

Noviembre de 2019

artus[®] EBV QS-RGQ Kit: Características de rendimiento

IVD



REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, Versión 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1



Compruebe la disponibilidad de nuevas revisiones de etiquetado electrónico en [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) antes de realizar la prueba. El estado de revisión actual viene indicado por la fecha de publicación (formato: mes/año).

Límite de detección: plasma

El límite de detección teniendo en cuenta la purificación (límite de sensibilidad) se evaluó para el *artus* EBV QS-RGQ Kit utilizando material de muestras clínicas positivas para EBV en combinación con la extracción con el instrumento QIAasymphony® SP.

En el caso del plasma, el límite de detección teniendo en cuenta la purificación del *artus* EBV QS-RGQ Kit se determinó añadiendo una serie de diluciones de material del EBV de 3160 a 1 copias/ml nominales de EBV a materiales de muestras clínicas de plasma. Estas diluciones se sometieron a la extracción de ADN con el QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 10 diluciones se analizó con el *artus* EBV QS-RGQ Kit en 4 días diferentes y en 4 series analíticas con 8 duplicados cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 1 se muestra una representación gráfica del análisis probit. El límite de detección teniendo en cuenta la purificación del *artus* EBV QS-RGQ Kit en combinación con el Rotor-Gene® Q es de 157 copias/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95 % de que se detecten 157 copias/ml (correspondientes a 22,29 UI/ml).

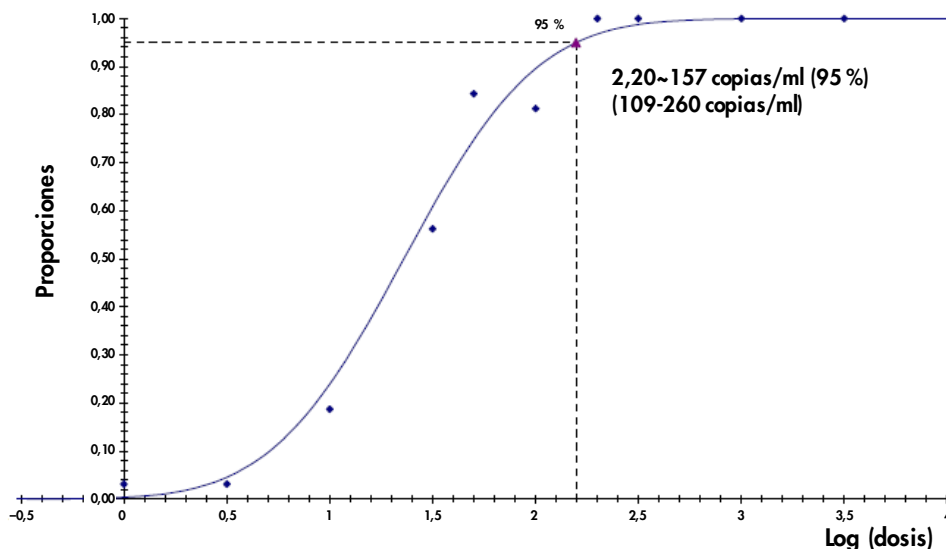


Figura 1. Análisis probit: plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Límite de detección teniendo en cuenta la purificación (plasma, utilizando el QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) y el *artus* EBV QS-RGQ Kit en el Rotor-Gene Q.

Especificidad: plasma

La especificidad del *artus* EBV QS-RGQ Kit se asegura ante todo mediante la selección de los cebadores y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los cebadores y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los genotipos relevantes.

La especificidad se evaluó además con 30 muestras de plasma de EBV negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los cebadores y las sondas específicos del EBV, incluidos en la mezcla maestra EBV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del *artus* EBV QS-RGQ Kit mediante el grupo de control indicado en la tabla 1 (a continuación). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 1. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada

Grupo de control	EBV (Cycling Green)	Control interno (Cycling Yellow)
Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	-	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	-	+
Virus del herpes humano 3 (virus de la varicela zóster)	-	+
Virus del herpes humano 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 1	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 2	-	+

Intervalo lineal: plasma

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del *artus* EBV QS-RGQ Kit se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material del EBV de entre $1,00 \times 10^7$ copias/ml hasta $6,31 \times 10^2$ copias/ml en plasma. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^6$ copias/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^6$ copias/ml) mediante el QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el *artus* EBV QS-RGQ Kit.

