

Octobre 2015

kit *artus*[®] VZV QS- RGQ : Caractéristiques de performance

artus VZV QS-RGQ Kit, version 1

REF

4502363



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artusvzvpcrkitce.aspx avant de procéder à la réalisation des tests. L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Sensibilité analytique – LCR

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

La sensibilité analytique tenant compte de la purification déterminée par le kit *artus* VZV QS-RGQ a été définie par le biais d'une série de dilutions de matière virale du VZV de souche Ellen de 1420 à 4,5 copies nominales de VZV/ml inoculée dans des échantillons cliniques de LCR. Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini associé au protocole Cellfree200_DSP (volume d'extraction : 0,2 ml, volume d'élution : 60 µl). Chacune des 8 dilutions a été analysée avec le kit *artus* VZV QS-RGQ sur 3 jours différents en 3 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 1. La limite de détection analytique du kit *artus* VZV QS-RGQ associé à Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 80,67 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie que la probabilité de détecter 80,67 copies/ml est de 95 %.

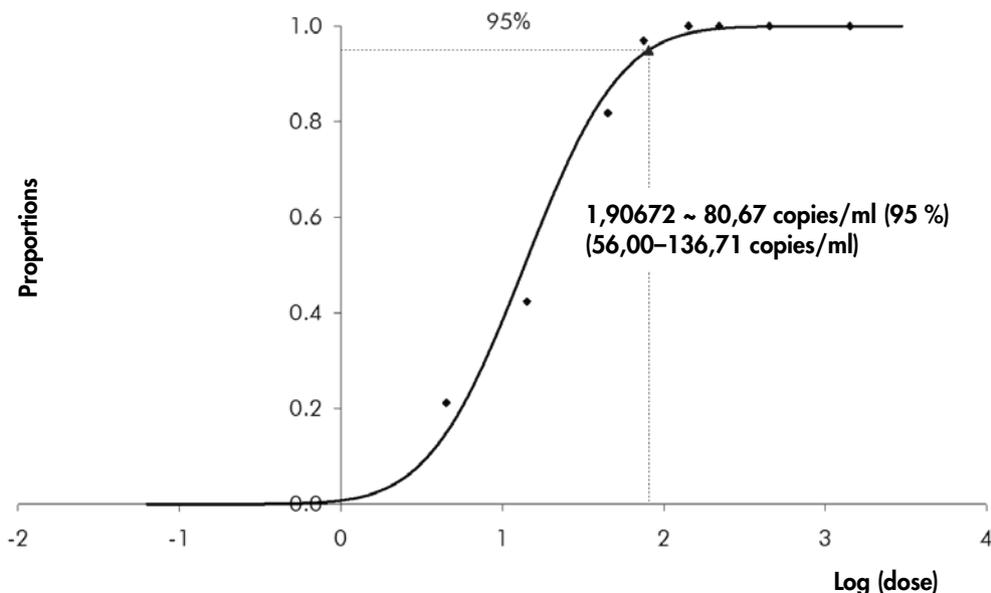


Figure 1. Analyse probit : LCR, VZV (Rotor-Gene Q). Sensibilité analytique du kit *artus* VZV QS-RGQ sur Rotor-Gene Q tenant compte de la purification (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini).

Spécificité – LCR

La spécificité du kit *artus* VZV QS-RGQ est garantie en premier lieu par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction les plus stringentes. 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 30 échantillons différents de LCR négatif au VZV. Ceux-ci n'ont généré aucun signal avec les amorces et les sondes spécifiques au VZV intégrées au VZV RG Master.

Pour déterminer la spécificité du kit *artus* VZV QS-RGQ, le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 a été analysé pour rechercher une éventuelle réaction croisée. Aucun des agents pathogènes testés n'a été positif. Aucune réactivité croisée n'est apparue avec les infections mixtes.

