

September 2017

artus[®] EBV QS-RGQ Kit: Ytelsesegenskaper

IVD



REF

4501363NO artus EBV QS-RGQ Kit, Version 1.

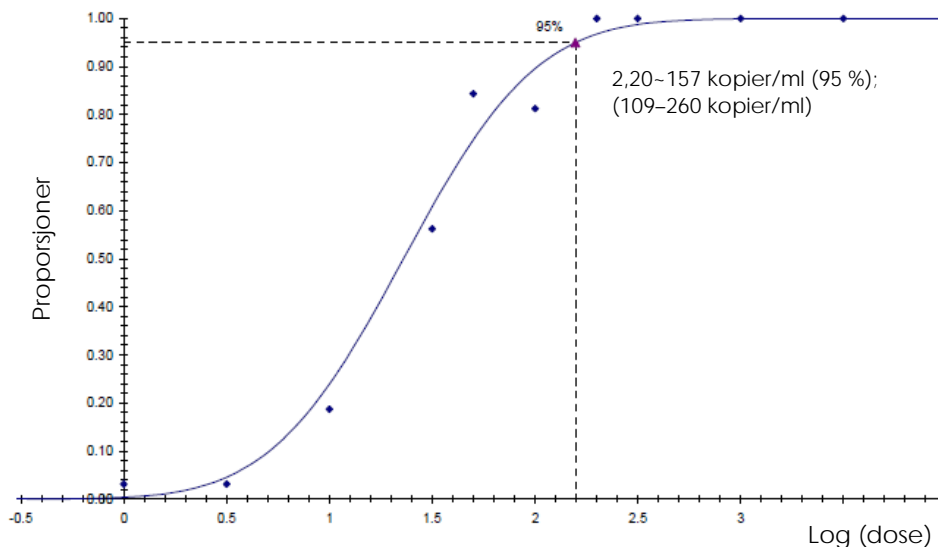


Se etter nye elektroniske dokumentasjonsoppdateringer på www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx før testen utføres. Gjeldende revisjonsstatus indikeres av utgivelsesdato (format: måned/år).

Deteksjonsgrense – plasma

Deteksjonsgrensen med hensyn til rensingen (følsomhetsgrense) ble vurdert for *artus* EBV QS-RGQ-settet ved bruk av EBV-positive kliniske prøver i kombinasjon med ekstraheringen på QIAsymphony® SP.

For plasma ble deteksjonsgrensen med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet bestemt ved bruk av en fortyningsserie av EBV-materiale fra 3160 til nominelt 1 EBV kopi/ml tilsatt i kliniske plasmaprøver. Disse ble utsatt for DNA-ekstrahering ved bruk av QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi-settet i kombinasjon med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60 µl). Hver av de 10 fortyningene ble analysert med *artus* EBV QS-RGQ-settet på 4 ulike dager i 4 kjøring med 8 replikater i hver. Resultatene ble bestemt av en probitanalyse. En grafisk illustrasjon av probitanalysen vises i figur 1. Deteksjonsgrensen med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet i kombinasjon med Rotor-Gene® Q er 157 kopier/ml ($p = 0,05$). Dette betyr at det er en sannsynlighet på 95 % for at 157 kopier/ml (tilsvarende 22,29 IU/ml) vil bli påvist.



Figur 1. Probitanalyse: plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Deteksjonsgrense med hensyn til rensingen (plasma, ved bruk av QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi-settet) og *artus* EBV QS-RGQ-settet på Rotor-Gene Q

Spesifisitet – plasma

Spesifisiteten til *artus* EBV QS-RGQ-settet er først og fremst sikret gjennom valget av primere og prober, samt valget av strenge reaksjonsbetingelser. Primere og prober ble kontrollert for mulige homologier for alle sekvenser som er utgitt i genbanker etter sekvenssammenligningsanalyse. Påvisningsevnen for alle relevante genotyper har dermed blitt sikret.

Videre ble spesifisiteten validert med 30 ulike EBV-negative plasmaprøver. Disse genererte ikke noen signaler med de EBV-spesifikke primerne og probene, som er inkludert i EBV RG Master.

