

Syyskuu 2017

artus[®] EBV QS-RGQ -pakkaus: Suoritusominaisuudet

IVD



REF

4501363FI *artus* EBV QS-RGQ -pakkaus, versio 1.



Tarkista ennen kokeen suorittamista uusien elektronisten etikettiversioiden saatavuus osoitteesta www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx. Ajankohtainen versio käy ilmi julkaisupäivämäärästä (muoto: kuukausi/vuosi).

Spesifisyys – plasma

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen spesifisyys varmistetaan ennen kaikkea primeerien ja koettimien sekä erittäin vaativien reaktio-olosuhteiden valinnalla. Primeerien ja koettimien mahdollinen homologia kaikkien geenipankeissa julkaistujen sekvenssien kanssa tarkistettiin sekvenssivertailuanalysilla. Kaikkien relevanttien genotyyppien havaittavuus on siis täten varmistettu.

Lisäksi spesifisyys validoitiin 30 erilaisella EBV-negatiivisella plasmanäytteellä. Nämä eivät antaneet mitään merkkiä EBV RG Masteriin kuuluvien EBV-spesifien primeerien ja koettimien kanssa.

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen mahdollinen ristiin reagointi testattiin taulukossa 1 mainitulla kontrolliryhmällä. Yksikään testatuista patogeeneistä ei ollut reaktiivinen. Sekoitetuissa infektioissa ei ilmennyt ristiin reagointia.

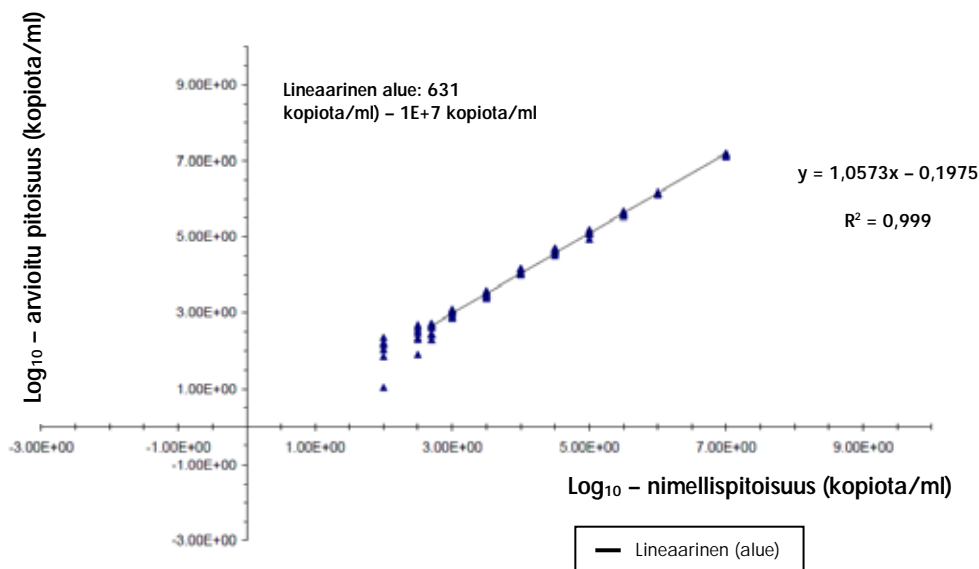
Taulukko 1. Sarjan spesifisyyden testaus mahdollisesti ristiin reagoivilla patogeeneillä

| Kontrolliryhmä | EBV (vilkkuva vihreä) | Sisäinen kontrolli (vilkkuva keltainen) |
|---|--------------------------|--|
| Ihmisen herpesvirus 1 (Herpes simplex virus 1) | – | + |
| Ihmisen herpesvirus 2 (Herpes simplex virus 2) | – | + |
| Ihmisen herpesvirus 3 (Varicella-zoster virus) | – | + |
| Ihmisen herpesvirus 5 (Cytomegalovirus) | – | + |
| Ihmisen T-solun leukemia virus 1 | – | + |
| Ihmisen T-solun leukemia virus 2 | – | + |

