

Marraskuu 2019

# artus<sup>®</sup> EBV QS-RGQ Kit: Suorituskykyominaisuudet

IVD

CE

REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, versio 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

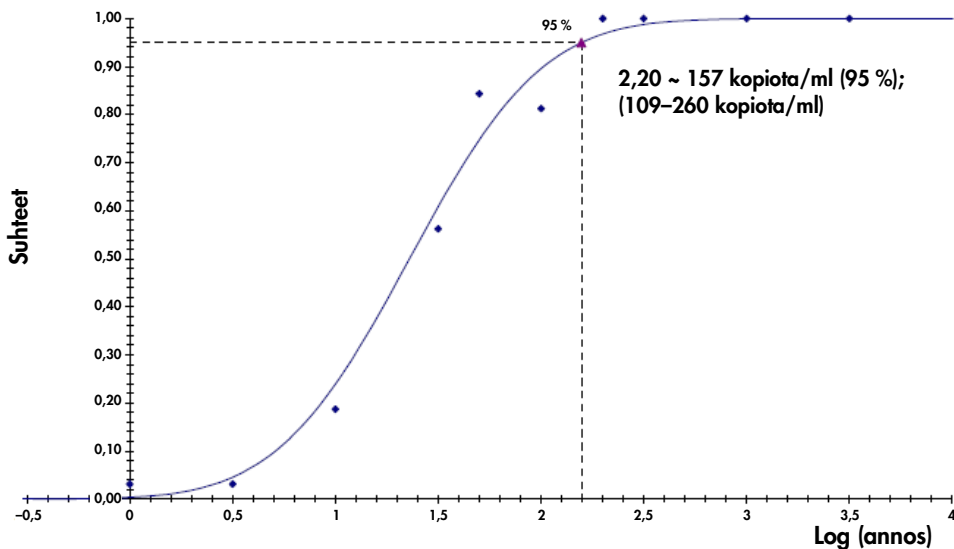


Tarkista ennen testin tekemistä uusien elektronisten etikettiversioiden saatavuus osoitteesta [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce). Ajankohtainen versio käy ilmi julkaisupäivämäärästä (muoto: kuukausi/vuosi).

# Havaitsemisraja – plasma

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan havaitsemisraja puhdistus huomioon otuna (herkkyyseraja) arvioitiin käyttämällä EBV-positiivisia kliinisiä näytteitä yhdessä QIA Symphony® SP -laitteella tehdyn erottelun kanssa.

Plasmalle *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan havaitsemisraja puhdistus huomioon otuna määritettiin käyttämällä laimennussarjaa EBV-materiaalille, jonka arvo oli arvosta 3 160 nimelliseen 1 EBV-kopioon ml:ssa ja johon oli lisätty kliinisiä plasmanäytteitä. Nämä altistettiin DNA-erotukselle käyttämällä QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -sarjaa Cellfree1000\_DSP -protokollan kanssa (erottelutilavuus: 1 ml, eluotilavuus: 60 µl). Kaikki 10 laimennusta analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjalla neljänä eri päivänä neljässä ajossa, joissa oli kussakin kahdeksan kahdenusta. Tulokset määritettiin probit-analyysillä. Probit-analyysi on esitetty graafisessa muodossa kuvassa 1. *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan havaitsemisraja puhdistus huomioon otuna Rotor-Gene® Q -laitteen kanssa on 157 kopiota/ml ( $p = 0,05$ ). Tämä tarkoittaa, että on olemassa 95 %:n todennäköisyys, että 157 kopiota havaitaan millilitrassa (vastaa arvoa 22,29 IU/ml).



**Kuva 1. Probit-analyysi: plasma, EBV (Rotor-Gene Q).** Havaitsemisraja puhdistus huomioon otuna (plasma, QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -sarjalla) ja *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarja Rotor-Gene Q -laitteessa

## Spesifisyys – plasma

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan spesifisyys varmistetaan ennen kaikkea alukkeiden ja koettimien sekä erittäin vaativien reaktio-olosuhteiden valinnalla. Alukkeiden ja koettimien mahdollinen homologia kaikkien geenipankeissa julkaistujen sekvenssien kanssa tarkistettiin sekvenssivertailuanalyysilla. Kaikkien relevanttien genotyyppien havaittavuus on siis täten varmistettu.

