

Februari 2018

artus[®] CMV QS-RGQ Kit: Prestatiekenmerken

R4

IVD

CE
0197

REF

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

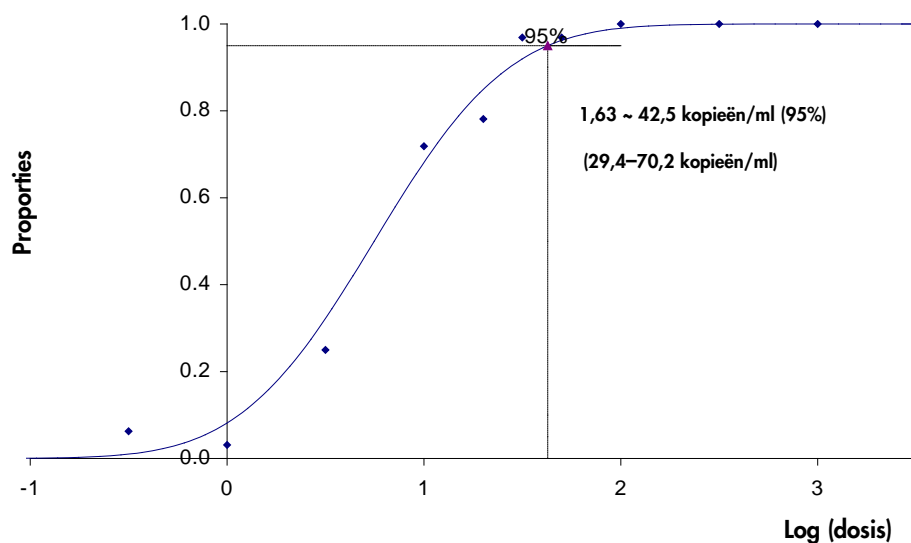


Controleer voorafgaand aan het uitvoeren van een test of er nieuwe (herziene) elektronische bijsluiters beschikbaar zijn op www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx.

Detectielimiet - plasma

De detectielimiet (limit of detection, LOD) rekening houdend met de zuivering (de sensitiviteitslimiet) voor de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd beoordeeld aan de hand van CMV-positieve klinische monsters in combinatie met de extractie op de QIAasymphony® SP.

De LOD voor plasma rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd vastgesteld aan de hand van een verdunningsreeks van CMV-virusmateriaal van 1000 tot nominaal 0,316 CMV-kopieën/ml in verrijkte klinische plasmamonsters. Hieruit werd DNA geëxtraheerd met de QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60 µl). Elk van de 10 verdunningen werd op 4 verschillende dagen geanalyseerd met de *artus* CMV QS-RGQ Kit in 4 runs van elk 8 herhalingen. De resultaten werden bepaald via een probitanalyse. Afbeelding 1 toont een grafische illustratie van de probitanalyse. De LOD rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit in combinatie met de Rotor-Gene Q is 42,5 kopieën/ml ($p = 0,05$). Dit betekent dat er een waarschijnlijkheid van 95% is dat er 42,5 kopieën/ml (overeenkomend met 69,7 IU/ml) zullen worden gedetecteerd.



Afbeelding 1. Probitanalyse: plasma, CMV (Rotor-Gene Q). Detectielimiet rekening houdend met de zuivering (plasma, met gebruik van de QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) van de *artus* CMV QS-RGQ Kit op de Rotor-Gene Q.

Specificiteit – plasma

De specificiteit van de *artus* CMV 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. De detecteerbaarheid van alle relevante genotypen is derhalve gegarandeerd.

Verder werd de specificiteit gevalideerd met 100 verschillende CMV-negatieve plasmamonsters. Deze genereerden geen signalen met de voor CMV specifieke primers en probes die zijn inbegrepen in de CMV RG Master.