Lineaarinen alue – plasma

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue suhteessa puhdistukseen määritettiin analysoimalla EBV-materiaalin diluutiosarjoja alueella arvosta $1,00 \times 10^7$ kopiota/ml arvoon $6,31 \times 10^2$ kopiota/ml plasmassa. Puhdistus tehtiin kahdennuksissa ($n = 4$ pitoisuuksille $\geq 1,00 \times 10^6$ kopiota/ml, $n = 8$ pitoisuuksille $< 1,00 \times 10^6$ kopiota/ml) käyttämällä QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi -pakkausta Cellfree1000_DSP -protokollan kanssa (erotustilavuus: 1 ml, eluaatin määrä: 60 μ l). Kukin näyte analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkausta käyttämällä.

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue suhteessa puhtauteen määritettiin pitoisuuksille arvosta $6,31 \times 10^2$ kopiota/ml arvoon $1,00 \times 10^7$ kopiota/ml (vastaa arvoa $8,96 \times 10^1 - 1,42 \times 10^6$ IU/ml) plasmalle (kuva 2).



Kuva 2. *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue (plasma). Lineaarisen alueen laskenta. Suora linja määritettiin laskettujen \log_{10} -pitoisuuksien ja \log_{10} -nimellispitoisuuksien lineaarisen regression perusteella. Regressiolinjan yhtälö on näkyvä kuvassa.

Varmuus – plasma

Varmuuden verifiointin avulla voidaan määrittää *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen koko virhetodennäköisyys. Varmuuden verifiointia varten 30 EBV-negatiiviseen plasmanäytteeseen lisättiin 500 kopiota/ml EBV:tä (analyttisen herkkyysrajan noin kolminkertainen pitoisuus). QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi -pakkauksella ja Cellfree1000_DSP -protokollalla tehtävän erotuksen jälkeen (erotustilavuus: 1 ml, eluaatin määrä: 60 μ l), nämä näytteet analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksella. Lisäksi sisäisen kontrollin varmuus arvioitiin puhdistamalla ja analysoimalla 30 lisättyä plasmanäytettä. Inhibiitioita ei havaittu. Tästä syystä *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen varmuus on ≥ 99 %.

Häiritsevät aineet – plasma

Bilirubiinissa, hemoglobiinissa ja triglyserideissä ei havaittu häiriöitä *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksessa taulukon 2 mukaisissa pitoisuuksissa.

Taulukko 2. Häiritsevät aineet EDTA-plasmanäytteissä

| EBV-pitoisuus (kopiota/ml) | Häiritsevä aine | | C _T (EBV) | | | C _T (EBV) IS – C _T (EBV) Control |
|----------------------------|-----------------|-----------|---------------------------|------|--------|--|
| | Kohde | Pitoisuus | C _T -keskiarvo | SD | CV (%) | Absoluuttinen |
| 1600 | Bilirubiini | 30 mg/dl | 32,30 | 0,37 | 1,14 | 0,58 |
| | Hemoglobiini | 2 g/dl | 32,82 | 0,20 | 0,60 | 0,06 |
| | Triglyseridi | 1 g/dl | 32,42 | 0,28 | 0,87 | 0,46 |
| | Albumiini | 4 g/dl | 31,71 | 0,54 | 1,69 | 1,15 |
| | Kontrolli | – | 32,88 | 0,33 | 0,99 | – |

