

2018. február

artus[®] CMV QS-RGQ Kit: Teljesítményjellemzők

R4

IVD

CE
0197

REF

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



A teszt elvégzése előtt ellenőrizze a

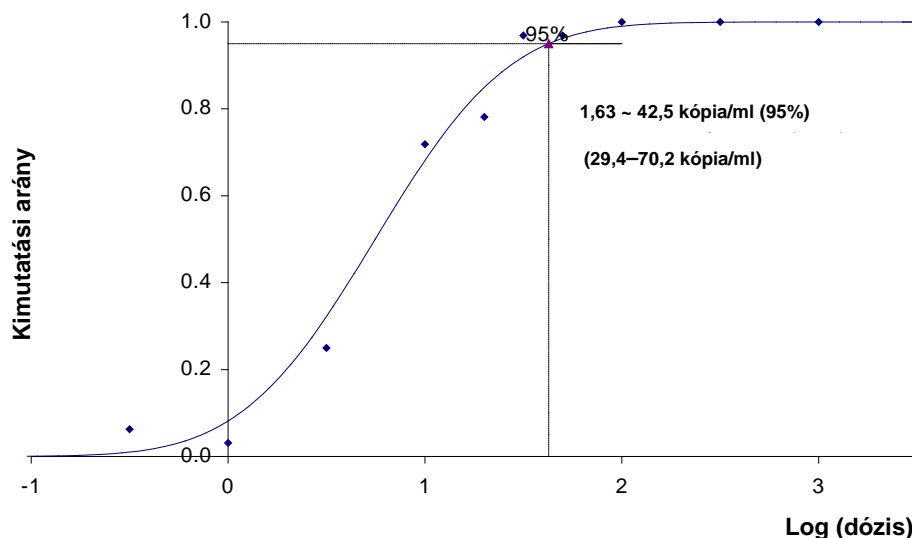
www.qiagen.com/products/artuscmvpcrkitce.aspx

címen, hogy nincs-e új, átdolgozott elektronikus dokumentáció.

Kimutatási határ – plazma

A tisztítást (érzékenységi határ) is figyelembe vevő kimutatási határt (limit of detection, LOD) *artus CMV QS-RGQ Kit* esetén CMV-pozitív klinikai minták és a QIASymphony® SP készüléken végzett extrakció kombinációjával mérték fel.

Plazma esetén az *artus CMV QS-RGQ Kit* tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határának meghatározásához a CMV vírus 1000 és névleges 0,316 kópia/ml közötti koncentrációjú hígítási sorával preparált klinikai mintákkal készült. Ezekből a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és a Cellfree1000_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával DNS-extrakciót végeztek (extrakciós térfogat: 1 ml, elúciós térfogat: 60 µl). Mind a 10 hígítást az *artus CMV QS-RGQ Kit* segítségével, 4 különböző napon, 4 futtatásban 8 párhuzamos mintával elemezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg. A probit-elemzés grafikai megjelenítése az 1. ábrán található. Az *artus CMV QS-RGQ Kit* tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa Rotor-Gene Q készüléssel 42,5 kópia/ml ($p = 0,05$). Ez azt jelenti, hogy 42,5 kópia/ml (69,7 IU/ml-nek felel meg) esetén 95%-os a detektálás valószínűsége.



1. ábra: Probit-elemzés: plazma, CMV (Rotor-Gene Q). Az *artus CMV QS-RGQ Kit* tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa (plazma, a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit alkalmazásával) Rotor-Gene Q készüléken.

Specifititás – plazma

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit specifititása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák a lehetséges homológiákra ellenőrzésre kerültek szekvencia-összehasonlítási elemzéssel minden génbankokban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns genotípus detektálhatósága ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifititást 100 különböző CMV-negatív szérummintán is validálták. Ezek nem adtak jelet a CMV RG Master CMV-specifikus primereivel és próbáival.

