

2019. november

artus[®] EBV QS-RGQ Kit: Teljesítményjellemzők

IVD

CE

REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, 2. verzió



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

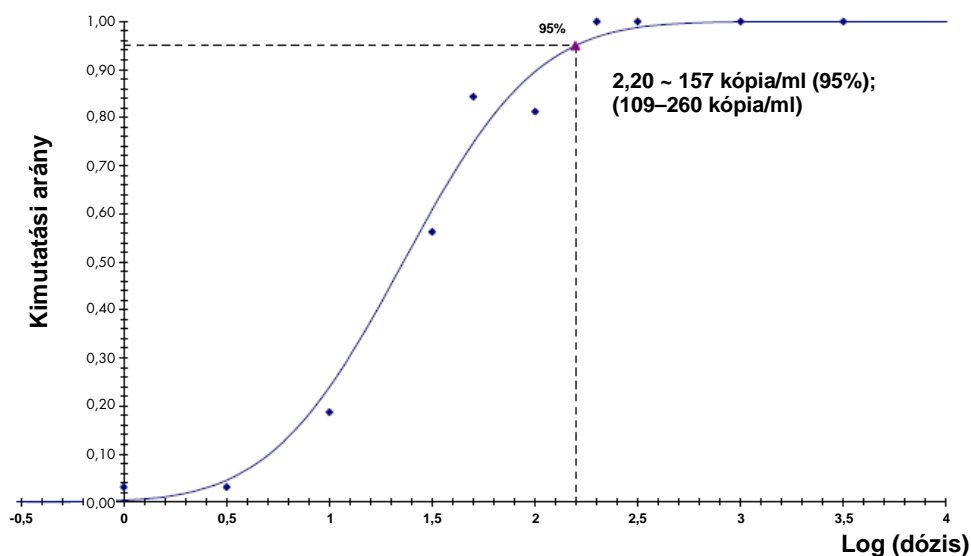


A teszt elvégzése előtt ellenőrizze az új elektronikus címkék felülvizsgálatát a [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) címen. Az aktuális átdolgozási állapotot a kibocsátás dátuma jelzi (hónap/év formátumban).

Kimutatási határ – plazma

A tisztítást (érzékenységi határ) is figyelembe vevő kimutatási határt (limit of detection) *artus* EBV QS-RGQ Kit esetén EBV-pozitív klinikai minták és a QIASymphony® SP készüléken végzett extrakció kombinációjával mérték fel.

Plazma esetén az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határának meghatározásához az EBV vírus 3160 és névleges 1 kópia/ml közötti koncentrációjú hígítási sorával preparált klinikai mintákkal készült. Ezekből a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és a Cellfree1000_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával DNS-extrakciót végeztek (extrakciós térfogat: 1 ml; elúciós térfogat: 60 µl). Mind a 10 hígítást az *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével, 4 különböző napon, 4 futtatásban 8 párhuzamos mintával elemezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határoztuk meg. A probit-elemzés grafikai megjelenítése az 1. ábrán található. Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa Rotor-Gene® Q készüléssel 157 kópia/ml ($p = 0,05$). Ez azt jelenti, hogy 157 kópia/ml (22,29 IU/ml-nek felel meg) esetén 95%-os a detektálás valószínűsége.



1. ábra: Probit-elemzés: plazma, EBV (Rotor-Gene Q). Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa (plazma, a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit alkalmazásával) Rotor-Gene Q készüléken.

Specifititás – plazma

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit specifititása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák lehetséges homológiáját szekvencia-összehasonlítási elemzéssel ellenőrizték minden génbankban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns genotípus detektálhatósága ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifititást 30 különböző EBV-negatív plazmamintán is validálták. Ezek nem adtak jelet az EBV RG Master-ben található primerekkel és próbákkal.

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit lehetséges keresztreaktivitása az alábbi 1. táblázatban található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást. Nem volt keresztreaktivitás kevert fertőzések esetén.

