

November 2019

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

IVD



REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, Version 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

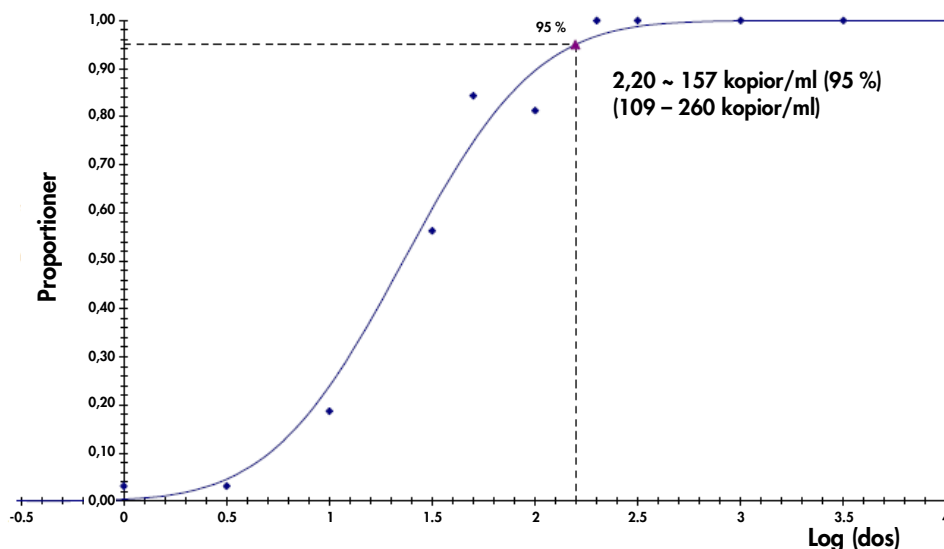


Kontrollera om det finns några nya elektroniska märkningsrevisioner på [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).

## Detektionsgräns – plasma

Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen (sensitivitetsgräns) utvärderades för *artus* EBV QS-RGQ Kit med hjälp av EBV-positiva kliniska prover i kombination med extraktion på QIASymphony® SP.

Detektionsgränsen för plasma avseende rening av *artus* EBV QS-RGQ Kit fastställdes med hjälp av spädningsserier av EBV-material från 3160 till nominellt 1 EBV-kopia/ml spetsade i kliniska plasmaprover. Dessa utsattes för DNA-extraktion med hjälp av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombination med Cellfree1000\_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl). Var och en av de 10 spädningarna analyserades med *artus* EBV QS-RGQ Kit på 4 olika dagar i 4 körningar med 8 replikat vardera. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 1. Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit i kombination med Rotor-Gene® Q är 157 kopior/ml ( $p = 0,05$ ). Det innebär att det finns en 95 % sannolikhet att 157 kopior/ml av (motsvarar 22,29 IU/ml) kommer att detekteras.



**Figur 1. Probitanalys: plasma, EBV (Rotor-Gene Q).** Detektionsgräns med hänsyn till reningen (plasma, med hjälp av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) och *artus* EBV QS-RGQ Kit på Rotor-Gene Q.

## Specificitet – plasma

Specificiteten för *artus* EBV QS-RGQ Kit garanteras först och främst genom valet av primrar och prober, samt genom valet av strikta reaktionsvillkor. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed säkerställs att alla relevanta genotyper kan detekteras.

Dessutom utvärderades specificiteten med trettio olika negativa plasmaprover av EBV. Dessa genererade inga signaler med de EBV-specifika primrar och prober som ingår i EBV RG Master.

Potentiell korsreaktivitet för *artus* EBV QS-RGQ Kit testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 1 nedan. Ingen av de testade patogenerna var reaktiva. Inga korsreaktiviteter visade sig med blandade infektioner.

