

Février 2018

# artus<sup>®</sup> CMV QS-RGQ Kit :

## Caractéristiques de performance

R4

IVD

CE  
0197

REF

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

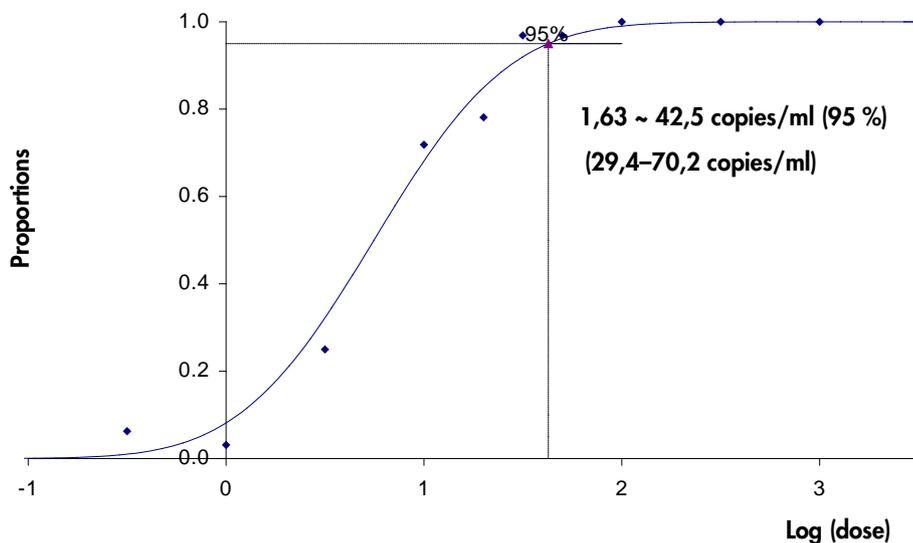


Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse [www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artuscmvprkitce.aspx) avant de procéder à la réalisation des tests.

## Limite de détection – plasma

La limite de détection (limite de détection, LoD) du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification (limite de sensibilité) a été évaluée à partir d'échantillons cliniques positifs au CMV associés à l'extraction sur QIAAsymphony® SP.

Pour le plasma, la LoD du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée par le biais d'une série de dilutions de matière virologique de CMV de 1000 à 0,316 copies nominales de CMV/ml étudiée à partir d'échantillons cliniques de plasma. Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000\_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 µl). Chacune des 10 dilutions a été analysée avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit sur 4 jours différents en 4 cycles comprenant 8 réplicats chacun. Le résultat a été déterminé par analyse probit. Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée sur la figure 1. La LoD du *artus* CMV QS-RGQ Kit associé à Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 42,5 copies/ml ( $p = 0,05$ ). Cela signifie que la probabilité de détecter 42,5 copies/ml (soit 69,7 UI/ml) est de 95 %.



**Figure 1. Analyse probit : plasma, CMV (Rotor-Gene Q).** Limite de détection du *artus* CMV QS- RGQ Kit sur Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification (plasma, au moyen du QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit).

---

## Spécificité – plasma

La spécificité du *artus* CMV QS-RGQ Kit est garantie en premier lieu par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction les plus strictes. Une analyse par comparaison de séquences des amorces et des sondes a été effectuée afin de rechercher d'éventuelles homologues avec toutes les séquences représentées dans les banques génétiques. De cette façon, la détectabilité de tous les génotypes importants a également été garantie.

De plus, la spécificité a été validée avec 100 échantillons différents de plasma négatif pour le CMV. Ceux-ci n'ont généré aucun signal avec les amorces et les sondes spécifiques au CMV intégrées au CMV RG Master.

Pour déterminer la spécificité du *artus* CMV QS-RGQ Kit, le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 (voir ci-dessous) a été analysé pour rechercher une éventuelle réaction croisée. Aucun des agents pathogènes testés n'a été positif. Aucune incidence de réactivité croisée n'a été observée avec les infections mixtes.