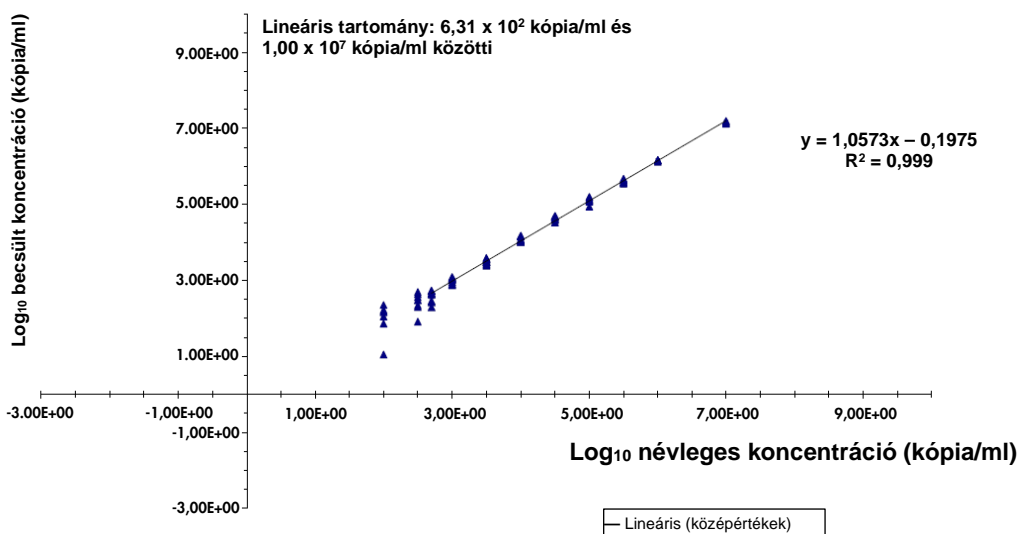
1. táblázat: A készlet specifititásának vizsgálata potenciális keresztreaktív patogénekkal

Kontrollcsoport	EBV (Cycling Green)	Belső kontroll (Cycling Yellow)
Humán herpeszvírus 1 (Herpes simplex vírus 1)	–	+
Humán herpeszvírus 2 (Herpes simplex vírus 2)	–	+
Humán herpeszvírus 3 (Varicella-zoster vírus)	–	+
Humán herpeszvírus 5 (Cytomegalovírus)	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 1	–	+
Humán T-sejt leukémia vírus 2	–	+

Lineáris tartomány – plazma

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát az EBV-anyag $1,00 \times 10^7$ és $6,31 \times 10^2$ kópia/ml hígítási sorozatának elemzésével határozták meg a plazmában. A tisztítást párhuzamosokon végezték el ($a \geq 1,00 \times 10^6$ kópia/ml koncentrációk esetében $n = 4$; $a < 1,00 \times 10^6$ kópia/ml koncentrációk esetében $n = 8$) a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és a Cellfree1000_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 1 ml; elúciós térfogat: 60 μ l). Mindegyik minta elemzését *artus* EBV QS-RGQ Kit alkalmazásával végezték el.

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát úgy határozták meg, hogy magában foglalja a $6,31 \times 10^2$ és $1,00 \times 10^7$ kópia/ml közötti plazmakoncentrációkat ($8,96 \times 10^1$ és $1,42 \times 10^6$ IU/ml közötti tartománynak felel meg) (2. ábra).



2. ábra: Az *artus* EBV QS-RGQ Kit lineáris tartománya (plazma). A lineáris tartomány kiszámítása. Az egyenes vonal meghatározása a log₁₀ számított koncentráció log₁₀ névleges koncentrációval történő lineáris regressziójával történt. A regressziós vonal egyenlete szerepel az ábrán.