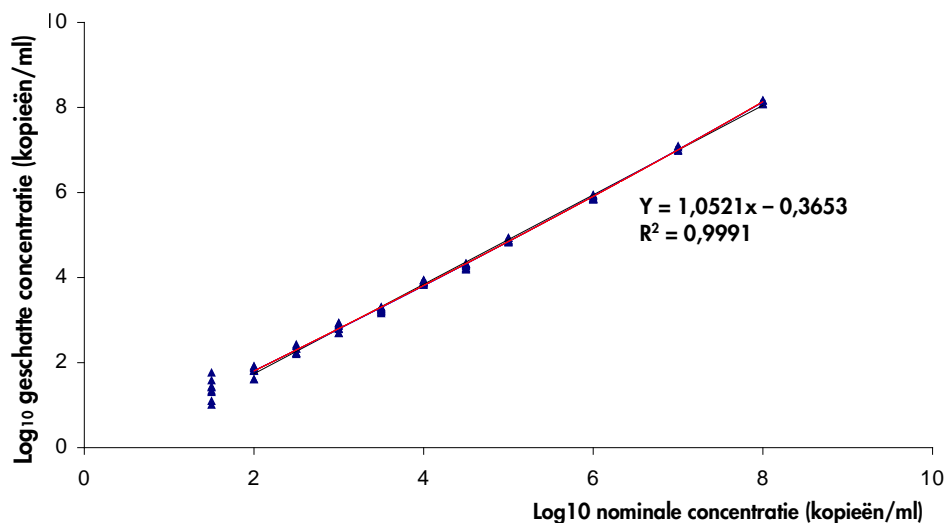
Potentiële kruis-reactiviteit van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd getest met de controlegroep die in tabel 1 wordt vermeld (hieronder). Geen van de geteste pathogenen was reactief. Er werden geen kruis-reactiviteiten geobserveerd met gemengde infecties.

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

Controlegroep	CMV (Cycling Green (Cyclisch groen))	Interne controle (Cycling Yellow (Cyclisch geel))
Humaan herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	–	+
Humaan herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	–	+
Humaan herpesvirus 3 (varicella-zostervirus)	–	+
Humaan herpesvirus 4 (Epstein-barrvirus)	–	+
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	–	+
Westnijlvirus	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+

Lineair bereik – plasma

Het lineaire bereik rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd vastgesteld door analyse van een verdunningsreeks van CMV-virusmateriaal met verdunningen van $1,00 \times 10^8$ kopieën/ml tot $3,16 \times 10^1$ kopieën/ml in plasma. 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 Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000_DSP-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60 μ l). Elk van de monsters werd geanalyseerd met de *artus* CMV QS-RGQ Kit. Het lineaire bereik rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd vastgesteld voor concentraties vanaf $7,94 \times 10^1$ kopieën/ml tot $1,00 \times 10^8$ kopieën/ml (overeenkomend met $1,30 \times 10^2$ tot $1,64 \times 10^8$ IU/ml) voor plasma (afbeelding 2).



Afbeelding 2. Lineair bereik van de *artus* CMV 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 kan het totale faalpercentage van de *artus* CMV QS-RGQ Kit worden bepaald. Om de robuustheid te verifiëren werden 100 CMV-negatieve plasmamonsters verrijkt met 130 kopieën/ml CMV (ongeveer driemaal de concentratie van de LOD). Na extractie met de QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree1000_DSP-protocol voor plasma (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60 μ l) werden deze