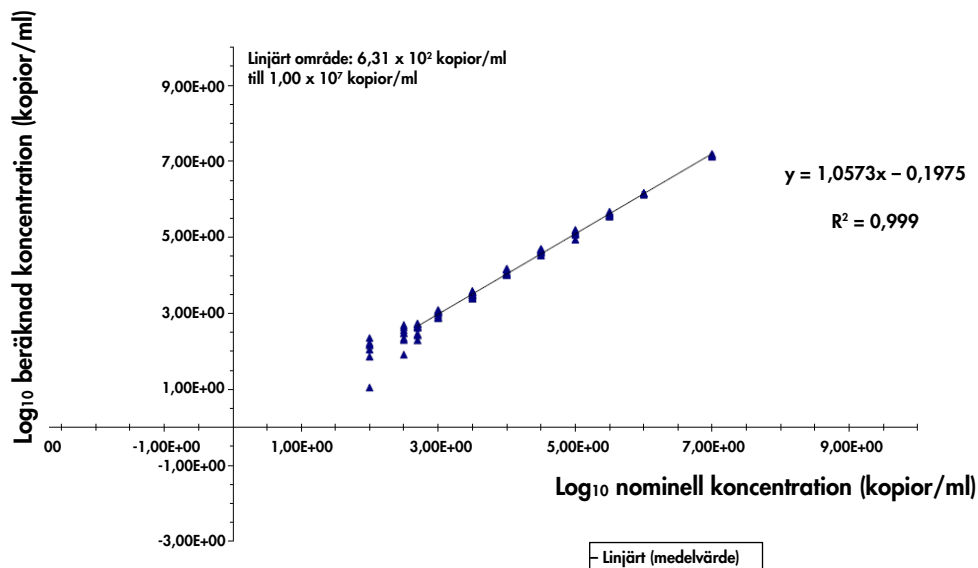
Tabell 1. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener

Kontrollgrupp	EBV (Cycling Green)	Internkontroll (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-cell-leukemivirus 1	–	+
Humant T-cell-leukemivirus 2	–	+

## Linjärt område – plasma

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit fastställdes genom analys av en spädningsserie av EBV-material inom intervallet  $1,00 \times 10^7$  kopior/ml till  $6,31 \times 10^2$  kopior/ml i plasma. Reningen utfördes i replikat ( $n = 4$  för koncentrationer  $\geq 1,00 \times 10^6$  kopior/ml;  $n = 8$  för koncentrationer  $< 1,00 \times 10^6$  kopior/ml) med användning av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombination med Cellfree1000\_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60  $\mu$ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* EBV QS-RGQ Kit.

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit har konstaterats täcka koncentrationer från  $6,31 \times 10^2$  kopior/ml till  $1,00 \times 10^7$  kopior/ml (motsvarar  $8,96 \times 10^1$  till  $1,42 \times 10^6$  IU/ml) för plasma (figur 2).



**Figur 2. Linjärt intervall för *artus* EBV QS-RGQ Kit (plasma).** Beräkning av det linjära intervallet. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de log<sub>10</sub>-beräknade koncentrationerna jämfört med de log<sub>10</sub>-nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

## Robusthet – plasma

Genom verifiering av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* EBV QS-RGQ Kit. För att verifiera robustheten spetsades 30 EBV-negativa prover av plasma med 500 kopior/ml av EBV (ungefär en tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extraktion med hjälp av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit i kombination med Cellfree1000\_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl) analyserades proverna med *artus* EBV QS-RGQ Kit. Dessutom utvärderades robustheten i internkontrollen genom rening och analys av de 30 spetsade plasmaproverna. Inga inhiberingar observerades. Robustheten för *artus* EBV QS-RGQ Kit är därmed  $\geq 99$  %.

## Interfererande ämnen – plasma

Bilirubin, hemoglobin och triglycerider uppvisade ingen interferens med *artus* EBV QS-RGQ Kit vid de koncentrationer som anges i tabell 2.

Tabell 2. Interfererande ämnen i EDTA-plasmaprover

EBV-koncentration (kopior/ml)	Interfererande ämne		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontroll}$
	Objekt	Koncentration	Genomsnitt $C_T$	SD	CV (%)	Absolut
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
	Triglycerid	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	-