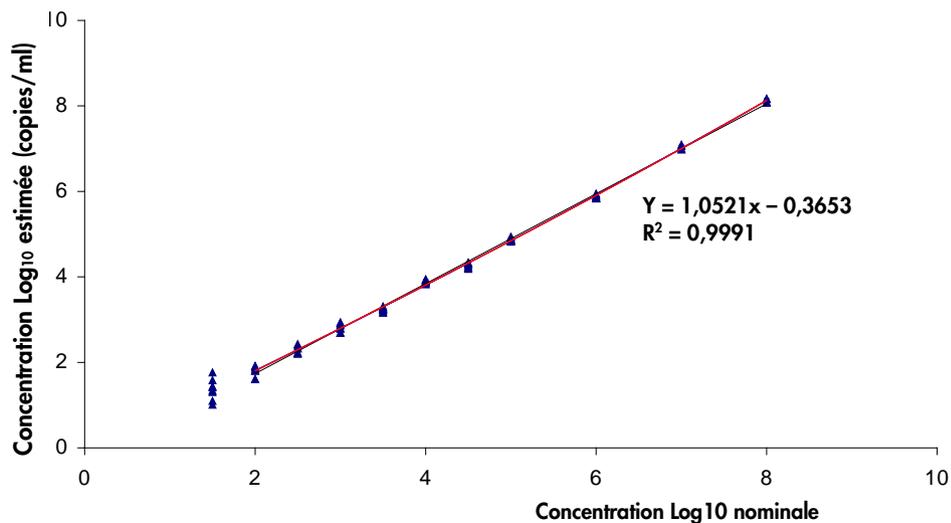
**Tableau 1. Test de spécificité du kit avec un pathogène éventuellement apte à une réaction croisée**

Groupe de contrôle	CMV (Cycling Green)	Contrôle interne (Cycling Yellow)
Herpèsvirus humain 1 (virus herpès simplex 1)	-	+
Herpèsvirus humain 2 (virus herpès simplex 2)	-	+
Herpèsvirus humain 3 (virus varicelle-zona)	-	+
Herpèsvirus humain 4 (virus d'Epstein-Barr)	-	+
Herpèsvirus humain 6 A	-	+
Herpèsvirus humain 6 B	-	+
Herpèsvirus humain 7	-	+
Herpèsvirus humain 8 (herpèsvirus associé au sarcome de Kaposi)	-	+
Virus de l'hépatite A	-	+
Virus de l'hépatite B	-	+
Virus de l'hépatite C	-	+
Virus de l'immunodéficience humaine 1	-	+
Virus humain de la leucémie à cellules T 1	-	+
Virus humain de la leucémie à cellules T 2	-	+
Virus du Nil occidental	-	+
Entérovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+

## Plage linéaire — plasma

La plage linéaire du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière de virus CMV allant de  $1,00 \times 10^8$  copies/ml à  $3,16 \times 10^1$  copies/ml dans le plasma. La purification a été effectuée par réplicats ( $n = 4$  chacun pour les concentrations  $\geq 1,00 \times 10^7$  copies/ml ;  $n = 8$  chacun pour les concentrations  $< 1,00 \times 10^7$  copies/ml) au moyen du QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000\_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60  $\mu$ l). Chaque échantillon a été analysé avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit. La plage linéaire du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre  $7,94 \times$

10<sup>1</sup> copies/ml et 1,00 x 10<sup>8</sup> copies/ml (soit 1,30 x 10<sup>2</sup> à 1,64 x 10<sup>8</sup> UI/ml) pour le plasma (figure 2).



**Figure 2. Plage linéaire du artus CMV QS-RGQ Kit (plasma).** Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations log<sub>10</sub> calculées avec les concentrations log<sub>10</sub> nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

## Fiabilité – plasma

La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total du artus CMV QS-RGQ Kit. Pour vérifier la fiabilité, 100 échantillons de plasma négatifs au CMV ont été inoculés avec 130 copies/ml de CMV (environ 3 fois la concentration de la LoD). Après extraction avec le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000\_DSP pour le plasma (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 µl), ces échantillons ont été analysés avec le artus CMV QS-RGQ Kit. En outre, la fiabilité du contrôle interne a été évaluée par purification et analyse des 100 échantillons de plasma étudiés. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du artus CMV QS-RGQ Kit est donc de ≥ 99 %.