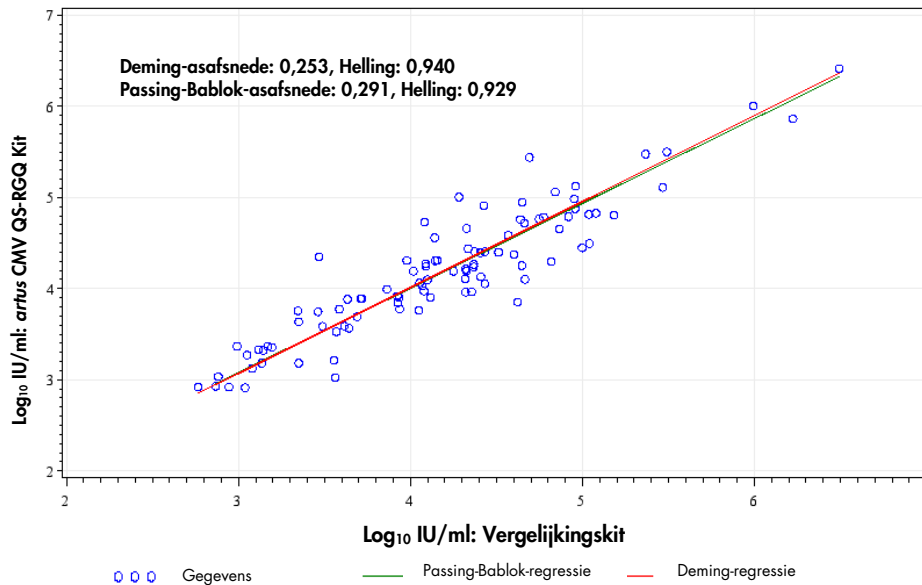
monsters geanalyseerd met de *artus* CMV QS-RGQ Kit. Daarnaast werd de robuustheid van de interne controle beoordeeld door zuivering en analyse van de 100 verrijkte plasmamonsters. Remmingen werden niet waargenomen. De robuustheid van de *artus* CMV QS-RGQ Kit is dus $\geq 99\%$.

Stoffen met een storende werking – plasma

Er zijn vier endogene stoffen (bilirubine, hemoglobine, triglyceride en albumine-eiwit) bij een verhoogde concentratie geïdentificeerd als mogelijke stoffen met een storende werking die aanwezig zijn in EDTA-plasmamonsters. Hun effecten waren verhoogd in plasma dat 10 keer meer CMV bevatte dan de LOD-waarde (425 kopieën/ml). CMV-verrijkte plasmamonsters zonder toevoeging van stoffen met een storende werking werden gebruikt als controle. Alle monsters, met of zonder toevoeging van stoffen met een storende werking, werden in 4 herhalingen geanalyseerd met behulp van de QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit in combinatie met het Cellfree 1000-protocol (extractievolume: 1 ml, elutievolume: 60 μ l). Voor monsters die verhoogde niveaus endogene remmende stoffen bevatten (bilirubine 30 mg/dl, hemoglobine 2 g/dl, triglyceride 1 g/dl en albumine-eiwit 6 g/dl) werd er geen interferentie geobserveerd voor CMV-detectie.

