

Settembre 2017

Kit *artus*[®] EBV QS-RGQ: Caratteristiche delle prestazioni

IVD



REF

4501363IT Kit *artus* EBV QS-RGQ, versione 1.



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche sul sito www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx.
Lo stato della revisione è indicato dalla data di rilascio (formato: mese/anno).

Limite di rilevabilità – plasma

Il limite di rilevabilità, tenendo conto della purificazione (limite di sensibilità), è stato calcolato per il kit *artus* EBV QS-RGQ utilizzando campioni clinici EBV-positivi in combinazione con l'estrazione sul QIAAsymphony® SP.

Per il plasma, il limite di rilevabilità (tenendo conto della purificazione) del kit *artus* EBV QS-RGQ è stato determinato utilizzando una serie di diluizioni del materiale EBV da 3160 copie al valore nominale di 1 copia/ml di EBV, aggiunte ai campioni clinici di plasma. I campioni sono stati sottoposti ad estrazione del DNA con il kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione con il protocollo Cellfree1000_DSP (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 µl). Ciascuna delle 10 diluizioni è stata analizzata con il kit *artus* EBV QS-RGQ in 4 giorni diversi nell'ambito di 4 sedute con 8 replicati ciascuna. I risultati sono stati determinati mediante un'analisi probit. La Figura 1 illustra graficamente l'analisi probit. Il limite di rilevabilità del kit *artus* EBV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione in combinazione con il Rotor-Gene® Q, è di 157 copie/ml ($p = 0,05$). Ciò significa che esiste una probabilità del 95% che vengano rilevate 157 copie/ml (corrispondenti a 22,29 IU/ml).

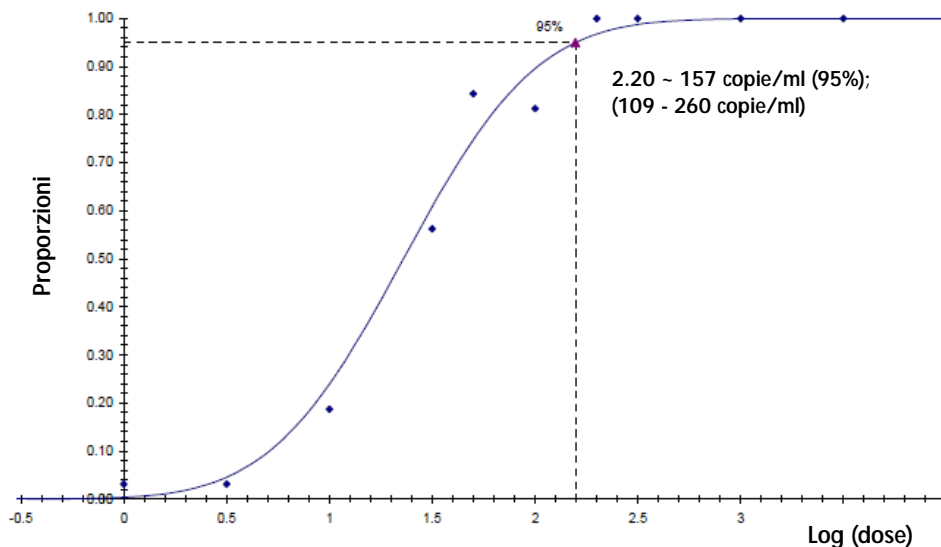


Figura 1. Analisi probit: plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Limite di rilevabilità, tenendo conto della purificazione (plasma, utilizzando il kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi) e il kit *artus* EBV QS-RGQ sul Rotor-Gene Q.

Specificità – plasma

La specificità del kit *artus* EBV QS-RGQ è garantita in primo luogo dalla selezione dei primer e delle sonde, e poi dalla selezione di condizioni di reazione stringenti. I primer e le sonde sono stati controllati per accertare eventuali omologie con tutte le sequenze pubblicate nelle banche genetiche mediante analisi comparativa delle sequenze. È stata così assicurata la rilevabilità di tutti i genotipi rilevanti.

Inoltre, la specificità è stata convalidata con 30 diversi campioni di plasma EBV-negativi. Questi campioni non hanno generato segnali con i primer e le sonde specifici di EBV inclusi nell'EBV RG Master.

