendirme – plazma

artus CMV QS-RGQ Kit'in klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. CMV ile enfekte hastalardan EDTA tüpleri içine toplanan veya CMV için birinci WHO standardı kullanılarak suni olarak hazırlanan ve ayrıca negatif kontrollerden toplam 174 plazma numunesi *artus* CMV QS-RGQ Kit ile ve karşılaştırılabilir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Her iki kitin kalitatif anlaşması %100'dü. Y ekseninde QIAGEN kiti test sonucu ve X ekseninde karşılaştırma testi sonucuyla Deming ve Passing-Bablok regresyon analizi yapılmıştır (bakınız Şekil 3). QIAGEN kiti ile karşılaştırma kiti arasında tıbbi karar noktasında (1000 IU/ml) \log_{10} (IU/ml) cinsinden tahmin edilen fark Deming regresyonundan hesaplandığı şekilde 0,074 \log_{10} IU/ml olmuştur.



Şekil 3. Passing-Bablok ve Deming çizgileriyle (plazma) regresyon plotu. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti (LLOQ) ve üst kantifikasyon limiti (ULOQ) arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Hesaplanan log₁₀ (IU/ml) farkına bakmak için bir Bland-Altman plotu oluşturulmuştur. Ayrıca ortalama log₁₀ (IU/ml) farkı ve karşılık gelen %95 aralığı hesaplanmış ve plot üzerine yerleştirilmiştir (bakınız Şekil 4).



Şekil 4. Bland-Altman plotu (plazma). Yatay referans çizgileri 0,00, -0,57 ve 0,58 değerindedir ve ortalama farkı (log₁₀ IU/ml: artus CMV QS-RGQ Kit - log₁₀ IU/ml: Karşılaştırma kiti) ve karşılık gelen %95 öngörme aralığını gösterir. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

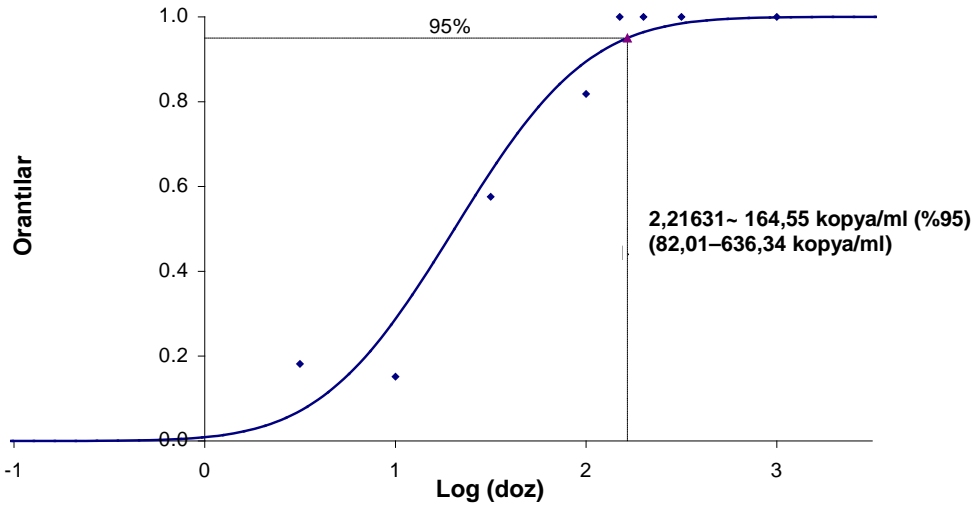
Saptama Limiti – tam kan

QIAasymphony SP üzerinde ekstraksiyon ile kombinasyon halinde CMV pozitif klinik numuneler kullanılarak *artus* CMV QS-RGQ Kit için saflaştırma (hassasiyet limiti) açısından LOD değerlendirilmiştir.

Tam kan için *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilişkili LOD, klinik plazma örnekleri eklenmiş 1000 ila nominal 3,16 CMV kopya/ml şeklinde CMV virüs materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir.

Bunlar QIAasymphony DNA Mini Kit ile kombinasyon halinde VirusBlood200_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyona tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 200 µl, elüsyon hacmi: 60 µl). 8 dilüsyonun her biri *artus* CMV QS-RGQ Kit ile 3 farklı günde her birinde 11 replikatlık 6 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir.

Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 5'de verilmiştir. Rotor-Gene Q ile kombinasyon halinde *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması açısından LOD 164,55 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 164,55 kopya/ml'nin (122,59 IU/ml'ye tekabül eder) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 5. Probit analizi: tam kan, CMV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması (tam kan, QIAasymphony DNA Mini Kit kullanılarak) dikkate alınarak saptama limiti.