Se ha determinado que el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del *artus* EBV QS-RGQ Kit abarca concentraciones de $6,31 \times 10^2$ copias/ml a $1,00 \times 10^7$ copias/ml (correspondientes a unos valores de $8,96 \times 10^1$ a $1,42 \times 10^6$ UI/ml) en el caso del plasma (figura 2).

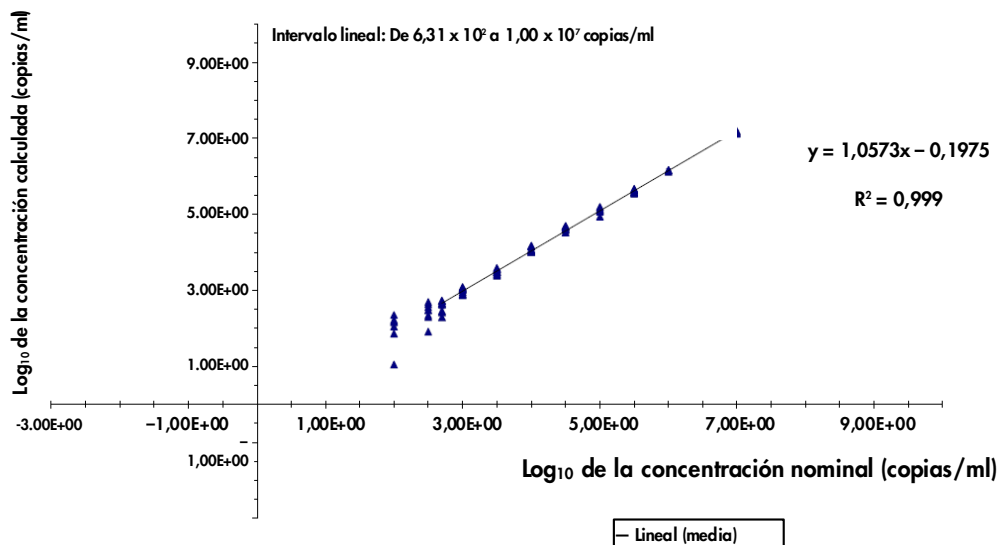


Figura 2. Intervalo lineal del *artus* EBV QS-RGQ Kit (plasma). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del log₁₀ de las concentraciones calculadas con el log₁₀ de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Robustez: plasma

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del *artus* EBV QS-RGQ Kit. Para verificar la robustez se añadieron 500 copias/ml del EBV (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 30 muestras de plasma del EBV negativas. Tras realizar la extracción con el QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl), las muestras se analizaron con el *artus* EBV QS-RGQ Kit. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de las 30 muestras de plasma a las que se había añadido el virus. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del *artus* EBV QS-RGQ Kit es ≥ 99 %.

Sustancias interferentes: plasma

La bilirrubina, la hemoglobina y los triglicéridos no mostraron interferencias con el *artus* EBV QS-RGQ Kit en las concentraciones mostradas en la tabla 2.

Tabla 2. Sustancias interferentes en muestras de plasma con EDTA

Concentración de EBV (copias/ml)	Sustancia interferente		$C_{T(EBV)}$ C_T medio	SD	CV (%)	$\frac{C_{T(EBV) SI} - C_{T(EBV) Control}}{C_{T(EBV) Control}}$ Absoluto
	Elemento	Concentración				
1600	Bilirrubina	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobina	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglicéridos	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albúmina	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Control	-	32,88	0,33	0,99	-

CV: coeficiente de variación; EBV: virus de Epstein-Barr; SI: sustancia interferente; SD: desviación típica.

