

Eylül 2017

artus[®] EBV QS-RGQ Kit: Performans özellikleri

IVD

CE

REF

4501363TR artus EBV QS-RGQ Kit, Versiyon 1.



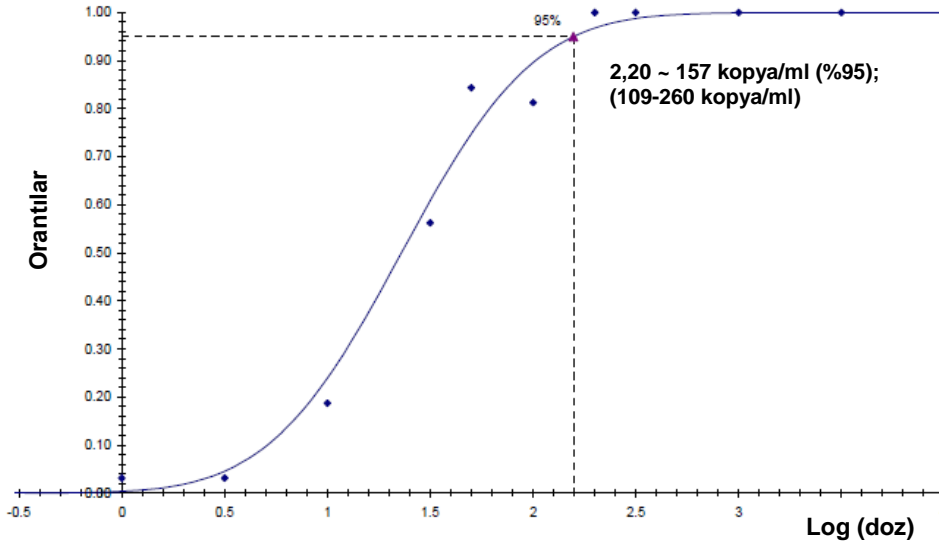
Testi gerçekleştirmeden önce

www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının bulunup bulunmadığını kontrol edin. Mevcut revizyon tarihi çıkış tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.

Tespit Sınırı – plazma

QIASymphony® SP üzerinde ekstraksiyon ile kombinasyon halinde EBV pozitif klinik numuneler kullanılarak *artus* EBV QS-RGQ Kit için saflaştırma açısından saptama limiti (hassasiyet limiti) değerlendirilmiştir.

Plazma için *artus* EBV QS-RGQ Kitinin saflaştırılmasıyla ilişkili saptama limiti klinik plazma örnekleri eklenmiş 3160 ila nominal 1 EBV kopya/ml şeklinde EBV materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kiti ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 10 dilüsyonun her biri *artus* EBV QS-RGQ Kitiyle 4 farklı günde her birinde 8 replikatlık 4 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1'de verilmiştir. Rotor-Gene® Q ile kombinasyon halinde *artus* EBV QS-RGQ Kitin saflaştırılması açısından saptama limiti 157 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 157 kopya/ml'nin (22,29 IU/ml'ye tekabül eder) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 1. Probit analizi: plazma, EBV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* EBV QS-RGQ Kiti ve saflaştırma (plazma, QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kiti kullanılarak) dikkate alınarak saptama limiti

Özgüllük — plazma

artus EBV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 30 farklı EBV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar EBV RG Master'a dahil edilen EBV'ye spesifik primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus EBV QS-RGQ Kitinin olası çapraz reaktivitesi Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (aşağıda). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

