

Kasım 2019

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

IVD

CE

REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, Versiyon 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

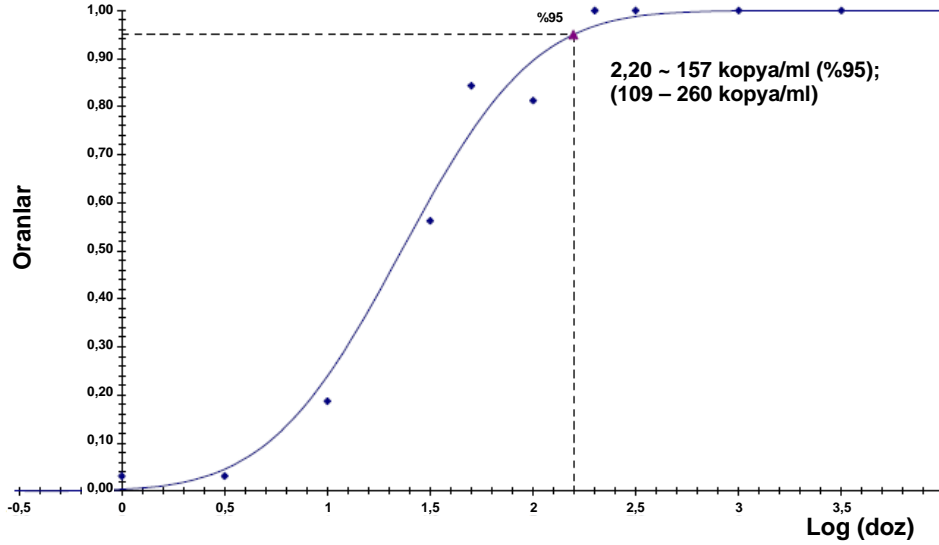


Test yürütmeden önce [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) adresinde yeni elektronik etiketleme revizyonlarının mevcudiyetini kontrol edin. Mevcut revizyon tarihi çıkış tarihiyle (format: ay/yıl) belirtilir.

## Tespit Sınırı – plazma

Safılaştırma bakımından tespit sınırı (hassasiyet sınırı), QIASymphony® SP üzerinde ekstraksiyon ile birlikte EBV pozitif klinik numuneler kullanılarak *artus* EBV QS-RGQ Kit için değerlendirilmiştir.

Plazma için *artus* EBV QS-RGQ Kit'in safılaştırılması bakımından tespit sınırı, klinik plazma örnekleri eklenmiş 3160 ila nominal 1 EBV kopya/ml şeklinde EBV materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit ile birlikte Cellfree1000\_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). 10 dilüsyonun her biri *artus* EBV QS-RGQ Kit ile 4 farklı günde her birinde 8 replikatlık 4 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 1 içinde gösterilmektedir. Rotor-Gene® Q ile birlikte *artus* EBV QS-RGQ Kit'in safılaştırılması bakımından tespit sınırı 157 kopya/ml'dir ( $p = 0,05$ ). Bu 157 kopya/ml'nin (22,29 IU/ml'ye karşılık gelir) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



Şekil 1. Probit analizi: plazma, EBV (Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q üzerinde safılaştırma (plazma, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit kullanılarak) ve *artus* EBV QS-RGQ Kit bakımından tespit sınırı

## Özgüllük – plazma

*artus* EBV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve problemlerin seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve problemler gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

Ayrıca özgüllük 30 farklı EBV negatif plazma örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar EBV RG Master'a dahil edilen EBV'ye özgü primerler ve problemlerle herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in olası çapraz reaktivitesi aşağıda Tablo 1 üzerinde listelenen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir. Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