Megbízhatóság – plazma

A megbízhatóság ellenőrzése lehetővé teszi az *artus* EBV QS-RGQ Kit teljes hibaarányának meghatározását. A megbízhatóság ellenőrzésére 30 EBV-negatív plazmamintába 500 kópia/ml koncentrációjú EBV-t töltöttek (ez az analitikai érzékenységi határkoncentráció hozzávetőleg háromszorosa). A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit és a Cellfree1000_DSP protokoll kombinációjának használatával végzett extrakció után (extrakciós térfogat: 1 ml; elúciós térfogat: 60 µl), a minták elemzését *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével végezték el. Emellett a belső kontroll megbízhatóságát 30 preparált plazmaminta tisztításával és vizsgálatával mérték fel. Nem volt gátlás megfigyelhető. Ezek alapján az *artus* EBV QS-RGQ Kit megbízhatósága $\geq 99\%$.

Zavaró anyagok – plazma

A bilirubin, hemoglobin és trigliceridek nem mutattak semmilyen zavaró kölcsönhatást az *artus* EBV QS-RGQ Kit használatakor a 2. táblázatban feltüntetett koncentrációk esetében.

2. táblázat: EDTA plazmamintákban lévő zavaró anyagok

EBV koncentráció (kópia/ml)	Zavaró anyag		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) kontroll}$
	Tétel	Koncentráció	Átlag C_T	Szórás	CV (%)	Abszolút érték
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
	Triglicerid	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	-

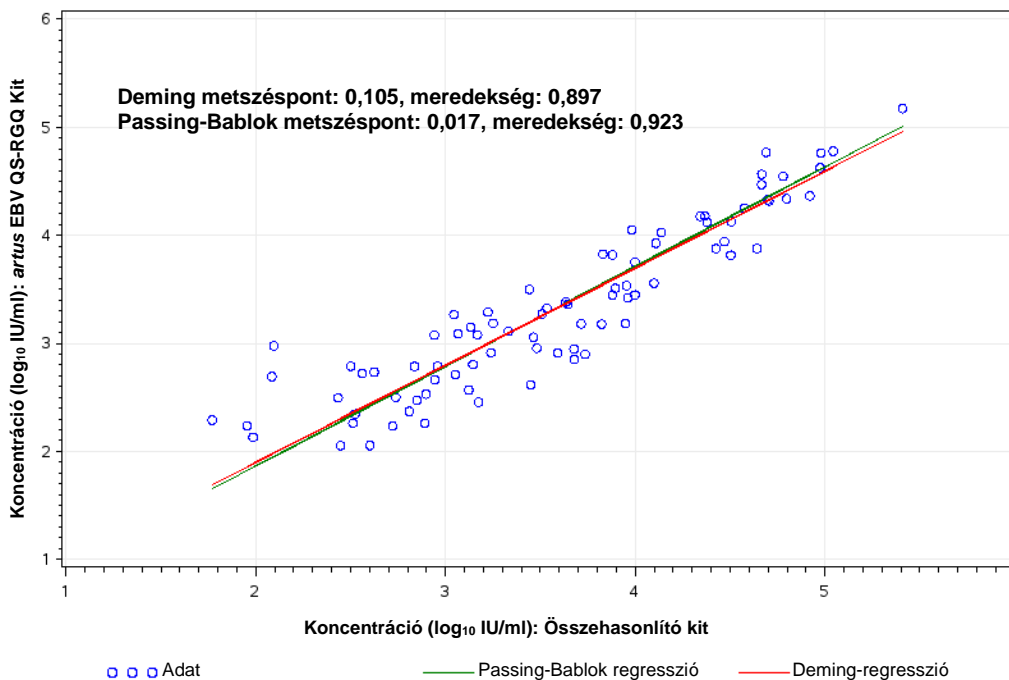
CV: coefficient of variation (variációs koefficiens); EBV: Epstein–Barr-vírus; IS: interfering substance (zavaró anyag); SD: standard deviation (standard deviancia)