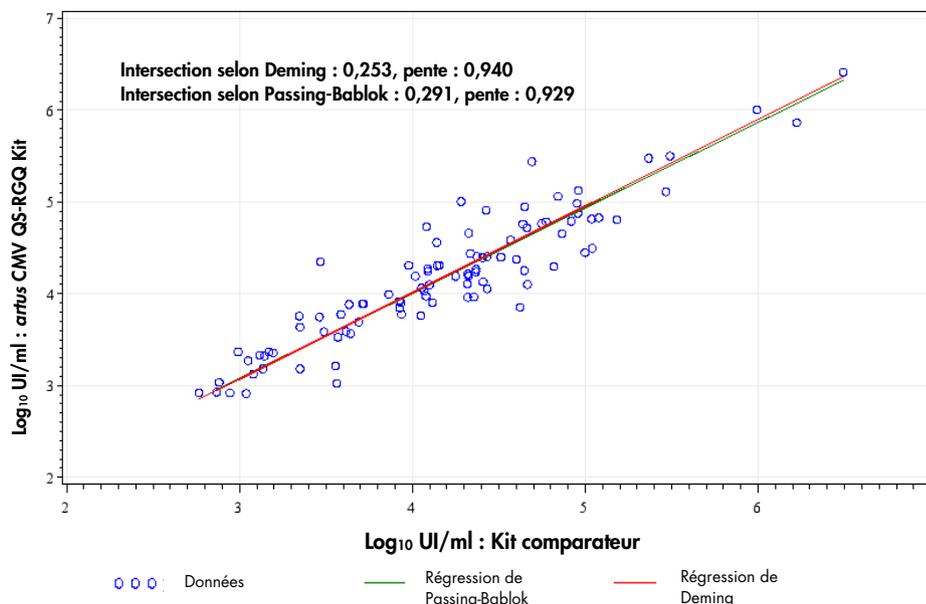
## Substances interférentes – plasma

Quatre substances endogènes (bilirubine, hémoglobine, triglycérides et protéine d'albumine) en concentration élevée ont été identifiées comme éventuelles substances interférentes dans les échantillons d'EDTA-plasma. Leurs effets ont été évalués dans du plasma contenant du CMV en quantité représentant environ 10 fois la valeur de LoD (425 copies/ml). À titre de contrôle, des

échantillons de plasma inoculés avec du CMV et exempts de substances interférentes ont été ajoutés. Tous les échantillons, avec ou sans substances interférentes, ont été analysés en 4 réplicats en utilisant le QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000 (volume d'extraction : 1 ml, volume d'éluion : 60 µl). Pour les échantillons contenant des niveaux élevés d'inhibiteurs endogènes (bilirubine 30 mg/dl, hémoglobine 2 g/dl, triglycérides 1 g/dl et protéine d'albumine 6 g/dl), aucune interférence n'a été observée dans la détection du CMV.