Evaluación clínica: plasma

El rendimiento clínico del *artus* EBV QS-RGQ Kit se evaluó analizando materiales de muestras clínicas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación. Se analizó un total de 166 materiales de muestras de plasma con EDTA obtenidas de pacientes infectados por el EBV, así como de controles negativos, con el *artus* EBV QS-RGQ Kit y con el método de comparación en un centro externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del porcentaje de concordancia positiva (PCP), del porcentaje de concordancia negativa (PCN) y del porcentaje de concordancia global (PCG); la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 83 muestras de plasma con EDTA que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con el coeficiente de correlación correspondiente (consulte la tabla 3 y la figura 3).

Tabla 3. Datos del estudio de rendimiento clínico para muestras de plasma con EDTA

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 % bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95 % bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	154/166	92,77	87,71	96,21
Porcentaje de concordancia positiva	100/102	98,04	93,10	99,76
Porcentaje de concordancia negativa	54/64	84,38	73,14	92,24

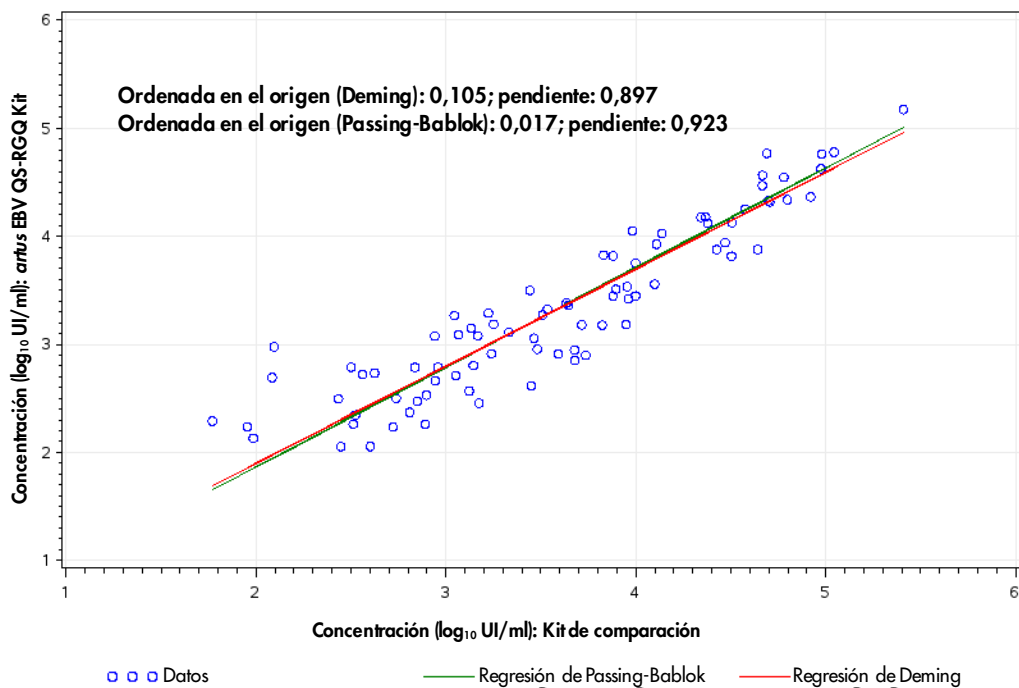


Figura 3. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-Bablok y de Deming. Se incluyen en el análisis las muestras que se encuentran entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El análisis de regresión lineal entre los dos ensayos generó un coeficiente de correlación de Pearson de 0,922 y un coeficiente de correlación de Spearman de 0,928.

Límite de detección: sangre completa

En el caso de sangre completa, el límite de detección teniendo en cuenta la purificación del *artus EBV QS-RGQ Kit* se determinó añadiendo una serie de diluciones de material del EBV de 3160 a 3,16 copias/ml nominales de EBV a materiales de muestras clínicas de sangre completa. Estas se sometieron a la extracción de ADN con el QIA Symphony DNA Mini Kit en combinación con el protocolo VirusBlood200_DSP (volumen de extracción: 200 µl; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 10 diluciones se analizó con el *artus EBV QS-RGQ Kit* en 3 días diferentes y en 3 series analíticas con 11 duplicados cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 4 se muestra una representación gráfica del análisis probit.