En potensiell kryssreaktivitet for *artus* EBV QS-RGQ-settet ble testet ved bruk av kontrollgruppen som er opplistet i tabell 1 nedenfor. Ingen av de testede patogenene har vært reaktive. Ingen kryssreaktiviteter vist med blandede infeksjoner.

Tabell 1. Testing av spesifisiteten til settet med potensielt kryssreaktive patogener

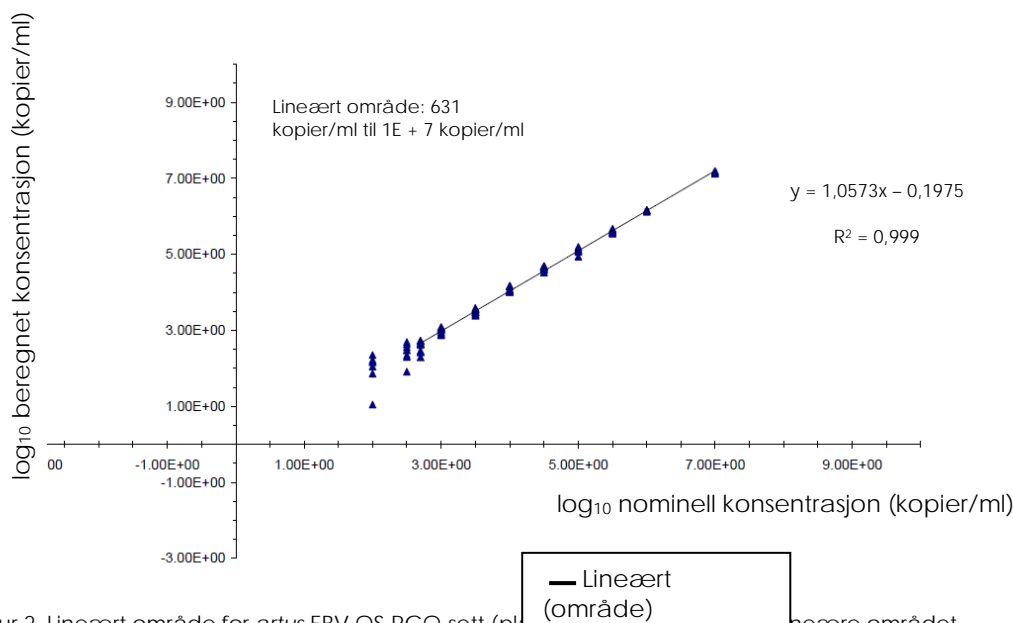
Kontrollgruppe	EBV (Cycling Green)	Intern kontroll (Cycling Yellow)
Humant herpesvirus 1 (herpes simplex-virus 1)	-	+
Humant herpesvirus 2 (herpes simplex-virus 2)	-	+
Humant herpesvirus 3 (varicella-zoster-virus)	-	+
Humant herpesvirus 5 (cytomegalovirus)	-	+
Humant T-celleleukemivirus 1	-	+
Humant T-celleleukemivirus 2	-	+

Lineært område – plasma

Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet ble bestemt ved å analysere en fortyningsserie av EBV-materiale som strekker seg fra $1,00 \times 10^7$ kopier/ml til $6,31 \times 10^2$ kopier/ml i plasma. Rensingen ble utført i replikater ($n = 4$ for konsentrasjoner $\geq 1,00 \times 10^6$ kopier/ml; $n = 8$ for konsentrasjoner $< 1,00 \times 10^6$ kopier/ml) ved bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett i kombinasjon med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml,

elusjonsvolum: 60 µl). Hver av prøvene ble analysert ved bruk av *artus* EBV QS-RGQ-settet.

Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet har blitt fastsatt til å dekke konsentrasjoner fra $6,31 \times 10^2$ kopier/ml til $1,00 \times 10^7$ kopier/ml (tilsvarende $8,96 \times 10^1$ til $1,42 \times 10^6$ IU/ml) for plasma (figur 2).



Figur 2. Lineært område for *artus* EBV QS-RGQ-sett (plasma). Den rette linjen ble bestemt ved en lineær regresjon av log₁₀-kalkulerte konsentrasjoner med log₁₀-nominelle konsentrasjoner. Ligningen til regresjonslinjen er inkludert på figuren.