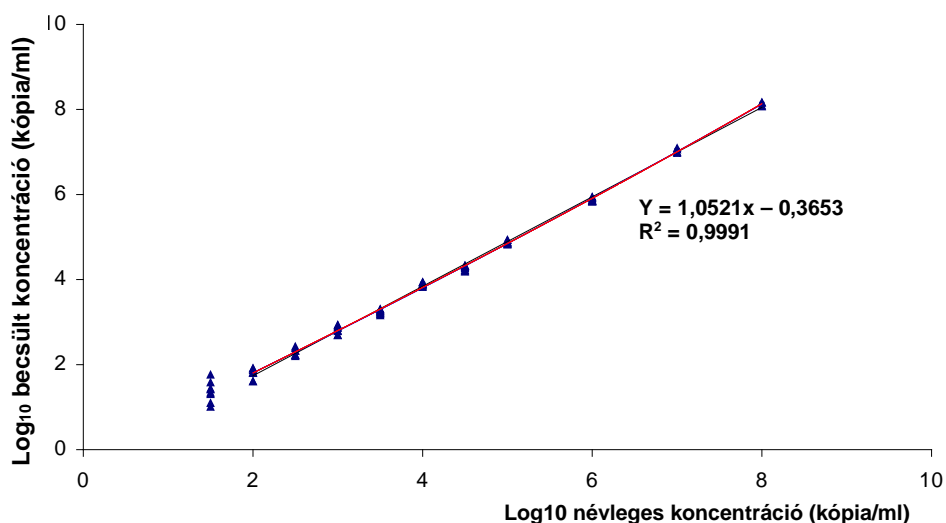
Az *artus* CMV QS-RGQ Kit lehetséges keresztreaktivitása az 1. táblázatban (lent) található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást. Kevert fertőzések esetén nem fordult elő keresztreaktivitás.

1. táblázat: A készlet specifititásának vizsgálata potenciális keresztreaktív patogénekkal

Kontrollcsoport	CMV (Cycling Green)	Belső kontroll (Cycling Yellow)
Humán herpeszvírus 1 (Herpes simplex vírus 1)	–	+
Humán herpeszvírus 2 (Herpes simplex vírus 2)	–	+
Humán herpeszvírus 3 (Varicella-zoster vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 4 (Epstein-Barr vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 6A	–	+
Humán herpeszvírus 6B	–	+
Humán herpeszvírus 7	–	+
Humán herpeszvírus 8 (Kaposi-szarkómával kapcsolatos herpeszvírus)	–	+
Hepatitis-A vírus	–	+
Hepatitis-B vírus	–	+
Hepatitis-C vírus	–	+
Humán immunodeficiencia vírus 1 (HIV)	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 1	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 2	–	+
Nyugat-Nílus vírus	–	+
Enterovírus	–	+
Parvovírus B19	–	+

Lineáris tartomány – plazma

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát a CMV vírusanyag $1,00 \times 10^8$ és $3,16 \times 10^1$ kópia/ml hígítási sorozatának elemzésével határozták meg a plazmában. A tisztítást párhuzamosokon végezték el ($a \geq 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk mindegyike esetében $n = 4$; $a < 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk mindegyike esetében $n = 8$) a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és aCellfree1000_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 1 ml, elúciós térfogat: 60 μ l). Mindegyik minta elemzését *artus* CMV QS-RGQ Kit alkalmazásával végezték el. Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát úgy határozták meg, hogy magában foglalja a $7,94 \times 10^1$ és $1,00 \times 10^8$ kópia/ml közötti plazmakoncentrációkat ($1,30 \times 10^2$ és $1,64 \times 10^8$ IU/ml közötti tartománynak felel meg) (2. ábra).



2. ábra: Az *artus* CMV QS-RGQ Kit lineáris tartománya (plazma). A lineáris tartomány kiszámítása. Az egyenes vonal meghatározása a \log_{10} számított koncentráció \log_{10} névleges koncentrációval történő lineáris regressziójával történt. A regressziós vonal egyenlete szerepel az ábrán.

