

Evaluatie/Validatie NucliSens nucleïnezuur extractie van EDTA-bloed voor microbiologische parameters

Xiaoting Xu, Moleculaire diagnostiek, UZ Leuven

Inleiding

Op de dienst moleculair diagnostiek van UZ Leuven wordt EDTA-bloed van transplantatiepatiënten geëxtraheerd. In verdere processen kan de virale lading van herpesvirussen gedetecteerd worden. Tot deze groep herpesvirussen behoren Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV), Herpes simplex virus-1/2 (HSV-1/2), Varicella zoster virus (VZV) en Humaan herpesvirus 6 (HHV-6). Ook is de detectie van de Toxoplasma gondii (Toxo) en Adenovirus (Adeno) zeer belangrijk voor transplantatiepatiënten.

Transplantatiepatiënten zijn immuungecompromitteerde patiënten. Deze patiënten nemen immuunsuppressiva in om hun immuunsysteem te onderdrukken. Hierdoor zijn ze meer vatbaarder voor infecties. De opvolging van transplantatiepatiënten voor CMV, EBV, Toxo, Adeno en HHV-6 is daarom zeer belangrijk.

Vandaag de dag wordt EDTA-bloed geëxtraheerd door Qiasymphony SP (Qiagen). Geleidelijk aan wordt Qiasymphony SP vervangen door NucliSens. De extractie en detectie van CMV en EBV worden dan overgenomen door Alinity m (Abbott molecular). Terwijl de extractie van HSV-1/2, VZV, Toxo, HHV-6 en Adeno worden overgenomen door de NucliSens easyMAG of eMag (Biomérieux).

In dit project wordt voor de evaluatie van NucliSens NZ de juistheid, lineariteit en reproduceerbaarheid voor de parameters HSV-1/2, VZV, Toxo, HHV-6, en Adeno bepaald. Deze kunnen dan vergeleken worden met de QIASymphony SP extractiemethode.

Materiaal en methode



[1]



[2]



[3]

	eMAG	easyMAG	Qiasymphony SP
Nucleïnezuur extractie	Automatisch	Automatisch Opmerking: bij easyMAG wordt de stalen handmatig in het toestel gepipetteerd.	Automatisch
PCR Set up	Manueel	Manueel	Automatisch
Real time PCR	M.b.v. de Quant-studio	M.b.v. de Quant-studio	M.b.v. de Quant-studio