È stata rilevata una potenziale cross-reattività del kit *artus* EBV QS-RGQ utilizzando il gruppo di controllo elencato nella sottostante Tabella 1. Nessuno dei patogeni testati è risultato reattivo. Non sono state riscontrate cross-reattività con infezioni miste.

Tabella 1. Analisi della specificità del kit con patogeni potenzialmente cross-reattivi

Gruppo di controllo	EBV (Cycling Green, ciclo verde)	Controllo interno (Cycling Yellow, ciclo giallo)
Virus dell'herpes umano 1 (virus herpes simplex 1)	-	+
Virus dell'herpes umano 2 (virus herpes simplex 2)	-	+
Virus dell'herpes umano 3 (virus della varicella-zoster)	-	+
Virus dell'herpes umano 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus umano di tipo 1 della leucemia dei linfociti T	-	+
Virus umano di tipo 2 della leucemia dei linfociti T	-	+

Range lineare – plasma

Il range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) è stato determinato analizzando una serie di diluizioni del materiale EBV in un range da $1,00 \times 10^7$ copie/ml a $6,31 \times 10^2$ copie/ml nel plasma. La purificazione è stata eseguita in replicati ($n = 4$ per concentrazioni $\geq 1,00 \times 10^6$ copie/ml; $n = 8$ per concentrazioni $< 1,00 \times 10^6$ copie/ml) utilizzando il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione con il protocollo Cellfree1000_DSP (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 μ l). Ogni campione è stato analizzato con il kit *artus* EBV QS-RGQ.

Il range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione, è stato determinato per coprire le concentrazioni da $6,31 \times 10^2$ copie/ml a $1,00 \times 10^7$ copie/ml (corrispondenti al range da $8,96 \times 10^1$ a $1,42 \times 10^6$ IU/ml) per il plasma (Figura 2).

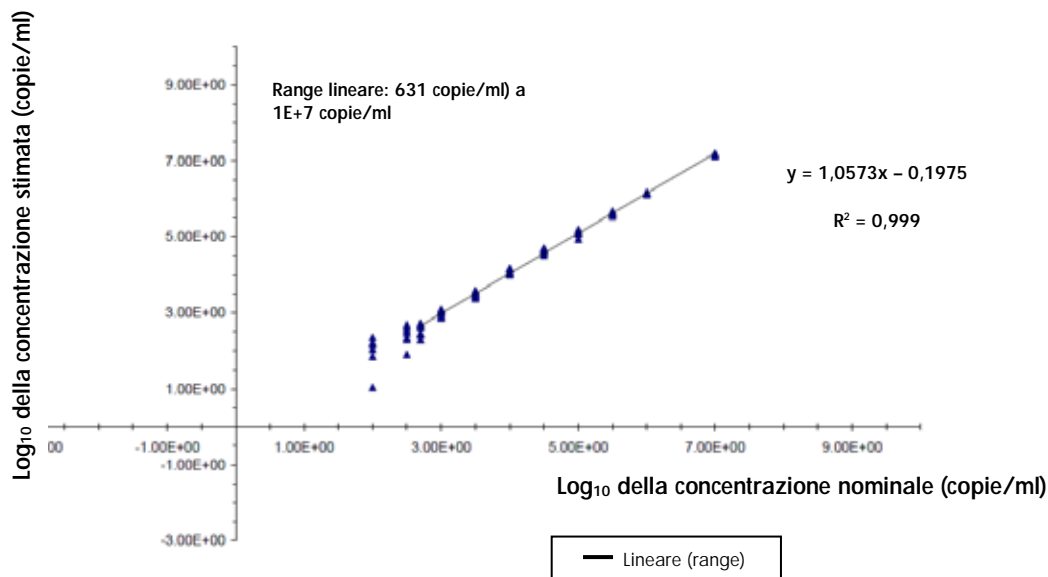


Figura 2. Range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ (plasma). Calcolo del range lineare. La linea retta è stata determinata mediante una regressione lineare del \log_{10} delle concentrazioni calcolate con il \log_{10} delle concentrazioni nominali. La figura mostra l'equazione della linea di regressione.