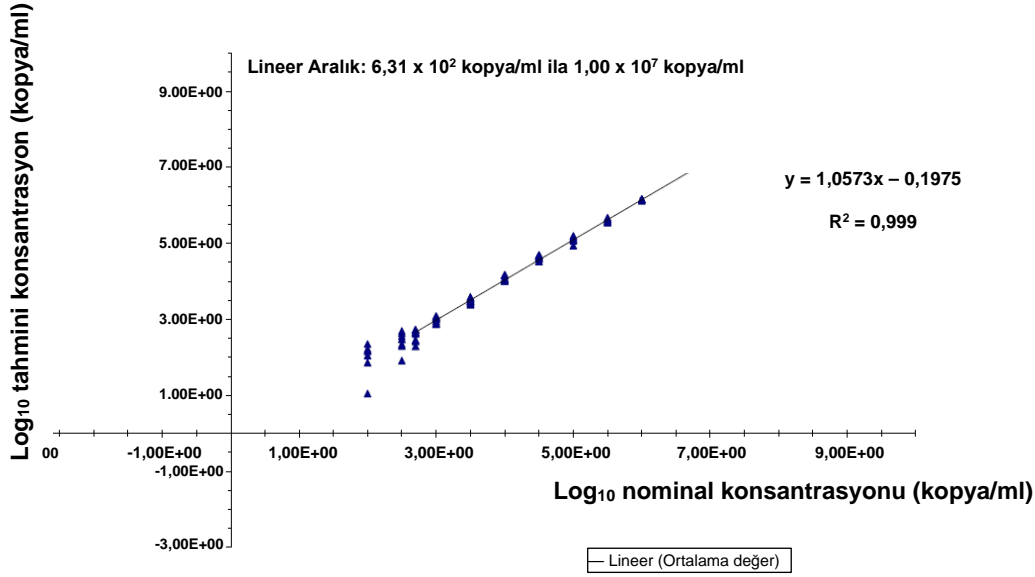
**Tablo 1. Kitin özgüllüğünün potansiyel çapraz reaktif patojenlerle test edilmesi**

Kontrol grubu	EBV (Cycling Green)	Dahili kontrol (Cycling Yellow)
İnsan herpes virüsü 1 (Herpes simpleks virüsü 1)	-	+
İnsan herpes virüsü 2 (Herpes simpleks virüsü 2)	-	+
İnsan herpes virüsü 3 (Varicella-zoster virüsü)	-	+
İnsan herpes virüsü 5 (Sitomegalovirüs)	-	+
İnsan T hücreli lösemi virüsü 1	-	+
İnsan T hücreli lösemi virüsü 2	-	+

## Lineer aralık – plazma

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından lineer aralık plazmada  $1,00 \times 10^7$  kopya/ml ile  $6,31 \times 10^2$  kopya/ml aralığındaki EBV materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIASymphony DSP Virüs/Patojen Midi Kit kullanılarak replikatlar ( $\geq 1,00 \times 10^6$  kopya/ml konsantrasyonlar için  $n = 4$ ;  $< 1,00 \times 10^6$  kopya/ml konsantrasyonlar için  $n = 8$ ) kullanılarak Cellfree1000\_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl). Örneklerin her biri *artus* EBV QS-RGQ Kit kullanılarak analiz edilmiştir.

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından lineer aralık plazma için  $6,31 \times 10^2$  kopya/ml ile  $1,00 \times 10^7$  kopya/ml konsantrasyonları ( $8,96 \times 10^1$  ila  $1,42 \times 10^6$  IU/ml'ye karşılık gelir) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. *artus* EBV QS-RGQ Kit'in (plazma) lineer aralığı. Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log<sub>10</sub> nominal konsantrasyonlarla log<sub>10</sub> hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

## Güçlülük – plazma

Güçlülüğün doğrulanması *artus* EBV QS-RGQ Kit'in toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 30 EBV negatif plazma örneğine 500 kopya/ml EBV eklenmiştir (analitik duyarlılık limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit'in, Cellfree1000\_DSP protokolü ile birlikte kullanıldığı ekstraksiyondan sonra (ekstraksiyon hacmi: 1 ml, elüsyon hacmi: 60 µl) bu örnekler *artus* EBV QS-RGQ Kit ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 30 ekleme yapılmış plazma örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* EBV QS-RGQ Kit güçlülüğü  $\geq 99\%$ 'dur.