Megbízhatóság – plazma

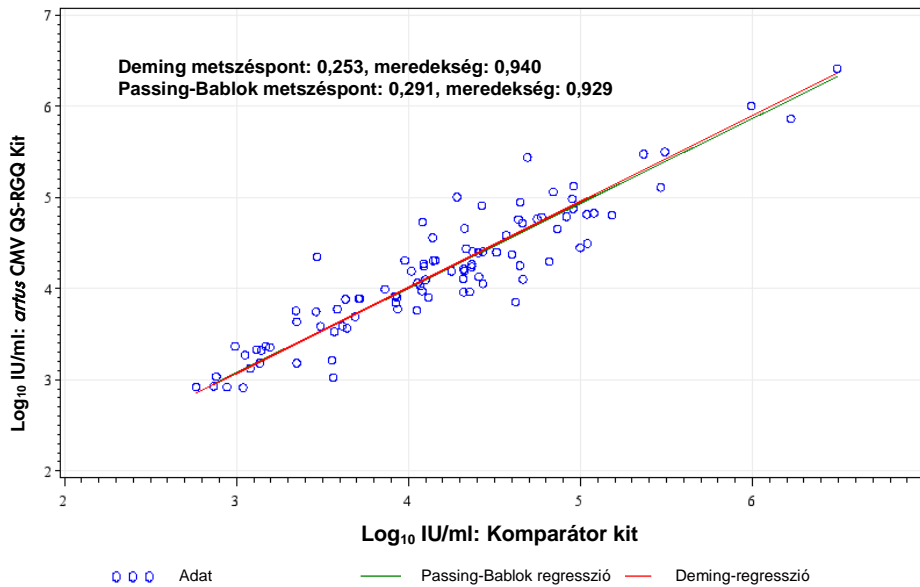
A megbízhatóság verifikálása lehetővé teszi az *artus* CMV QS-RGQ Kit teljes hibaarányának meghatározását. A megbízhatóság igazolására 100 CMV-negatív plazmamintába 130 kópia/ml koncentrációjú CMV-t töltöttek (ez az LOD koncentráció hozzávetőleg háromszorosa). A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és a Cellfree1000_DSP plazma protokoll kombinált alkalmazásával végzett extrakciót követően (extrakciós térfogat: 1 ml, elúciós térfogat: 60 µl), a minták elemzését *artus* CMV QS-RGQ Kit segítségével végezték el. Emellett a belső kontroll megbízhatóságát 100 preparált plazmaminta tisztításával és vizsgálatával mérték fel. Nem volt gátlás megfigyelhető. Ezek alapján az *artus* CMV QS-RGQ Kit megbízhatósága $\geq 99\%$.

Zavaró anyagok – plazma

Négy endogén anyaggal (bilirubin, hemoglobin, triglicerid és albumin fehérje) kapcsolatban állapították meg, hogy emelkedett koncentrációban potenciális zavaró anyagként viselkedhetnek az EDTA-s plazmamintákban. Ezek hatását a LOD érték hozzávetőleg tízszeresének megfelelő CMV-t (425 kópia/ml) tartalmazó plazmában értékelték ki. Kontrollként zavaró anyag hozzáadása nélküli CMV-vel preparált plazmaminták szerepeltek. A zavaró anyagokat tartalmazó és ezeket nem tartalmazó összes mintát 4 párhuzamosban vizsgálták a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és Cellfree1000 protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 1 ml, elúciós térfogat: 60 µl). Az emelt mennyiségű endogén gátlóanyagot (30 mg/dl bilirubin, 2 g/dl hemoglobin, 1 g/dl triglicerid, illetve 6 g/dl albumin fehérje) tartalmazó minták esetén nem volt a CMV-kimutatását zavaró hatás kimutatható.