Robusthet – plasma

Verifisering av robustheten gjør det mulig å fastsette den totale feilraten for *artus* EBV QS-RGQ-settet. For å verifisere robustheten ble 30 EBV-negative plasmaprøver tilsatt 500 kopier/ml av EBV (omtrent tredobbel konsentrasjon av den analytiske følsomhetsgrensen). Etter ekstraheringen ved bruk av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi-sett i kombinasjon med Cellfree1000_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 1 ml, elusjonsvolum: 60 µl) ble disse prøvene analysert med *artus* EBV QS-RGQ-settet. I tillegg ble robustheten for den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av de 30 tilsatte plasmaprøvene. Inhiberinger ble ikke observert. Dermed er robustheten til *artus* EBV QS-RGQ-settet ≥ 99 %.

Forstyrrende substanser – plasma

Billirubin, hemoglobin og triglyserider viste ingen interferens med *artus* EBV QS-RGQ-settet ved konsentrasjoner som vist i tabell 2.

Tabell 2. Forstyrrende substanser i EDTA-plasmaprøver

EBV-konsentrasjon (kopier/ml)	Forstyrrende substans		C _{T(EBV)}			C _{T(EBV) IS} – C _{T(EBV)-kontroll}
	Element	Konsentrasjon	Gjennomsnittlig C _T	SD	CV (%)	Absolutt
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
	Triglyserid	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumin	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Kontroll	–	32,88	0,33	0,99	–

CV: variasjonskoeffisient; EBV: Epstein-Barr-virus; IS: forstyrrende substans; SD: standardavvik

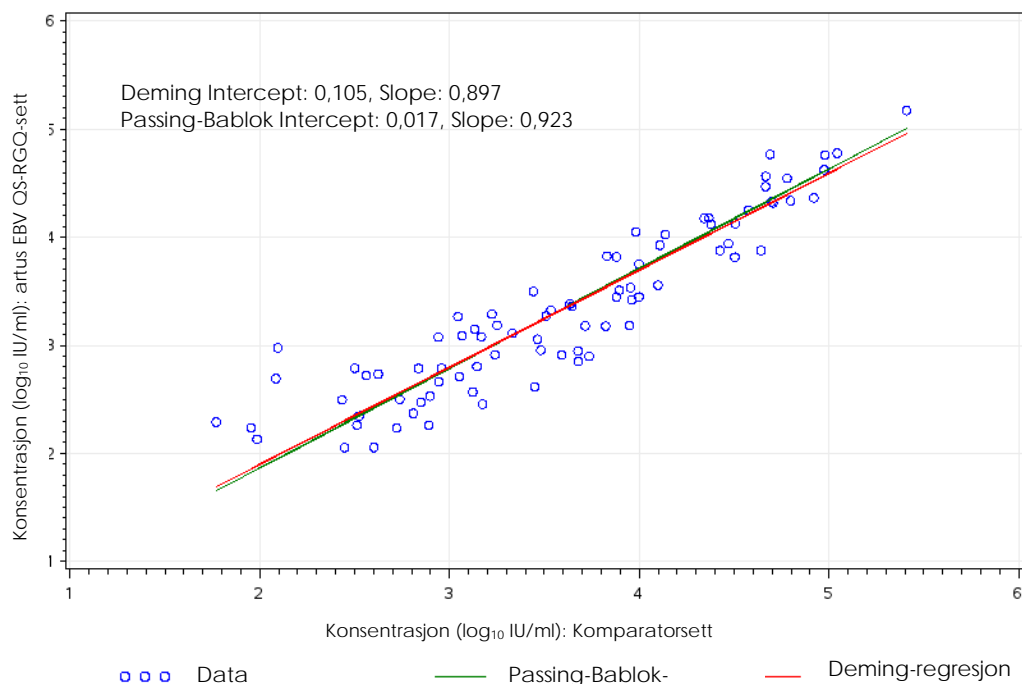
Klinisk evaluering – plasma

Den kliniske ytelsen til *artus* EBV QS-RGQ-settet ble evaluert ved å teste kliniske prøver og analysere funnene mot resultatene fra en sammenlignbar metode. Totalt 166 prøver med