Lisäksi spesifisyys validoitiin 30 erilaisella EBV-negatiivisella plasmanäytteellä. Nämä eivät antaneet mitään merkkiä EBV RG Master kuuluvien EBV-spesifien alukkeiden ja koettimien kanssa.

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan mahdollinen ristiinreagointi testattiin taulukossa 1 mainitulla kontrolliryhmällä. Yksikään testatuista patogeeneistä ei ollut reaktiivinen. Sekoitetuissa infektoissa ei ilmennyt ristiinreagointia.

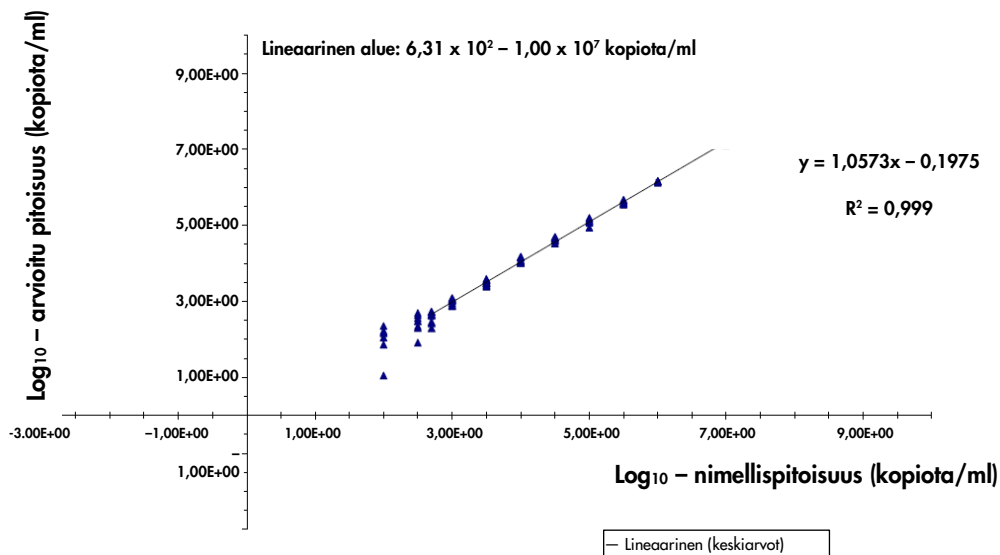
**Taulukko 1. Sarjan spesifisyyden testaus mahdollisesti ristiinreagoivilla patogeeneillä**

Kontrolliryhmä	EBV (Cycling Green)	Sisäinen kontrolli (Cycling Yellow)
Ihmisen herpesvirus 1 (Herpes simplex virus 1)	–	+
Ihmisen herpesvirus 2 (Herpes simplex virus 2)	–	+
Ihmisen herpesvirus 3 (Varicella-zostervirus)	–	+
Ihmisen herpesvirus 5 (Sytomegalovirus)	–	+
Ihmisen T-solun leukemivirus 1	–	+
Ihmisen T-solun leukemivirus 2	–	+

## Lineaarinen alue – plasma

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue puhdistus huomioituna määritettiin analysoimalla EBV-materiaalin laimennussarjoja alueella arvosta  $1,00 \times 10^7$  kopiota/ml arvoon  $6,31 \times 10^2$  kopiota/ml plasmassa. Puhdistus tehtiin kahdennuksissa ( $n = 4$  pitoisuuksille  $\geq 1,00 \times 10^6$  kopiota/ml,  $n = 8$  pitoisuuksille  $< 1,00 \times 10^6$  kopiota/ml) käyttämällä QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -sarjaa Cellfree1000\_DSP -protokollan kanssa (erotustilavuus: 1 ml, eluutiotilavuus: 60 µl). Kukin näyte analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjaa käyttämällä.

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue puhdistus huomioon otuna määritettiin pitoisuuksille arvosta  $6,31 \times 10^2$  kopiota/ml arvoon  $1,00 \times 10^7$  kopiota/ml (vastaa arvoa  $8,96 \times 10^1 - 1,42 \times 10^6$  IU/ml) plasmalle (kuva 2).