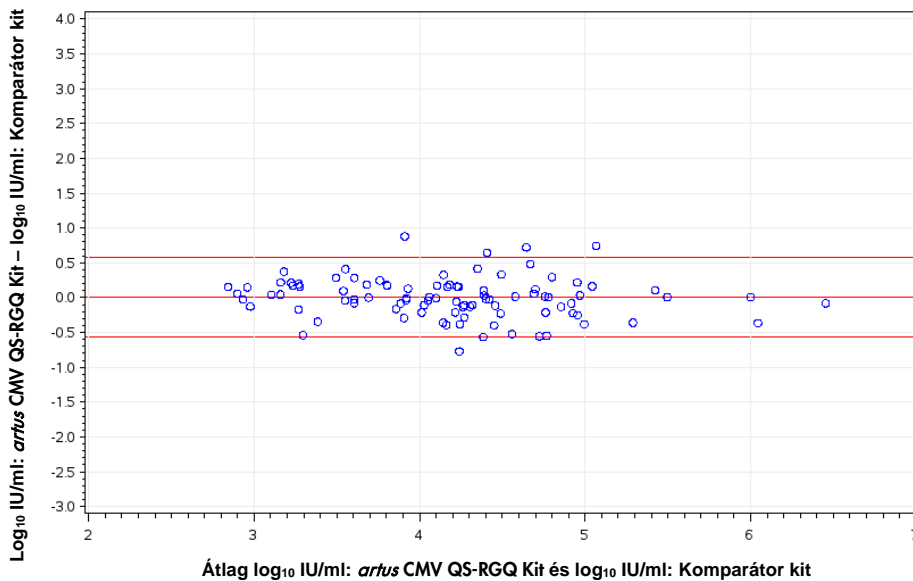
Klinikai értékelés – plazma

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit klinikai teljesítményét klinikai minták vizsgálatával és az eredmények összehasonlító módszerrel szembeni elemzésével értékelték ki. CMV-fertőzött betegektől gyűjtött, illetve az első WHO CMV-standard alkalmazásával mesterségesen előállított, továbbá negatív kontrolloktól származó, összesen 174 EDTA-s csőben lévő plazmamintát teszteltek az *artus* CMV QS-RGQ Kit segítségével és egy külső helyszínen végzett összehasonlításra alkalmas módszerrel. A két kit közti minőségi egyezés 100% volt. Deming és Passing-Bablok regressziós analízist végeztek úgy, hogy a QIAGEN kittel kapott vizsgálati eredmény volt az y-tengelyen és a komparátorral kapott vizsgálati eredmény az x-tengelyen (lásd 3. ábra). A QIAGEN kit és a komparátor kit közötti \log_{10} -ban (IU/ml) kifejezett becslült különbség az orvosi döntési ponton (1000 IU/ml) 0,074 \log_{10} IU/ml volt a Deming-regresszióból kalkulálva.



3. ábra: Regressziós függvény Passing-Bablok és Deming vonalakkal (plazma). Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke (lower limit of quantification, LLOQ) és a kvantifikáció felső határértéke (upper limit of quantification, ULOQ) között lévő minták szerepeltek az elemzésben.

A számított log₁₀ (IU/ml) közötti különbség vizsgálatára Bland-Altman-féle ábrát készítettek. Kiszámolták továbbá az átlagos log₁₀ (IU/ml) különbséget és a hozzá tartozó 95%-os tartományt, és ezt ráfektették a függvényre (lásd 4. ábra).



4. ábra: Bland-Altman-féle ábra (plazma). A vízszintes referenciavonalak 0,00, –0,57 és 0,58 értéknél helyezkednek el, és az átlagos különbséget (log₁₀ IU/ml: artus CMV QS-RGQ Kit – log₁₀ IU/ml: komparátor kit), valamint a hozzá tartozó 95%-os predikciós intervallumot jelölik. Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke és a kvantifikáció felső határértéke között lévő minták szerepeltek az elemzésben.