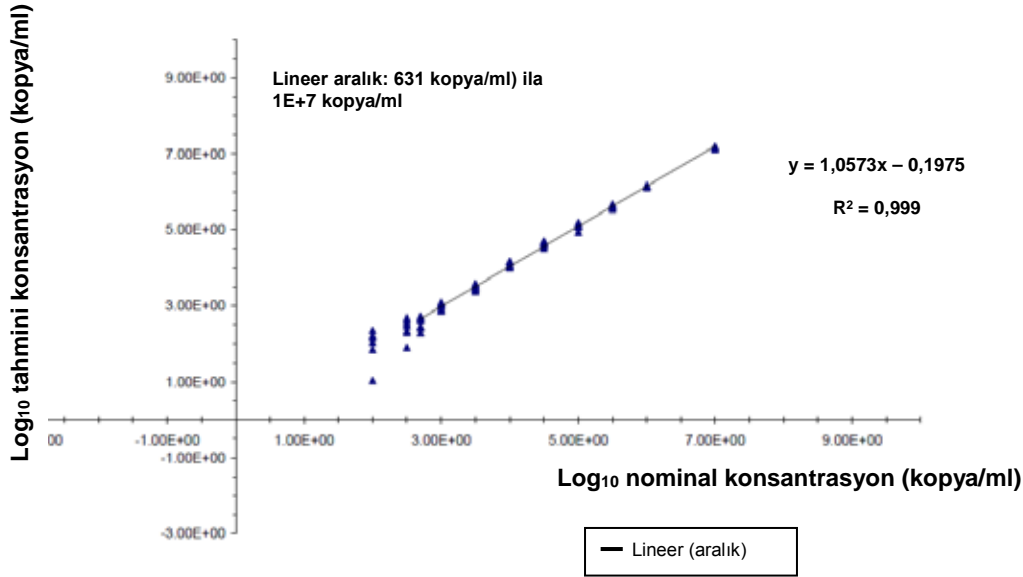
Tablo 1. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi

Kontrol grubu	EBV (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Yellow)
İnsan herpesvirüsü 1 (Herpes simpleks virüsü 1)	–	+
İnsan herpesvirüsü 2 (Herpes simpleks virüsü 2)	–	+
İnsan herpesvirüsü 3 (Varisella-zoster virüsü)	–	+
İnsan herpesvirüsü 5 (Sitomegalovirüs)	–	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 1	–	+
İnsan T hücresi lösemi virüsü 2	–	+

Lineer aralık – plazma

artus EBV QS-RGQ Kitinin saflaştırılmasıyla ilgili lineer aralık plazmada $1,00 \times 10^7$ kopya/ml ile $6,31 \times 10^2$ kopya/ml aralığındaki EBV materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kiti kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^6$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 4$; $< 1,00 \times 10^6$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 8$) kullanılarak Cellfree1000_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 μ l). Örneklerin her biri *artus* EBV QS-RGQ Kiti kullanılarak analiz edilmiştir.

artus EBV QS-RGQ Kiti saflaştırılmasıyla ilgili olarak lineer aralık plazma için $6,31 \times 10^2$ kopya/ml ile $1,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonları ($8,96 \times 10^1$ ile $1,42 \times 10^6$ IU/ml'ye tekabül eder) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *artus* EBV QS-RGQ Kiti (plazma) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük – plazma

Güçlülüğün doğrulanması *artus* EBV QS-RGQ Kiti toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 30 EBV negatif plazma örneğine 500 kopya/ml EBV eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit ile kombinasyon halinde Cellfree1000_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl) bu örnekler *artus* EBV QS-RGQ Kiti ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 30 ekleme yapılmış plazma örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* EBV QS-RGQ Kit güçlülüğü $3\%99$ 'dur.

Olumsuz etkileyen maddeler – plazma

Bilirubin, hemoglobin ve trigliseritler Tablo 2'de gösterilen konsantrasyonlarda *artus* EBV QS-RGQ Kitle herhangi bir olumsuz etkileşim göstermemiştir.