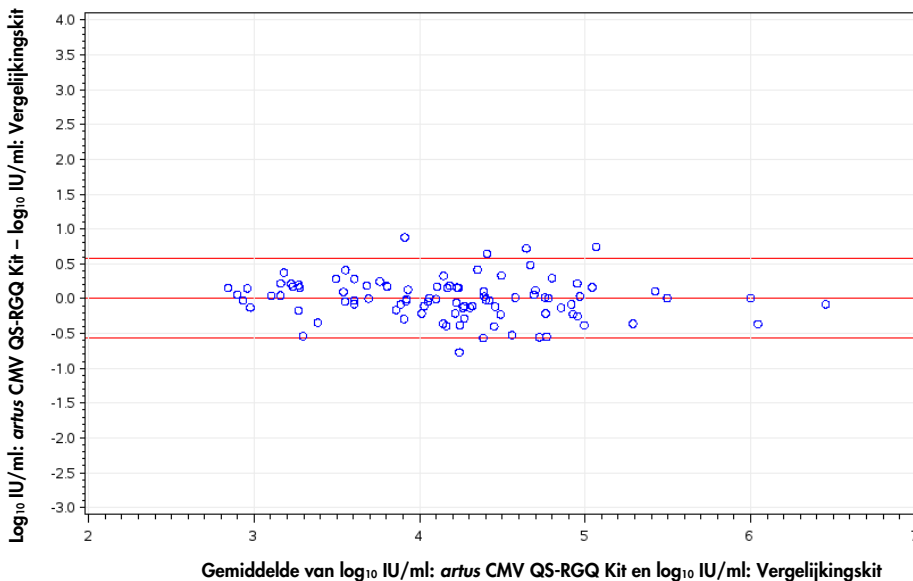
Klinische evaluatie – plasma

De klinische prestaties van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werden geëvalueerd door klinische monsters te testen en de bevindingen te analyseren aan de hand van de resultaten van een vergelijkbare methode. In totaal werden 174 plasmamonsters getest die in EDTA-buisjes werden afgenomen bij met CMV besmette patiënten, negatieve controlepersonen of kunstmatig gemaakt aan de hand van de eerste WHO-standaard voor CMV, met de *artus* CMV QS-RGQ Kit en de vergelijkingsmethode op een externe locatie. De kwalitatieve overeenstemming van beide kits was 100%. Deming- en Passing-Bablok-regressieanalyses werden uitgevoerd met de testresultaten van de QIAGEN-kit op de Y-as en de testresultaten van de vergelijkingsmethode op de X-as (zie afbeelding 3). Het geschatte verschil in \log_{10} (IU/ml) op het medische beslissingspunt (1000 IU/ml) tussen de QIAGEN-kit en de vergelijkingskit was 0,074 \log_{10} IU/ml, zoals berekend met de Deming-regressie.



Afbeelding 3. Regressielijn met Passing-Bablok- en Deming-lijnen (plasma). Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering (lower limit of quantification, LLOQ) en de bovengrens voor kwantificering (upper limit of quantification, ULOQ) vielen, werden in de analyse opgenomen.

Er werd een Bland-Altman-lijn gemaakt om het verschil in berekende \log_{10} (IU/ml) te bekijken. Bovendien werd het gemiddelde verschil in \log_{10} (IU/ml) en het bijbehorende 95%-bereik berekend en over de lijn heen gelegd (zie afbeelding 4).



Afbeelding 4. Bland-Altman-lijn (plasma). De horizontale referentielijnen bevinden zich op 0,00, -0,57 en 0,58 en geven het gemiddelde verschil aan (\log_{10} IU/ml: artus CMV QS-RGQ Kit – \log_{10} IU/ml: Vergelijkingskit) en het bijbehorende 95%-voorspellingsinterval. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering en de bovengrens voor kwantificering vielen, werden in de analyse opgenomen.

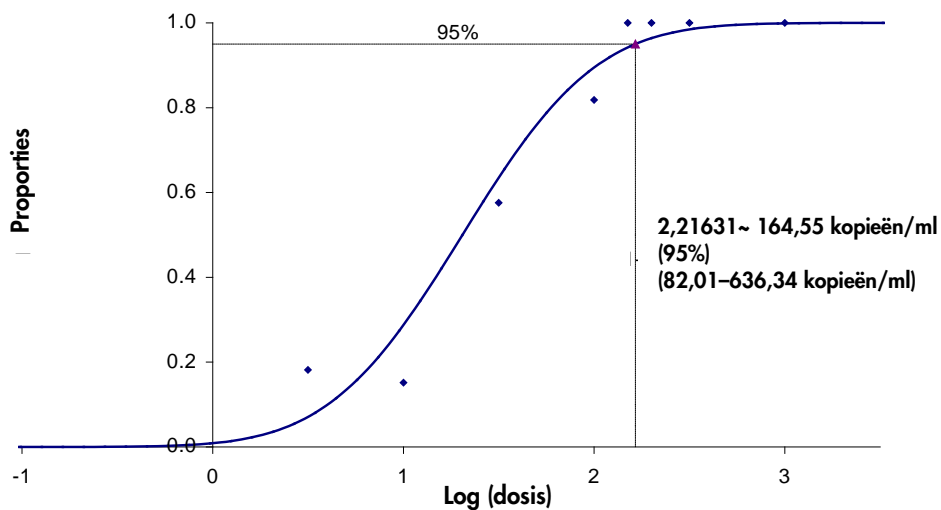
Detectielimiet – volbloed

De LOD rekening houdend met de zuivering (de sensitiviteitslimiet) voor de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd beoordeeld aan de hand van CMV-positieve klinische monsters in combinatie met de extractie op de QIASymphony SP.