**Kuva 2.** *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue (plasma). Lineaarisen alueen laskenta. Suora viiva määritettiin laskettujen log<sub>10</sub>-pitoisuuksien ja log<sub>10</sub>-nimellispitoisuuksien lineaarisen regression perusteella. Regressiosuoran yhtälö näkyy kuvassa.

## Varmuus – plasma

Varmuuden verifiointin avulla voidaan määrittää *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan koko virhetodennäköisyys. Varmuuden verifiointia varten 30 EBV-negatiiviseen plasmanäytteeseen lisättiin 500 kopiota/ml EBV:tä (analyttisen herkkyysrajan noin kolminkertainen pitoisuus). QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -sarjalla ja Cellfree1000\_DSP -protokollalla tehtävän erotuksen jälkeen (erotustilavuus: 1 ml, eluutiotilavuus: 60 µl), nämä näytteet analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjalla. Lisäksi sisäisen kontrollin varmuus arvioitiin puhdistamalla ja analysoimalla 30 lisättyä plasmanäytettä. Inhibiitioita ei havaittu. Tästä syystä *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan varmuus on  $\geq 99$  %.

## Häiritsevät aineet – plasma

Bilirubiinissa, hemoglobiinissa ja triglyserideissä ei havaittu häiriöitä *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjassa taulukon 2 mukaisissa pitoisuuksissa.

Taulukko 2. Häiritsevät aineet EDTA-plasmanäytteissä

EBV-pitoisuus (kopiota/ml)	Häiritsevä aine		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} -$ $C_{T(EBV) Control}$
	Kohde	Pitoisuus	$C_T$ -keskiarvo	SD	CV (%)	Absoluuttinen
1600	Bilirubiini	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobiini	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglyseridi	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumiini	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Kontrolli	–	32,88	0,33	0,99	–

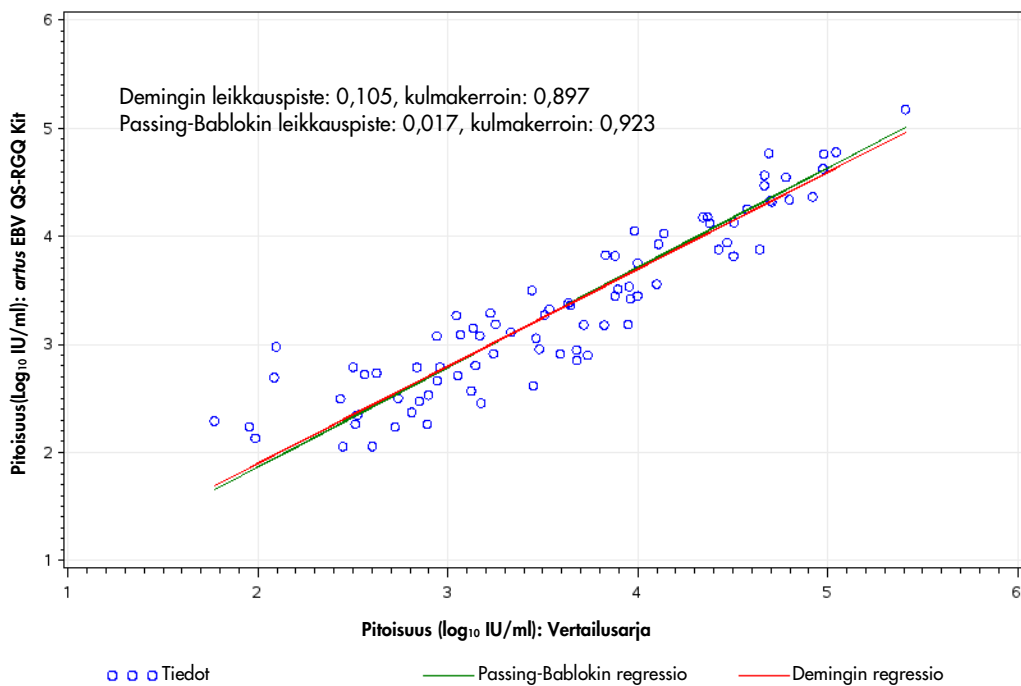
CV: coefficient of variation (variaatiokerroin), EBV: Epstein-Barrin virus, IS: interfering substance (häiritsevä aine), SD: standard deviation (keskihajonta)

