

September 2017

# *artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ-kit

## Prestandaegenskaper

**IVD**



**REF**

4501363SV *artus* EBV QS-RGQ-kit, Version 1.

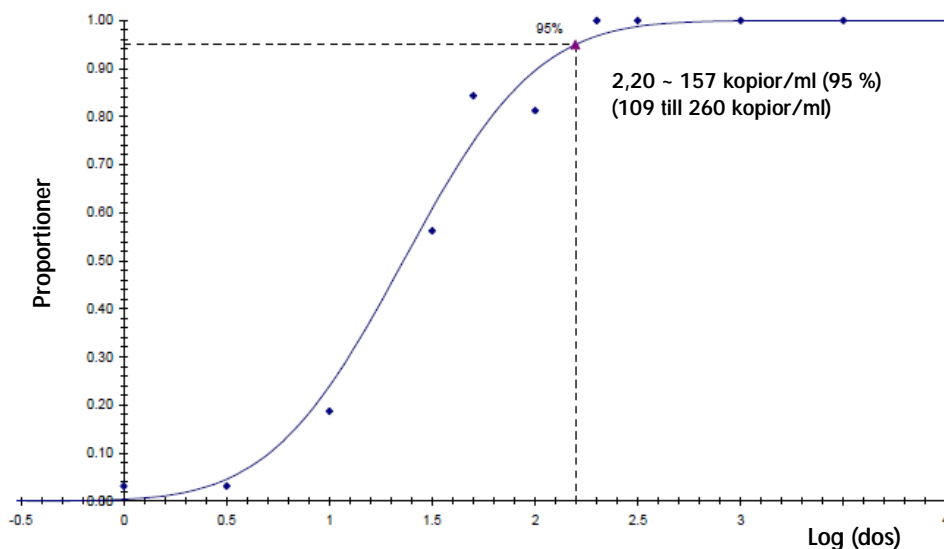


Kontrollera om det finns nya elektroniska märkningsrevisioner på [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) innan testet utförs. Nuvarande revisionsstatus anges av utgivningsdatumet (format: månad/år).

## Detektionsgräns – plasma

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

Detektionsgränsen för plasma avseende rening av *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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 användning 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 under 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-kitet 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 användning av QIASymphony DSP virus/patogen Midi-kit) och *artus* EBV QS-RGQ-kitet på Rotor-Gene Q.

## Specificitet – plasma

Specificiteten för *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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 kors-reaktivitet i *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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.

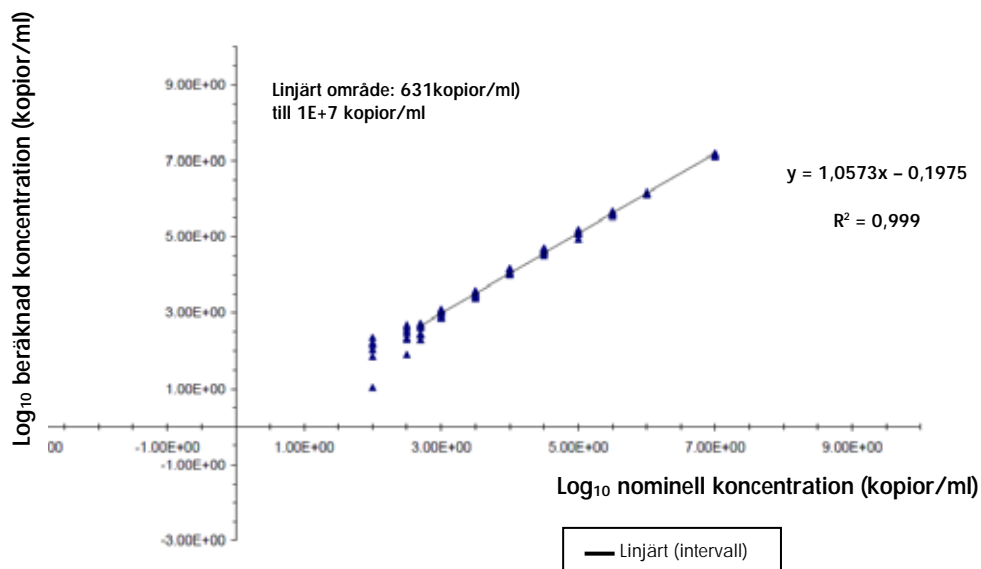
**Tabell 1. Testning av kitets specificitet med potentiellt korsreaktiva patogener.**

Kontrollgrupp	EBV (Cycling Green)	Intern kontroll (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-kitet 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/patogen midi-kitet 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-kitet.