De LOD voor volbloed, rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit, werd vastgesteld aan de hand van een verdunningsreeks van CMV-virusmateriaal van 1000 tot nominaal 3,16 CMV-kopieën/ml in verrijkte humane volbloedmonsters.

Hieruit werd DNA geëxtraheerd met de QIASymphony DNA Mini Kit in combinatie met het VirusBlood200_DSP-protocol (extractievolume: 200 µl, elutievolume: 60 µl). Elk van de 8 verdunningen werd op 3 verschillende dagen geanalyseerd met de *artus* CMV QS-RGQ Kit in 6 runs van elk 11 herhalingen. De resultaten werden bepaald via een probitanalyse.

Afbeelding 5 toont een grafische illustratie van de probitanalyse. De LOD, rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit, in combinatie met de Rotor-Gene Q is 164,55 kopieën/ml ($p = 0,05$). Dit betekent dat er een waarschijnlijkheid van 95% is dat er 164,55 kopieën/ml (overeenkomend met 122,59 IU/ml) zullen worden gedetecteerd.



Afbeelding 5. Probitanalyse: volbloed, CMV (Rotor-Gene Q). Detectielimiet, rekening houdend met de zuivering (volbloed, met gebruik van de QIASymphony DNA Mini Kit) van de *artus* CMV QS-RGQ Kit op de Rotor-Gene Q.

Specificiteit – volbloed

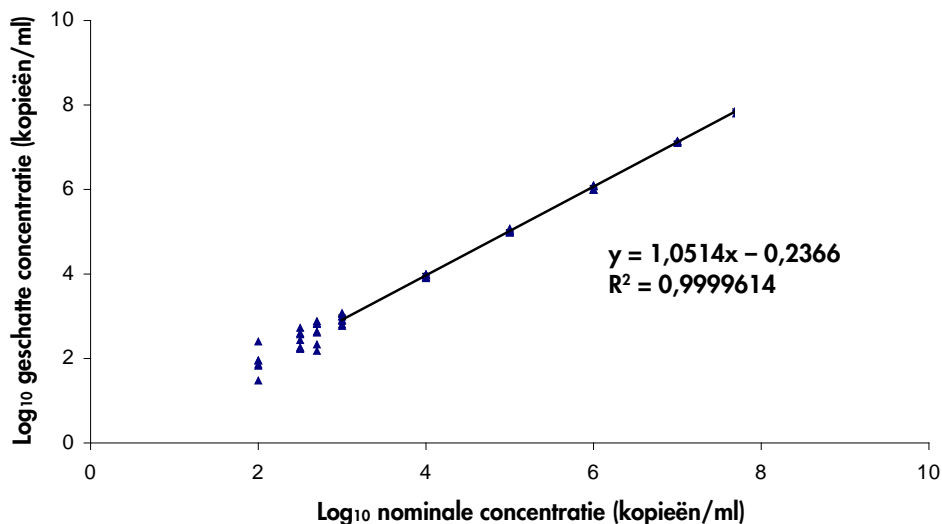
De specificiteit van de *artus* CMV QS-RGQ Kit wordt in de eerste plaats gegarandeerd door de selectie van de primers en probes, en daarnaast door de selectie van strikte reactiecondities. De primers en probes zijn door middel van sequentievergelijkinganalyse gecontroleerd op mogelijke homologieën ten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

Verder werd de specificiteit gevalideerd met 100 verschillende CMV-negatieve volbloedmonsters. Deze genereerden geen signalen met de voor CMV specifieke primers en probes die zijn inbegrepen in de CMV RG Master.

Potentiële kruis-reactiviteit van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werd getest met de controlegroep die in tabel 1 wordt vermeld (zie pagina 3). Geen van de geteste pathogenen was reactief. Er werden geen kruisreactiviteiten geobserveerd met gemengde infecties.