Özgüllük – tam kan

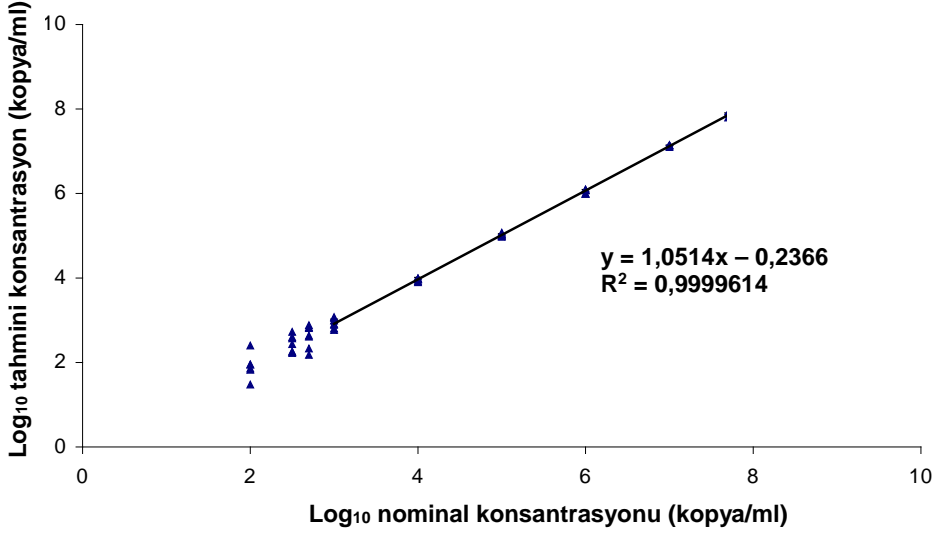
artus CMV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 100 farklı CMV negatif tam kan örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar CMV RG Master'a dahil edilen CMV'ye spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus CMV QS-RGQ Kit'in olası çapraz-reaktivitesi Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (bkz. sayfa 3). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Mikst enfeksiyonlarla çapraz reaktivite durumu görülmemiştir.

Lineer aralık – tam kan

artus CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili lineer aralık tam kanda $5,00 \times 10^7$ ila $1,00 \times 10^2$ aralığındaki CMV virüs materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIASymphony DNA Mini Kit kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^7$ kopya/ml her bir konsantrasyon için $n = 4$; $< 1,00 \times 10^7$ kopya/ml her bir konsantrasyon için $n = 8$) şeklinde VirusBlood200_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 200 μ l, elüsyon hacmi: 60 μ l). Örneklerin her biri *artus* CMV QS-RGQ Kit kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* CMV QS-RGQ Kit'in saflaştırılmasıyla ilgili olarak lineer aralık tam kan için $1,00 \times 10^3$ kopya/ml ila $5,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonları ($7,45 \times 10^2$ ila $3,73 \times 10^7$ IU/ml'ye tekabül eder) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. artus CMV QS-RGQ Kit'in (tam kan) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük – tam kan

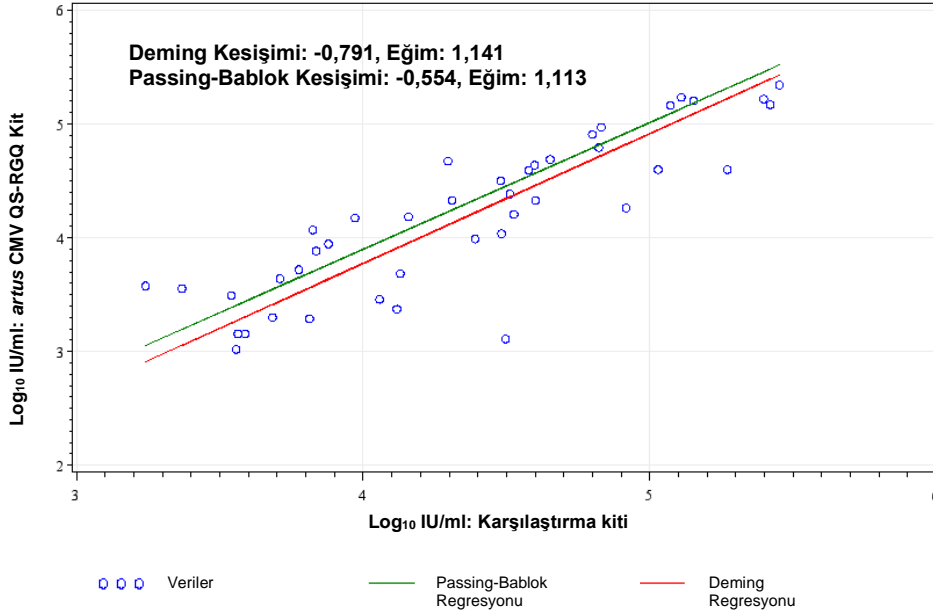
Güçlülüğün doğrulanması *artus* CMV QS-RGQ Kit'in toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 100 CMV negatif tam kan örneğine 500 kopya/ml CMV eklenmiştir (LOD'nin yaklaşık 3 katı konsantrasyon). QIA Symphony DNA Mini Kit ile kombinasyon halinde tam kan için VirusBlood200_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında bu örnekler *artus* CMV QS-RGQ Kit ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 100 ekleme yapılmış tam kan örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* CMV QS-RGQ Kit güçlülüğü $\geq 99\%$ 'dur.