El límite de detección teniendo en cuenta la purificación del *artus EBV QS-RGQ Kit* en combinación con el Rotor-Gene Q es de 288,29 copias/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95 % de que se detecten 288,29 copias/ml (correspondientes a 40,36 UI/ml).

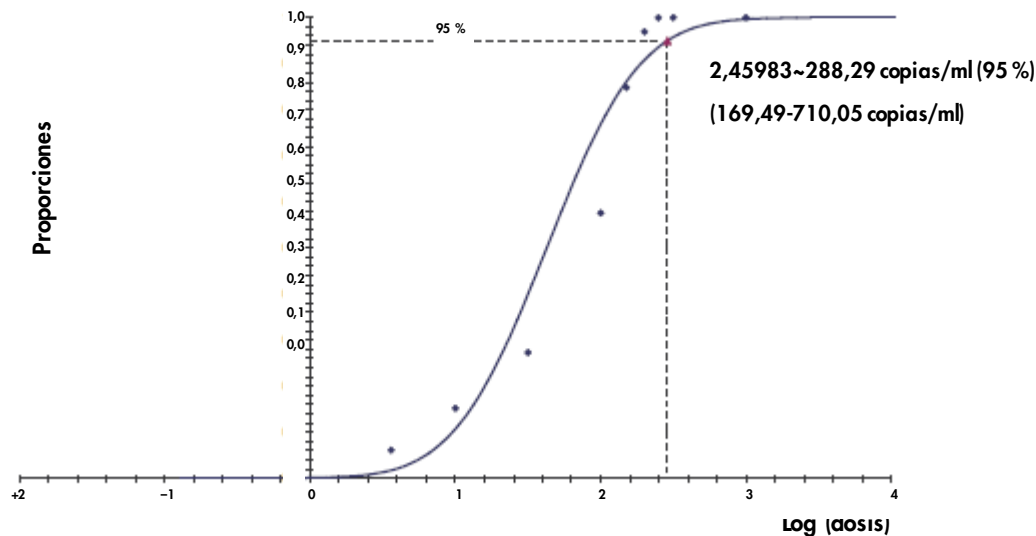


Figura 4. Análisis Probit: sangre completa, EBV (Rotor-Gene Q). Límite de detección teniendo en cuenta la purificación (sangre completa, utilizando el QIAasymphony DNA Mini Kit) del *artus* EBV QS-RGQ Kit en el Rotor-Gene Q.

Especificidad: sangre completa

La especificidad del *artus* EBV QS-RGQ Kit se asegura ante todo mediante la selección de los cebadores y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los cebadores y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los genotipos relevantes.

La especificidad se evaluó además con 30 muestras de sangre completa de EBV negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los cebadores y las sondas específicos del EBV, incluidos en la mezcla maestra EBV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del *artus* EBV QS-RGQ Kit mediante el grupo de control indicado en la tabla 1 (véase la página 3). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Intervalo lineal: sangre completa

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del *artus* EBV QS-RGQ Kit se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material del EBV de entre $5,00 \times 10^7$ copias/ml hasta $1,00 \times 10^3$ copias/ml en sangre completa. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^7$ copias/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^7$ copias/ml) mediante el QIA Symphony DNA Mini Kit en combinación con el protocolo VirusBlood200_DSP (volumen de extracción: 200 μ l; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el *artus* EBV QS-RGQ Kit. Se ha determinado que el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ Kit abarca concentraciones de $1,00 \times 10^3$ copias/ml a $5,00 \times 10^7$ copias/ml (correspondientes a unos valores de $1,4 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^6$ UI/ml) en el caso de la sangre completa (figura 5).