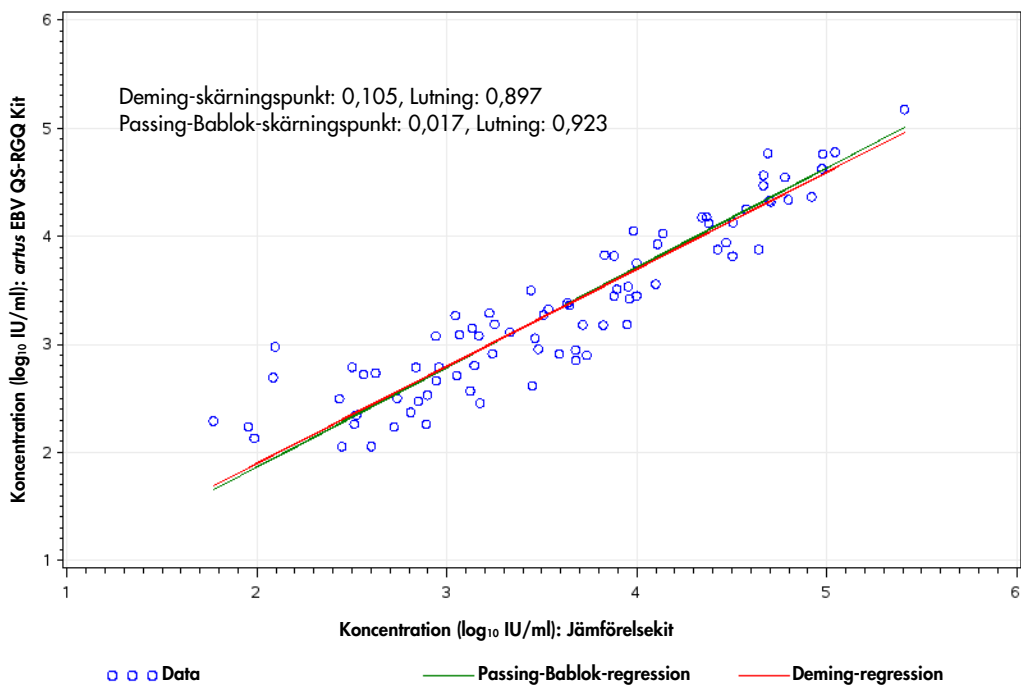
CV: Coefficient of Variation (variationskoefficient); EBV: Epstein-Barr-virus; IS: Interfering Substance (interfererande ämne); SD: Standard Deviation (standardavvikelse)

## Klinisk bedömning – plasma

Den kliniska prestandan hos *artus* EBV QS-RGQ Kit bedömdes genom testning av kliniska prover och analys av resultaten jämfört med resultat från en jämförbar metod. Totalt 166 prover med EDTA-plasma som samlats in från EBV-infekterade patienter liksom från negativa kontroller testades med *artus* EBV QS-RGQ Kit och den jämförbara metoden på en extern plats. Resultaten analyserades i två delar: del ett var en kategorisk överensstämmelseanalys av positiv procentuell överensstämmelse (Positive Percent Agreement, PPA), negativ procentuell överensstämmelse (Negative Percent Agreement, NPA) och total procentuell överensstämmelse (Overall Percent Agreement, OPA); del två var en analys av resultaten från totalt 83 EDTA-plasmaprover som låg inom det dynamiska intervallet för en vanlig analys enligt Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalyser, med de resultat som rapporterats med motsvarande korrelationskoefficient (se tabell 3 och figur 3).

Tabell 3. Data från undersökning av klinisk prestanda för EDTA-plasmaprover

Mått på överensstämmelse	Frekvenser	Procentuell överensstämmelse	Clopper-Pearson (exakt) binomial undre tvåsidig 95 % konfidensgräns	Clopper-Pearson (exakt) binomial övre tvåsidig 95 % konfidensgräns
Total procentuell överensstämmelse	154/166	92,77	87,71	96,21
Positiv procentuell överensstämmelse	100/102	98,04	93,10	99,76
Negativ procentuell överensstämmelse	54/64	84,38	73,14	92,24