Tableau 1. Test de spécificité du kit avec des agents pathogènes éventuellement aptes à une réaction croisée (LCR)

Groupe contrôle	VZV (Cycling Green)	Contrôle interne (Cycling Orange)
Herpèsvirus humain 1 (virus herpès simplex 1)	-	+
Herpèsvirus humain 2 (virus herpès simplex 2)	-	+
Herpèsvirus humain 4 (virus d'Epstein-Barr)	-	+
Herpèsvirus humain 5 (cytomégalovirus)	-	+
Herpèsvirus humain 6A	-	+
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	-	+
Entérovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Virus du Nil occidental	-	+

Plage linéaire – LCR

La plage linéaire du kit *artus* VZV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière standard de la souche Ellen du virus VZV (ATCC® VR-1367) allant de $1,00 \times 10^8$ copies/ml à $5,00 \times 10^1$ copies/ml. 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 kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini associé au protocole Cellfree200_DSP (volume d'extraction : 0,2 ml, volume d'éluion : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec le kit *artus* VZV QS-RGQ. La plage linéaire du kit *artus* VZV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre $5,00 \times 10^2$ copies/ml et $1,00 \times 10^8$ copies/ml (figure 2).

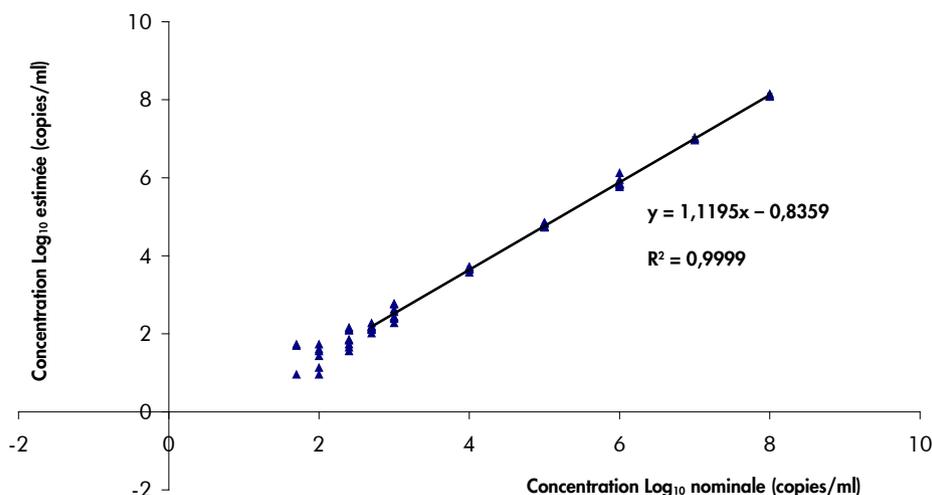


Figure 2. Plage linéaire du kit *artus* VZV QS-RGQ (LCR). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations log₁₀ calculées avec les concentrations log₁₀ nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

Fiabilité – LCR

La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total du kit *artus* VZV QS-RGQ. Pour vérifier la fiabilité, 30 échantillons de LCR négatifs au VZV ont été inoculés avec 300 copies/ml de matière virale de VZV (environ trois fois la concentration de la limite de sensibilité analytique). Après extraction avec le kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini associé au protocole Cellfree200_DSP (volume d'extraction : 0,2 ml, volume d'élution : 60 µl), ces échantillons ont été analysés avec le kit *artus* VZV QS-RGQ.

En outre, la fiabilité du contrôle interne a été évaluée par purification et analyse des 30 échantillons de LCR inoculés. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du kit *artus* VZV QS-RGQ est donc de ≥ 99 %.

Substances interférentes – LCR

Les érythrocytes et l'ADN génomique sont deux substances endogènes susceptibles d'interférer avec les tests, en cas de présence dans le LCR. Pour examiner leur capacité d'interférence, l'effet de ces substances sur les performances des tests a été évalué sur des échantillons de LCR contenant le VZV en concentration représentant environ 10 fois la valeur de la limite de détection (LOD) (1000 copies/ml). Les substances testées n'ont présenté aucune interférence avec les réactifs du kit *artus* VZV QS-RGQ (voir le tableau 2).

Tableau 2. Substances interférentes dans des échantillons de LCR

Concentration de VZV (copies/ml)	Substance interférente		$C_{T(IC)}$			$C_{T(IC) IS} - C_{T(IC) Contrôle}$
	Élément	Concentration	Moyenne C_T	SD	CV (%)	Absolu
1000	Érythrocytes	–	23,45	0,06	0,24	0,13
	ADNg	10 000	23,51	0,02	0,09	0,07
	ADNg	100 000	23,78	0,11	0,45	0,20
	Contrôle	–	23,58	0,06	0,26	–

CV : coefficient de variation ; IC : contrôle interne ; IS : substance interférente ; SD : écart type.