EDTA-plasma samlet inn fra EBV-smittede pasienter samt fra negative kontroller ble testet med *artus* EBV QS-RGQ-settet og den sammenlignbare metoden ved en ekstern institusjon. Resultatene ble analysert i to deler: del én var en kategorisk overensstemmelsesanalyse av positiv prosentmessig overensstemmelse (Positive Percent Agreement, PPA), negativ prosentmessig overensstemmelse (Negative Percent Agreement, NPA) og total prosentmessig overensstemmelse (Overall Percent Agreement, OPA); del to var en analyse av resultatene fra totalt 83 EDTA-plasmaprøver som falt innenfor det normale dynamiske området for analysen ved bruk av Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyser, med funnene rapportert sammen med den tilsvarende korrelasjonskoeffisienten (se tabell 3 og figur 3).

Tabell 3. Kliniske ytelsesstudiedata for EDTA-plasmaprøver

Måling av overensstemmelse	Frekvenser	Prosentmessig overensstemmelse	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial nedre tosidig 95 % konfidensgrense	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial øvre tosidig 95 % konfidensgrense
Total prosentmessig overensstemmelse	154/166	92,77	87,71	96,21
Positiv prosentmessig overensstemmelse	100/102	98,04	93,10	99,76
Negativ prosentmessig overensstemmelse	54/64	84,38	73,14	92,24



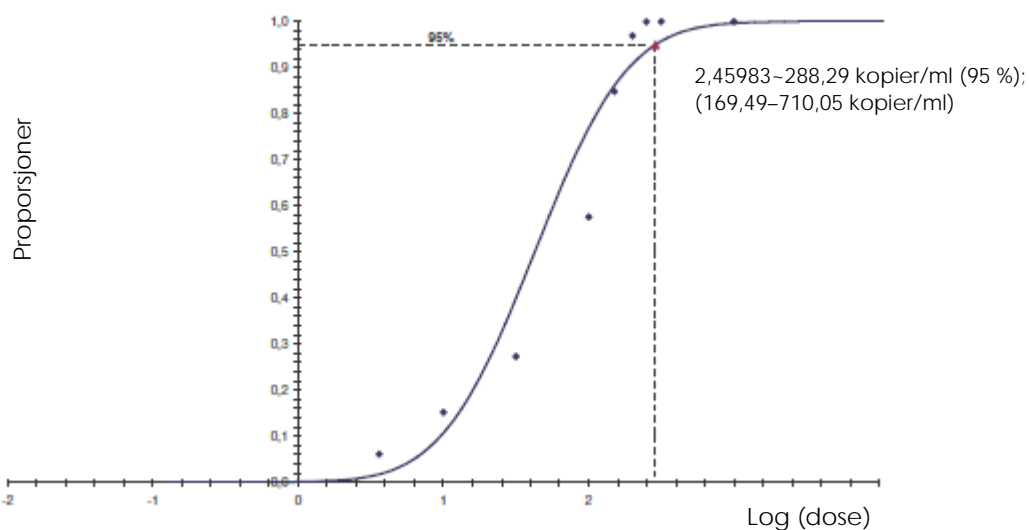
Figur 3. Regresjonsplott med Passing-Bablok- og Deming-linjer. Prøver som er mellom den nedre kvantifiseringsgrensen og øvre kvantifiseringsgrensen for begge sett, er inkludert i analysen.

Lineær regresjonsanalyse mellom de to analysene førte til en Pearson-korrelasjonskoeffisient på 0,922 og Spearman-korrelasjonskoeffisient på 0,928.

Deteksjonsgrense – fullblod

For fullblod ble den analytiske følsomheten med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet bestemt ved bruk av en fortynningsserie av EBV-materiale fra 3160 til nominelt 3,16 EBV kopier/ml tilsatt i humane fullblodsprøver. Disse ble utsatt for DNA-ekstrahering ved bruk av QIASymphony DNA Mini-settet i kombinasjon med VirusBlood200_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 200 µl, elusjonsvolum: 60 µl). Hver av de 10 fortynningene ble analysert med *artus* EBV QS-RGQ-settet på 3 ulike dager i 3 kjøringar med 11 replikater i hver. Resultatene ble bestemt av en probitanalyse. En grafisk illustrasjon av probitanalysen vises i figur 4.