Lineair bereik – volbloed

Het lineaire bereik, rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit, werd vastgesteld door analyse van een verdunningsreeks van CMV-virusmateriaal met verdunningen van $5,00 \times 10^7$ tot $1,00 \times 10^2$ in volbloed. 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 DNA Mini Kit in combinatie met het VirusBlood200_DSP-protocol (extractievolume: 200 μ l, elutievolume: 60 μ l). Elk van de monsters werd geanalyseerd met de *artus* CMV QS-RGQ Kit. Het lineaire bereik, rekening houdend met de zuivering van de *artus* CMV QS-RGQ Kit, werd vastgesteld voor concentraties vanaf $1,00 \times 10^3$ kopieën/ml tot $5,00 \times 10^7$ kopieën/ml (overeenkomend met $7,45 \times 10^2$ tot $3,73 \times 10^7$ IU/ml) voor volbloed (afbeelding 6).



Afbeelding 6. Lineair bereik van de artus CMV QS-RGQ Kit (volbloed). Berekening van het lineaire bereik. De rechte lijn werd bepaald door een lineaire regressie van de op basis van log₁₀ berekende concentraties met de log₁₀ nominale concentraties. De vergelijking van de regressielijn is in de afbeelding opgenomen.

Robuustheid – volbloed

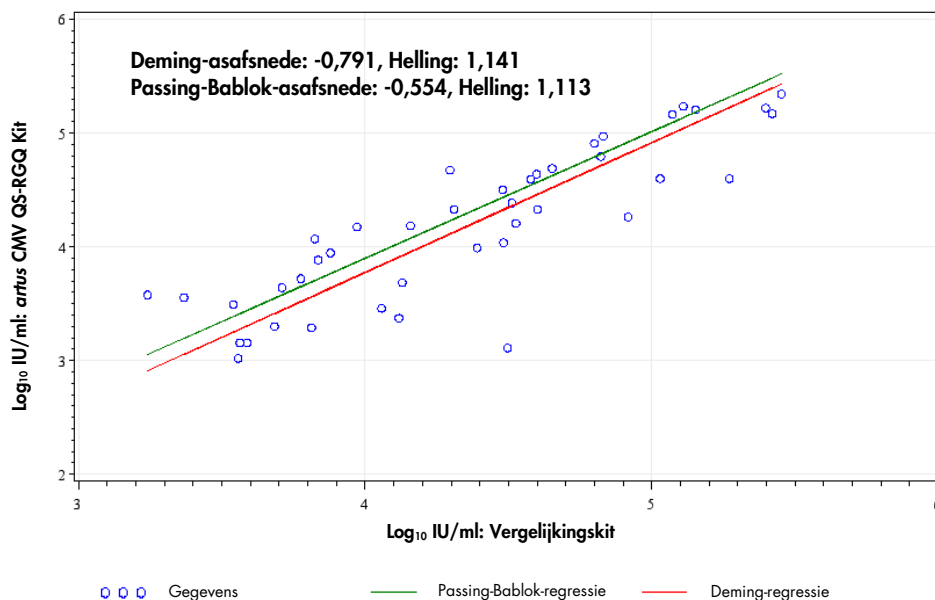
Op basis van de verificatie van de robuustheid kan het totale faalpercentage van de artus CMV QS-RGQ Kit worden bepaald. Om de robuustheid te verifiëren werden 100 CMV-negatieve volbloedmonsters verrijkt met 500 kopieën/ml CMV (ongeveer driemaal de concentratie van de LOD). Na extractie met gebruikmaking van de QIASymphony DNA Mini Kit in combinatie met het VirusBlood200_DSP-protocol voor volbloed, werden deze monsters geanalyseerd met de artus CMV QS-RGQ Kit. Daarnaast werd de robuustheid van de interne controle beoordeeld door zuivering en analyse van de 100 verrijkte volbloedmonsters. Remmingen werden niet waargenomen. De robuustheid van de artus CMV QS-RGQ Kit is dus $\geq 99\%$.