Évaluation clinique – LCR

La performance clinique du kit *artus* VZV QS-RGQ a été évaluée en testant 163 échantillons artificiels en tout, et en analysant les résultats par comparaison avec ceux obtenus selon un procédé comparable dans un laboratoire clinique externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consiste en une analyse de concordance catégorique de la concordance de pourcentage positif (Positive Percent Agreement, PPA), de la concordance de pourcentage négatif (Negative Percent Agreement, NPA) et de la concordance de pourcentage global (Overall Percent Agreement, OPA) ; la deuxième partie consiste en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 75 échantillons de LCR respectant la plage dynamique courante de test, en appliquant les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant indiqués conjointement avec l'intersection à l'origine et la pente (voir le tableau 3 et la figure 3).

Tableau 3. Données de l'étude de performance clinique pour les échantillons de plasma sur EDTA

Mesure de la concordance	Fréquences	Pourcentage de concordance	Limite de confiance inférieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson	Limite de confiance supérieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson
Concordance de pourcentage global	163/163	100,00	97,76	100,00
Concordance de pourcentage positif	100/100	100,00	96,38	100,00
Concordance de pourcentage négatif	63/63	100,00	94,31	100,00

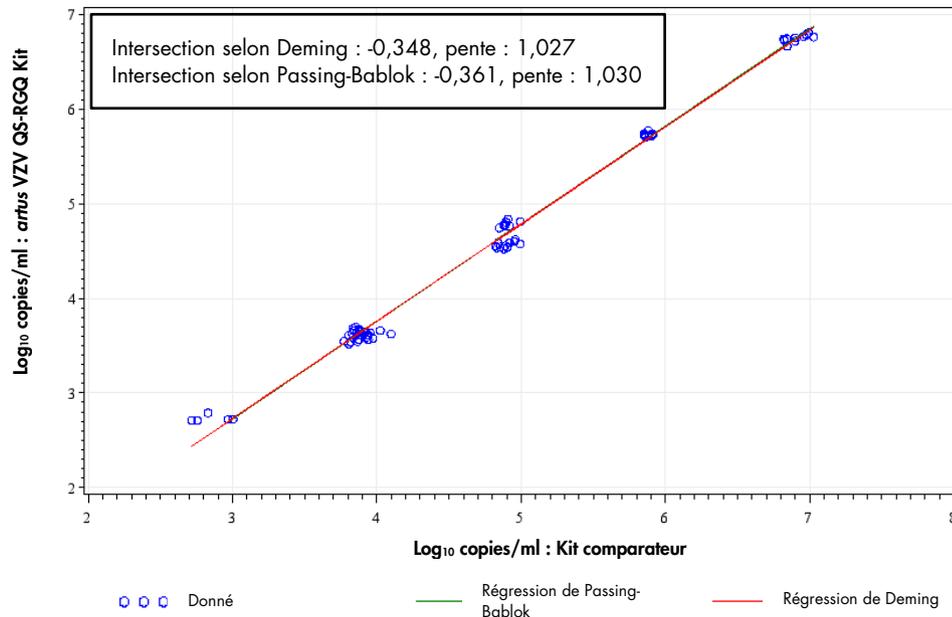


Figure 3. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming pour les échantillons de LCR. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

Le tracé de Bland-Altman représenté sur la figure 4 indique que la différence moyenne de log observée entre les kits est de 0,22, cette différence n'étant pas influencée par la concentration testée.