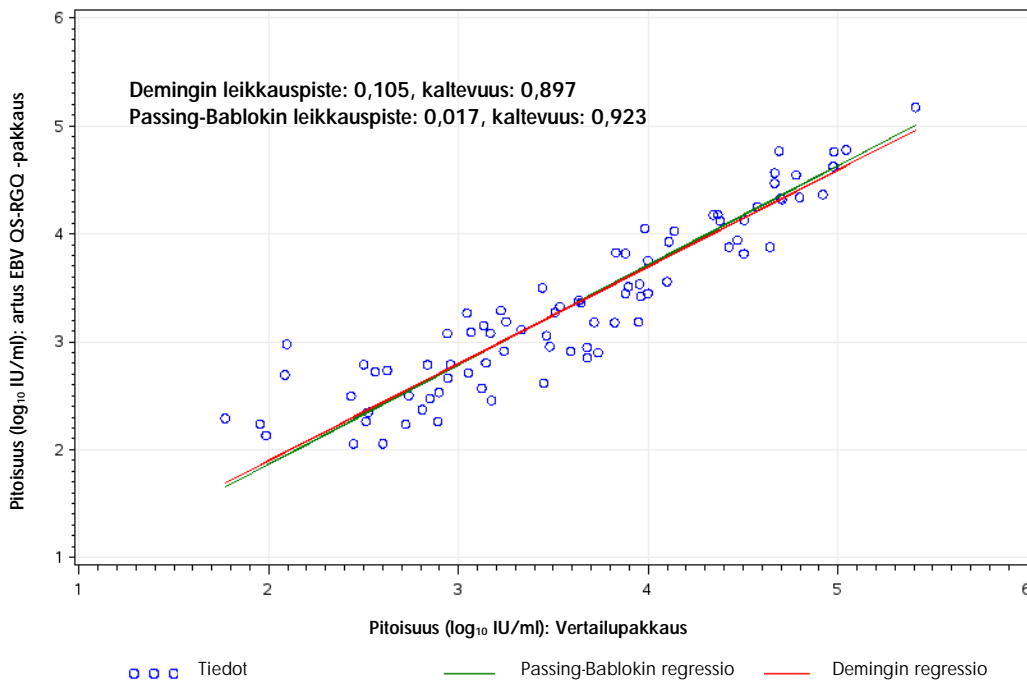
CV: variaatiokerroin, EBV: Epstein-Barrin virus, IS: häiritsevä aine, SD: keskihajonta

Kliininen arviointi – plasma

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen kliininen suorituskyky arvioitiin testaamalla kliinisiä näytteitä ja analysoimalla löydökset vastaavan menetelmän tuloksia vasten. EBV-infektiopotilailta ja negatiivisista kontrolleista kerättiin yhteensä 166 EDTA-plasmanäytettä, jotka testattiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksella ja vastaavalla menetelmällä ulkoisessa toimipaikassa. Tulokset analysoitiin kahdessa osassa: Ensimmäinen osa oli PPA:n (Positive Percent Agreement), NPA:n (Negative Percent Agreement) ja OPA:n (Overall Percent Agreement) kategorinen yhtäpitävyysanalyysi. Toisessa osassa analysoitiin tulokset yhteensä 83 EDTA-plasmanäytteestä, jotka osuivat yleisen määrityksen dynaamiselle alueelle, käyttämällä Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysijä, ja löydökset raportoitiin vastaavan korrelaatiokerroimen kanssa (katso taulukko 3 ja kuva 3).

Taulukko 3. EDTA-plasmanäytteiden kliinisen suorituskyvyn tutkimustiedot

| Yhtäpitävyyden arvio | Tiheydet | Prosentuaalinen yhtäpitävyys | Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen alempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja | Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen ylempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja |
|---|----------|------------------------------|---|---|
| Yleinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 154/166 | 92,77 | 87,71 | 96,21 |
| Positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 100/102 | 98,04 | 93,10 | 99,76 |
| Negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 54/64 | 84,38 | 73,14 | 92,24 |