Tablo 2. EDTA plazma örneklerinde olumsuz etkileyen maddeler

EBV konsantrasyonu (kopya/ml)	Olumsuz etkileyen madde		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Control}$
	Madde	Konsantrasyon	Ortalama C_T	SD	CV (%)	Mutlak
1600	Bilirubin	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobin	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Trigliserit	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumin	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Kontrol	-	32,88	0,33	0,99	-

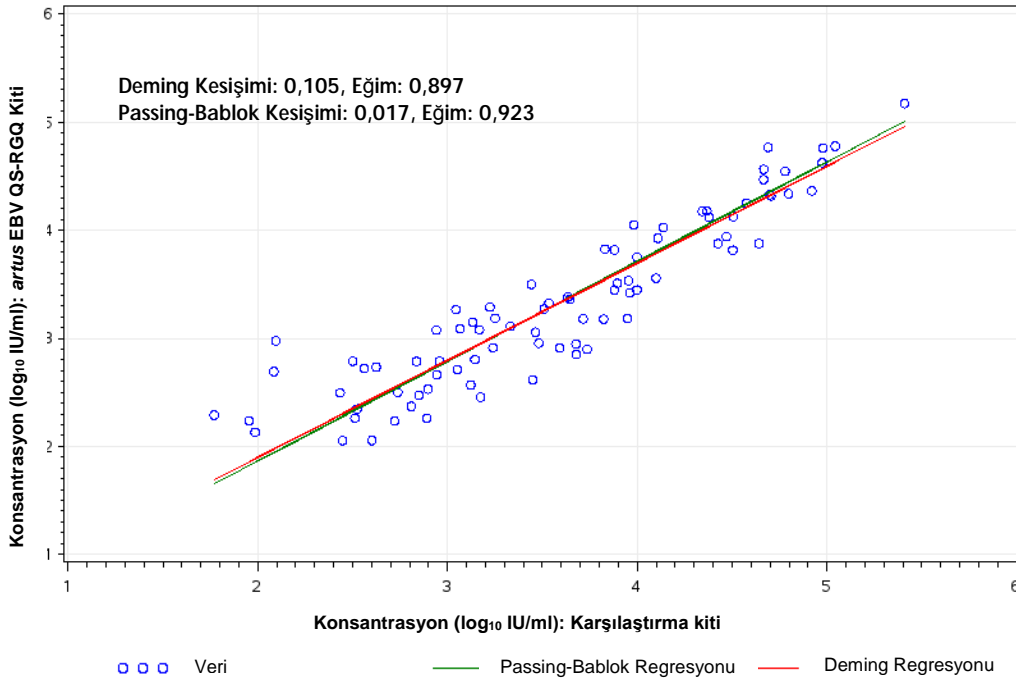
CV: varyasyon katsayısı; EBV: Epstein-Barr virüsü; IS: olumsuz etkileyen madde; SS: standart sapma

Klinik değerlendirme – plazma

artus EBV QS-RGQ Kitinin klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. EBV ile enfekte hastalardan ve ayrıca negatif kontrollerden toplanan toplam 166 EDTA plazma numunesi *artus* EBV QS-RGQ Kitiyle ve karşılaştırılabilir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Sonuçlar iki kısımda analiz edilmiştir: kısım bir Pozitif Yüzde Anlaşma (Positive Percent Agreement, PPA), Negatif Yüzde Anlaşma (Negative Percent Agreement, NPA) ve Genel Yüzde Anlaşma (Overall Percent Agreement, OPA) için kategorik bir anlaşma analizidir; kısım iki Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak analiz dinamik aralığı içindeki toplam 83 EDTA plazma örneğinden sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen korelasyon katsayısı ile bildirilmiştir (bkz. Tablo 3 ve Şekil 3).

Tablo 3. EDTA plazma örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Uyumluluk yüzdesi	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	154/166	92,77	87,71	96,21
Pozitif yüzde anlaşma	100/102	98,04	93,10	99,76
Negatif yüzde anlaşma	54/64	84,38	73,14	92,24