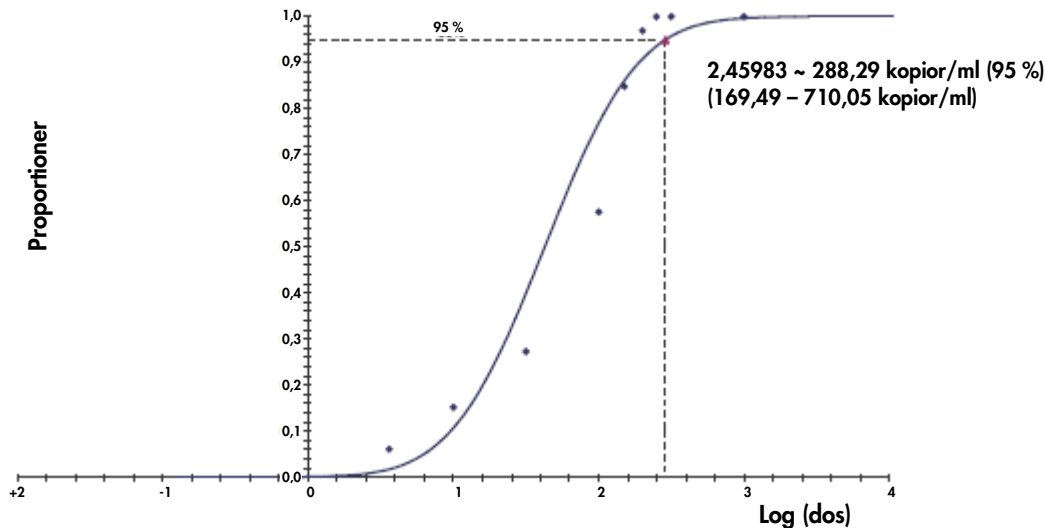
Figur 3. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer. Prover som ligger mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten har tagits med i analysen.

Linjär regressionsanalys mellan de två analyserna resulterade i en Pearson-korrelationskoefficient på 0,922 och en Spearman-korrelationskoefficient på 0,928.

## Detektionsgräns – helblod

För helblod fastställdes detektionsgränsen avseende rening av *artus* EBV QS-RGQ Kit med hjälp av spädningsserier av EBV-material från 3160 till nominellt 3,16 EBV-kopior/ml spetsade i humana helblodsprover. Dessa användes för att extrahera DNA med hjälp av QIA-symphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200\_DSP-protokollet (extraheringsvolym: 200  $\mu$ l, elueringsvolym: 60  $\mu$ l). Var och en av de 10 spädningarna analyserades med *artus* EBV QS-RGQ Kit på 3 olika dagar i 3 körningar med 11 replikat vardera. Resultaten fastställdes genom en probitanalys. En grafisk bild av probitanalysen visas i figur 4.

Den analytiska detektionsgränsen med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit i kombination med Rotor-Gene Q är 288,29 kopior/ml ( $p = 0,05$ ). Det innebär att det finns en 95 % sannolikhet att 288,29 kopior/ml (motsvarar 40,36 IU/ml) kommer att detekteras.



**Figur 4. Probitanalys: helblod, EBV (Rotor-Gene Q).** Detektionsgräns med hänsyn till reningen (helblod, med hjälp av QIA Symphony DNA Mini Kit) för *artus* EBV QS-RGQ Kit på Rotor-Gene Q.

## Specificitet – helblod

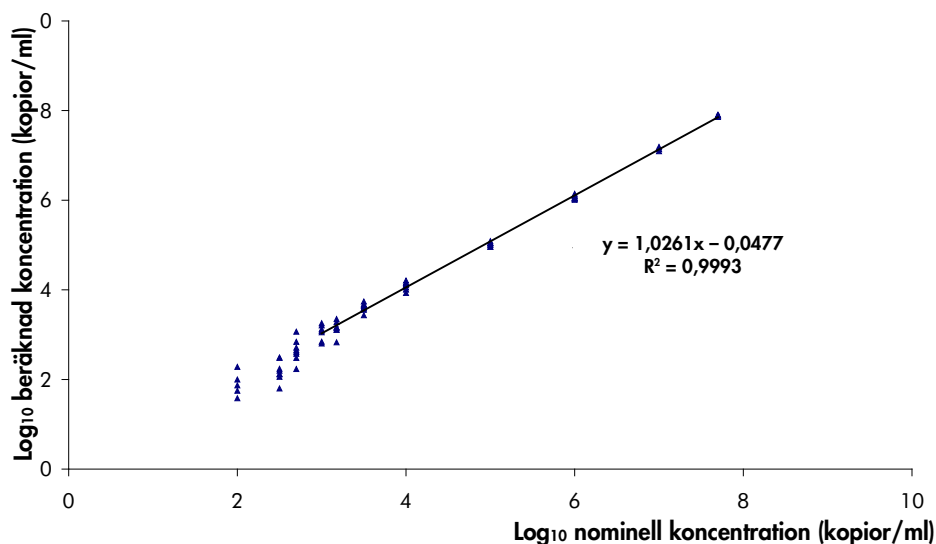
Specificiteten för *artus* EBV QS-RGQ Kit garanteras först och främst genom valet av primrar och prober, samt genom valet av strikta reaktionsvillkor. Primrarna och proberna kontrollerades beträffande eventuella homologier i alla sekvenser som publicerats i genbanker genom sekvensjämförande analys. Därmed säkerställs att alla relevanta genotyper kan detekteras.