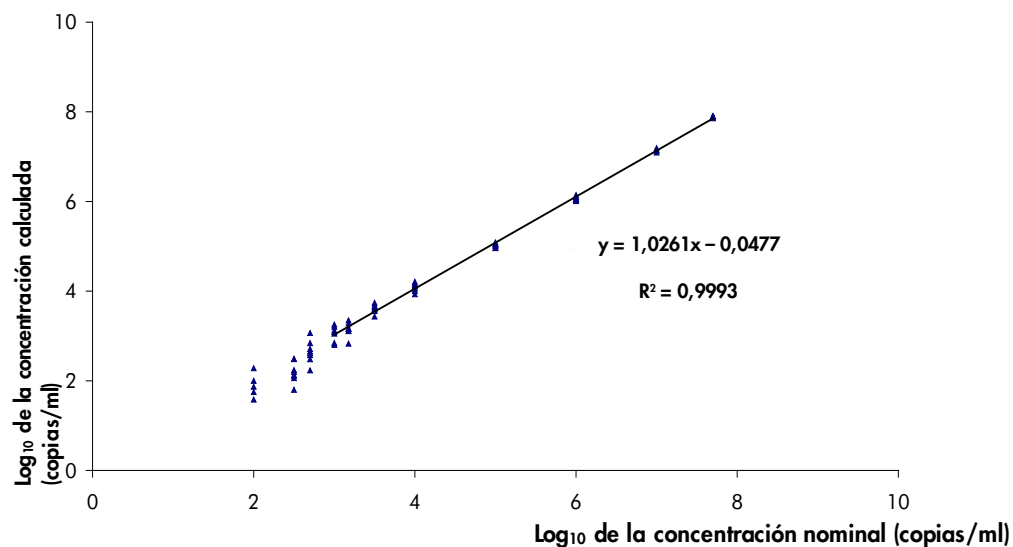


Figura 5. Intervalo lineal del *artus* EBV QS-RGQ Kit (sangre completa). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del \log_{10} de las concentraciones calculadas con el \log_{10} de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Robustez: sangre completa

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del *artus EBV QS-RGQ Kit*. Para verificar la robustez se añadieron 750 copias/ml de EBV (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 51 muestras de sangre completa de EBV negativas. Tras realizar la extracción de ADN con el QIASymphony DNA Mini Kit en combinación con el protocolo VirusBlood200_DSP (volumen de extracción: 200 µl; volumen de elución: 60 µl), las muestras se analizaron con el *artus EBV QS-RGQ Kit*. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de 51 muestras de sangre completa adicionadas. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del *artus EBV QS-RGQ Kit* es $\geq 99\%$.

Sustancias interferentes: sangre completa

Se analizaron las sustancias que podrían interferir en los resultados obtenidos con el *artus EBV QS-RGQ Kit*; en la tabla 4 se muestran las concentraciones de estas sustancias que no interfirieron con el kit.

Tabla 4. Sustancias interferentes en muestras de sangre completa

Concentración de EBV (copias/ml)	Sustancia interferente		C_T medio	$C_{T(EBV)}$		$\frac{C_{T(EBV) SI} - C_{T(EBV) Control}}{C_{T(EBV) Control}}$ Absoluto
	Elemento	Concentración		SD	CV (%)	
2500	Bilirrubina	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglicéridos	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	ADNg	3 µg/muestra	34,79	0,18	0,52	0,38
	ADNg	2,5 µg/muestra	34,57	0,39	1,13	0,60
	ADNg	2 µg/muestra	34,73	0,49	1,41	0,44
	ADNg	1 µg/muestra	34,86	0,22	0,62	0,31
	Control	–	35,17	0,40	1,13	–

CV: coeficiente de variación; EBV: virus de Epstein-Barr; ADNg: ADN genómico; SI: sustancia interferente; SD: desviación típica.

Evaluación clínica: sangre completa

El rendimiento clínico del *artus* EBV QS-RGQ Kit se evaluó analizando el material de muestras clínicas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación. Se analizó un total de 178 materiales de muestra de sangre completa obtenidos de pacientes infectados por el EBV, así como de controles negativos, con el *artus* EBV QS-RGQ Kit y con un método de comparación en un centro externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del PCP, del PCN y del PCG; la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 98 muestras de sangre completa que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con el coeficiente de correlación correspondiente (consulte la tabla 5 y la figura 6).