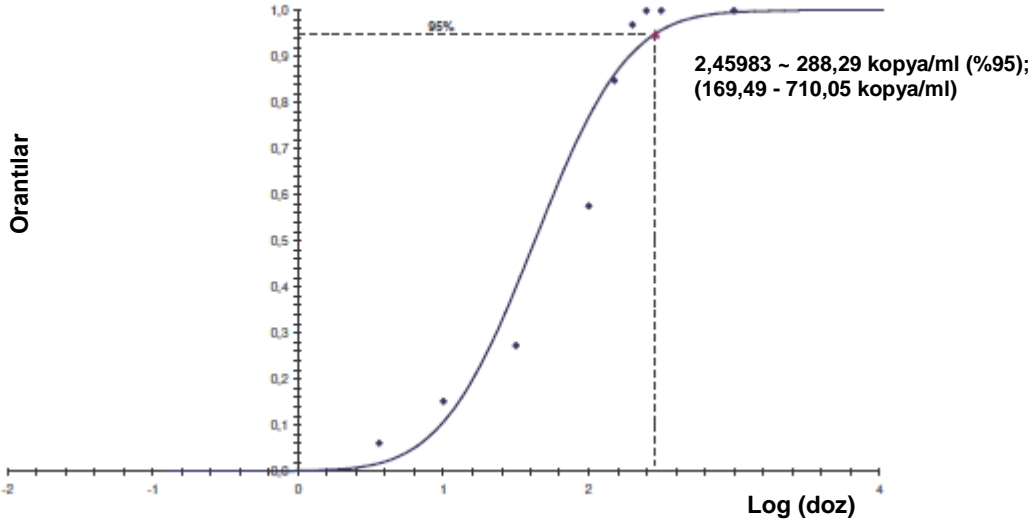
Şekil 3. Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon grafiği. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

İki analiz arasındaki lineer regresyon analizi Pearson Korelasyon Katsayısı olarak 0,922 ve Spearman Korelasyon Katsayısı olarak 0,928 sonucunu vermiştir.

Saptama Limiti – tam kan

Tam kan için *artus* EBV QS-RGQ Kitinin saflaştırılmasıyla ilişkili saptama limiti klinik plazma örnekleri eklenmiş 3160 ila nominal 3,16 EBV kopya/ml şeklinde EBV materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIASymphony DNA Mini Kit ile kombinasyon halinde VirusBlood200_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyona tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 200 µl, elüsyon hacmi: 60 µl). 10 dilüsyonun her biri *artus* EBV QS-RGQ Kitiyle 3 farklı günde her birinde 11 replikatlık 3 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 4'te verilmiştir.

Rotor-Gene Q ile kombinasyon halinde *artus* EBV QS-RGQ Kitin saflaştırılması açısından saptama limiti 288,29 kopya/ml şeklindedir ($p = 0,05$). Bu 288,29 kopya/ml'nin (40,36 IU/ml'ye tekabül eder) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 4. Probit analizi: tam kan, EBV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde *artus* EBV QS-RGQ Kitinin saflaştırılması (tam kan, QIASymphony DNA Mini Kit kullanılarak) dikkate alınarak saptama limiti.

Özgüllük – tam kan

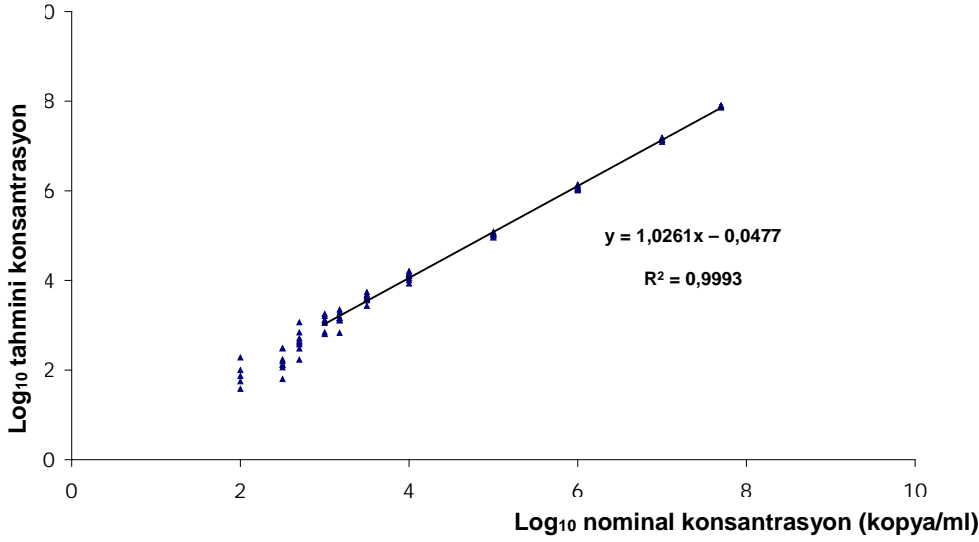
artus EBV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve probların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 30 farklı EBV negatif tam kan örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar EBV RG Master'a dahil edilen EBV'ye spesifik primerler ve problarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