Klinikai kiértékelés – plazma

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit klinikai teljesítményét klinikai minták vizsgálatával és az eredmények összehasonlító módszerrel szembeni elemzésével értékelték ki. CMV-fertőzött betegektől gyűjtött, valamint negatív kontrolloktól származó, összesen 166 EDTA plazmamintát teszteltek az *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével és egy külső helyszínen végzett összehasonlításra alkalmas módszerrel. Az eredményeket két részletben elemezték: az első esetében a pozitív eredmények százalékos egyezésével (Positive Percent Agreement, PPA), a negatív eredmények százalékos egyezésével (Negative Percent Agreement, NPA) és az összesített eredmények százalékos egyezésével (Overall Percent Agreement, OPA) kategorikusan analizálták az összeegyeztethetőséget; a második részben a teszt dinamikus tartományába eső, összesen 83 EDTA plazmaminta alapján elért eredményeket analizálták Deming és Passing-Bablok regresszióanalízissel, aminek eredményeit a megfelelő korrelációs együtthatóval tették közzé (lásd: 3. táblázat és 3. ábra).

3. táblázat: Az EDTA plazmaminták klinikai teljesítményére vonatkozó teszt eredményei

Az egyezés foka	Gyakoriság	Százalékos egyezés	Clopper-Pearson kétoldali (egzakt) binomiális alsó 95%-os konfidenciahatár	Clopper-Pearson kétoldali (egzakt) binomiális felső 95%-os konfidenciahatár
Százalékos egyezés összesen	154/166	92,77	87,71	96,21
Pozitív százalékos egyezés	100/102	98,04	93,10	99,76
Negatív százalékos egyezés	54/64	84,38	73,14	92,24



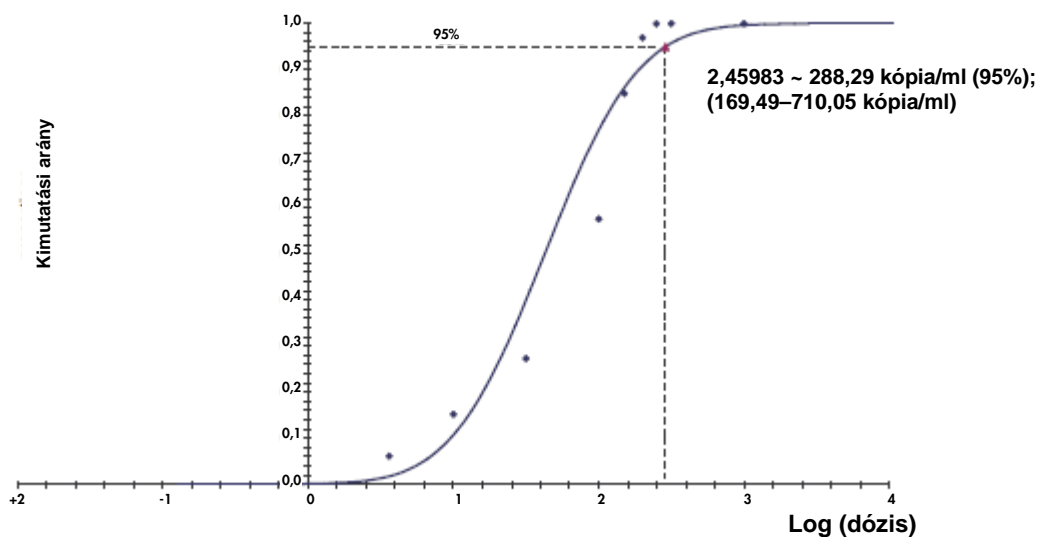
3. ábra: Regressziós függvény Passing-Bablok és Deming vonalakkal Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke és a kvantifikáció felső határértéke között lévő minták szerepelnek az elemzésben.

A két assay közötti lineáris regresszióanalízisének eredménye szerint a Pearson-féle korrelációs együttható 0,922 és a Spearman-féle korrelációs együttható 0,928.

Kimutatási határ – teljes vér

Teljes vér esetén az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határának meghatározásához az EBV vírus olyan hígítási sorát készítették el, amely 3160 és névleges 3,16 kópia/ml közötti koncentrációjú anyag humán teljes vérhez való hozzáadásával készült. Ezekből a QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával DNS-extrakciót végeztek (extrakciós térfogat: 200 µl, elúciós térfogat: 60 µl). Mind a 10 hígítást az *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével, 3 különböző napon, 3 futtatásban 11 párhuzamos mintával elemezték. Az eredményeket probit-elemzéssel határoztuk meg. A probit-elemzés grafikai megjelenítése az 4. ábrán található.