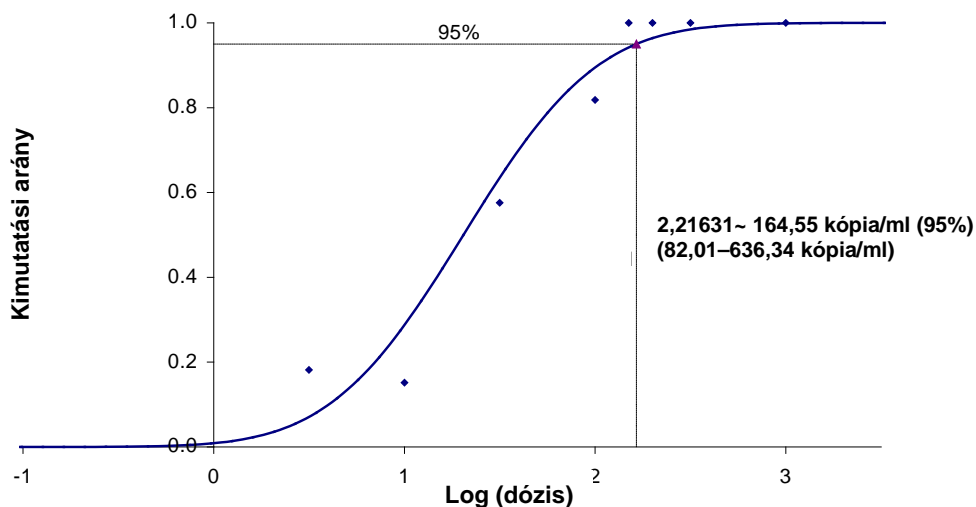
Kimutatási határ – teljes vér

A tisztítást (érzékenységi határ) is figyelembe vevő LOD-t *artus* CMV QS-RGQ Kit esetén CMV-pozitív klinikai minták és a QIASymphony SP készüléken végzett extrakció kombinációjával mérték fel.

Teljes vér esetén az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határának meghatározásához a CMV vírus olyan hígítási sorát készítettek el, amely 1000 és névleges 3,16 kópia/ml közötti koncentrációjú anyag humán teljes vérhez való hozzáadásával készült.

Ezekből a QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával DNS-extrakciót végeztek (extrakciós térfogat: 200 µl, elúciós térfogat: 60 µl). Mind a 8 hígítást az *artus* CMV QS-RGQ Kit segítségével, 3 különböző napon, 6 futtatásban 11 párhuzamos mintával elemezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határozták meg.

A probit-elemzés grafikai megjelenítése az 5. ábrán található. Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa Rotor-Gene Q készülékkel 164,55 kópia/ml ($p = 0,05$). Ez azt jelenti, hogy 164,55 kópia/ml (122,59 IU/ml-nek felel meg) esetén 95%-os a detektálás valószínűsége.



5. ábra: Probit-elemzés: teljes vér, CMV (Rotor-Gene Q). Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa (teljes vér, a QIASymphony DSP Mini Kit alkalmazásával) Rotor-Gene Q készüléken.

Specifititás – teljes vér

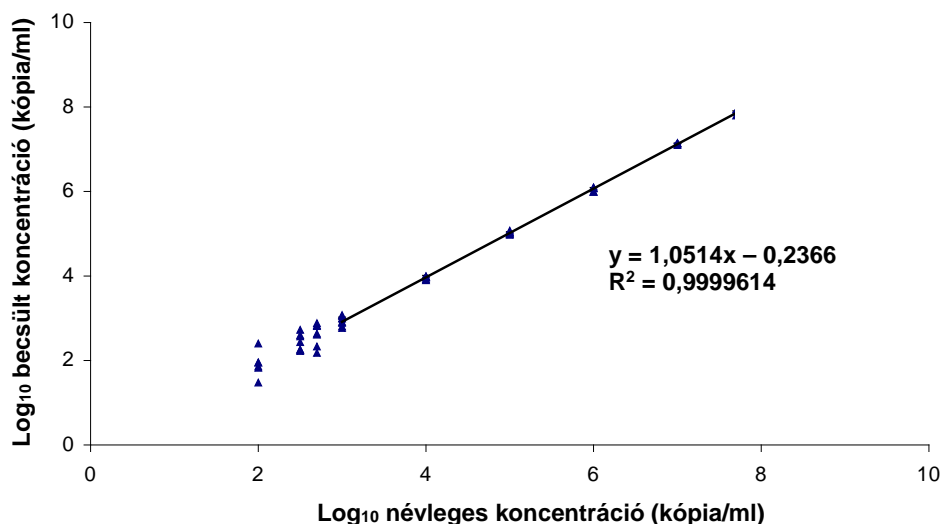
Az *artus* CMV QS-RGQ Kit specifititása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák a lehetséges homológiákra ellenőrzésre kerültek szekvencia-összehasonlítási elemzéssel minden génbankokban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns genotípus detektálhatósága ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifititást 100 különböző CMV-negatív szérummintán is validálták. Ezek nem adtak jelet a CMV RG Master CMV-specifikus primereivel és próbáival.

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit lehetséges keresztreaktivitása az 1. táblázatban (lásd 3. oldal) található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást. Kevert fertőzések esetén nem fordult elő keresztreaktivitás.