artus EBV QS-RGQ Kitinin olası çapraz-reaktivitesi Tablo 1'de liste halinde verilen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (bkz. sayfa 3). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

Lineer aralık – tam kan

artus EBV QS-RGQ Kitinin saflaştırılmasıyla ilgili lineer aralık tam kanda $5,00 \times 10^7$ kopya/ml ile $1,00 \times 10^3$ kopya/ml aralığındaki EBV materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIASymphony DNA Mini Kit kullanılarak replikatlar ($\geq 1,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 4$; $< 1,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonlar için $n = 8$) şeklinde VirusBlood200_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 200 μ l, elüsyon hacmi: 60 μ l). Örneklerin her biri *artus* EBV QS-RGQ Kiti kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* EBV QS-RGQ Kitin saflaştırılmasıyla ilgili olarak lineer aralık tam kan için $1,00 \times 10^3$ kopya/ml ile $5,00 \times 10^7$ kopya/ml konsantrasyonları ($1,4 \times 10^2$ ila $7,0 \times 10^6$ IU/ml'ye tekabül eder) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. artus EBV QS-RGQ Kiti (tam kan) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log₁₀ nominal konsantrasyonlarla log₁₀ hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

Güçlülük – tam kan

Güçlülüğün doğrulanması *artus* EBV QS-RGQ Kiti toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 51 EBV negatif tam kan örneğine 750 kopya/ml EBV eklenmiştir (analitik hassasiyet limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIASymphony DNA Mini Kit ile kombinasyon halinde VirusBlood200_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında (ekstraksiyon hacmi: 200 µl, elüsyon hacmi: 60 µl) bu örnekler *artus* EBV QS-RGQ Kiti ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 51 ekleme yapılmış tam kan örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* EBV QS-RGQ Kit güçlülüğü %99'dur.

Olumsuz etkileyen maddeler – tam kan

artus EBV QS-RGQ Kitinin sonuçlarını olumsuz etkileyebilecek maddeler test edilmiştir ve bu maddelerin kiti olumsuz etkilemeyen konsantrasyonları Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4. Tam kan örneklerinde olumsuz etkileyen maddeler

EBV konsantrasyonu (kopya/ml)	Olumsuz etkileyen madde		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Control}$
	Madde	Konsantrasyon	Ortalama C_T	SD	CV (%)	Mutlak
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Trigliserit	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/örnek	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/örnek	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/örnek	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/örnek	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontrol	–	–	35,17	0,40	1,13