Robustezza – plasma

La verifica della robustezza consente la determinazione del tasso globale d'errore del kit *artus* EBV QS-RGQ. Per verificare la robustezza, 30 campioni di plasma EBV-negativi sono stati arricchiti con 500 copie/ml di EBV (concentrazione pari all'incirca a tre volte il limite di sensibilità analitica). In seguito ad estrazione con il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione con il protocollo Cellfree1000_DSP (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 μ l), i campioni sono stati analizzati con il kit *artus* EBV QS-RGQ. Inoltre, la robustezza del controllo interno è stata valutata mediante purificazione e analisi dei 30 campioni di plasma arricchiti. Non sono state riscontrate inibizioni di alcun genere. La robustezza del kit *artus* EBV QS-RGQ è pari al ³99%.

Sostanze interferenti – plasma

La bilirubina, l'emoglobina e i trigliceridi non hanno mostrato interferenze con il kit *artus* EBV QS-RGQ alle concentrazioni riportate nella Tabella 2.

Tabella 2. Sostanze interferenti in campioni di plasma trattati con EDTA

Concentrazione di EBV (copie/ml)	Sostanza interferente		C _T medio	C _T (EBV)		C _T (EBV) IS – C _T (EBV) Controllo Assoluto
	Elemento	Concentrazione		DS	CV* (%)	
1600	Bilirubina	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Emoglobina	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Trigliceridi	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumina	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Controllo	-	32,88	0,33	0,99	-

CV: coefficiente di variazione, EBV: Virus di Epstein-Barr; SI: sostanza interferente; DS: deviazione standard

Valutazione clinica – plasma

Le prestazioni cliniche del kit *artus* EBV QS-RGQ sono state valutate utilizzando campioni clinici e analizzando i relativi riscontri rispetto ai risultati ottenuti applicando un metodo confrontabile. Con il kit *artus* EBV QS-RGQ e il metodo confrontabile, presso un centro esterno sono stati analizzati in totale 166 campioni di plasma trattati con EDTA prelevati da pazienti affetti da infezione da EBV e da controlli negativi. I risultati sono stati analizzati in due parti: per la parte uno si è trattato di un'analisi categorica di Concordanza Percentuale di Positività (Positive Percent Agreement, PPA), Concordanza Percentuale di Negatività (Negative Percent Agreement, NPA) e Concordanza Percentuale Complessiva (Overall Percent Agreement, OPA); nella parte due è stata condotta un'analisi dei risultati su un totale di 83 campioni di plasma trattati con EDTA, che rientravano entro l'intervallo dinamico comune del test, utilizzando le analisi di regressione di Deming e Passing-Bablok, riportando i risultati assieme al corrispondente coefficiente di correlazione (vedere Tabella 3 e Figura 3).

Tabella 3. Dati dello studio sulle prestazioni cliniche per campioni di plasma trattati con EDTA

Misura della concordanza	Frequenze	Concordanza percentuale	Limite inferiore di confidenza bilaterale al 95% binomiale di Clopper-Pearson (esatto)	Limite superiore di confidenza bilaterale al 95% binomiale di Clopper-Pearson (esatto)
Concordanza percentuale totale	154/166	92,77	87,71	96,21
Concordanza percentuale di positività	100/102	98,04	93,10	99,76
Concordanza percentuale di negatività	54/64	84,38	73,14	92,24