Lineáris tartomány – teljes vér

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát a CMV vírusanyag $5,00 \times 10^7$ és $1,00 \times 10^2$ közötti hígítási sorozatának elemzésével határozták meg a teljes vérben. A tisztítást párhuzamos mintákon végezték el ($a \geq 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk mindegyike esetében $n = 4$; $a < 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk mindegyike esetében $n = 8$) a QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 200 μ l, elúciós térfogat: 60 μ l). Mindegyik minta elemzését *artus* CMV QS-RGQ Kit alkalmazásával végezték el. Az *artus* CMV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát úgy határozták meg, hogy magában foglalja a $1,00 \times 10^3$ és $5,00 \times 10^7$ kópia/ml közötti teljes vérben mért koncentrációkat ($7,45 \times 10^2$ és $3,73 \times 10^7$ IU/ml közötti tartománynak felel meg) (6. ábra).



6. ábra: Az *artus* CMV QS-RGQ Kit lineáris tartománya (teljes vér). A lineáris tartomány kiszámítása. Az egyenes vonal meghatározása a log₁₀ számított koncentráció log₁₀ névleges koncentrációval történő lineáris regressziójával történt. A regressziós vonal egyenlete szerepel az ábrán.

Megbízhatóság – teljes vér

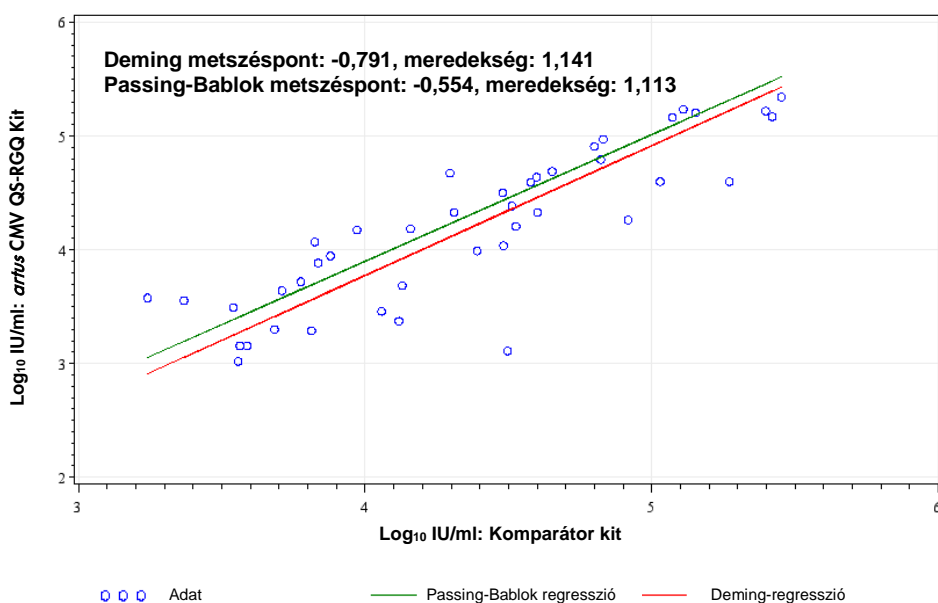
A megbízhatóság verifikálása lehetővé teszi az *artus* CMV QS-RGQ Kit teljes hibaarányának meghatározását. A megbízhatóság igazolására 100 CMV-negatív teljesvér-mintát 500 kópia/ml koncentrációjú CMV-vel preparálták (ez az LOD koncentráció hozzávetőleg háromszorosa). A QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP teljes vér protokoll kombinációjával végzett extrakciót követően ezeket a mintákat *artus* CMV QS-RGQ Kit segítségével elemezték. Emellett a belső kontroll megbízhatóságát 100 preparált teljes vérminta tisztításával és vizsgálatával mérték fel. Nem volt gátlás megfigyelhető. Ezek alapján az *artus* CMV QS-RGQ Kit megbízhatósága $\geq 99\%$.