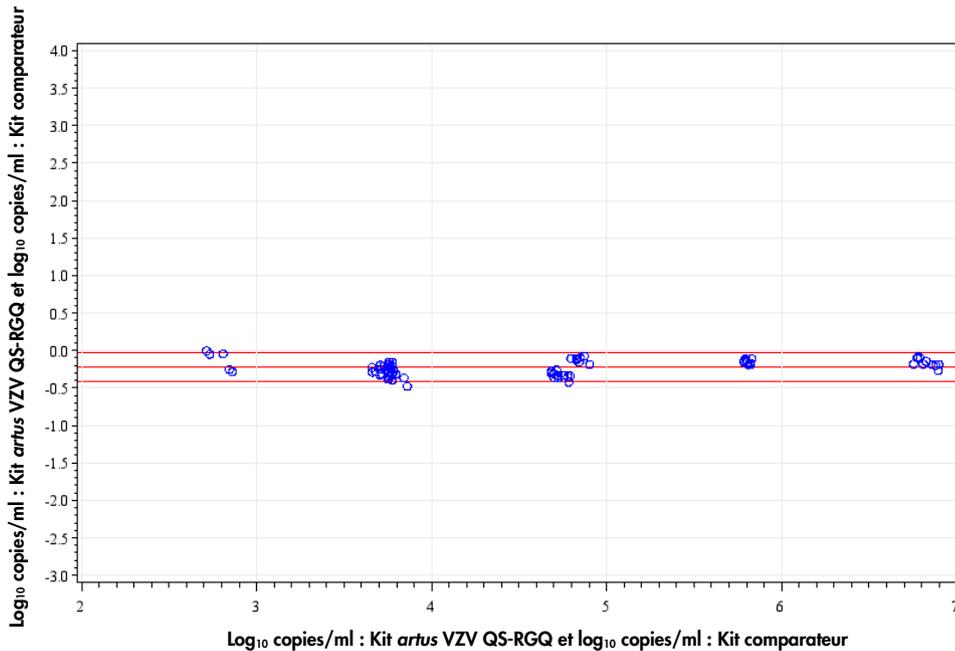


Figure 4. Tracé selon Bland-Altman (plasma). Les lignes de référence horizontales sont aux valeurs -0,22, -0,42 et -0,03 et indiquent la différence moyenne (\log_{10} copies/ml : kit *artus* VZV QS-RGQ – \log_{10} copies/ml : kit comparateur) et son intervalle de prédiction à 95 % correspondant. Les 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.

Sensibilité analytique – plasma

Pour le plasma, la sensibilité analytique du kit *artus* VZV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée à partir d'une série de dilutions de matière virale inoculée dans du plasma humain à raison de 100 à 0,316 copies/ml.

Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'éluion : 60 μ l). Chacune des 8 dilutions a été analysée avec le kit *artus* VZV QS-RGQ sur 4 jours différents en 4 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 limite de détection analytique pour le VZV du kit artus VZV QS-RGQ associé à Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 12,725 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie que la probabilité de détecter 12,725 copies/ml est de 95 %.

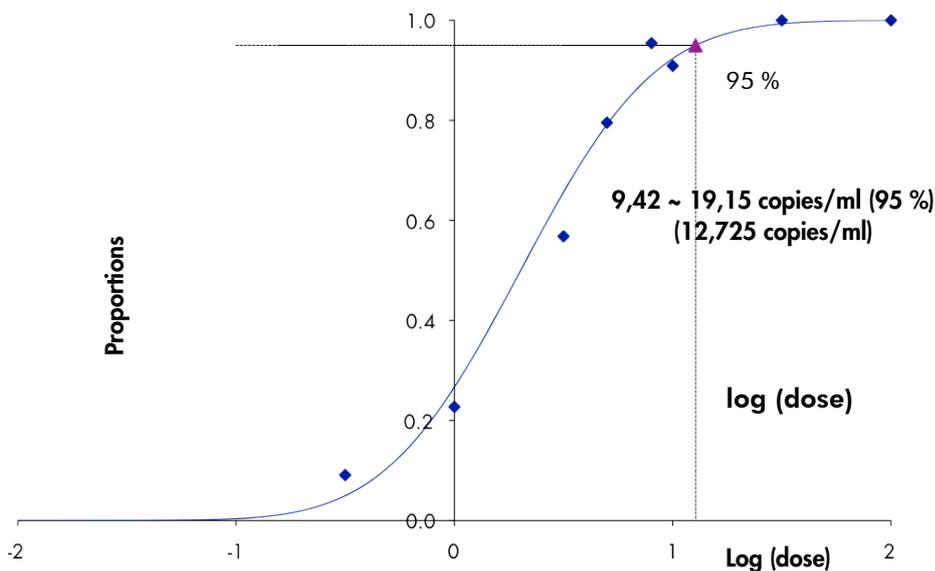


Figure 5. Analyse probit : plasma, VZV (Rotor-Gene Q). Sensibilité analytique du kit artus VZV QS-RGQ sur Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification (au moyen du kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi).