## Kliininen arviointi – plasma

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan kliininen suorituskyky arvioitiin testaamalla kliinisiä näytteitä ja analysoimalla löydökset vastaavan menetelmän tuloksia vasten. EBV-infektiopotilailta ja negatiivisista kontroleista kerättiin yhteensä 166 EDTA-plasmanäytettä, jotka testattiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjalla ja vastaavalla menetelmällä ulkoisessa toimipaikassa. Tulokset analysoitiin kahdessa osassa: Ensimmäinen osa oli PPA:n (Positive Percent Agreement), NPA:n (Negative Percent Agreement) ja OPA:n (Overall Percent Agreement) kategorinen yhtäpitävyysanalyysi. Toisessa osassa analysoitiin tulokset yhteensä 83 EDTA-plasmanäytteestä, jotka osuivat yleisen määrittelyn dynaamiselle alueelle, käyttämällä Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysijä, ja löydökset raportoitiin vastaavan korrelaatiokertoimen kanssa (katso taulukko 3 ja kuva 3).

Taulukko 3. EDTA-plasmanäytteiden kliinisen suorituskyvyn tutkimustiedot

Yhtäpitävyyden arvio	Tiheydet	Prosentuaalinen yhtäpitävyys	Clopper-Pearsonin (tarkka) binomialinen alempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja	Clopper-Pearsonin (tarkka) binomialinen ylempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja
Prosentuaalinen yhtäpitävyys yhteensä	154/166	92,77	87,71	96,21
Positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys	100/102	98,04	93,10	99,76
Negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys	54/64	84,38	73,14	92,24



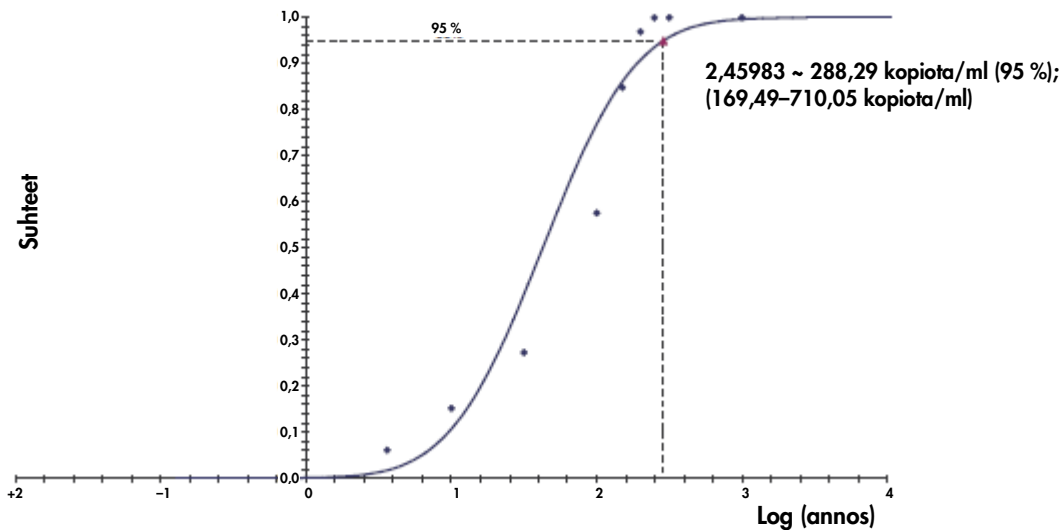
Kuva 3. Regressiopiirros Passing-Bablokin ja Demingin suorien kanssa. Kummankin analyysin näytteet, jotka ovat kvantifikaation alarajan ja ylärajan välissä, ovat mukana analyysissä.

Kahden määrittämisen välillä tehdyn lineaarisen regression analyysissä saatiin Pearsonin korrelaatiokertoimeksi 0,922 ja Spearmanin korrelaatiokertoimeksi 0,928.