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa Rotor-Gene Q készülékkel 288,29 kópia/ml ($p = 0,05$). Ez azt jelenti, hogy 288,29 kópia/ml (40,36 IU/ml-nek felel meg) esetén 95%-os a detektálás valószínűsége.



4. ábra: Probit-elemzés: teljes vér, EBV (Rotor-Gene Q). Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő kimutatási határa (teljes vér, a QIASymphony DSP Mini Kit alkalmazásával) Rotor-Gene Q készüléken.

Specifititás – teljes vér

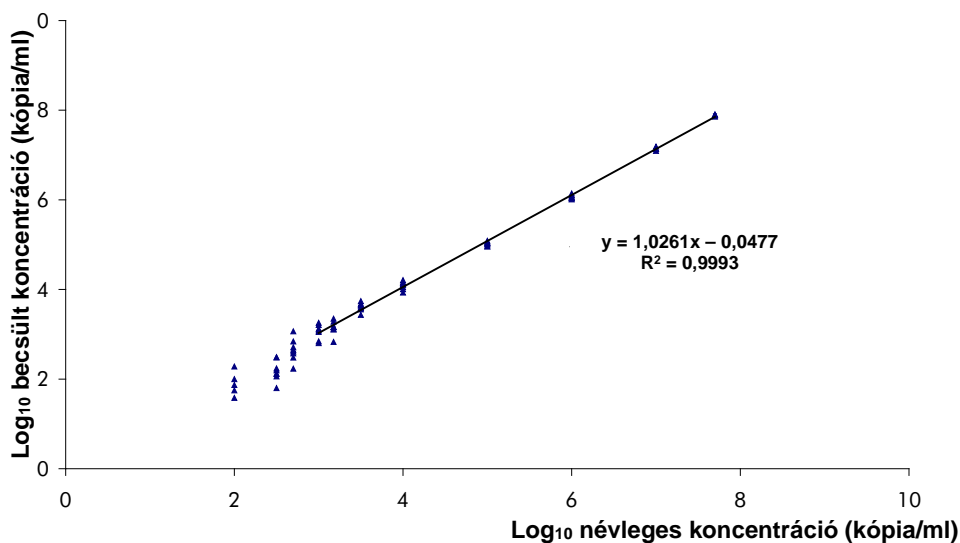
Az *artus* EBV QS-RGQ Kit specifititása elsősorban és leginkább a primerek és próbák kiválasztásán, illetve a szigorúan meghatározott reakciófeltételeken alapul. A primerek és próbák lehetséges homológiáját szekvencia-összehasonlítási elemzéssel ellenőrizték minden génbankban publikált szekvenciával szemben. Minden releváns genotípus detektálhatósága ezáltal biztosítva van.

Emellett a specifititást 30 különböző EBV-negatív szérummintán is validálták. Ezek nem adtak jelet az EBV RG Master-ben található primerekkel és próbákkal.

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit lehetséges keresztreaktivitása az 1. táblázatban (lásd 3. oldal) található kontrollcsoporttal lett tesztelve. A tesztelt patogének egyike sem mutatott keresztreaktivitást. Nem volt keresztreaktivitás kevert fertőzések esetén.

Lineáris tartomány – teljes vér

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát az EBV vírusanyag $5,00 \times 10^7$ és $1,00 \times 10^3$ kópia/ml hígítási sorozatának elemzésével határozták meg a teljes vérben. A tisztítást párhuzamos mintákon végezték el ($a \geq 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk esetében $n = 4$; $a < 1,00 \times 10^7$ kópia/ml koncentrációk esetében $n = 8$) a QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának alkalmazásával (extrakciós térfogat: 200 μ l, elúciós térfogat: 60 μ l). Mindegyik minta elemzését *artus* EBV QS-RGQ Kit alkalmazásával végezték el. Az *artus* EBV QS-RGQ Kit tisztítást is figyelembe vevő lineáris tartományát úgy határozták meg, hogy magában foglalja a $1,00 \times 10^3$ és $5,00 \times 10^7$ kópia/ml közötti teljes vérben mért koncentrációkat ($1,4 \times 10^2$ és $7,0 \times 10^6$ IU/ml közötti tartománynak felel meg) (5. ábra).