Dessutom utvärderades specificiteten med 30 olika EBV-negativa helblodsprover. Dessa genererade inga signaler med de EBV-specifika primrar och prober som ingår i EBV RG Master.

Potentiell korsreaktivitet för *artus* EBV QS RGQ Kit testades med hjälp av den kontrollgrupp som anges i tabell 1 (se sida 3). Ingen av de testade patogenerna var reaktiva. Inga korsreaktiviteter visade sig med blandade infektioner.

## Linjärt intervall – helblod

Det linjära intervallet med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit fastställdes genom analys av en spädningsserie av EBV-material inom intervallet  $5,00 \times 10^7$  kopior/ml till  $1,00 \times 10^3$  kopior/ml i helblod. Reningen utfördes i replikat ( $n = 4$  för koncentrationer  $\geq 1,00 \times 10^7$  kopior/ml;  $n = 8$  för koncentrationer  $< 1,00 \times 10^7$  kopior/ml) med användning av QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200\_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 200  $\mu$ l, elueringsvolym: 60  $\mu$ l). Vart och ett av proven analyserades med hjälp av *artus* EBV QS-RGQ Kit. Det linjära intervallet med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ Kit har konstaterats täcka koncentrationer från  $1,00 \times 10^3$  kopior/ml till  $5,00 \times 10^7$  kopior/ml (motsvarar  $1,4 \times 10^2$  till  $7,0 \times 10^6$  IU/ml) för helblod (figur 5).



Figur 5. Linjärt intervall för *artus* EBV QS-RGQ Kit (helblod). Beräkning av det linjära intervallet. Den raka linjen fastställdes genom en linjär regression av de  $\log_{10}$ -beräknade koncentrationerna jämfört med de  $\log_{10}$ -nominella koncentrationerna. Ekvationen för regressionslinjen är inkluderad i figuren.

## Robusthet – helblod

Genom verifiering av robustheten går det att fastställa den totala felfrekvensen för *artus* EBV QS-RGQ Kit. För att verifiera robustheten spetsades 51 EBV-negativa helblodsprover med 750 kopior/ml av EBV (ungefär en tre gånger så stor koncentration av den analytiska sensitivitetsgränsen). Efter extrahering med användning av QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200\_DSP-protokollet (extraheringsvolym: 200  $\mu$ l, elueringsvolym: 60  $\mu$ l) analyserades proverna med *artus* EBV QS-RGQ Kit. Dessutom utvärderades robustheten på den interna kontrollen genom rening och analys av de 51 spetsade helblodsproverna. Inga inbiberingar observerades. Robustheten för *artus* EBV QS-RGQ Kit är därmed  $\geq 99$  %.



## Interfererande ämnen – helblod

Substanser som eventuellt kunde störa resultaten av *artus* EBV QS-RGQ Kit testades och koncentrationerna för de ämnen som inte stör kitet anges i tabell 4.

Tabell 4. Interfererande ämnen i helblodsprover

EBV-koncentration (kopior/ml)	Interfererande ämne		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontroll}$
	Objekt	Koncentration	Genomsnitt $C_T$	SD	CV (%)	Absolut
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglycerid	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/prov	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/prov	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/prov	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/prov	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontroll	–	35,17	0,40	1,13	–