## Havaitsemisraja – kokoveri

Kokoverelle *artus EBV QS-RGQ Kit*-sarjan havaitsemisraja puhdistus huomioituna määritettiin käyttämällä laimennussarjaa EBV-materiaalille, jonka arvo oli arvosta 3 160 nimelliseen 3,16 EBV-kopioon ml:ssa ja johon oli lisätty ihmisen kokoverinäytteitä. Nämä altistettiin DNA-erotukselle käyttämällä QIASymphony DNA Mini Kit -sarjaa VirusBlood200\_DSP -protokollan kanssa (erottelutilavuus: 200 µl, eluaatin määrä: 60 µl). Kaikki 10 laimennusta analysoitiin *artus EBV QS-RGQ Kit*-sarjalla kolmena eri päivänä kolmessa ajossa, joissa oli kussakin 11 kahdennusta. Tulokset määritettiin probit-analyysillä. Probit-analyysi on esitetty graafisessa muodossa kuvassa 4.

*artus EBV QS-RGQ Kit*-sarjan havaitsemisraja puhdistus huomioituna Rotor-Gene Q -laitteella on 288,29 kopiota/ml ( $p = 0,05$ ). Tämä tarkoittaa, että on olemassa 95 %:n todennäköisyys, että 288,29 kopiota havaitaan millilitrassa (vastaa arvoa 40,36 IU/ml).



**Kuva 4. Probit-analyysi: kokoveri, EBV (Rotor-Gene Q).** Havaitsemisraja puhdistus huomioituna (kokoveri, QIASymphony DNA Mini Kit -sarjalla) ja *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarja Rotor-Gene Q-laitteella.

## Spesifisyys – kokoveri

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan spesifisyys varmistetaan ennen kaikkea alukkeiden ja koettimien sekä erittäin vaativien reaktio-olosuhteiden valinnalla. Alukkeiden ja koettimien mahdollinen homologia kaikkien geenipankeissa julkaistujen sekvenssien kanssa tarkistettiin sekvenssivertailuanalyysillä. Kaikkien relevanttien genotyyppien havaittavuus on siis täten varmistettu.

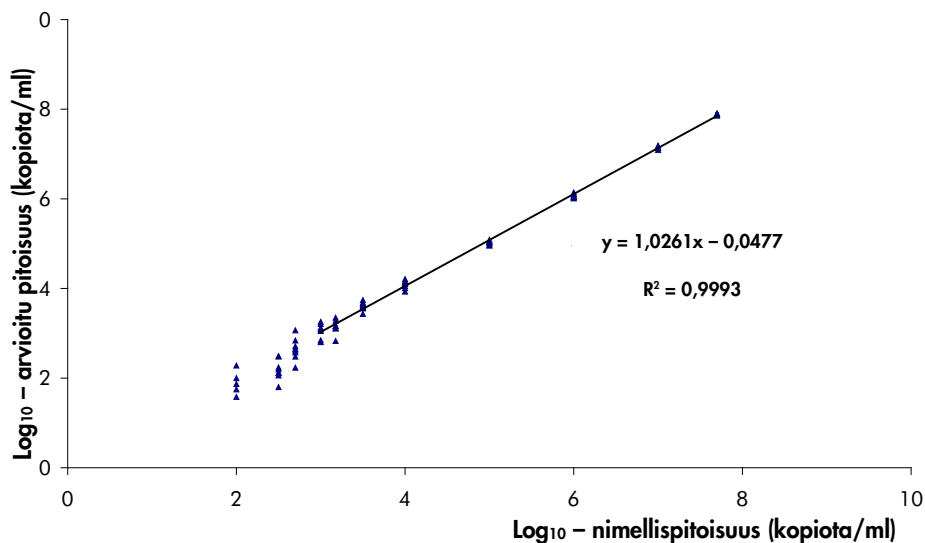
Lisäksi spesifisyys validoitiin 30 eri EBV-negatiivisella kokoverinäytteellä. Nämä eivät antaneet mitään merkkiä EBV RG Master kuuluvien EBV-spesifien alukkeiden ja koettimien kanssa.

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan mahdollinen ristiinreagointi testattiin taulukossa 1 mainitulla kontrolliryhmällä (katso sivu 3). Yksikään testatuista patogeeneistä ei ollut reaktiivinen. Sekoitetuissa infektioissa ei ilmennyt ristiinreagointia.