## Olumsuz etkileyen maddeler – plazma

Bilirubin, hemoglobin ve trigliseritler Tablo 2 üzerinde gösterilen konsantrasyonlarda *artus* EBV QS-RGQ Kit ile herhangi bir olumsuz etkileşim göstermemiştir.

Tablo 2. EDTA plazma örneklerinde olumsuz etkileyen maddeler

EBV konsantrasyonu (kopya/ml)	Olumsuz etkileyen madde		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontrol}$ Mutlak
	Madde	Konsantrasyon	Ortalama $C_T$	SS	CV (%)	
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
	Trigliserit	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumin	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Kontrol	-	32,88	0,33	0,99	-

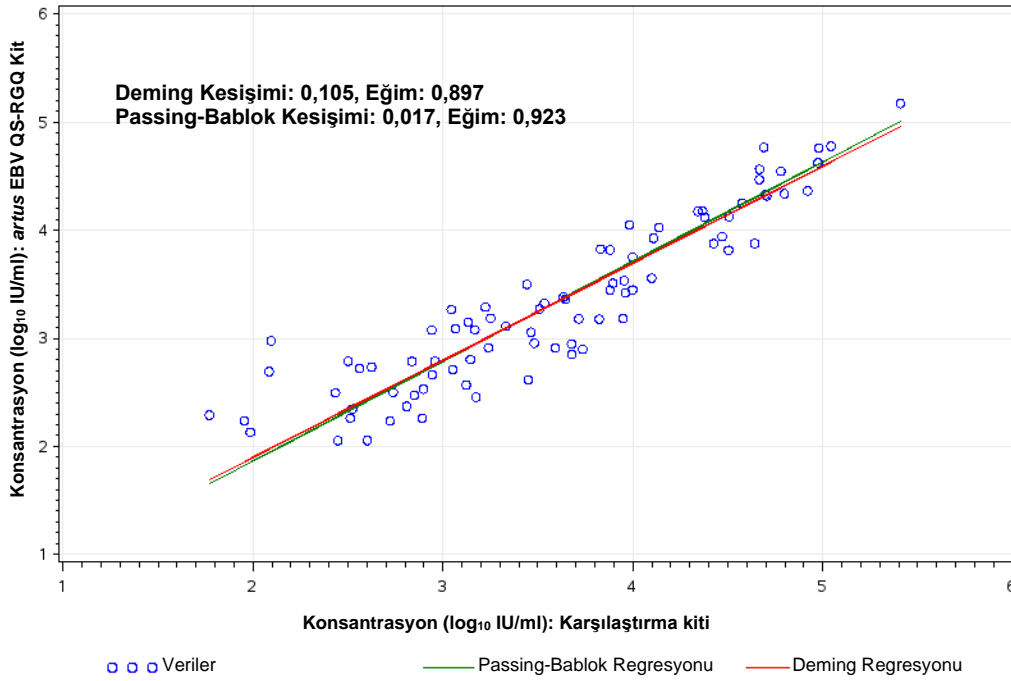
CV: coefficient of variation (varyasyon katsayısı); EBV: Epstein-Barr virüsü; IS: (interfering substance) olumsuz etkileyen madde; SS: standart sapma

## Klinik değerlendirme – plazma

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve bulguların karşılaştırılabilir bir yöntemle elde edilen sonuçlara göre analiz edilmesiyle değerlendirilmiştir. EBV ile enfekte hastalardan ve ayrıca negatif kontrollerden toplanan toplam 166 EDTA plazma numunesi *artus* EBV QS-RGQ Kit ile ve karşılaştırılabilir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Sonuçlar iki bölüm halinde analiz edilmiştir: birinci bölüm Pozitif Yüzde Anlaşma (Positive Percent Agreement, PPA), Negatif Yüzde Anlaşma (Negative Percent Agreement, NPA) ve Genel Yüzde Anlaşma (Overall Percent Agreement, OPA) için kategorik bir anlaşma analizidir; ikinci bölüm, Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak tahlil dinamik aralığı içindeki toplam 83 EDTA plazma örneğinden alınan sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen korelasyon katsayısı ile bildirilmiştir (bkz. Tablo 3 ve Şekil 3).