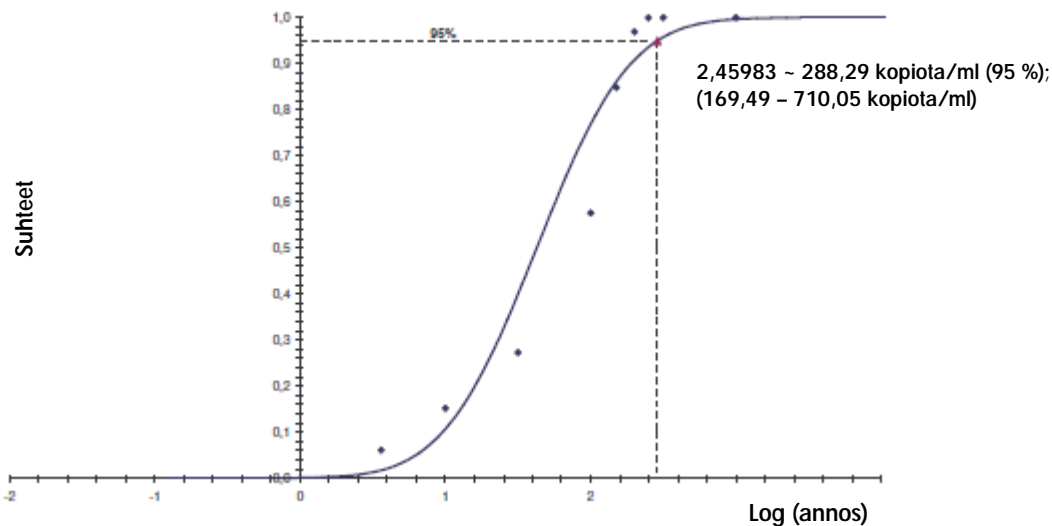
Kuva 3. Regressiopirros Passing-Bablokin ja Demingin linjojen kanssa. Kummankin analyysin näytteet, jotka ovat kvantifikaation alarajan ja ylärajan välissä, ovat mukana analyysissä.

Kahden määrittelyn välillä tehdyn lineaarisen regression analyysissä saatiin Pearsonin korrelaatiokertoimeksi 0,922 ja Spearmanin korrelaatiokertoimeksi 0,928.

Havaitsemisraja – kokoveri

Kokoverelle *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen havaitsemisraja suhteessa puhdistukseen määritettiin käyttämällä diluutiosarjaa EBV-materiaalille, jonka arvo oli arvosta 3160 nimelliseen 3,16 EBV-kopioon ml:ssa ja johon oli lisätty ihmisen kokoverinäytteitä. Nämä altistettiin DNA-erotukselle käyttämällä QIASymphony DNA Mini -pakkausta VirusBlood200_DSP -protokollan kanssa (erottelutilavuus: 200 µl, eluaatin määrä: 60 µl). Kaikki 10 diluutiota analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksella kolmena eri päivänä kolmessa ajossa, joissa oli kussakin 11 kahdennusta. Tulokset määritettiin probiittianalyysillä. Probiittianalyysi näkyy graafisessa muodossa kuvassa 4.

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen havaitsemisraja suhteessa puhdistukseen Rotor-Gene Q:n kanssa on 288,29 kopiota/ml ($p = 0,05$). Tämä tarkoittaa, että on olemassa 95 %:n todennäköisyys, että 288,29 kopiota havaitaan millilitrassa (vastaa arvoa 40,36 IU/ml).



Kuva 4. Probiittianalyysi: kokoveri, EBV (Rotor-Gene Q). Havaitsemisraja suhteessa puhtauteen (kokoveri, QIASymphony DNA Mini -pakkausta käyttämällä) ja *artus* EBV QS-RGQ -pakkaus Rotor-Gene Q:ssa.