## Lineaarinen alue – kokoveri

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue puhdistus huomioituna määritettiin analysoimalla EBV-materiaalin laimennussarjoja alueella arvosta  $5,00 \times 10^7$  kopiota/ml arvoon  $1,00 \times 10^3$  kopiota/ml kokoveressä. Puhdistus tehtiin kahdennuksissa ( $n = 4$  pitoisuuksille  $\geq 1,00 \times 10^7$  kopiota/ml,  $n = 8$  pitoisuuksille  $< 1,00 \times 10^7$  kopiota/ml) käyttämällä QIASymphony DNA Mini Kit -sarjaa VirusBlood200\_DSP -protokollan kanssa (erotustilavuus: 200  $\mu$ l, eluaatin määrä: 60  $\mu$ l). Kukin näyte analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjaa käyttämällä.

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue puhdistus huomioituna määritettiin pitoisuuksille arvosta  $1,00 \times 10^3$  kopiota/ml arvoon  $5,00 \times 10^7$  kopiota/ml (vastaa arvoa  $1,4 \times 10^2 - 7,0 \times 10^6$  IU/ml) kokoverelle (kuva 5).



**Kuva 5. *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan lineaarinen alue (kokoveri).** Lineaarisen alueen laskenta. Suora viiva määritettiin laskettujen log<sub>10</sub>-pitoisuuksien ja log<sub>10</sub>-nimellispitoisuuksien lineaarisen regression perusteella. Regressiosuoran yhtälö näkyy kuvassa.

## Varmuus – kokoveri

Varmuuden verifiointin avulla voidaan määrittää *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan koko virhetodennäköisyys. Varmuuden verifiointia varten 51 EBV-negatiiviseen kokoverinäytteeseen lisättiin 750 kopiota/ml EBV:tä (analyttisen herkkyysrajan noin kolminkertainen pitoisuus). QIASymphony DNA Mini Kit -sarjalla ja VirusBlood200\_DSP -protokollalla tehtävän erotuksen jälkeen (erotustilavuus: 200 µl, eluaatin määrä: 60 µl), nämä näytteet analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjalla. Lisäksi sisäisen kontrollin varmuus arvioitiin puhdistamalla ja analysoimalla 51 lisätyä kokoverinäytettä. Inhibiitioita ei havaittu. Tästä syystä *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan varmuus on  $\geq 99$  %.



## Häiritsevät aineet – kokoveri

Aineet, jotka voisivat mahdollisesti vaikuttaa *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan tuloksiin, testattiin, ja näiden aineiden ne pitoisuudet, jotka eivät häirinneet sarjaa, on esitetty taulukossa 4.

Taulukko 4. Häiritsevät aineet kokoverinäytteissä

EBV-pitoisuus (kopiota/ml)	Häiritsevä aine		C <sub>r</sub> -keskiarvo	C <sub>T</sub> (EBV) SD	CV (%)	C <sub>T</sub> (EBV) IS – C <sub>T</sub> (EBV) Control Absoluuttinen
	Kohde	Pitoisuus				
2500	Bilirubiini	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglyseridi	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/näyte	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/näyte	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/näyte	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/näyte	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontrolli	–	35,17	0,40	1,13	–