Resultaten

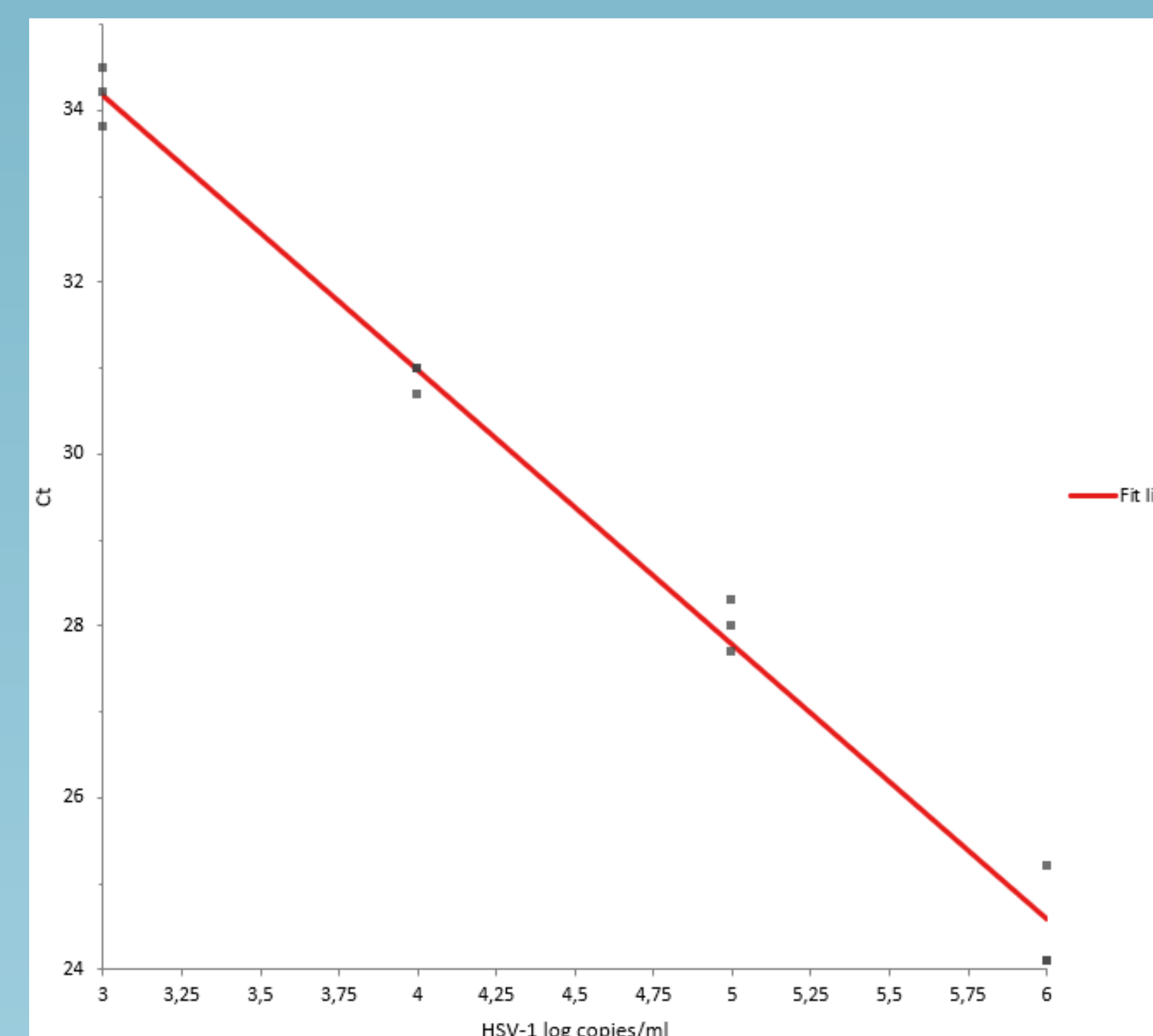
Juistheid bepaling

Tabel 1: Weergave van de overeenkomst per parameter

	HSV-1	HSV-2	VZV	Toxo	HHV-6	Adeno
Overeenkomst	97,4%	97,4%	95,1%	97,6%	91,5	97,4%

Lineariteit

Grafiek1: Lineariteit van HSV-1



Tabel 2: Gegevens van de lineariteit van de verschillende parameters

	Correlatie	Vergelijking
HSV-1	0,990	Ct = 43,78 - 3,2 HSV-1 log copies/ml
HSV-2	0,994	Ct = 43,16 - 3,173 HSV-2 log copies/ml
VZV	0,984	Ct = 44,24 - 3,423 VZV log copies/ml
Toxo	0,995	Ct = 40,41 - 3,485 Toxo log copies/ml
HHV-6	0,973	Ct = 46,54 - 3,759 HHV-6 log copies/ml
Adeno	0,987	Ct = 44,82 - 3,246 ADV log IU/ml

Tabel3: Efficiëntie van de analyse voor de parameters

	HSV-1	HSV-2	VZV	Toxo	HHV-6	Adeno
Efficiëntie (%)	105	107	96,0	93,4	84,5	103

Reproduceerbaarheid

Tabel 4: Voorwaarde voor de aanvaarding van de reproduceerbaarheid

HSV-1/2 en VZV	Toxo, HHV-6 en Adeno
Alle 9 positieve stalen testen positief	Alle 24 positieve stalen testen positief
Minstens 7 van de 9 laag positieve stalen testen positief	Minstens 19 van de 24 laag positieve stalen testen positief

Conclusie

De juistheid: Indien overeenkomst $\geq 90\%$ bedraagt, dan voldoet het aan het vooropgestelde aanvaardingscriterium. De resultaten van de parameters, weergegeven in tabel 1, voldoen dus aan deze criterium.

Lineariteit geeft info over de correlatie en efficiëntie van de analyse. Als de correlatie voor de parameters $\geq 0,950$ bedragen en de efficiëntie van de analyse $\geq 80\%$ zijn, dan voldoet het aan het aanvaardingscriterium. Uit tabel 2 en 3 kan afgeleid worden dat het vooropgestelde aanvaardingscriterium voor correlatie en efficiëntie aanvaard kan worden.

De reproduceerbaarheid voor parameter HSV-1/2 en VZV worden aanvaard. Uit de bekomen resultaten zijn alle negen positieve stalen positief en meer dan zeven laag positieve stalen zijn positief. De reproduceerbaarheid voor parameter Toxo, HHV-6 en Adeno voldoen ook aan het aanvaardingscriterium. Alle vierentwintig metingen van de positieve stalen zijn positief. Terwijl er ook meer dan negentien laag positieve stalen positief zijn getest.

Omwillen van het te kort aan positieve stalen voor de juistheid bepaling, kan deze nog verder onderzocht worden. In de toekomst kan er ook verder gewerkt worden aan de gevoeligheid of detectie limiet van de parameters Toxo; HHV-6 en Adeno.

[1] Jant pharmaceutical corporation, QIASymphony SP, geraadpleegd op 7 juni 2022 via <https://www.jantdx.com/product/qiasymphony-sp/>

[2] Foodnavigator, BioMérieux launches automated system for DNA and RNA extraction, geraadpleegd op 7 juni 2022 via <https://www.foodnavigator.com/Article/2016/11/17/Extraction-efficiency-decisive-for-final-result-quality-bioMerieux>

[3] Biomérieux, NUCLISENS® EASYMAG®, geraadpleegd op 7 juni 2022 via <https://www.biomerieux.it/prodotto/nuclisensr-easymagr>