Spesifisyys – kokoveri

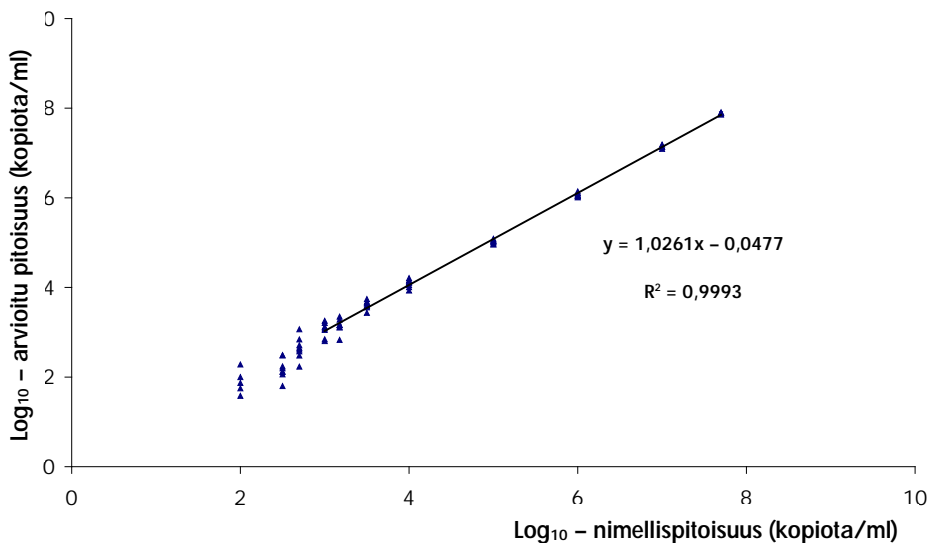
artus EBV QS-RGQ -pakkauksen spesifisyys varmistetaan ennen kaikkea primeerien ja koettimien sekä erittäin vaativien reaktio-olosuhteiden valinnalla. Primeerien ja koettimien mahdollinen homologia kaikkien geenipankeissa julkaistujen sekvenssien kanssa tarkistettiin sekvenssivertailuanalysilla. Kaikkien relevanttien genotyyppien havaittavuus on siis täten varmistettu.

Lisäksi spesifisyys validoitiin 30 eri EBV-negatiivisella kokoverinäytteellä. Nämä eivät antaneet mitään merkkiä EBV RG Masteriin kuuluvien EBV-spesifien primeerien ja koettimien kanssa.

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen mahdollinen ristiin reagointi testattiin taulukossa 1 mainitulla kontrolliryhmällä (katso sivu 3). Yksikään testatuista patogeeneistä ei ollut reaktiivinen. Sekoitetuissa infektioissa ei ilmennyt ristiin reagointia.

Lineaarinen alue – kokoveri

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue suhteessa puhdistukseen määritettiin analysoimalla EBV-materiaalin diluutiosarjoja alueella arvosta $5,00 \times 10^7$ kopiota/ml arvoon $1,00 \times 10^3$ kopiota/ml kokoveressä. Puhdistus tehtiin kahdennuksissa ($n = 4$ pitoisuuksille $\geq 1,00 \times 10^7$ kopiota/ml, $n = 8$ pitoisuuksille $< 1,00 \times 10^7$ kopiota/ml) käyttämällä QIASymphony DNA Mini -pakkausta VirusBlood200_DSP -protokollan kanssa (erotustilavuus: 200 μ l, eluaatin määrä: 60 μ l). Kukin näyte analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkausta käyttämällä. *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue suhteessa puhtauteen määritettiin pitoisuuksille arvosta $1,00 \times 10^3$ kopiota/ml arvoon $5,00 \times 10^7$ kopiota/ml (vastaa arvoa $1,4 \times 10^2 - 7,0 \times 10^6$ IU/ml) kokoverelle (kuva 5).



Kuva 5. *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen lineaarinen alue (kokoveri). Lineaarisen alueen laskenta. Suora linja määritettiin laskettujen log₁₀-pitoisuuksien ja log₁₀-nimellispitoisuuksien lineaarisen regression perusteella. Regressiolinjan yhtälö on näkyvä kuvassa.

Varmuus – kokoveri

Varmuuden verifiointin avulla voidaan määrittää *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen koko virhetodennäköisyys. Varmuuden verifiointia varten 51 EBV-negatiiviseen kokoverinäytteeseen lisättiin 750 kopiota/ml EBV:tä (analyttisen herkkyysrajan noin kolminkertainen pitoisuus). QIASymphony DNA Mini -pakkauksella ja VirusBlood200_DSP -protokollalla tehtävän erotuksen jälkeen (erotustilavuus: 200 µl, eluaatin määrä: 60 µl), nämä näytteet analysoitiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksella. Lisäksi sisäisen kontrollin varmuus arvioitiin puhdistamalla ja analysoimalla 51 lisättyä kokoverinäytettä. Inhibiitioita ei havaittu. Tästä syystä *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen varmuus on ³99 %.