5. ábra: Az *artus* EBV QS-RGQ Kit lineáris tartománya (teljes vér). A lineáris tartomány kiszámítása. Az egyenes vonal meghatározása a log₁₀ számított koncentráció log₁₀ névleges koncentrációval történő lineáris regressziójával történt. A regressziós vonal egyenlete szerepel az ábrán.

Megbízhatóság – teljes vér

A megbízhatóság ellenőrzése lehetővé teszi az *artus* EBV QS-RGQ Kit teljes hibaarányának meghatározását. A megbízhatóság ellenőrzésére 51 EBV-negatív teljesvér-mintába 750 kópia/ml koncentrációjú EBV-t töltöttek (ez az analitikai érzékenységi határkoncentráció hozzávetőleg háromszorosa). A QIASymphony DNA Mini Kit és a VirusBlood200_DSP protokoll kombinációjának használatával végzett extrakció után (extrakciós térfogat: 200 µl, elúciós térfogat: 60 µl), a minták elemzését *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével végezték el. Emellett a belső kontroll megbízhatóságát 51 preparált teljes vérminta tisztításával és vizsgálatával mérték fel. Nem volt gátlás megfigyelhető. Ezek alapján az *artus* EBV QS-RGQ Kit megbízhatósága $\geq 99\%$.

Zavaró anyagok – teljes vér

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit eredményeit potenciálisan zavaró anyagokat tesztelték. A 4. táblázat tartalmazza azoknak az anyagoknak a koncentrációját, amelyek nem zavarják a Kit működését.

4. táblázat: Zavaró anyagok teljesvér-mintában

EBV koncentráció (kópia/ml)	Zavaró anyag		Átlag C_T	$C_{T(EBV)}$ Szórás	CV (%)	$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) kontroll}$ Abszolút érték
	Tétel	Koncentráció				
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglicerid	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNS	3 µg/minta	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNS	2,5 µg/minta	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNS	2 µg/minta	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNS	1 µg/minta	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontroll	–	35,17	0,40	1,13	–

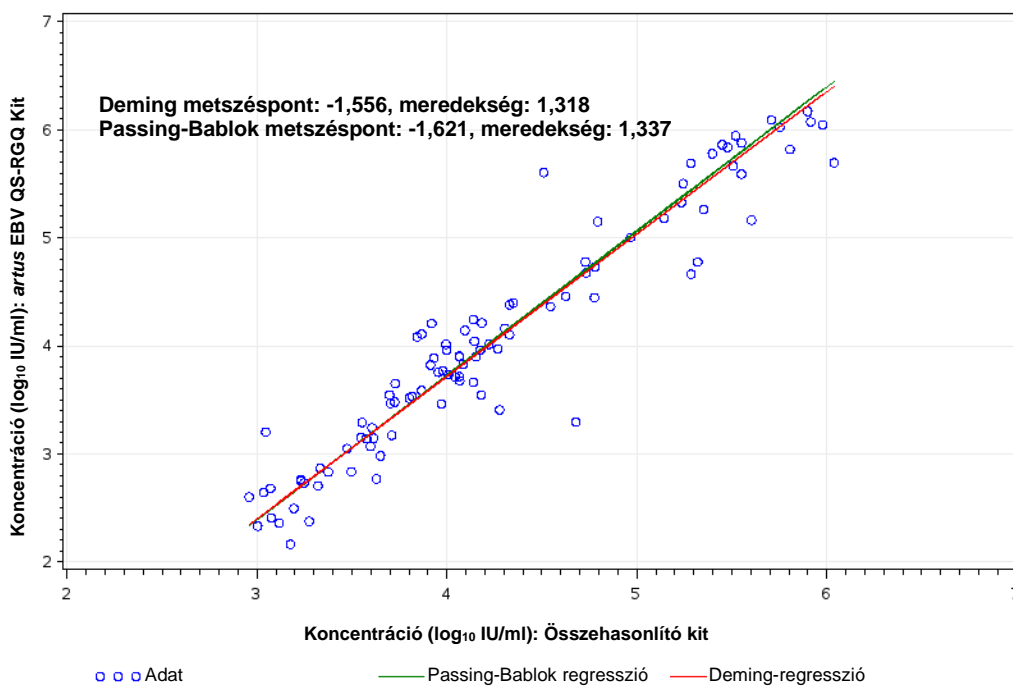
CV: coefficient of variation (variációs koefficiens); EBV: Epstein–Barr-vírus; gDNS: genomiális DNS; IS: interfering substance (zavaró anyag); SD: standard deviation (standard deviancia)