Tablo 3. EDTA plazma örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Uyumluluk yüzdesi	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	154/166	92,77	87,71	96,21
Pozitif yüzde anlaşma	100/102	98,04	93,10	99,76
Negatif yüzde anlaşma	54/64	84,38	73,14	92,24



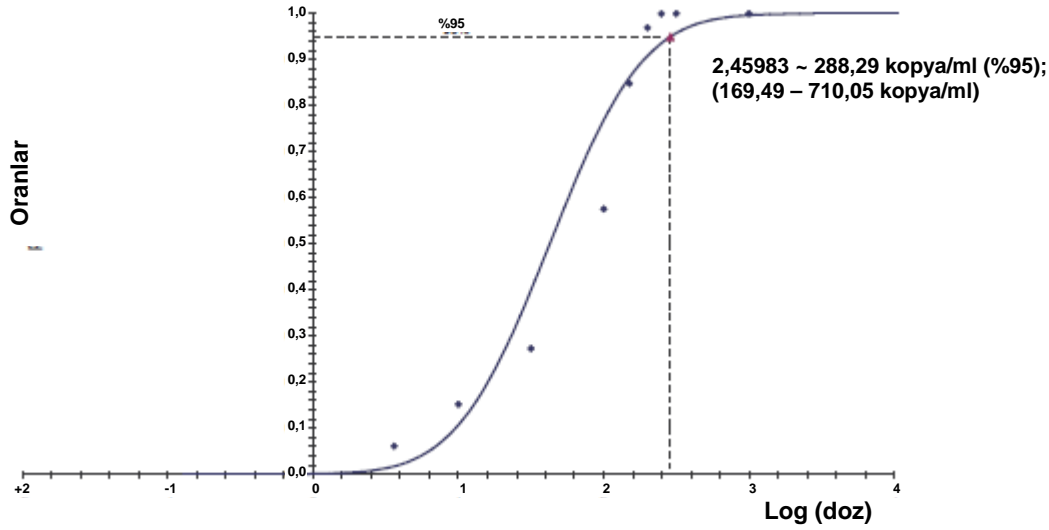
**Şekil 3. Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon grafiği.** Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

İki tahlil arasındaki lineer regresyon analizi Pearson Korelasyon Katsayısı olarak 0,922 ve Spearman Korelasyon Katsayısı olarak 0,928 sonucunu vermiştir.

## Tespit Sınırı – tam kan

Tam kan için *artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından tespit sınırı, insan tam kan numuneleri eklenmiş 3160 ila nominal 3,16 EBV kopya/ml şeklinde EBV materyalinin dilüsyon serisi kullanılarak belirlenmiştir. Bunlar, QIASymphony DNA Mini Kit ile birlikte VirusBlood200\_DSP protokolü kullanılarak DNA ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur (ekstraksiyon hacmi: 200 µl, elüsyon hacmi: 60 µl). 10 dilüsyonun her biri *artus* EBV QS-RGQ Kit ile 3 farklı günde her birinde 11 replikatlık 3 çalışmayla analiz edilmiştir. Sonuçlar probit analiziyle belirlenmiştir. Probit analizinin grafik bir temsili Şekil 4 içinde gösterilmektedir.

Rotor-Gene Q ile birlikte *artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından tespit sınırı 288,29 kopya/ml'dir ( $p = 0,05$ ). Bu, 288,29 kopya/ml'nin (40,36 IU/ml'ye karşılık gelir) saptanması olasılığının %95 olduğu anlamına gelir.



**Şekil 4. Probit analizi: tam kan, EBV (Rotor-Gene Q).** Rotor-Gene Q üzerinde *artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması (tam kan, QIAAsymphony DNA Mini Kit kullanılarak) bakımından tespit sınırı.