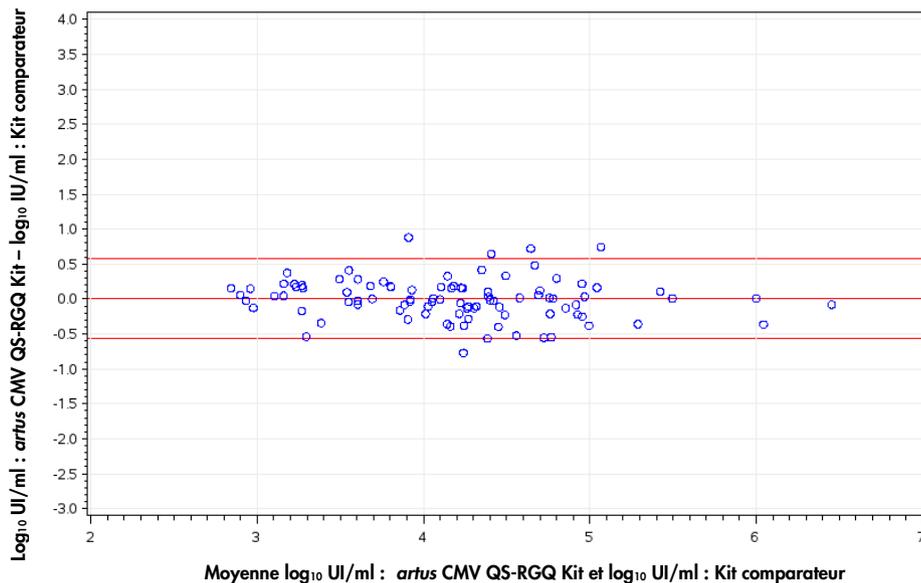
## Évaluation clinique – plasma

La performance clinique du *artus* CMV QS-RGQ Kit a été évaluée en testant des échantillons cliniques et en analysant les résultats par comparaison avec ceux obtenus selon un procédé comparable. Au total, 174 échantillons de plasma prélevés dans des tubes EDTA provenant de patients infectés par le CMV ou préparés artificiellement en utilisant la première norme spécifique au CMV de l'OMS, et provenant de contrôles négatifs ont été testés avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit et un procédé comparable sur un site externe. La concordance qualitative des deux kits était de 100 %. Une analyse de régression selon Deming et Passing-Bablok a été réalisée en portant le résultat d'essai du kit QIAGEN sur l'axe Y et le résultat du test comparateur sur l'axe X (voir la figure 3). La différence estimée du  $\log_{10}$  (UI/ml) au niveau du point de décision médicale (1 000 UI/ml) entre le kit QIAGEN et le kit comparateur était de 0,074  $\log_{10}$  UI/ml, selon le calcul obtenu avec la régression de Deming.



**Figure 3. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming (plasma).** Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure (LLOQ) et la limite de quantification supérieure (ULOQ) pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

Une représentation de Bland-Altman a été tracée pour étudier la différence du  $\log_{10}(\text{UI/ml})$  calculé. En outre, la différence de  $\log_{10}(\text{UI/ml})$  moyenne et sa plage correspondante à 95 % a été calculée et superposée au tracé (voir la figure 4).



**Figure 4. Tracé selon Bland-Altman (plasma).** Les lignes de référence horizontales sont aux valeurs 0,00, -0,57 et 0,58 et indiquent la différence moyenne ( $\log_{10} \text{UI/ml} : \text{artus CMV QS-RGQ Kit} - \log_{10} \text{IU/ml} : \text{kit comparateur}$ ) et son intervalle de prédiction à 95 % correspondant. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

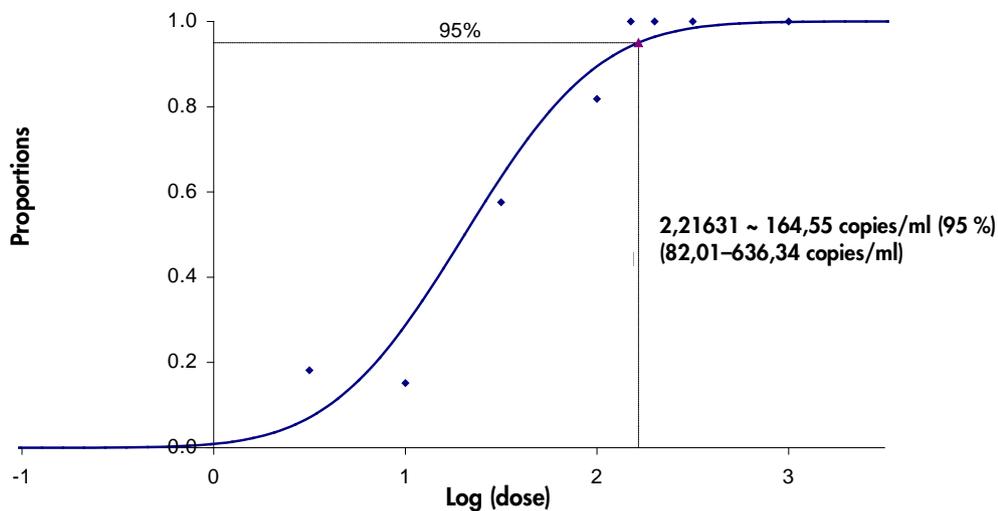
## Limite de détection – sang total

La LoD du *artus CMV QS-RGQ Kit* tenant compte de la purification (limite de sensibilité) a été évaluée à partir d'échantillons cliniques positifs au CMV associés à l'extraction sur QIASymphony SP.