Tabla 5. Datos del estudio de rendimiento clínico para muestras de sangre completa

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 % bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95 % bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	169/178	94,94	90,62	97,66
Porcentaje de concordancia positiva	115/119	96,64	91,62	99,08
Porcentaje de concordancia negativa	54/59	91,53	81,32	97,19

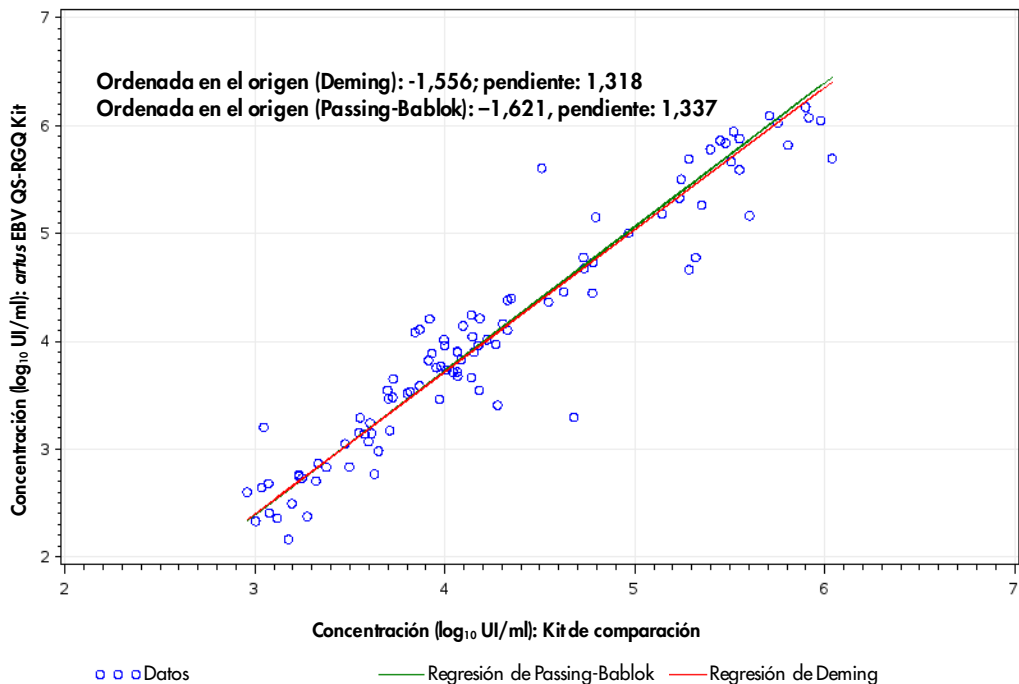


Figura 6. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-Bablok y de Deming. Se incluyen en el análisis las muestras que se encuentran entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El análisis de regresión lineal entre los dos ensayos generó un coeficiente de correlación de Pearson de 0,956 y un coeficiente de correlación de Spearman de 0,945.

Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar periódicamente el rendimiento del *artus* EBV QS-RGQ Kit y comparar su eficiencia con la de otros productos. Estos datos se obtienen por medio de la participación en programas de competencia establecidos.

Contaminación cruzada

Se ha demostrado la ausencia de una contaminación cruzada entre las muestras para el flujo de trabajo completo por medio de la detección correcta de todas las muestras positivas y negativas conocidas en posiciones alternantes (patrón de cuadrícula) para un sistema *artus* QS-RGQ representativo.

En el manual de uso del *artus* EBV QS-RGQ Kit encontrará los productos relacionados y la información para pedidos.

Historial de revisiones del documento

Fecha	Cambios
R1 11/2019	Se ha actualizado la versión del <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit de la versión 1 a la versión 2; actualizaciones de diseño.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales del usuario y los manuales del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley.
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