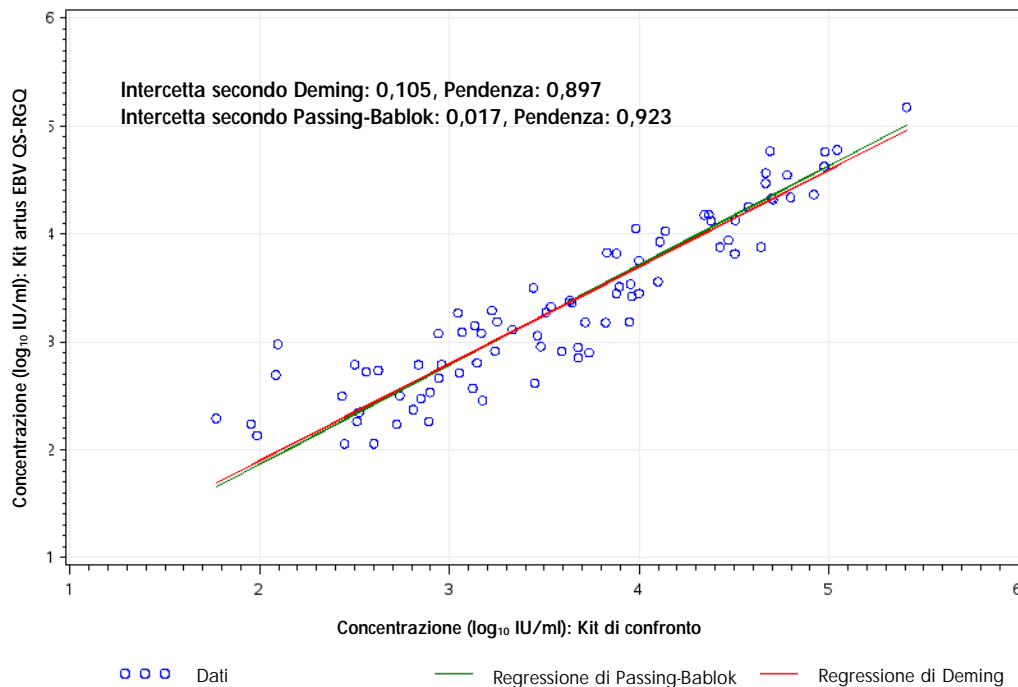


Figura 3. Grafico della regressione con rette di Passing-Bablok e Deming. Nell'analisi sono inclusi campioni compresi tra il limite inferiore e il limite superiore di quantificazione per entrambi i kit.

Il risultato dell'analisi di regressione lineare tra i due test è stato un coefficiente di correlazione Pearson dello 0,922 e un coefficiente di correlazione Spearman dello 0,928.

Limite di rilevabilità – sangue intero

Per il sangue intero, il limite di rilevabilità (tenendo conto della purificazione) del kit *artus* EBV QS-RGQ è stato determinato utilizzando una serie di diluizioni del materiale EBV da 3160 copie al valore nominale di 3,16 copie/ml di EBV, aggiunte ai campioni di sangue intero umano. I campioni sono stati poi sottoposti ad estrazione del DNA con il kit QIASymphony DNA Mini in combinazione con il protocollo VirusBlood200_DSP (volume di estrazione: 200 µl, volume di eluizione: 60 µl). Ciascuna delle 10 diluizioni è stata analizzata con il kit *artus* EBV QS-RGQ in 3 giorni diversi nell'ambito di 3 sedute con 11 replicati ciascuna. I risultati sono stati determinati mediante un'analisi probit. La Figura 4 illustra graficamente l'analisi probit.

Il limite di rilevabilità del kit *artus* EBV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione in combinazione con il Rotor-Gene Q, è di 288,29 copie/ml ($p = 0,05$). Ciò significa che esiste una probabilità del 95% che vengano rilevate 288,29 copie/ml (corrispondenti a 40,36 IU/ml).