Pour le sang total, la sensibilité analytique du *artus CMV QS-RGQ Kit* tenant compte de la purification a été déterminée par le biais d'une série de dilutions de matière virologique de CMV de 1 000 à 3,16 copies nominales de CMV/ml étudiée à partir d'échantillons de sang total humain.

Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du QIASymphony DNA Mini Kit associé au protocole VirusBlood200\_DSP (volume d'extraction : 200  $\mu\text{l}$ , volume d'élution : 60  $\mu\text{l}$ ). Chacune des 8 dilutions a été analysée avec le *artus CMV QS-RGQ Kit* sur 3 jours différents en 6 cycles comprenant 11 réplicats chacun. Le résultat a été déterminé par analyse probit.

Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée sur la figure 5. La LoD du *artus* CMV QS-RGQ Kit associé à Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 164,55 copies/ml ( $p = 0,05$ ). Cela signifie que la probabilité de détecter 164,55 copies/ml (soit 122,59 UI/ml) est de 95 %.



**Figure 5. Analyse probit : sang total, CMV (Rotor-Gene Q).** Limite de détection du *artus* CMV QS-RGQ Kit sur Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification (sang total, avec le QIASymphony DNA Mini Kit).

## Spécificité – sang total

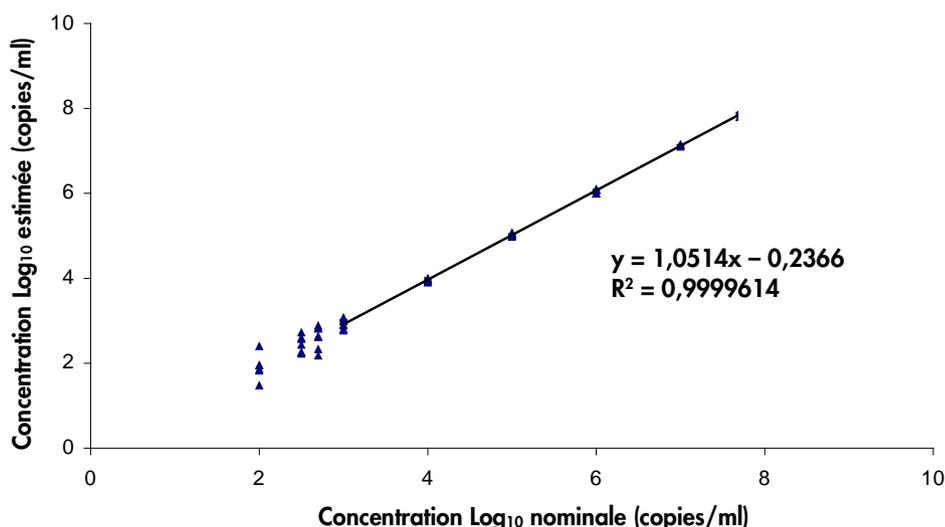
La spécificité du *artus* CMV QS-RGQ Kit est garantie en premier lieu par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction les plus strictes. Une analyse par comparaison de séquences des amorces et des sondes a été effectuée afin de rechercher d'éventuelles homologues avec toutes les séquences représentées dans les banques génétiques. De cette façon, la détectabilité de tous les géotypes importants a également été garantie.

De plus, la spécificité a été validée avec 100 échantillons différents de sang total négatif au CMV. Ceux-ci n'ont généré aucun signal avec les amorces et les sondes spécifiques au CMV intégrées au CMV RG Master.

Pour déterminer la spécificité du *artus* CMV QS-RGQ Kit, le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 ci-dessous a été analysé pour rechercher une éventuelle réaction croisée (voir page 4). Aucun des agents pathogènes testés n'a été positif. Aucune incidence de réactivité croisée n'a été observée avec les infections mixtes.