Deteksjonsgrensen med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet i kombinasjon med Rotor-Gene Q er 288,29 kopier/ml ($p = 0,05$). Dette betyr at det er en sannsynlighet på 95 % for at 288,29 kopier/ml (tilsvarende 40,36 IU/ml) vil bli påvist.



Figur 4. Probitanalyse: Fullblod, EBV (Rotor-Gene Q). Deteksjonsgrense med hensyn til rensingen (fullblod, ved bruk av QIASymphony DNA Mini-settet) av *artus* EBV QS-RGQ-settet på Rotor-Gene Q.

Spesifisitet – fullblod

Spesifisiteten til *artus* EBV QS-RGQ-settet er først og fremst sikret gjennom valget av primere og prober, samt valget av strenge reaksjonsbetingelser. Primere og prober ble kontrollert for mulige homologier for alle sekvenser som er utgitt i genbanker etter sekvenssammenligningsanalyse. Påvisningsevnen for alle relevante genotyper har dermed blitt sikret.

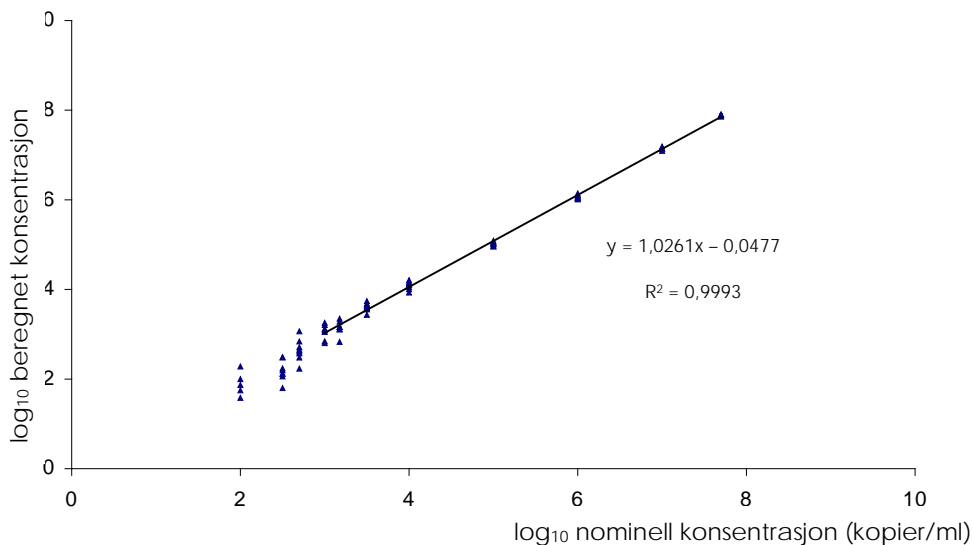
Videre ble spesifiteten validert med 30 ulike EBV-negative fullblodsprøver. Disse genererte ikke noen signaler med de EBV-spesifikke primerne og probene, som er inkludert i EBV RG Master.

En potensiell kryssreaktivitet for *artus* EBV QS-RGQ-settet ble testet ved bruk av kontrollgruppen som er opplistet i tabell 1 (se side 3). Ingen av de testede patogenene har vært reaktive. Ingen kryssreaktiviteter vistes med blandede infeksjoner.

Lineært område – fullblod

Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* EBV QS-RGQ-settet ble bestemt ved å analysere en fortyningsserie av EBV-materiale i området $5,00 \times 10^7$ kopier/ml til $1,00 \times 10^3$ kopier/ml i fullblod. Rensingen ble utført i replikater ($n = 4$ for konsentrasjoner $\geq 1,00 \times 10^7$ kopier/ml; $n = 8$ for konsentrasjoner $< 1,00 \times 10^7$ kopier/ml) ved bruk av QIASymphony DNA Mini-settet i kombinasjon med VirusBlood200_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 200 μ l, elusjonsvolum: 60 μ l). Hver av prøvene ble analysert ved bruk av *artus* EBV QS-RGQ-settet. Det lineære området med hensyn til rensingen av *artus* EBV

QS-RGQ-settet har blitt fastsatt til å dekke konsentrasjoner fra $1,00 \times 10^3$ kopier/ml til $5,00 \times 10^7$ kopier/ml (tilsvarende $1,4 \times 10^2$ til $7,0 \times 10^6$ IU/ml) for fullblod (figur 5).