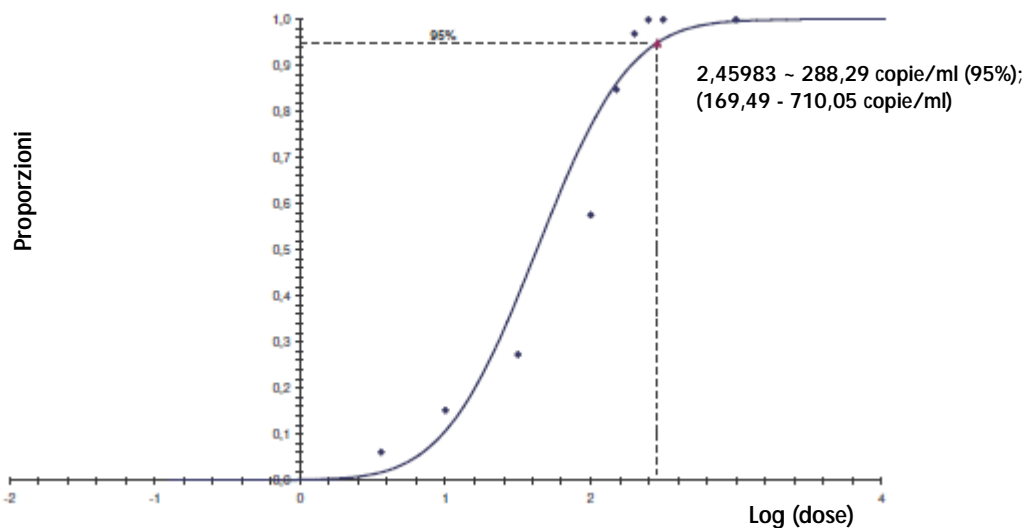


Figura 4. Analisi probit: sangue intero, EBV (Rotor-Gene Q). Limite di rilevabilità, tenendo conto della purificazione (sangue intero, utilizzando il kit QIASymphony DNA Mini), del kit *artus* EBV QS-RGQ sul Rotor-Gene Q.

Specificità – sangue intero

La specificità del kit *artus* EBV QS-RGQ è garantita in primo luogo dalla selezione dei primer e delle sonde, e poi dalla selezione di condizioni di reazione stringenti. I primer e le sonde sono stati controllati per accertare eventuali omologie con tutte le sequenze pubblicate nelle banche genetiche mediante analisi comparativa delle sequenze. È stata così assicurata la rilevabilità di tutti i genotipi rilevanti.

Inoltre, la specificità è stata convalidata con 30 diversi campioni di sangue intero EBV-negativi. Questi campioni non hanno generato segnali con i primer e le sonde specifici di EBV inclusi nell'EBV RG Master.

È stata rilevata una potenziale cross-reattività del kit *artus* EBV QS-RGQ utilizzando il gruppo di controllo elencato nella Tabella 1 (vedere pag. 3). Nessuno dei patogeni testati è risultato reattivo. Non sono state riscontrate cross-reattività con infezioni miste.

Range lineare – sangue intero

Il range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) è stato determinato analizzando una serie di diluizioni del materiale EBV in un range da $5,00 \times 10^7$ copie/ml a $1,00 \times 10^3$ copie/ml nel sangue intero. La purificazione è stata eseguita in replicati ($n = 4$ per concentrazioni $\geq 1,00 \times 10^7$ copie/ml; $n = 8$ per concentrazioni $< 1,00 \times 10^7$ copie/ml) utilizzando il kit QIASymphony DNA Mini in combinazione con il protocollo VirusBlood200 _DSP (volume di estrazione: 200 μ l, volume di eluizione: 60 μ l). Ogni campione è stato analizzato con il kit *artus* EBV QS-RGQ. Il range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione, è stato determinato per coprire le concentrazioni da $1,00 \times 10^3$ copie/ml a $5,00 \times 10^7$ copie/ml (corrispondenti al range da $1,4 \times 10^2$ a $7,0 \times 10^6$ IU/ml) per il sangue intero (Figura 5).