Olumsuz etkileyen maddeler – tam kan

Artmış konsantrasyonda üç endojen madde (bilirubin, trigliserit ve gDNA), EDTA tam kan örneklerinde bulunan olumsuz etkileyebilecek maddeler olarak tanımlanmıştır. Etkileri LOD değerinin yaklaşık 10 katında CMV içeren tam kanda değerlendirilmiştir (1650 kopya/ml). Kontrol olarak VZV eklenmiş tam kan örnekleri herhangi bir enterferans yapıcı madde eklenmeden dahil edilmiştir. Enterferans yapıcı maddelerin eklenerek veya eklenmeden tüm örnekler QIAAsymphony DNA Mini Kit ürünü VirusBlood200_DSP protokolü ile kombinasyon halinde kullanılarak 4 replikat halinde analiz edilmiştir (ekstraksiyon hacmi: 0,2 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Artmış endojen inhibitör (bilirubin 30 mg/dl, trigliserit 1 g/dl ve 3µg/örneğe kadar gDNA) düzeyleri içeren örnekler için CMV saptama açısından bir enterferans gözlenmemiştir.

Klinik değerlendirme – tam kan

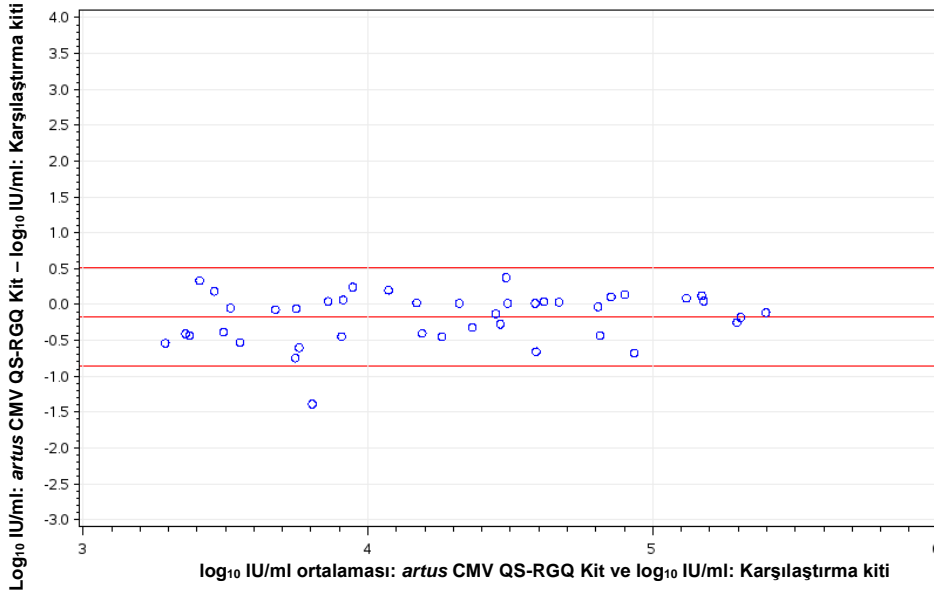
artus CMV QS-RGQ Kit'in klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. CMV ile enfekte hastalardan ve ayrıca negatif kontrollerden toplanan toplam 115 tam kan klinik numunesi artus CMV QS-RGQ Kit ile ve karşılaştırılabilir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Y ekseninde QIAGEN kiti test sonucu ve X ekseninde karşılaştırma testi sonucuyla Deming ve Passing-Bablok regresyon analizi yapılmıştır (bakınız Şekil 7).



Şekil 7. Passing-Bablok ve Deming çizgileriyle (tam kan) regresyon plotu. Analize sadece klinik örnekler dahil edilmiştir. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti (LLOQ) ve üst kantifikasyon limiti (ULOQ) arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Hesaplanan \log_{10} (IU/ml) farkına bakmak için bir Bland-Altman plotu oluşturulmuştur. Ayrıca ortalama \log_{10} (IU/ml) farkı ve karşılık gelen %95 aralığı hesaplanmış ve plot üzerine yerleştirilmiştir (bakınız Şekil 8).