Plage linéaire – plasma

La plage linéaire du kit *artus* VZV QS-;RGQ tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière virale dans du plasma dans la plage de $6,92 \times 10^6$ copies/ml à $1,0 \times 10^1$ copies/ml. La purification a été effectuée par réplicats ($n = 4$ pour les concentrations $\geq 1,00 \times 10^6$ copies/ml ; $n = 8$ pour les concentrations $< 1,00 \times 10^6$ copies/ml) au moyen du kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec le kit *artus* VZV QS-RGQ.

La plage linéaire du kit *artus* VZV QS-RGQ pour le VZV tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre 127 copies/ml et $6,92 \times 10^6$ copies/ml pour le plasma (figure 6).

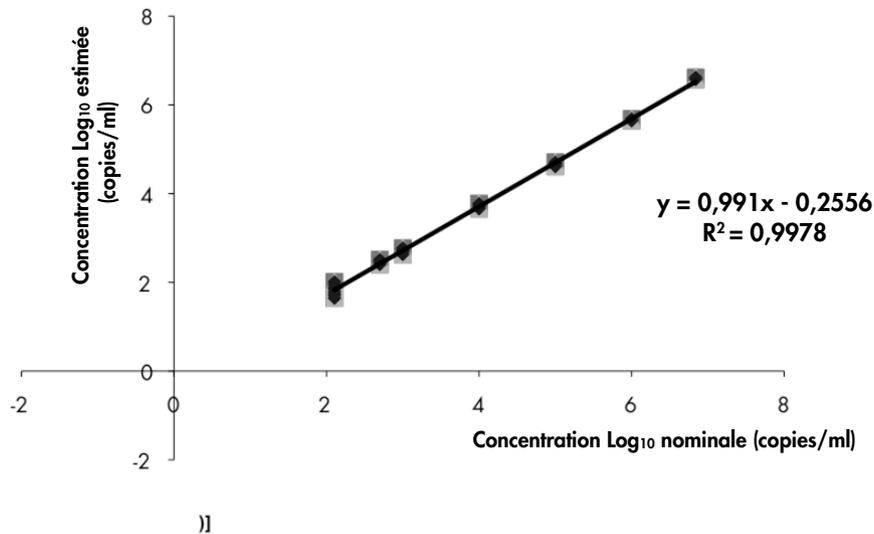


Figure 6. Plage linéaire du kit *artus* VZV QS-RGQ (plasma). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations log₁₀ calculées avec les concentrations log₁₀ nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

Fiabilité – plasma

La vérification de la fiabilité dans le plasma permet de déterminer le taux d'échec total du kit *artus* VZV QS-RGQ. Pour vérifier la fiabilité, 30 échantillons de plasma négatifs au VZV ont été inoculés avec 38,175 copies/ml de matière virale de VZV (environ trois fois la concentration de la limite de sensibilité analytique). Après extraction avec le kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 µl), ces échantillons ont été analysés avec le kit *artus* VZV QS-RGQ. Pour la fiabilité de l'analyse de la cible VZV, 100 % (30/30) des échantillons ont été détectés positifs pour le VZV.

En outre, la fiabilité du contrôle interne a été évaluée par purification et analyse des 116 échantillons de plasma inoculés. Ces échantillons se sont avérés 100 % négatifs pour le VZV, et 100 % positifs pour la

cible de contrôle interne. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du kit *artus* VZV QS-RGQ 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 de plasma. Leurs effets ont été évalués dans du plasma contenant du VZV en quantité représentant environ 10 fois la valeur de LOD (127,25 copies/ml). À titre de contrôle, des échantillons de plasma inoculés avec du VZV 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 kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 μ l). Pour les échantillons contenant des niveaux élevés d'inhibiteurs endogènes (bilirubine, hémoglobine, triglycérides et protéine d'albumine), aucune interférence n'a été observée dans la détection du VZV.