Det linjära området med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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-kitet (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-kitet. 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 QIASymphony DSP virus/patogen midi-kitet i kombination med Cellfree1000\_DSP-protokollet (extraktionsvolym: 1 ml, elueringsvolym: 60 µl) analyserades proverna med *artus* EBV QS-RGQ-kitet. Dessutom utvärderades robustheten i den interna kontrollen genom rening och analys av de 30 spetsade plasmaproverna. Inga inhiberingar observerades. Robustheten för *artus* EBV QS-RGQ-kitet är därmed <sup>3</sup>99 %.

## Störande substanser – plasma

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

Tabell 2. Störande substanser i EDTA-plasmaprover

EBV-koncentration (kopior/ml)	Störande substans		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontroll}$
	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	-

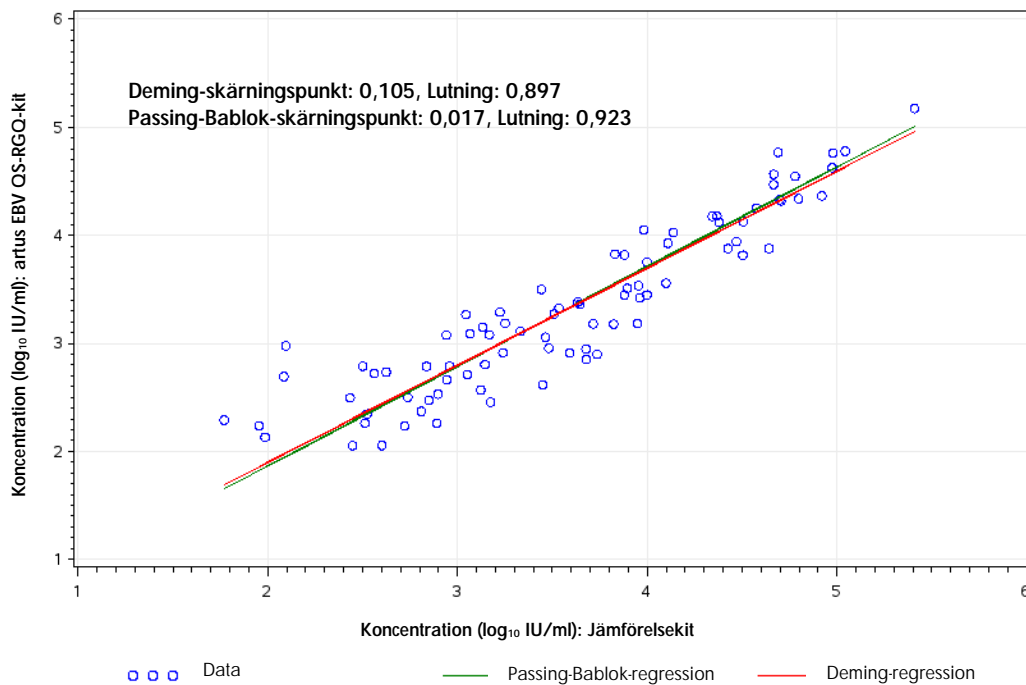
CV: variationskoefficient; EBV: Epstein-Barr-virus; IS: störande substans; SD: standardavvikelse

## Klinisk bedömning – plasma

Den kliniska prestandan hos *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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-kitet 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	Överensstämmelse i procent	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