Zavaró anyagok – teljes vér

Három endogén anyaggal (bilirubin, triglicerid és gDNS) kapcsolatban állapították meg, hogy emelkedett koncentrációban potenciális zavaró anyagként viselkedhetnek az EDTA-s teljesvérmintákban. Ezek hatását a LOD érték hozzávetőleg tízszeresének megfelelő CMV-t (1650 kópia/ml) tartalmazó teljes vérben értékelték ki. Kontrollként zavaró anyag hozzáadása nélküli CMV-vel preparált teljes vérminták szerepeltek. A zavaró anyagokat tartalmazó és ezeket nem tartalmazó összes mintát 4 párhuzamosban vizsgálták a QIASymphony DNA Mini Kit és VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 0,2 ml, elúciós térfogat: 60 μ l). Az emelt mennyiségű endogén gátlóanyagot (30 mg/dl bilirubin, 1 g/dl triglicerid, illetve legfeljebb 3 μ g/minta gDNS) tartalmazó minták esetén nem volt a CMV-detektálást zavaró hatás kimutatható.

Klinikai értékelés – teljes vér

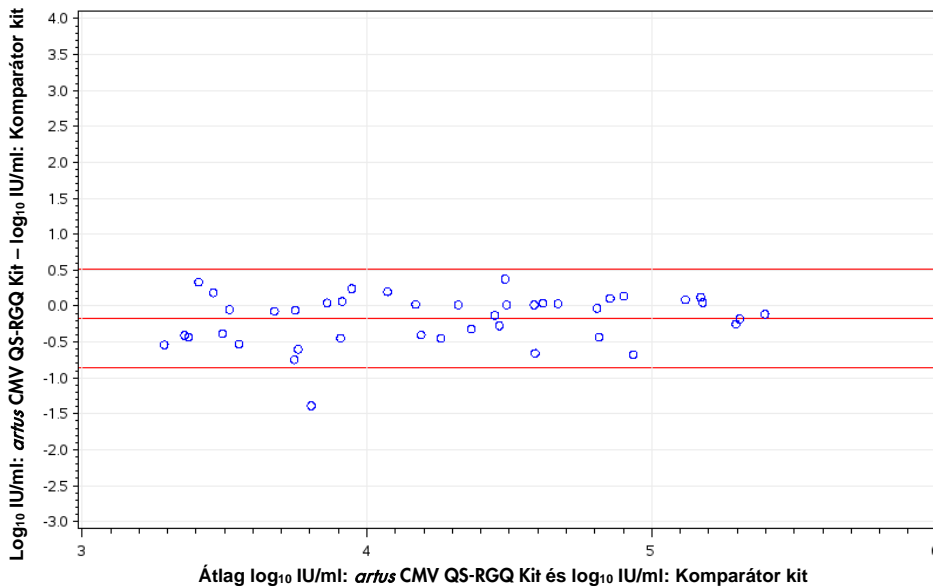
Az *artus* CMV QS-RGQ Kit klinikai teljesítményét klinikai minták vizsgálatával és az eredmények összehasonlító módszerrel szembeni elemzésével értékelték ki. CMV-fertőzött betegektől gyűjtött, valamint negatív kontrolloktól származó, összesen 115 klinikai teljesvér-mintát teszteltek az *artus* CMV QS-RGQ Kit segítségével és egy külső helyszínen végzett összehasonlításra alkalmas módszerrel. Deming és Passing-Bablok regressziós analízist végeztek úgy, hogy a QIAGEN kittel kapott vizsgálati eredmény volt az y-tengelyen és a komparátorral kapott vizsgálati eredmény az x-tengelyen (lásd 7. ábra).



7. ábra: Regressziós függvény Passing-Bablok és Deming vonalakkal (teljes vér). Csak klinikai minták szerepeltek az elemzésben. Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke (lower limit of quantification, LLOQ) és a kvantifikáció felső határértéke (upper limit of quantification, ULOQ) között lévő minták szerepeltek az elemzésben.

A számított log₁₀ (IU/ml) közötti különbség vizsgálatára Bland-Altman-féle ábrát készítettek. Kiszámolták továbbá az átlagos log₁₀ (IU/ml) különbséget és a hozzá tartozó 95%-os tartományt, és ezt ráfektették a függvényre (lásd 8. ábra).

A QIAGEN kit és a komparátor kit log₁₀ (IU/ml) értéke közötti átlagos különbség 0,18 log₁₀ IU/ml volt. A két kit közti minőségi egyezés 100% volt.