## Özgüllük – tam kan

*artus* EBV QS-RGQ Kit özgüllüğü öncelikle primer ve probaların seçilmesi ve ayrıca katı reaksiyon koşullarının seçilmesiyle sağlanır. Primerler ve probalar gen bankalarında yayımlanmış tüm dizilere olası homolojiler açısından sekans karşılaştırma analiziyle kontrol edilmiştir. Tüm ilgili genotiplerin saptanabilirliği böylece sağlanmıştır.

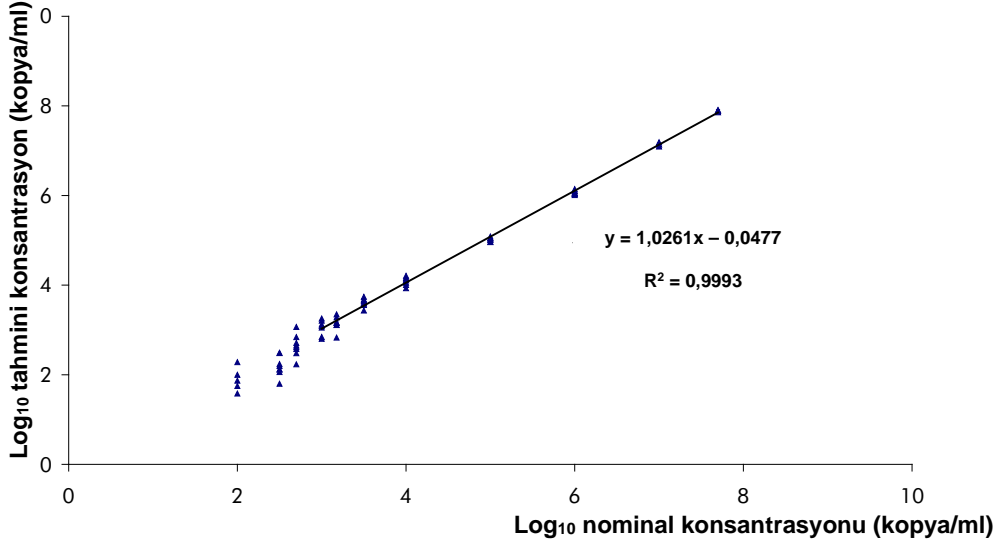
Ayrıca özgüllük 30 farklı EBV negatif tam kan örneğiyle doğrulanmıştır. Bunlar EBV RG Master'a dahil edilen EBV'ye özgü primerler ve probalarla herhangi bir sinyal oluşturmamıştır.

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in olası çapraz reaktivitesi Tablo 1 üzerinde listelenen kontrol grubu kullanılarak test edilmiştir (bkz. sayfa 3). Test edilen patojenlerin hiçbiri reaktif bulunmamıştır. Karışık enfeksiyonlarla çapraz reaktivite görülmemiştir.

## Lineer aralık – tam kan

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından lineer aralık tam kanda  $5,00 \times 10^7$  kopya/ml ile  $1,00 \times 10^3$  kopya/ml aralığındaki EBV materyali dilüsyon serisi analiz edilerek belirlenmiştir. Saflaştırma QIAAsymphony DNA Mini Kit kullanılarak replikatlar ( $\geq 1,00 \times 10^7$  kopya/ml konsantrasyonlar için  $n = 4$ ;  $< 1,00 \times 10^7$  kopya/ml konsantrasyonlar için  $n = 8$ ) şeklinde VirusBlood200\_DSP protokolü ile kombinasyon halinde yapılmıştır (ekstraksiyon hacmi: 200  $\mu$ l, elüsyon hacmi: 60  $\mu$ l).

Örneklerin her biri *artus* EBV QS-RGQ Kit kullanılarak analiz edilmiştir. *artus* EBV QS-RGQ Kit'in saflaştırılması bakımından lineer aralık tam kan için  $1,00 \times 10^3$  kopya/ml ile  $5,00 \times 10^7$  kopya/ml konsantrasyonları ( $1,4 \times 10^2$  ila  $7,0 \times 10^6$  IU/ml'ye karşılık gelir) kapsayacak şekilde belirlenmiştir (Şekil 5).