Häiritsevät aineet – kokoveri

Aineet, jotka voisivat mahdollisesti vaikuttaa *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen tuloksiin, testattiin, ja näiden aineiden ne pitoisuudet, jotka eivät häirinneet pakkausta, näkyvät taulukossa 4.

Taulukko 4. Häiritsevät aineet kokoverinäytteissä

| EBV-pitoisuus (kopiota/ml) | Häiritsevä aine | | C _{T(EBV)} | | | C _{T(EBV) IS} – C _{T(EBV) Control} |
|----------------------------|-----------------|--------------|---------------------------|------|--------|--|
| | Kohde | Pitoisuus | C _T -keskiarvo | SD | CV (%) | Absoluuttinen |
| 2500 | Bilirubiini | 30 mg/dl | 34,44 | 0,27 | 0,78 | 0,73 |
| | Triglyseridi | 1 g/dl | 34,58 | 0,32 | 0,91 | 0,59 |
| | gDNA | 3 µg/näyte | 34,79 | 0,18 | 0,52 | 0,38 |
| | gDNA | 2,5 µg/näyte | 34,57 | 0,39 | 1,13 | 0,60 |
| | gDNA | 2 µg/näyte | 34,73 | 0,49 | 1,41 | 0,44 |
| | gDNA | 1 µg/näyte | 34,86 | 0,22 | 0,62 | 0,31 |
| | Kontrolli | – | 35,17 | 0,40 | 1,13 | – |

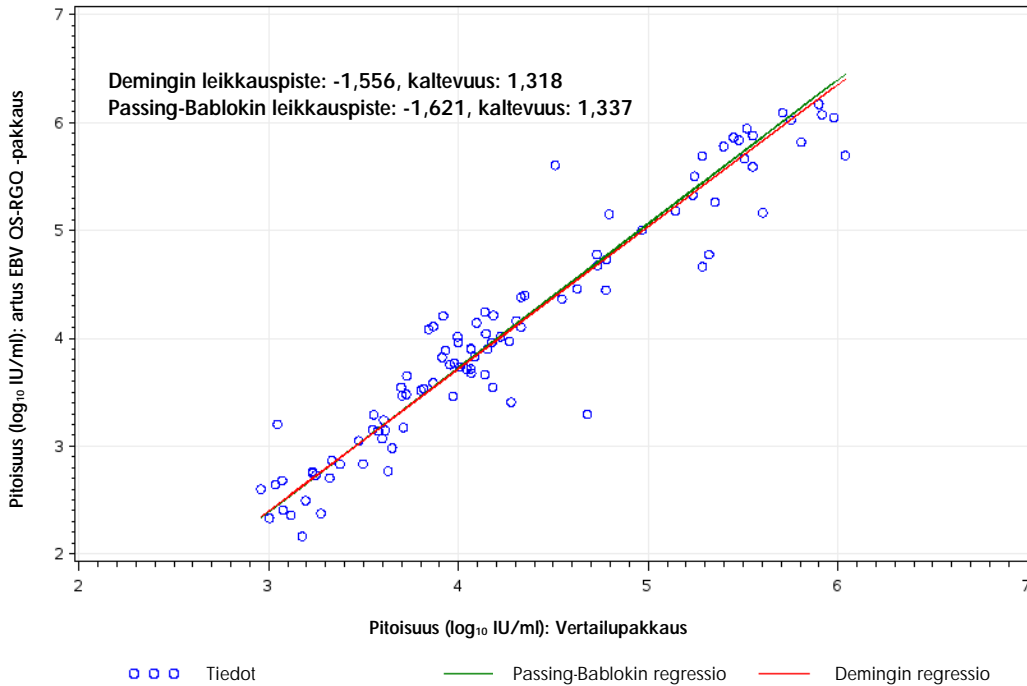
CV: variaatiokerroin, EBV: Epstein-Barrin virus, gDNA: genominen DNA IS: häiritsevä aine, SD: keskiahajonta