## Plage linéaire – sang total

La plage linéaire du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière virologique de CMV allant de  $5,00 \times 10^7$  à  $1,00 \times 10^2$  dans le sang total. La purification a été effectuée par réplicats ( $n = 4$  pour les concentrations  $\geq 1,00 \times 10^7$  copies/ml ;  $n = 8$  pour les concentrations  $< 1,00 \times 10^7$  copies/ml) au moyen du QIASymphony DNA Mini Kit associé au protocole VirusBlood200\_DSP (volume d'extraction : 200  $\mu$ l, volume d'élution : 60  $\mu$ l). Chaque échantillon a été analysé avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit. La plage linéaire du *artus* CMV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre  $1,00 \times 10^3$  copies/ml et  $5,00 \times 10^7$  copies/ml (soit  $7,45 \times 10^2$  à  $3,73 \times 10^7$  UI/ml) pour le sang total (figure 6).



**Figure 6. Plage linéaire du *artus* CMV QS-RGQ Kit (sang total).** Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations log<sub>10</sub> calculées avec les concentrations log<sub>10</sub> nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

## Fiabilité – sang total

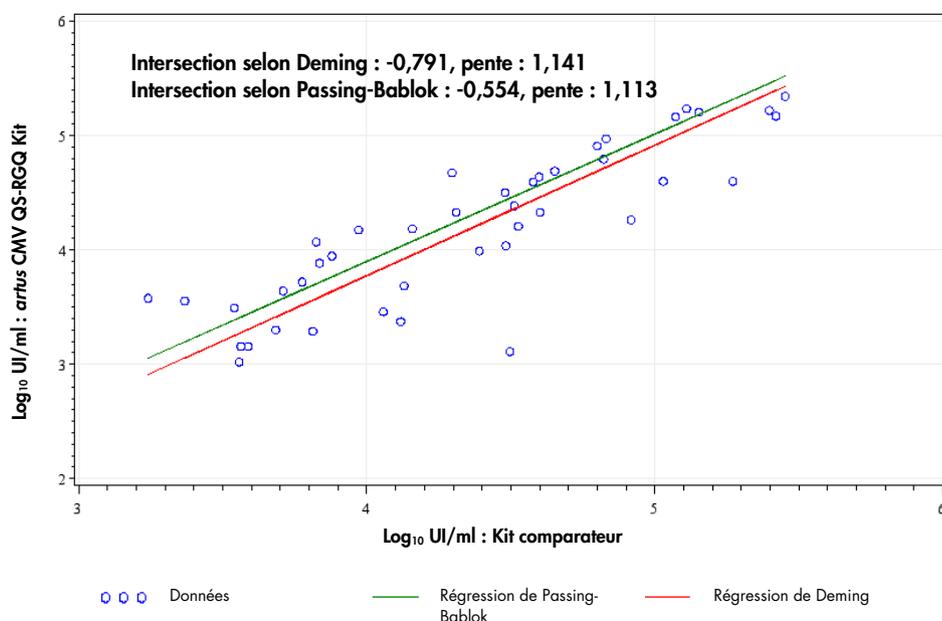
La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total du *artus* CMV QS-RGQ Kit. Pour vérifier la fiabilité, 100 échantillons de sang total négatifs au CMV ont été inoculés avec 500 copies/ml de CMV (environ 3 fois la concentration de la LoD). Après extraction avec le QIASymphony DNA Mini Kit associé au protocole VirusBlood200\_DSP pour le sang total, ces échantillons ont été analysés avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit. En outre, la fiabilité du contrôle interne a été évaluée par purification et analyse des 100 échantillons de sang total étudiés. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du *artus* CMV QS-RGQ Kit est donc de  $\geq 99$  %.

## Substances interférentes — sang total

Trois substances endogènes (bilirubine, triglycérides et ADNg) en concentration élevée ont été identifiées comme éventuelles substances interférentes dans les échantillons d'EDTA-sang total. Leurs effets ont été évalués dans du sang total contenant du CMV en quantité représentant environ 10 fois la valeur de LoD (1 650 copies/ml). À titre de contrôle, des échantillons de sang total inoculés avec du CMV et exempts de substances interférentes ont été ajoutés. Tous les échantillons, avec ou sans substances interférentes, ont été analysés en 4 réplicats en utilisant le QIASymphony DNA Mini Kit associé au protocole VirusBlood200\_DSP (volume d'extraction : 0,2 ml, volume d'éluion : 60 µl). Pour les échantillons contenant des niveaux élevés d'inhibiteurs endogènes (bilirubine 30 mg/dl, triglycérides 1 g/dl et ADNg jusqu'à 3 µg/échantillon), aucune interférence n'a été observée dans la détection du CMV.