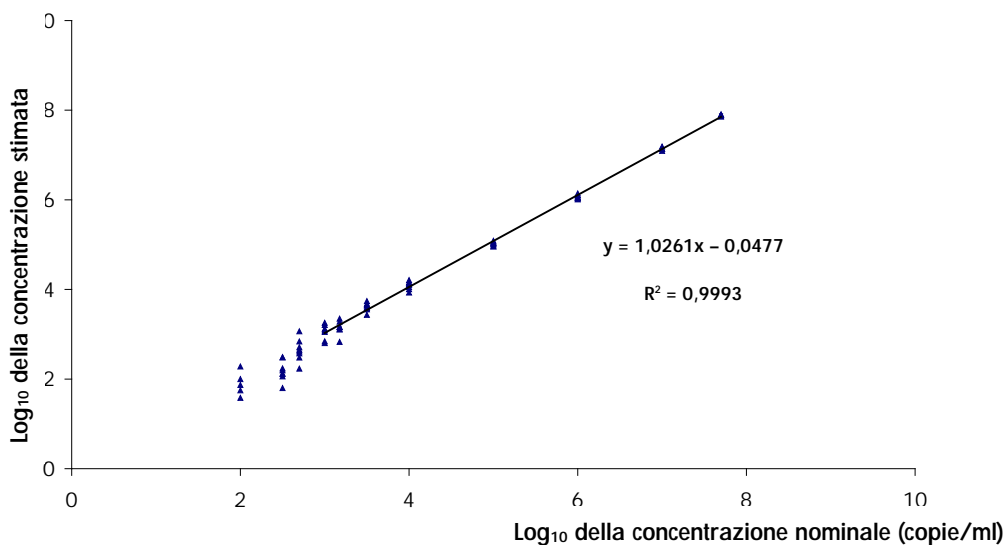


Figura 5. Range lineare del kit *artus* EBV QS-RGQ (sangue intero). Calcolo del range lineare. La linea retta è stata determinata mediante una regressione lineare del \log_{10} delle concentrazioni calcolate con il \log_{10} delle concentrazioni nominali. La figura mostra l'equazione della linea di regressione.

Robustezza – sangue intero

La verifica della robustezza consente la determinazione del tasso globale d'errore del kit *artus* EBV QS-RGQ. Per verificare la robustezza, 51 campioni di sangue intero EBV-negativi sono stati arricchiti con 750 copie/ml di EBV (concentrazione pari all'incirca a tre volte il limite di sensibilità analitica). In seguito ad estrazione con il kit QIASymphony DNA Mini in combinazione con il protocollo VirusBlood200_DSP (volume di estrazione: 200 μ l, volume di eluizione: 60 μ l), i campioni sono stati analizzati con il kit *artus* EBV QS-RGQ. Inoltre, la robustezza del controllo interno è stata valutata mediante purificazione e analisi dei 51 campioni di sangue intero arricchiti. Non sono state riscontrate inibizioni di alcun genere. La robustezza del kit *artus* EBV QS-RGQ è pari al ³99%.

Sostanze interferenti – sangue intero

Sono state analizzate le sostanze che potrebbero potenzialmente interferire con i risultati del kit *artus* EBV QS-RGQ; nella Tabella 4 sono riportate le relative concentrazioni che non hanno interferito con il kit.

Tabella 4. Sostanze interferenti in campioni di sangue intero

Concentrazione di EBV (copie/ml)	Sostanza interferente		C _T medio	C _T (EBV)		C _T (EBV) IS – C _T (EBV) Controllo Assoluto
	Elemento	Concentrazione		DS	CV* (%)	
2500	Bilirubina	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Trigliceridi	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/campione	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/campione	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/campione	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/campione	34,86	0,22	0,62	0,31
	Controllo	–	35,17	0,40	1,13	–

CV: coefficiente di variazione, EBV: Virus di Epstein-Barr; gDNA: DNA genomico; SI: sostanza interferente; DS: deviazione standard

Valutazione clinica – sangue intero

Le prestazioni cliniche del kit *artus* EBV QS-RGQ sono state valutate utilizzando campioni clinici e analizzando i relativi risultati applicando un metodo confrontabile. Con il kit *artus* EBV QS-RGQ e il metodo confrontabile, presso un centro esterno sono stati analizzati in totale 178 campioni di sangue intero prelevati da pazienti affetti da infezione da EBV e da controlli negativi. I risultati sono stati analizzati in due parti: per la parte uno si è trattato di un'analisi categorica di PPA, NPA e OPA; nella parte due è stata condotta un'analisi dei risultati su un totale di 98 campioni di sangue intero, che rientravano entro l'intervallo dinamico comune del test, utilizzando le analisi di regressione di Deming e Passing-Bablok, riportando i risultati assieme al corrispondente coefficiente di correlazione (vedere Tabella 5 e Figura 6).