Kliininen arviointi – kokoveri

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen kliininen suorituskyky arvioitiin testaamalla kliinisiä näytteitä ja analysoimalla vastaavan menetelmän tuloksia vasten. EBV-infektiopotilailta ja negatiivisista kontrolleista kerättiin yhteensä 178 kokoverinäytettä, jotka testattiin *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksella ja vastaavalla menetelmällä ulkoisessa toimipaikassa. Tulokset analysoitiin kahdessa osassa: Ensimmäinen osa oli PPA:n, NPA:n ja OPA:n kategorinen yhtäpitävyysanalyysi. Toisessa osassa analysoitiin tulokset yhteensä 98 kokoverinäytteestä, jotka osuivat yleisen määrittymisen dynaamiselle alueelle, käyttämällä Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysijä, ja löydökset raportoitiin vastaavan korrelaatiokertoimen kanssa (katso taulukko 5 ja kuva 6).

Taulukko 5. Kokoverinäytteiden kliinisen suorituskyvyn tutkimustiedot

| Yhtäpitävyyden arvio | Tiheydet | Prosentuaalinen yhtäpitävyys | Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen alempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja | Clopper-Pearsonin (tarkka) binomiaalinen ylempi kaksipuolinen 95 %:n luotettavuusraja |
|---|----------|------------------------------|---|---|
| Yleinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 169/178 | 94,94 | 90,62 | 97,66 |
| Positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 115/119 | 96,64 | 91,62 | 99,08 |
| Negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys | 54/59 | 91,53 | 81,32 | 97,19 |



Kuva 6. Regressiopirros Passing-Bablokin ja Demingin linjojen kanssa. Kummankin analyysin näytteet, jotka ovat kvantifikaation alarajan ja ylärajan välissä, ovat mukana analyysissä.

Kahden määrittelyn välillä tehdyn lineaarisen regression analyysissä saatiin Pearsonin korrelaatiokertoimeksi 0,956 ja Spearmanin korrelaatiokertoimeksi 0,945.

Uusittavuus

Uusittavuustietojen avulla *artus* EBV QS-RGQ -pakkauksen suorituskykyä ja tehokkuutta verrattuna muihin tuotteisiin voidaan arvioida säännöllisesti. Nämä tiedot on saatu osallistumalla tunnettuihin pätevyysohjelmiin.

Ristikontaminaatio

Näytteiden välisen ristikontaminaation mahdollisuus voitiin sulkea pois koko työnkulussa sillä perusteella, että kaikki tunnetut positiiviset ja negatiiviset näytteet detektoitiin oikein vuoroittaisista paikoista (sakkilautakuvio) edustavassa *artus* QS-RGQ -järjestelmässä.

artus EBV QS-RGQ -pakkauksen käyttöohjeessa on tiedot pakkaukseen liittyvistä tuotteista sekä tilaustiedot.

Asiakirjan muutoshistoria

| | |
|--------------|--|
| Syyskuu 2017 | Päivitetty taulukko 5 Kokoverinäytteiden kliinisen suorituskyvyn tutkimustiedot. Lisätty pitoisuusyksiköt IU/ml ja kopiota/ml koko tekstiin. |
|--------------|--|

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-pakkausten käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

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

Tässä asiakirjassa käytettyjen rekisteröityjen nimien, tavaramerkkien jne. ei katsota olevan lakisääteisen suojan (09/2017 HB-0357-D01-003) ulkopuolisia edes silloin, kun niitä ei ole erikseen mainittu © 2012–2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään

Tilaukset www.qiagen.com/shop | Tekninen tuki support.qiagen.com | Sivusto www.qiagen.com