Klinikai értékelés – teljes vér

Az *artus* EBV QS-RGQ Kit klinikai teljesítményét klinikai minták vizsgálatával és összehasonlító módszerrel szembeni elemzésével értékelték ki. EBV-fertőzött betegektől gyűjtött, valamint negatív kontrolloktól származó, összesen 178 teljesvér-mintát teszteltek az *artus* EBV QS-RGQ Kit segítségével és egy külső helyszínen végzett összehasonlításra alkalmas módszerrel. Az eredményeket két részletben elemezték: az első esetében a pozitív eredmények százalékos egyezésével (Positive Percent Agreement, PPA), a negatív eredmények százalékos egyezésével (Negative Percent Agreement, NPA) és az összesített eredmények százalékos egyezésével (Overall Percent Agreement, OPA) kategorikusan analizálták az összeegyeztethetőséget; a második részben a teszt dinamikus tartományába eső, összesen 98 teljesvér-minta alapján elért eredményeket analizálták Deming és Passing-Bablok regresszióanalízissel, aminek eredményeit a megfelelő korrelációs együtthatóval tették közzé (lásd: 5. táblázat és 6. ábra).

5. táblázat: A teljesvér-minták klinikai teljesítményére vonatkozó teszt eredményei

Az egyezés foka	Gyakoriság	Százalékos egyezés	Clopper-Pearson kétoldali (egzakt) binomiális alsó 95%-os konfidenciahatár	Clopper-Pearson kétoldali (egzakt) binomiális felső 95%-os konfidenciahatár
Százalékos egyezés összesen	169/178	94,94	90,62	97,66
Pozitív százalékos egyezés	115/119	96,64	91,62	99,08
Negatív százalékos egyezés	54/59	91,53	81,32	97,19



6. ábra: Regressziós függvény Passing-Bablok és Deming vonalakkal Mindkét kit esetében a kvantifikáció alsó határértéke és a kvantifikáció felső határértéke között lévő minták szerepeltek az elemzésben.

A két assay közötti lineáris regresszióanalízisének eredménye szerint a Pearson-féle korrelációs együttható 0,956 és a Spearman-féle korrelációs együttható 0,945.

Reprodukálhatóság

A reprodukálhatósági adatok lehetővé teszik az *artus* EBV QS-RGQ Kit teljesítmény-jellemzőinek rendszeres mérését, valamint a más termékekkel történő hatékonysági összehasonlítást. Ezek az adatok laboratóriumi szakmai alkalmazásai programokban történő részvételből származnak.

Keresztszennyeződés

A minták közötti keresztszennyeződések hiányát a teljes munkafolyamat során az összes ismert, felváltva elhelyezkedő (sakktábla-mintázatú) pozitív és negatív minta helyes detektálásával bizonyítottuk egy reprezentatív *artus* QS-RGQ rendszer számára.

A kapcsolódó termékek és rendelési információk felsorolása az *artus* EBV QS-RGQ Kit kézikönyvében található.

A dokumentum átdolgozási előzményei

Dátum	Módosítások
R1 11/2019	Az <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit verzióját frissítették az 1. verzióról a 2. verzióra; szerkezeti felépítés frissítése.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN csoport).
A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, minden jog fenntartva.