Évaluation clinique – plasma

La performance clinique du kit *artus* VZV QS-RGQ a été évaluée en testant un total de 161 échantillons artificiels de plasma prélevés sur EDTA, et en analysant les résultats par comparaison avec ceux obtenus selon un procédé comparable dans un laboratoire clinique externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consiste en une analyse de concordance catégorique de la concordance de pourcentage positif (Positive Percent Agreement, PPA), de la concordance de pourcentage négatif (Negative Percent Agreement, NPA) et de la concordance de pourcentage global (Overall Percent Agreement, OPA) ; la deuxième partie consiste en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 97 échantillons de plasma prélevés sur EDTA respectant la plage dynamique courante de test, en appliquant les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant indiqués conjointement avec l'intersection à l'origine et la pente (voir le tableau 4 et la figure 7).

Tableau 4. Données de l'étude de performance clinique pour les échantillons de plasma sur EDTA

Mesure de la concordance	Fréquences	Pourcentage de concordance	Limite de confiance inférieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson	Limite de confiance supérieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson
Concordance de pourcentage global	161/161	100,00	97,73	100,00
Concordance de pourcentage positif	101/101	100,00	96,41	100,00
Concordance de pourcentage négatif	60/60	100,00	94,04	100,00

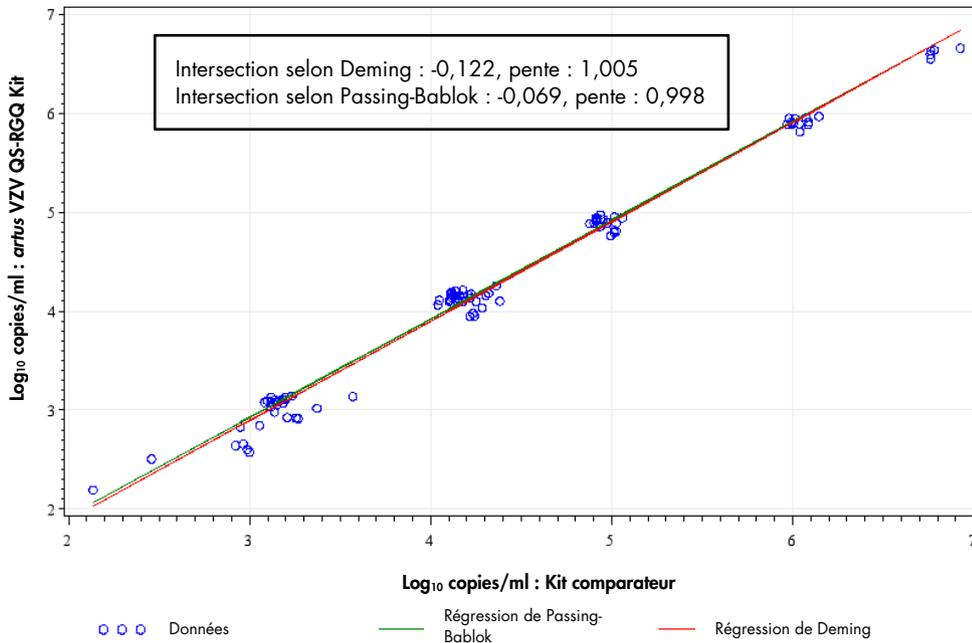


Figure 7. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming pour les échantillons de plasma. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

Le tracé de Bland-Altman représenté sur la figure 8 indique que la différence moyenne observée pour les valeurs de log entre les kits est de -0,10, cette différence n'étant pas influencée par la concentration testée.