**Şekil 5. *artus* EBV QS-RGQ Kit'in (tam kan) lineer aralığı.** Lineer aralığın hesaplanması. Düz çizgi log<sub>10</sub> nominal konsantrasyonlarla log<sub>10</sub> hesaplanmış konsantrasyonların lineer regresyonuyla belirlenmiştir. Regresyon çizgisinin denklemi şekle dahil edilmiştir.

## Güçlülük – tam kan

Güçlülüğün doğrulanması *artus* EBV QS-RGQ Kit'in toplam başarısızlık oranının belirlenmesini mümkün kılar. Güçlülüğünü doğrulamak için, 51 EBV negatif tam kan örneğine 750 kopya/ml EBV eklenmiştir (analitik duyarlılık limitinin yaklaşık üç katı konsantrasyon). QIASymphony DNA Mini Kit ile kombinasyon halinde VirusBlood200\_DSP protokolü kullanılarak ekstraksiyon sonrasında (ekstraksiyon hacmi: 200 µl, elüsyon hacmi: 60 µl) bu örnekler *artus* EBV QS-RGQ Kit ile analiz edilmiştir. Ayrıca dahili kontrolün güçlülüğü 51 ekleme yapılmış tam kan örneğinin saflaştırılması ve analizinden değerlendirilmiştir. İnhibisyonlar gözlenmemiştir. Böylece *artus* EBV QS-RGQ Kit güçlülüğü  $\geq 99\%$ 'dur.



## Olumsuz etkileyen maddeler – tam kan

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in sonuçlarını olumsuz etkileyebilecek maddeler test edilmiştir ve bu maddelerin kiti olumsuz etkilemeyen konsantrasyonları Tablo 4 üzerinde gösterilmektedir.

Tablo 4. Tam kan örneklerinde olumsuz etkileyen maddeler

EBV konsantrasyonu (kopya/ml)	Olumsuz etkileyen madde		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontrol}$
	Madde	Konsantrasyon	Ortalama $C_T$	SS	CV (%)	Mutlak
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Trigliserit	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/örnek	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/örnek	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/örnek	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/örnek	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontrol	-	-	35,17	0,40	1,13

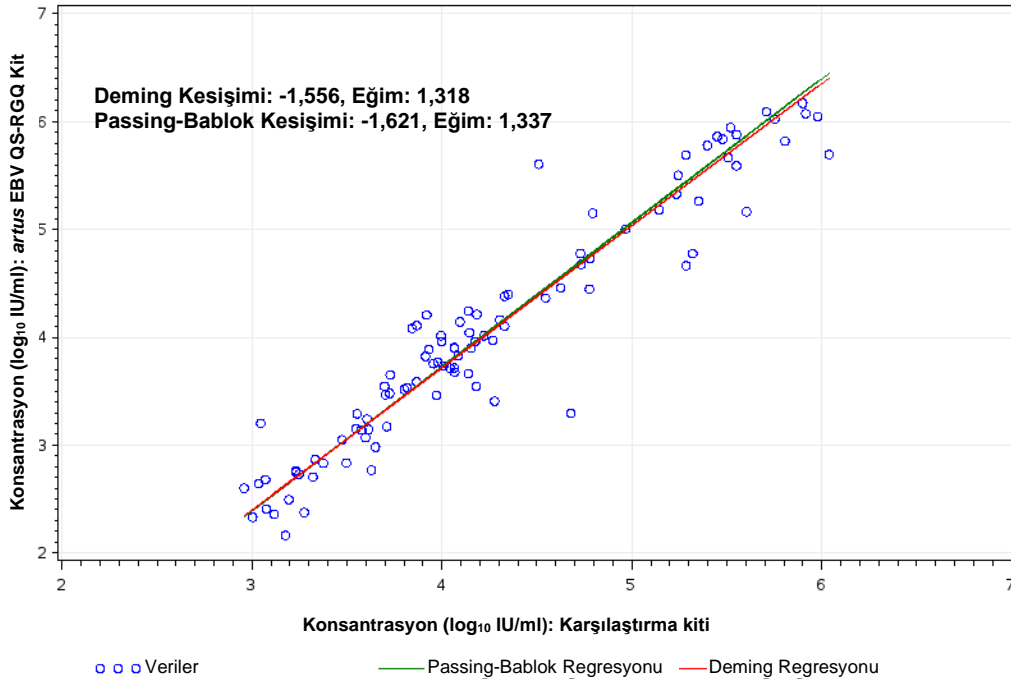
CV: coefficient of variation (varyasyon katsayısı); EBV: Epstein-Barr virüsü; gDNA: genomik DNA; IS: interfering substance (olumsuz etkileyen madde); SS: standart sapma