QIAGEN kiti ile karşılaştırma kiti arasında \log_{10} (IU/mL) cinsinden ana fark 0,18 \log_{10} IU/ml olmuştur. Her iki kitin kalitatif anlaşması %100'dü.



Şekil 8. Bland-Altman plotu (tam kan). Yatay referans çizgileri -0,18, -0,86 ve 0,51 değerlerindedir ve ortalama farkı (\log_{10} IU/ml: *artus* CMV QS-RGQ Kit – \log_{10} IU/ml: karşılaştırma kiti) ve karşılık gelen %95 öngörme aralığını gösterir. Analize sadece klinik örnekler dahil edilmiştir. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

Kesinlik

artus CMV QS-RGQ Kit'in kesinlik verileri testin toplam varyansının belirlenmesini mümkün kılar. Toplam varyans, analiz içi değişkenlik (bir deneyde aynı konsantrasyondan örneklerin birden fazla sonucunun değişkenliği), analizler arası değişkenlik (bir laboratuvarında farklı kullanıcılar tarafından aynı tipte farklı aletlerde oluşturulan birden fazla tahlil sonucunun değişkenliği) ve partiler arası değişkenlikten (çeşitli partiler kullanılarak tahlilin birden fazla sonucunun değişkenliği) oluşur. Elde edilen veriler patojene spesifik ve dahili kontrol PCR için varyasyon katsayısını, varyansı ve standart sapmayı belirlemek için kullanılmıştır.

artus CMV QS-RGQ Kit'in analitik kesinlik verileri (saflaştırma dikkate alınmadan) en düşük konsantrasyonun kantitasyon standardı (QS 4; 10 kopya/ μ l) kullanılarak toplanmıştır. Testler 8

replikarla yapılmıştır. Kesinlik verileri amplifikasyon eğrilerinin C_T değerleri temelinde hesaplanmıştır (C_T : eşik döngüsü, bakınız Tablo 2, sayfa 12). Ayrıca karşılık gelen C_T değerleri kullanılarak kopya/μl cinsinden kantitatif sonuçlar için kesinlik verileri belirlenmiştir (Tablo 3, sayfa 12). Bu sonuçlar temelinde belirtilen konsantrasyonun bulunduğu herhangi bir örnekte genel istatistiksel dağılım %1,21 (C_T) veya %14,38 (konsantrasyon) ve dahili kontrolün saptanması için %1,93 (C_T) şeklindedir. Bu değerler belirlenmiş değişkenliklerin tüm tek değerlerinin toplamı temelindedir.

Tablo 2. C_T değerleri temelinde kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Tahliller içi değişkenlik: Dahili kontrol	0,31	0,10	1,16
Tahliller arası değişkenlik: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Tahliller arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,47	0,22	1,77
Gruplar arası değişkenlik: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Gruplar arası değişkenlik: Dahili kontrol	0,53	0,28	2,02
Toplam varyans: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Toplam varyans: Dahili kontrol	0,51	0,26	1,93

Tablo 3. Kantitatif sonuçlar (kopya/μl olarak) temelinde kesinlik verileri

	Standart sapma	Varyans	Varyasyon katsayısı (%)
Tahliller içi değişkenlik: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Tahliller arası değişkenlik: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Gruplar arası değişkenlik: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Toplam varyans: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Yeniden üretilebilirlik

Yeniden üretilebilirlik verileri *artus* CMV QS-RGQ Kit'in düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Çapraz kontaminasyon

Tüm iş akışı için örnekler arasında çapraz kontaminasyon yokluğu temsili bir *artus* QS-RGQ sistemi için alternatif pozisyonlarda (dama tahtası paterni) tüm bilinen pozitif ve negatif örneklerin doğru saptanmasıyla ispatlanmıştır.

İlgili ürünler ve sipariş bilgisi *artus* CMV QS-RGQ Kit için el kitabında liste halinde verilmiştir.

Belge revizyon geçmişi	
R4, Şubat 2018	"Analiz hassasiyeti", "saptama limiti" veya "LOD" olarak değiştirildi; "Enterferans yapıcı maddeler" bilgisi eklendi; ilgili Uygulama Sayfalarındaki dönüştürme faktörü bilgisine dayalı olarak IU/ml cinsinden değerler eklendi (mevcut kopya/ml cinsinden verilere ilave olarak).

Güncel lisans bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabına veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Hizmetler departmanından ya da yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar, vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalar tarafından korunmaktadır. 02/2018 HB-0356-D01-004.
© 2012-2018 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

Sipariş www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web sitesi www.qiagen.com