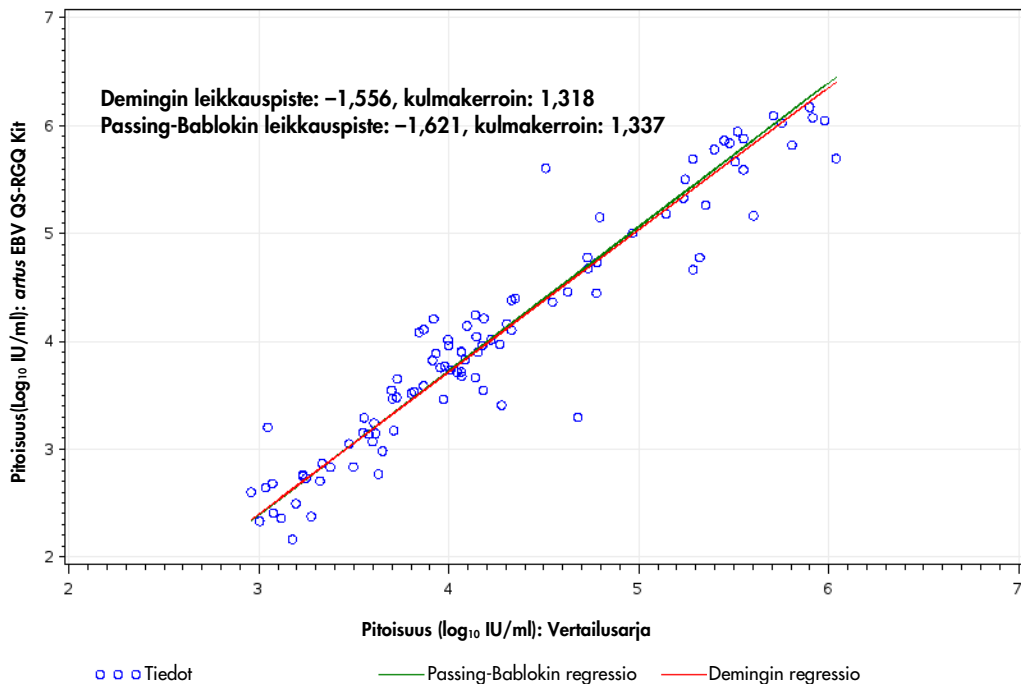
CV: coefficient of variation (variaatiokerroin), EBV: Epstein-Barrin virus, gDNA: genominen DNA IS: interfering substance (häiritsevä aine), SD: standard deviation (keskihajonta)

## Kliininen arviointi – kokoveri

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan kliininen suorituskyky arvioitiin testaamalla kliinisiä näytteitä ja analysoimalla vastaavan menetelmän tuloksia vasten. EBV-infektiopotilailta ja negatiivisista kontrolleista kerättiin yhteensä 178 kokoverinäytettä, jotka testattiin *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjalla ja vastaavalla menetelmällä ulkoisessa toimipaikassa. Tulokset analysoitiin kahdessa osassa: Ensimmäinen osa oli PPA:n, NPA:n ja OPA:n kategorinen yhtäpitävyysanalyysi. Toisessa osassa analysoitiin tulokset yhteensä 98 kokoverinäytteestä, jotka osuivat yleisen määrityksen dynaamiselle alueelle, käyttämällä Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysijä, ja löydökset raportoitiin vastaavan korrelaatiokertoimen kanssa (katso taulukko 5 ja kuva 6).

Taulukko 5. Kokoverinäytteiden kliinisen suorituskyvyn tutkimustiedot

Yhtäpitävyyden arvio	Tiheydet	Prosentuaalinen yhtäpitävyys	Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen alempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja	Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen ylempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja
Prosentuaalinen yhtäpitävyys yhteensä	169/178	94,94	90,62	97,66
Positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys	115/119	96,64	91,62	99,08
Negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys	54/59	91,53	81,32	97,19



Kuva 6. Regressiopiirros Passing-Bablokin ja Demingin suorien kanssa. Kummankin analyysin näytteet, jotka ovat kvantifikaation alarajan ja ylärajan välissä, ovat mukana analyysissä.

Kahden määrittelyn välillä tehdyn lineaarisen regression analyysissä saatiin Pearsonin korrelaatiokertoimeksi 0,956 ja Spearmanin korrelaatiokertoimeksi 0,945.

## Uusittavuus

Uusittavuustietojen avulla *artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan suorituskykyä ja tehokkuutta verrattuna muihin tuotteisiin voidaan arvioida säännöllisesti. Nämä tiedot on saatu osallistumalla tunnettuihin pätevyysohjelmiin.

## Ristikontaminaatio

Näytteiden välisen ristikontaminaation mahdollisuus voitiin sulkea pois koko työnkulussa sillä perusteella, että kaikki tunnetut positiiviset ja negatiiviset näytteet havaittiin oikein vuoroittaisista paikoista (sakkilautakuvio) edustavassa *artus* QS-RGQ system -järjestelmässä.

*artus* EBV QS-RGQ Kit -sarjan käyttöohjeessa on tiedot sarjaan liittyvistä tuotteista sekä tilaustiedot.

## Asiakirjan muutoshistoria

Päivämäärä	Muutokset
R1 11/2019	Päivitetty <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit -sarjan versio versiosta 1 versioon 2, taittopäivityksiä.

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-sarjojen käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty  
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