## Klinik değerlendirme – tam kan

*artus* EBV QS-RGQ Kit'in klinik performansı klinik numunelerin test edilmesi ve karşılaştırılabilir bir yöntemle göre analizle değerlendirilmiştir. EBV ile enfekte hastalardan toplam 178 tam kan numunesi ve ayrıca negatif kontroller, *artus* EBV QS-RGQ Kit ve karşılaştırılabilir bir yöntemle harici bir çalışma yerinde test edilmiştir. Sonuçlar iki bölüm halinde analiz edilmiştir: birinci bölüm PPA, NPA ve OPA için kategorik bir anlaşma analizidir; ikinci bölüm, Deming ve Passing-Bablok regresyon analizleri kullanılarak ortak tahlil dinamik aralığı içindeki toplam 98 tam kan örneğinden sonuçların bir analizidir ve bulgular karşılık gelen korelasyon katsayısı ile bildirilmiştir (bkz. Tablo 5 ve Şekil 6).

Tablo 5. Tam kan örnekleri için klinik performans çalışma verileri

Anlaşma ölçütü	Sıklıklar	Uyumluluk yüzdesi	Clopper-Pearson (tam) binomiyal alt iki yönlü %95 güvenlik sınırı	Clopper-Pearson (tam) binomiyal üst iki yönlü %95 güvenlik sınırı
Genel yüzde anlaşma	169/178	94,94	90,62	97,66
Pozitif yüzde anlaşma	115/119	96,64	91,62	99,08
Negatif yüzde anlaşma	54/59	91,53	81,32	97,19



**Şekil 6. Passing-Bablok ve Deming Çizgileriyle regresyon grafiği.** Her iki kit için alt kantifikasyon limiti ve üst kantifikasyon limiti arasındaki örnekler analize dahil edilmiştir.

İki tahlil arasındaki lineer regresyon analizi Pearson Korelasyon Katsayısı olarak 0,956 ve Spearman Korelasyon Katsayısı olarak 0,945 sonucunu vermiştir.

## Tekrar Üretilirlik

Yeniden üretilebilirlik verileri *artus* EBV QS-RGQ Kit'in düzenli performans değerlendirmesine ve ayrıca başka ürünlerle etkinlik bakımından karşılaştırılmasına olanak sağlar. Bu veriler belirlenmiş verimlilik programlarına katılımı elde edilir.

## Çapraz kontaminasyon

Tüm iş akışı için örnekler arasında çapraz kontaminasyon yokluğu temsili bir *artus* QS-RGQ sistemi için alternatif pozisyonlarda (dama tahtası paterni) tüm bilinen pozitif ve negatif örneklerin doğru saptanmasıyla ispatlanmıştır.

İlgili ürünler ve sipariş bilgisi *artus* EBV QS-RGQ Kit için el kitabında liste halinde verilmiştir.

## Belge Revizyon GemiŖi

Tarih	DeęiŖiklikler
R1 11/2019	<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit versiyonu Versiyon 1'den Versiyon 2'ye gncellenmiŖtir, Düzen güncellemeleri.

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özel ret beyanları için ilgili QIAGEN® kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribtrnzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Bu belgede geçen tescilli isimler, ticari markalar vb. açıkça bu Ŗekilde belirtilmemiŖ olsa bile yasalarda korunmaktadır.  
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