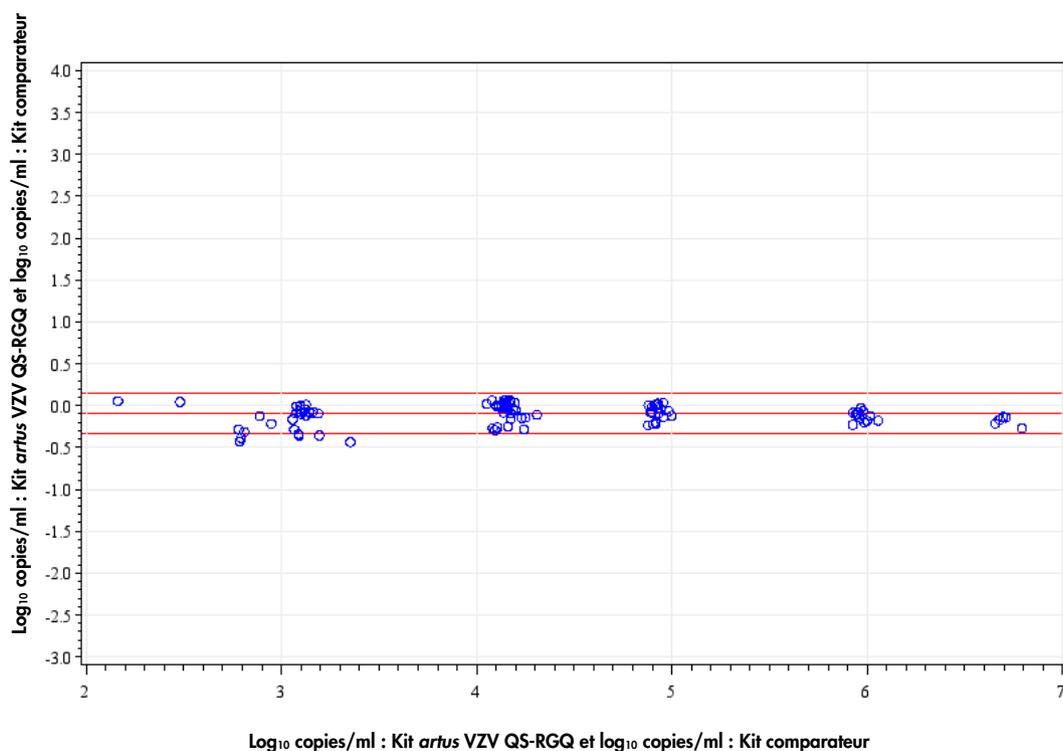


Figure 8. Tracé selon Bland-Altman (plasma). Les lignes de référence horizontales sont aux valeurs -0,10, -0,34 et 0,14 et indiquent la différence moyenne (\log_{10} copies/ml : Kit *artus* VZV QS-RGQ – \log_{10} copies/ml : kit comparateur) et son intervalle de prédiction à 95 % correspondant. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

Précision

Les données de précision du kit *artus* VZV QS-RGQ 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 kit *artus* VZV QS-RGQ (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/ μ 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). En outre, les données de précision des résultats quantitatifs en copies/ μ l ont été établies à partir des valeurs C_T correspondantes (tableau 3). Sur la base de ces résultats, la variance totale d'un échantillon de

concentration donnée est donc de 0,45 % (C_T) ou de 8,32 % (concentration) et 2,81 % (C_T) pour la détection du contrôle interne. Ces valeurs sont basées sur l'ensemble de chacune des valeurs des variabilités déterminées.

Tableau 5. Données de précision pour le VZV à partir des valeurs C_T

	Écart type	Variance	Coefficient de variation (%)
Variabilité intra-essai : VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Variabilité intra-essai : Contrôle interne	0,04	0,002	0,17
Variabilité inter-essai : VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Variabilité inter-essai : Contrôle interne	0,39	0,15	1,63
Variabilité inter-lot : VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Variabilité inter-lot : Contrôle interne	0,66	0,43	2,65
Variance totale : VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Variance totale : Contrôle interne	0,68	0,47	2,81

Tableau 6. Données de précision pour le VZV à partir des résultats quantitatifs (en copies/ml)

	Écart type	Variance	Coefficient de variation (%)
Variabilité intra-essai : VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Variabilité inter-essai : VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Variabilité inter-lot : VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Variance totale : VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Reproductibilité

Les données de reproductibilité sont fournies dans le but de procéder à une évaluation régulière de la performance du kit *artus* VZV QS-RGQ 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.

Page laissée volontairement vierge.

Les produits associés et les informations relatives aux commandes sont répertoriés dans le manuel du kit *artus* VZV QS-RGQ PCR

Pour obtenir les dernières informations sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques des produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® approprié. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN) ; ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection).
Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans le présent document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi 10/2015 HB-0401-D01-002
© 2012–2015 QIAGEN, tous droits réservés

Pour commander www.qiagen.com/contact | Support technique support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com