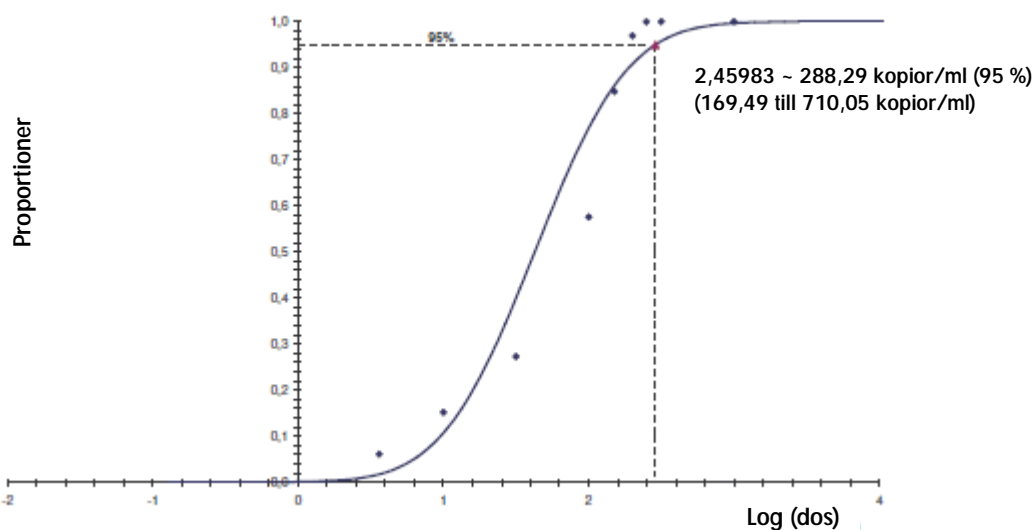
Figur 3. Regressionsdiagram med Passing-Bablok- och Deming-linjer. Prover som ligger mellan den undre kvantifieringsgränsen och den övre kvantifieringsgränsen för båda kiten har tagits med i analysen.

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 den analytiska sensitiviteten avseende rening av artus EBV QS-RGQ-kitet 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 QIASymphony DNA Mini Kit i kombination med VirusBlood200\_DSP-protokollet (extraheringsvolym: 200 µl, elueringsvolym: 60 µl). Var och en av de 10 spädningarna analyserades med artus EBV QS-RGQ-kitet 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-kitet 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 av (motsvarar 40,36 IU/ml) kommer att detekteras.



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

## Specificitet – helblod

Specificiteten för *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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.

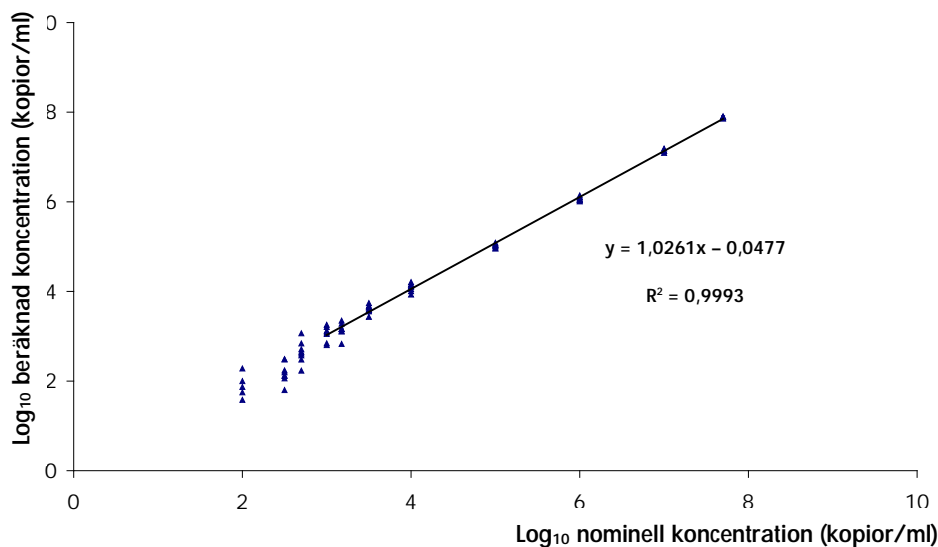
Dessutom utvärderades specificiteten med 30 olika EBV-negativa helblodsprover. Dessa genererade inga signaler med de EBV-specifika primrar och prober som ingår i EBV RG Master.