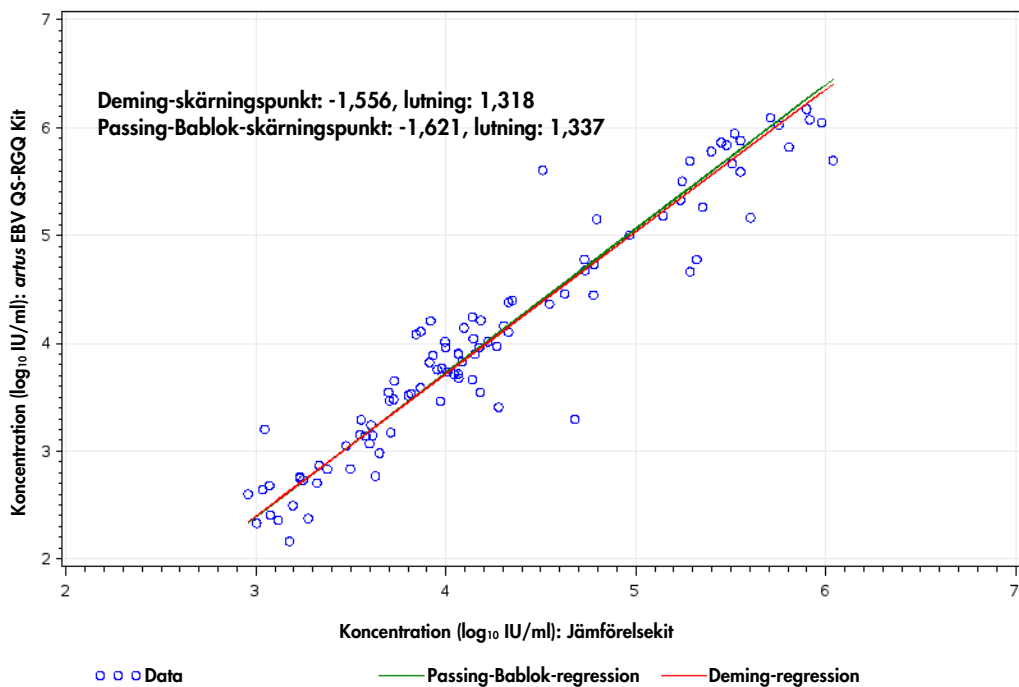
CV: Coefficient of Variation (variationskoefficient); EBV: Epstein-Barr-virus; gDNA: genomiskt DNA; IS: Interfering Substance (interfererande ämne); SD: Standard Deviation (standardavvikelse)

## Klinisk bedömning – helblod

Den kliniska prestandan hos *artus* EBV QS-RGQ Kit bedömdes genom testning av kliniska prover och analys av resultaten mot en jämförbar metod. Totalt 178 prover med helblod som samlats in från EBV-infekterade patienter liksom från negativa kontroller testades med *artus* EBV QS-RGQ Kit och med en jämförelsemetod på en extern plats. Resultaten analyserades i två delar: del ett var en kategorisk överensstämmelseanalys av PPA, NPA och OPA; del två var en analys av resultaten från totalt 98 helblodsprover som låg inom det dynamiska intervallet för en vanlig analys enligt Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalyser, med de resultat som rapporterats med motsvarande korrelationskoefficient (se tabell 5 och figur 6).

Tabell 5. Undersökningsdata om klinisk prestanda för helblodsprover

Mått på överensstämmelse	Frekvenser	Procentuell överensstämmelse	Clopper-Pearson (exakt) binomial undre tvåsidig 95 % konfidensgräns	Clopper-Pearson (exakt) binomial övre tvåsidig 95 % konfidensgräns
Total procentuell överensstämmelse	169/178	94,94	90,62	97,66
Positiv procentuell överensstämmelse	115/119	96,64	91,62	99,08
Negativ procentuell överensstämmelse	54/59	91,53	81,32	97,19



**Figur 6. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer.** Prover som ligger mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten har tagits med i analysen.

Linjär regressionsanalys mellan de två analyserna resulterade i en Pearson-korrelationskoefficient på 0,956 och en Spearman-korrelationskoefficient på 0,945.

## Reproducerbarhet

Med hjälp av reproducerbarhetsdata är det möjligt att regelbundet utvärdera prestandan för *artus* EBV QS-RGQ Kit och att göra en effektivitetsjämförelse med andra produkter. Dessa data erhålls genom deltagande i etablerade kunskapsprogram.

## Korskontaminering

Frånvaro av korskontaminering mellan prover i hela arbetsflödet bevisades genom korrekt detektion av alla kända positiva och negativa prover i växlande positioner (schackrutigt mönster) för ett representativt *artus* QS-RGQ-system.

Relaterade produkter och beställningsinformation anges i handboken till *artus* EBV QS-RGQ Kit.

## Dokumentrevisioner

Datum	Ändringar
R1 11/2019	Uppdaterade versionen för <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit från Version 1 till Version 2, Layoutuppdateringar.

Aktuell licensinformation och produktspecifika ansvarsfriskrivningar finns i handboken eller användarmanualen till respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN tekniska Service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QAsymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Registrerade namn, varumärken med mera som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.  
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, med ensamrätt.