Stoffen met een storende werking – volbloed

Er zijn drie endogene stoffen (bilirubine, triglyceride en gDNA) bij een verhoogde concentratie geïdentificeerd als mogelijke stoffen met een storende werking die aanwezig zijn in EDTA-volbloedmonsters. Hun effecten waren verhoogd in volbloed dat 10 keer meer CMV bevatte dan de LOD-waarde (1650 kopieën/ml). CMV-verrijkte volbloedmonsters zonder toevoeging van stoffen met een storende werking werden gebruikt als controle. Alle monsters, met of zonder toevoeging van stoffen met een storende werking, werden in 4 herhalingen geanalyseerd met behulp van de QIA Symphony DNA Mini Kit in combinatie met het VirusBlood200_DSP-protocol (extractievolume: 0,2 ml, elutievolume: 60 µl). Voor monsters die verhoogde niveaus endogene remmende stoffen bevatten (bilirubine 30 mg/dl, triglyceride 1 g/dl en gDNA tot 3 µg/monster) werd er geen interferentie geobserveerd voor CMV-detectie.

Klinische evaluatie - volbloed

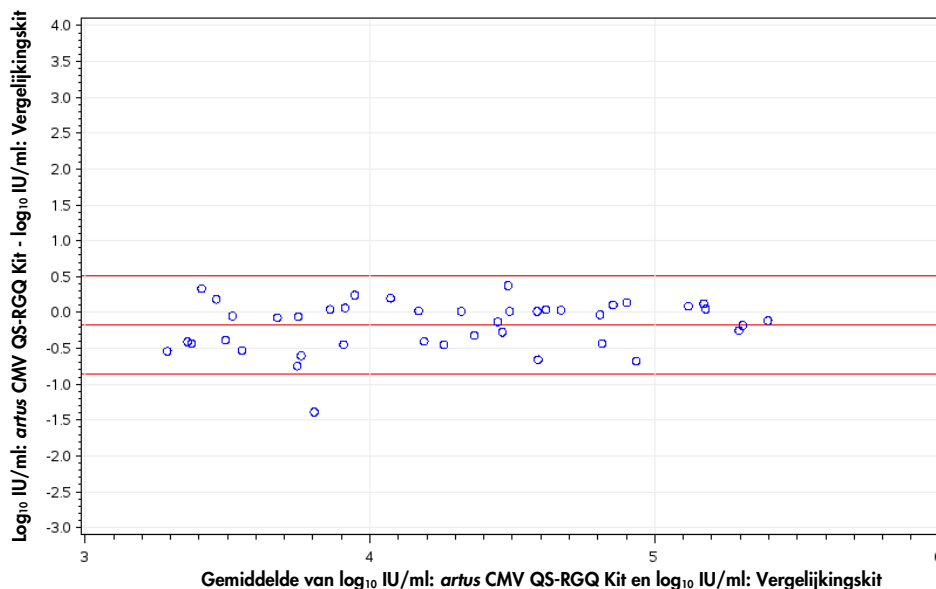
De klinische prestaties van de *artus* CMV QS-RGQ Kit werden geëvalueerd door klinische monsters te testen en de bevindingen te analyseren aan de hand van de resultaten van een vergelijkbare methode. In totaal werden 115 klinische volbloedmonsters getest die werden afgenomen bij zowel met CMV besmette patiënten als negatieve controlepersonen, met de *artus* CMV QS-RGQ Kit en de vergelijkmethode op een externe locatie. Deming- en Passing-Bablok-regressieanalyses werden uitgevoerd met de testresultaten van de QIAGEN-kit op de Y-as en de testresultaten van de vergelijkmethode op de X-as (zie afbeelding 7).



Afbeelding 7. Regressielijn met Passing-Bablok- en Deming-lijnen (volbloed). Alleen klinische monsters opgenomen in de analyse. Monsters die bij beide kits tussen de ondergrens voor kwantificering (LLOQ) en de bovengrens voor kwantificering (ULOQ) vielen, werden in de analyse opgenomen.