## Évaluation clinique — sang total

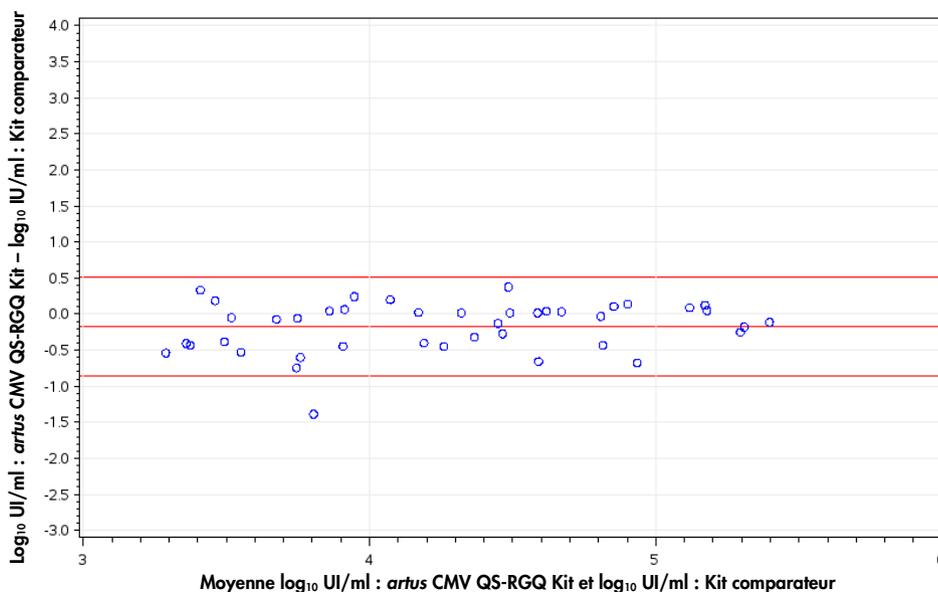
La performance clinique du *artus* CMV QS-RGQ Kit a été évaluée en testant des échantillons cliniques et en analysant les résultats par comparaison avec ceux obtenus selon un procédé comparable. Au total, 115 échantillons cliniques de sang total provenant de patients infectés par le CMV et de contrôles négatifs ont été testés avec le *artus* CMV QS-RGQ Kit et avec un procédé comparable sur un site externe. Une analyse de régression selon Deming et Passing-Bablok a été réalisée en portant le résultat d'essai du kit QIAGEN sur l'axe Y et le résultat du test comparateur sur l'axe X (voir la figure 7).



**Figure 7. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming (sang total).** Seuls des échantillons cliniques ont été inclus dans l'analyse. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure (lower limit of quantification, LLOQ) et la limite de quantification supérieure (upper limit of quantification, ULOQ) pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

Une représentation de Bland-Altman a été tracée pour étudier la différence du  $\log_{10}(\text{UI/ml})$  calculé. En outre, la différence de  $\log_{10}(\text{UI/ml})$  moyenne et sa plage correspondante à 95 % a été calculée et superposée au tracé (voir la figure 8).

La différence moyenne du  $\log_{10}(\text{UI/ml})$  entre le kit QIAGEN et le kit comparateur était de 0,18  $\log_{10} \text{UI/ml}$ . La concordance qualitative des deux kits était de 100 %.