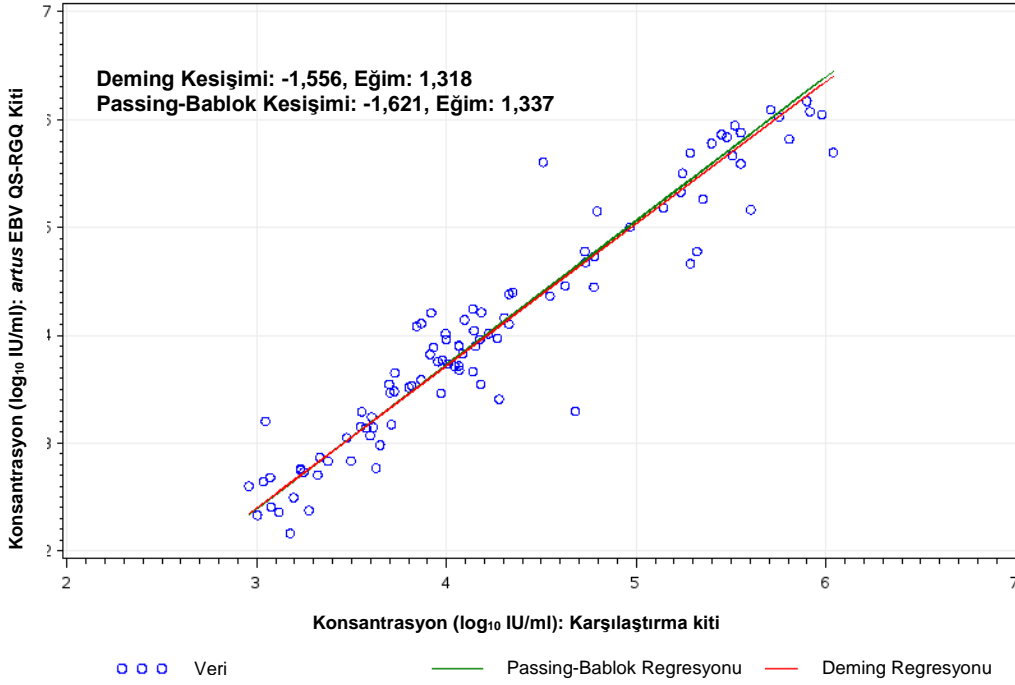
CV: varyasyon katsayısı; EBV: Epstein-Barr virüsü; gDNA: genomik DNA; IS: olumsuz etkileyen madde; SS: standart sapma

Klinik değerlendirme – tam kan

artus EBV QS-RGQ Kitin klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve karşılaştırılabilir bir yöntemle göre analizle değerlendirilmiştir. EBV ile enfekte hastalardan ve ayrıca negatif kontrollerden toplam 178 tam kan numunesi *artus* EBV QS-RGQ Kitle ve karşılaştırılabilir bir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Sonuçlar iki kısımda analiz edilmiştir: kısım bir PPA, NPA ve OPA için kategorik bir anlaşma analizidir; kısım iki Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak analiz dinamik aralığı içindeki toplam 98 tam kan örneğinden sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen korelasyon katsayısı ile bildirilmiştir (bakınız Tablo 5 ve Şekil 6).

Tablo 5. Tam kan örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Uyumluluk yüzdesi	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	169/178	94,94	90,62	97,66
Pozitif yüzde anlaşma	115/119	96,64	91,62	99,08
Negatif yüzde anlaşma	54/59	91,53	81,32	97,19



Şekil 6. Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon grafiği. Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

İki analiz arasındaki lineer regresyon analizi Pearson Korelasyon Katsayısı olarak 0,956 ve Spearman Korelasyon Katsayısı olarak 0,945 sonucunu vermiştir.

Yeniden üretilebilirlik

Yeniden üretilebilirlik verileri *artus* EBV QS-RGQ Kitinin düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik karşılaştırmasına izin verir. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

Çapraz kontaminasyon

Tüm iş akışı için örnekler arasında çapraz kontaminasyon yokluğu temsili bir *artus* QS-RGQ sistemi için alternan pozisyonlarda (dama tahtası paterni) tüm bilinen pozitif ve negatif örneklerin doğru saptanmasıyla ispatlanmıştır.

İlgili ürünler ve sipariş bilgisi *artus* EBV QS-RGQ Kit için el kitabında liste halinde verilmiştir.

Belge revizyon gemiŖi

Eylül 2017

Tablo 5 Tam kan örnekleri için klinik performans alıŖma verileri güncellenmiŖtir. Metin boyunca IU/ml ve kopya/ml konsantrasyon birimleri eklenmiŖtir.

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özel ret beyanları için ilgili QIAGEN® kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Bu belgede kullanılan tescilli isimler, ticari markalar vs. bu Ŗekilde iŖaretlenmemiŖ olsalar bile kanunen koruma altında olmadıkları düşünölmemelidir 09/2017 HB-0357-D01-003 © 2012-2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır

SipariŖ www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web sitesi www.qiagen.com