Potentiell kors-reaktivitet i *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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-kitet 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-kitet. Det linjära intervallet med hänsyn till reningen av *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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<sub>10</sub>-beräknade koncentrationerna jämfört med de log<sub>10</sub>-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-kitet. 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 µl, elueringsvolym: 60 µl) analyserades proverna med *artus* EBV QS-RGQ-kitet. Dessutom utvärderades robustheten på den interna kontrollen genom rening och analys av de 51 spetsade helblodsproverna. Inga inhiberingar observerades. Robustheten för *artus* EBV QS-RGQ-kitet är därmed 99 %.

## Störande substanser – helblod

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

**Tabell 4. Störande substanser i helblodsprover**

EBV-koncentration (kopior/ml)	Störande substans		$C_{T(EBV)}$			$C_{T(EBV) IS} - C_{T(EBV) Kontroll}$
	Objekt	Koncentration	Genomsnitt $C_T$	SD	CV (%)	Absolut
2 500	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	-

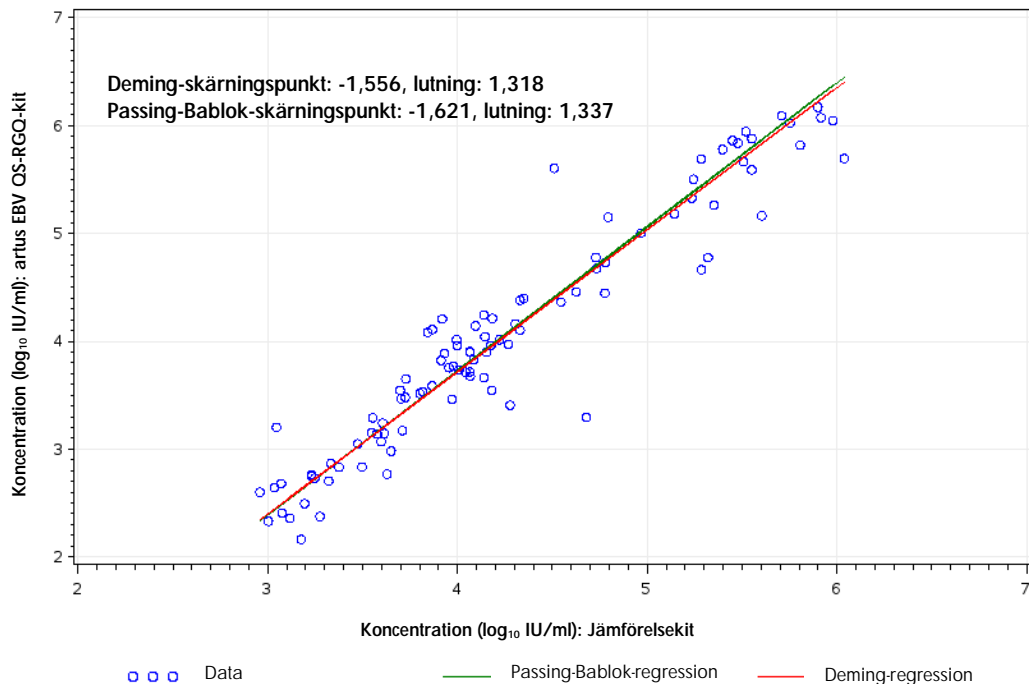
CV: variationskoefficient; EBV: Epstein-Barr-virus; gDNA: genomiskt DNA; IS: störande substans; SD: standardavvikelse

## Klinisk bedömning – helblod

Den kliniska prestandan hos *artus* EBV QS-RGQ-kitet 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-kitet 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	Överensstämmelse i procent	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 undersökningarna 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-kitet 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-kitet.

#### Dokumentrevisioner

September 2017	Uppdaterade Tabell 5 Undersökningsdata om klinisk prestanda för helblodsprover. Lade genomgående till koncentrationenheterna IU/ml såväl som kopior/ml.
----------------	---

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Registrerade namn, varumärken, etc. som används i detta dokument, även om de inte angetts som sådana, ska inte anses som oskyddade i lag. 09/2017 HB-0357-D01-003  
© 2012-2017 QIAGEN, med ensamrätt

Beställning [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webbplats [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)