**Figure 8. Tracé selon Bland-Altman (sang total).** Les lignes de référence horizontales sont aux valeurs -0,18, -0,86 et 0,51 et indiquent la différence moyenne ( $\log_{10} \text{UI/ml}$  : artus CMV QS-RGQ Kit –  $\log_{10} \text{UI/ml}$  : kit comparateur) et son intervalle de prédiction à 95 % correspondant. Seuls des échantillons cliniques ont été inclus dans l'analyse. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

## Précision

Les données de précision du artus CMV QS-RGQ Kit permettent de déterminer la variance totale du système. Cette variance totale est composée de la variabilité intra-essai (variabilité des résultats obtenus avec des échantillons de même concentration au sein du même essai), de la variabilité inter-essai (variabilité des résultats générés par différents appareils de même type utilisés par différentes personnes à l'intérieur d'un laboratoire) et la variabilité inter-lot (variabilité des différents lots utilisés). Les données obtenues ont été utilisées pour déterminer l'écart-type, la variance et le coefficient de variation aussi bien pour la PCR spécifique du pathogène que pour la PCR du contrôle interne.

Les données de précision analytiques du *artus* CMV QS-RGQ Kit (sans considération de la purification) ont été recueillies à l'aide de la norme de quantification de la concentration la plus basse (QS 4 ; 10 copies/ $\mu$ l). Les essais ont été effectués en 8 réplicats. Les données de précision ont été calculées en se basant sur les valeurs de  $C_T$  des courbes d'amplification ( $C_T$  : cycle seuil, voir le tableau 2, page 12). En outre, les données de précision des résultats quantitatifs en copies/ $\mu$ l ont été établies à partir des valeurs  $C_T$  correspondantes (tableau 3, page 12). Sur la base de ces résultats, la variance totale d'un échantillon de concentration donnée est donc de 1,21 % ( $C_T$ ) ou de 14,38 % (concentration), et de 1,93 % ( $C_T$ ) pour la détection du contrôle interne. Ces valeurs sont basées sur l'ensemble de chacune des valeurs des variabilités déterminées.

**Tableau 2. Données de précision à partir des valeurs de  $C_T$**

	Écart-type	Variance	Coefficient de variation (%)
Variabilité intra-essai : CMV QS 4	0,17	0,03	0,57
Variabilité intra-essai : Contrôle interne	0,31	0,10	1,16
Variabilité inter-essai : CMV QS 4	0,38	0,14	1,27
Variabilité inter-essai : Contrôle interne	0,47	0,22	1,77
Variabilité inter-lot : CMV QS 4	0,33	0,11	1,10
Variabilité inter-lot : Contrôle interne	0,53	0,28	2,02
Variance totale : CMV QS 4	0,36	0,13	1,21
Variance totale : Contrôle interne	0,51	0,26	1,93

**Tableau 3. Données de précision à partir des résultats quantitatifs (en copies/ $\mu$ l)**

	Écart-type	Variance	Coefficient de variation (%)
Variabilité intra-essai : CMV QS 4	1,34	1,80	13,30
Variabilité inter-essai : CMV QS 4	1,54	2,38	15,25
Variabilité inter-lot : CMV QS 4	1,46	2,12	14,41
Variance totale : CMV QS 4	1,45	2,11	14,38

## Reproductibilité

Les données de reproductibilité sont fournies dans le but de procéder à une évaluation régulière de la performance du *artus* CMV QS-RGQ Kit et d'en comparer l'efficacité avec d'autres produits. Ces données proviennent de programmes d'étude de performance établis.

## Contamination croisée

L'absence de contamination croisée entre les échantillons sur l'ensemble du flux de travail a été prouvée par détection correcte de tous les échantillons positifs et négatifs connus en positions alternées (modèle en damier) pour un système *artus* QS-RGQ représentatif.

Les produits associés et les informations relatives aux commandes sont répertoriés dans le manuel du *artus* CMV QS-RGQ Kit.

### Historique des révisions du document

R4, février 2018	« Sensibilité analytique » changé en « limite de détection » ou « LoD » ; ajout de l'information « Substances interférentes » ; ajout des valeurs en UI/ml (en plus des données existantes en copies/ml) sur la base du facteur de conversion dans les fiches d'application respectives.
------------------	--

---

Pour obtenir des informations actualisées et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Marques déposées : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN).  
Les noms déposés, les marques commerciales, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi. 02/2018 HB-0356-D01-004.  
© 2012-2018 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistance technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web

---

---

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)