8. ábra: Bland-Altman-féle ábra (teljes vér). A vízszintes referenciavonalak $-0,18$, $-0,86$ és $0,51$ értéknél helyezkednek el, és az átlagos különbséget (\log_{10} IU/ml: *artus* CMV QS-RGQ Kit – \log_{10} IU/ml: komparátor kit), valamint a hozzá tartozó 95%-os predikciós intervallumot jelölik. Csak klinikai minták szerepeltek az elemzésben. Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke és a kvantifikáció felső határértéke között lévő minták szerepeltek az elemzésben.

Pontosság

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit pontossági adatai teszik lehetővé a vizsgálat teljes variációjának meghatározását. A teljes variabilitás három összetevője: a vizsgálaton belüli variabilitás (azonos koncentrációjú minták egy kísérletben mért eredményeinek variabilitása), vizsgálatok közötti variabilitás (egy laboratóriumon belül különböző, de azonos típusú készüléken, több kezelő által végzett vizsgálatok eredményeinek variabilitása) és a gyártási tételek közötti variabilitás (különböző gyártási tételek felhasználásával végzett vizsgálatok eredményeinek variabilitása). A mért adatok alapján meghatározásra került a patogén-specifikus, illetve a kontroll PCR eredmények szórása, variációjának és variációs koefficiense.

Az *artus* CMV QS-RGQ Kit analitikai pontossági adatait (a tisztítás figyelembe vétele nélkül) a legkisebb koncentrációjú kvantifikációs standarddal (QS 4;10 kópia/ μ l) határozták meg. A vizsgálatot 8 párhuzamos mintával végezték. A pontossági adatokat az amplifikációs görbe C_T -értéke alapján határozták meg (C_T : küszöbciklus, lásd 2. táblázat, 12. oldal). Emellett a kvantitatív eredmények pontossági adatai (kópia/ μ l) a megfelelő C_T -értékek alapján lettek meghatározva (lásd 3. táblázat, 12. oldal).

Ezen eredmények alapján a bármely, a fenti koncentrációjú adott minta átlagos statisztikai eloszlása 1,21% (C_T) vagy 14,38% (koncentráció), míg a belső kontroll esetében 1,93% (C_T). Ezen értékek a meghatározott variabilitás minden egyes értékén alapszanak.

2. táblázat: Pontossági adatok a C_T -értékek alapján

	Szórás	Variancia	Variációs koefficiens (%)
Vizsgálaton belüli variabilitás: CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Vizsgálaton belüli variabilitás: Belső kontroll	0,31	0,10	1,16
Vizsgálatok közötti variabilitás: CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Vizsgálatok közötti variabilitás: Belső kontroll	0,47	0,22	1,77
Gyártási tételek közötti variabilitás: CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Gyártási tételek közötti variabilitás: Belső kontroll	0,53	0,28	2,02
Teljes variancia: CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Teljes variancia: Belső kontroll	0,51	0,26	1,93

3. táblázat: Pontossági adatok a kvantitatív értékek alapján (kópia/ μ l)

	Szórás	Variancia	Variációs koefficiens (%)
Vizsgálaton belüli variabilitás: CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Vizsgálatok közötti variabilitás: CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Gyártási tételek közötti variabilitás: CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Teljes variancia: CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

Reprodukálhatóság

A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus* CMV QS-RGQ Kit teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint a más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok laboratóriumi szakmai alkalmassági programokban történő részvételből származnak.

Keresztszennyeződés

A minták közötti keresztszennyeződés hiányát a teljes munkafolyamatban úgy igazolták, hogy az összes ismert pozitív és negatív mintát váltakozó pozíciókba helyezték (sakkötő-elrendezés), és a megfelelő *artus* QS-RGQ rendszer az összeset helyesen határozta meg.

A kapcsolódó termékek és rendelési információk felsorolása az *artus* CMV QS-RGQ Kit kézikönyvében található.

Dokumentum átdolgozási előzményei

R4, 2018. február	Az „analitikai érzékenység” helyett „kimutatási határ” (limit of detection) vagy „LOD” szerepel; A „zavaró anyagokra” vonatkozó tájékoztatás beemelése; az értékek feltüntetése IU/ml egységben is (az addigi kópia/ml mellett) az egyes alkalmazási lapokban szereplő, az átváltási faktorra vonatkozó információk alapján.
-------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN csoport).

A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelem kivül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel. 02/2018 HB-0356-D01-004.
© 2012–2018 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com