Tabella 5. Dati dello studio sulle prestazioni cliniche per campioni di sangue intero

Misura della concordanza	Frequenze	Concordanza percentuale	Limite inferiore di confidenza bilaterale al 95% binomiale di Clopper-Pearson (esatto)	Limite superiore di confidenza bilaterale al 95% binomiale di Clopper-Pearson (esatto)
Concordanza percentuale totale	169/178	94,94	90,62	97,66
Concordanza percentuale di positività	115/119	96,64	91,62	99,08
Concordanza percentuale di negatività	54/59	91,53	81,32	97,19

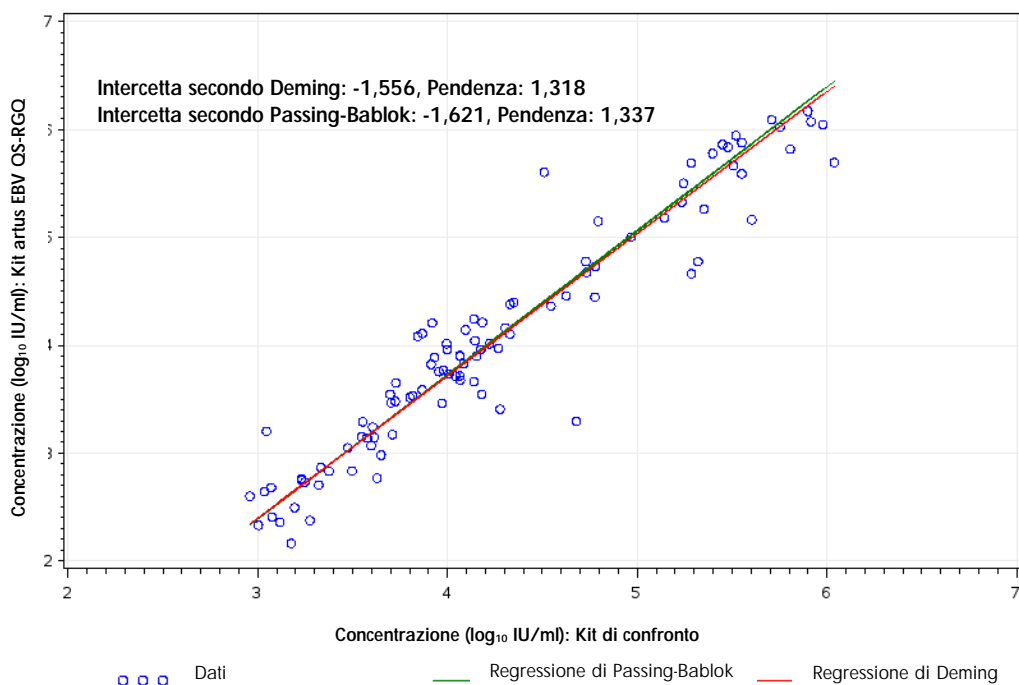


Figura 6. Grafico della regressione con rette di Passing-Bablok e Deming. Nell'analisi sono inclusi campioni compresi tra il limite inferiore e il limite superiore di quantificazione per entrambi i kit.

Il risultato dell'analisi di regressione lineare tra i due test è stato un coefficiente di correlazione Pearson dello 0,956 e un coefficiente di correlazione Spearman dello 0,945.

Riproducibilità

I dati di riproducibilità consentono una regolare valutazione delle prestazioni del kit *artus* EBV QS-RGQ, nonché un confronto di efficacia con altri prodotti. Questi dati sono ottenuti dalla partecipazione a programmi di valutazione consolidati.

Contaminazione crociata

L'assenza di contaminazione crociata fra i campioni per l'intero flusso di lavoro è stata dimostrata dal corretto rilevamento di tutti i campioni positivi e negativi in posizioni alternate (modello a scacchiera) per un sistema *artus* QS-RGQ rappresentativo.

I prodotti correlati e le informazioni per l'ordine sono elencati nel manuale del kit *artus* EBV QS-RGQ.

Documento cronologia delle revisioni

Settembre 2017	Tabella 5 aggiornata Dati dello studio sulle prestazioni cliniche per campioni di sangue intero. Aggiunte unità di concentrazione IU/ml e copie/ml in tutto il documento.
----------------	---

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN®. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN).
I marchi, i nomi registrati ecc. utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge 09/2017 HB-0357-D01-003
© 2012-2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati

Ordini www.qiagen.com/shop | Assistenza tecnica support.qiagen.com | Sito web www.qiagen.com