Figur 5. Lineært område for *artus* EBV QS-RGQ-settet (fullblod). Beregning av det lineære området. Den rette linjen ble bestemt ved en lineær regresjon av log₁₀-kalkulerte konsentrasjoner med log₁₀-nominelle konsentrasjoner. Ligningen til regresjonslinjen er inkludert på figuren.

Robusthet – fullblod

Verifisering av robustheten gjør det mulig å fastsette den totale feilraten for *artus* EBV QS-RGQ-settet. For å verifisere robustheten ble 51 EBV-negative fullblodsprøver tilsatt 750 kopier/ml av EBV (omtrent tredobbel konsentrasjon av den analytiske følsomhetsgrensen). Etter ekstraheringen ved bruk av QIASymphony DNA Mini-settet i kombinasjon med VirusBlood200_DSP-protokollen (ekstraheringsvolum: 200 µl, elusjonsvolum: 60 µl) ble disse prøvene analysert med *artus* EBV QS-RGQ-settet. I tillegg ble robustheten for den interne kontrollen vurdert ved rensing og analyse av de 51 tilsatte fullblodsprøvene. Inhiberinger ble ikke observert. Dermed er robustheten til *artus* EBV QS-RGQ-settet $\geq 99\%$.

Forstyrrende substanser – fullblod

Substanser som potensielt kan forstyrre resultatene fra *artus* EBV QS-RGQ-settet ble testet, og konsentrasjonene av disse substansene som ikke forstyrret settet, vises i tabell 4.

Tabell 4. Forstyrrende substanser i fullblodsprøver

EBV-konsentrasjon (kopier/ml)	Forstyrrende substans		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV)IS} - C_{T(EBV)kontroll}$
	Element	Konsentrasjon	Gjennomsnittlig C_T	SD	CV (%)	Absolutt
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglyserid	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/prøve	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/prøve	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/prøve	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/prøve	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontroll	-	35,17	0,40	1,13	-

CV: variasjonskoeffisient; EBV: Epstein-Barr-virus; gDNA: genomisk DNA; IS: forstyrrende substans; SD: standardavvik