Er werd een Bland-Altman-lijn gemaakt om het verschil in berekende \log_{10} (IU/ml) te bekijken. Bovendien werd het gemiddelde verschil in \log_{10} (IU/ml) en het bijbehorende 95%-bereik berekend en over de lijn heen gelegd (zie afbeelding 8).

Het gemiddelde verschil in \log_{10} (IU/ml) tussen de QIAGEN-kit en de vergelijkingskit was 0,18 \log_{10} IU/ml. De kwalitatieve overeenstemming van beide kits was 100%.



Afbeelding 8. Bland-Altman-lijn (volbloed). De horizontale referentielijnen bevinden zich op -0,18, -0,86 en 0,51 en geven het gemiddelde verschil aan (\log_{10} IU/ml: artus CMV QS-RGQ Kit – \log_{10} IU/ml: vergelijkingskit) en het bijbehorende 95%-voorspellingsinterval. Alleen klinische monsters werden opgenomen in de analyse. 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 CMV QS-RGQ Kit maken bepaling van de totale variantie van de assay mogelijk. De totale variantie bestaat uit de intra-assayvariabiliteit (variabiliteit van meerdere resultaten van monsters van dezelfde concentratie binnen één experiment), de inter-assayvariabiliteit (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 precisiegegevens van de *artus* CMV QS-RGQ Kit (geen rekening houdend met de zuivering) werden verzameld met gebruikmaking van de kwantificatiestandaard met de laagste concentratie (QS 4; 10 kopieën/ μ l). De tests werden uitgevoerd met 8 herhalingen. De precisiegegevens werden berekend op basis van de C_T -waarden van de amplificatiecurven (C_T : drempelcyclus [threshold cycle], zie tabel 2 op pagina 12). Bovendien werden nauwkeurigheidgegevens voor kwantitatieve resultaten in kopieën/ μ l bepaald met gebruikmaking van de corresponderende C_T -waarden (zie tabel 3 op pagina 12). Op basis van deze resultaten is de totale statistische spreiding van een gegeven monster met de genoemde concentratie 1,21% (C_T) of 14,38% (concentratie) en 1,93% (C_T) voor de detectie van de interne controle. Deze waarden zijn gebaseerd op het geheel van alle enkelvoudige waarden van de bepaalde variabiliteit

Tabel 2. Precisiegegevens op basis van de C_T -waarden

	Standaarddeviatie	Variantie	Variatiecoëfficiënt (%)
Intra-assayvariabiliteit: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Intra-assayvariabiliteit: Interne controle	0,31	0,10	1,16
Interassayvariabiliteit: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Interassayvariabiliteit: Interne controle	0,47	0,22	1,77
Interbatchvariabiliteit: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Interbatchvariabiliteit: Interne controle	0,53	0,28	2,02
Totale variantie: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Totale variantie: Interne controle	0,51	0,26	1,93

Tabel 3. Precisiegegevens op basis van de kwantitatieve resultaten (in kopieën/ μ l)

	Standaarddeviatie	Variantie	Variatiecoëfficiënt (%)
Intra-assayvariabiliteit: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Interassayvariabiliteit: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Interbatchvariabiliteit: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Totale variantie: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Reproduceerbaarheid

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

Kruisbesmetting

De afwezigheid van kruisbesmetting 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).

U vindt bijbehorende producten en bestelinformatie in de handleiding voor de *artus* CMV QS-RGQ Kit.

Revisiegeschiedenis document

R4, februari 2018	'Analytische sensitiviteit' gewijzigd naar 'detectielimiet' of 'LOD'; informatie over 'stoffen met een storende werking' toegevoegd; waarden in IU/ml toegevoegd (naast bestaande gegevens in kopieën/ml) op basis van de conversiefactorinformatie in de respectievelijke toepassingsbladen.
-------------------	---

Raadpleeg de (gebruikers)handleiding van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. De (gebruikers)handleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen bij de afdeling Technical services van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur worden aangevraagd.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
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. 02/2018 HB-0356-D01-004.
© 2012-2018 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website
www.qiagen.com