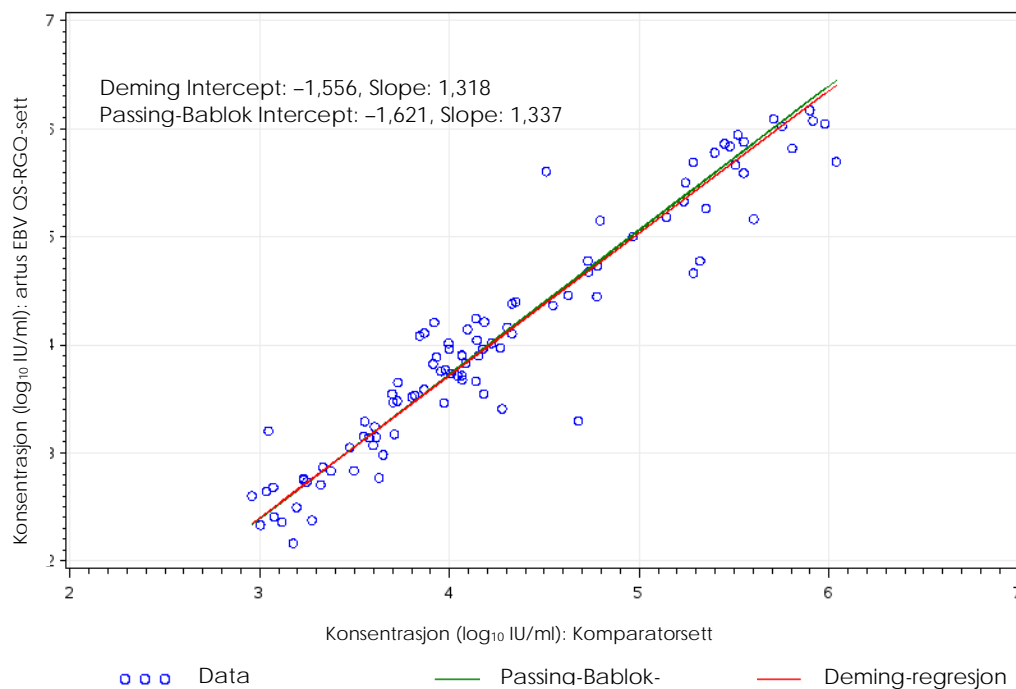
Klinisk evaluering – fullblod

Den kliniske ytelsen til *artus* EBV QS-RGQ-settet ble evaluert ved å teste kliniske prøver og analysere mot en sammenlignbar metode. Totalt 178 prøver med fullblod fra EBV-smittede pasienter samt fra negative kontroller ble testet med *artus* EBV QS-RGQ-settet og med en sammenlignbar metode ved en ekstern institusjon. Resultatene ble analysert i to deler: del én var en kategorisk overensstemmelsesanalyse av PPA, NPA og OPA; del to var en analyse av resultatene fra totalt 98 fullblodsprøver som falt innenfor det normale dynamiske området for analysen ved bruk av Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyser, med funnene rapportert sammen med den tilsvarende korrelasjonskoeffisienten (se tabell 5 og figur 6).

Tabell 5. Kliniske ytelsesstudiedata for fullblodsprøver

Måling av overensstemmelse	Frekvenser	Prosentmessig overensstemmelse	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial nedre tosidig 95 % konfidensgrense	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial øvre tosidig 95 % konfidensgrense
Total prosentmessig overensstemmelse	169/178	94,94	90,62	97,66
Positiv prosentmessig overensstemmelse	115/119	96,64	91,62	99,08

Måling av overensstemmelse	Frekvenser	Prosentmessig overensstemmelse	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial nedre tosidig 95 % konfidensgrense	Clopper-Pearson (nøyaktig) binomial øvre tosidig 95 % konfidensgrense
Negativ prosentmessig overensstemmelse	54/59	91,53	81,32	97,19



Figur 6. Regresjonsplott med Passing-Bablok- og Deming-linjer. Prøver som er mellom den nedre kvantifiseringsgrensen og øvre kvantifiseringsgrensen for begge sett, er inkludert i analysen.

Lineær regresjonsanalyse mellom de to analysene førte til en Pearson-korrelasjonskoeffisient på 0,956 og Spearman-korrelasjonskoeffisient på 0,945.

Reproduserbarhet

Reproduserbarhetsdata gjør det mulig med en regelmessig ytelsesvurdering av *artus EBV*

QS-RGQ-settet samt en effektivitetssammenligning med andre produkter. Disse dataene oppnås gjennom deltakelsen i etablerte ferdighetsprogrammer.

Krysskontaminering

Fravær av krysskontaminering mellom prøver for hele arbeidsflyten ble bevist av korrekt påvisning av alle kjent positive og negative prøver i vekslende posisjoner (sjakkbrettmønster) for et representerende *artus* QS-RGQ-system.

Relaterte produkter og bestillingsinformasjon er opplistet i håndboken for *artus* EBV QS-RGQ-settet.

Dokumentets revisjonshistorikk

September 2017	Oppdaterte tabell 5 om kliniske ytelsesstudiedata for fullblodsprøver. La til konsentrasjonenheter på IU/ml i tillegg til kopier/ml i hele dokumentet.
----------------	--

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive QIAGEN®-setthåndboken eller brukerhåndboken. QIAGEN setthåndbøker og brukerhåndbøker er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan forespørres fra QIAGENS tekniske tjenester eller din lokale distributør.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).
Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke betraktes som ubeskyttet av lov, selv om de ikke spesifikt er merket som dette 09/2017 HB-0357-D01-003
© 2012–2017 QIAGEN, alle rettigheter forbeholdt

Ordering www.qiagen.com/shop | Technical Support support.qiagen.com | Website
www.qiagen.com