

Septembre 2017

Kit *artus*[®] EBV QS-RGQ :

Caractéristiques de performance

IVD



REF

4501363FR Kit *artus* EBV QS-RGQ, version 1.



Vérifier la disponibilité de nouvelles révisions des notices électroniques à l'adresse www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx avant de procéder à la réalisation des tests.

L'état de la révision actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Limite de détection – plasma

La limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification (limite de sensibilité) a été évaluée à partir d'échantillons cliniques positifs à l'EBV associés à l'extraction sur QIASymphony® SP.

Pour le plasma, la limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée par le biais d'une série de dilutions de matière d'EBV de 3 160 à 1 copie nominale d'EBV/ml inoculée dans des échantillons cliniques de plasma. Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'éluion : 60 µl). Chacune des 10 dilutions a été analysée avec le kit *artus* EBV QS-RGQ sur 4 jours différents en 4 cycles comprenant 8 répliquats chacun. Le résultat a été déterminé par analyse probit. Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée sur la figure 1. La limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ associé à Rotor-Gene® Q et tenant compte de la purification est de 157 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie que la probabilité de détecter 157 copies/ml (soit 22,29 UI/ml) est de 95 %.

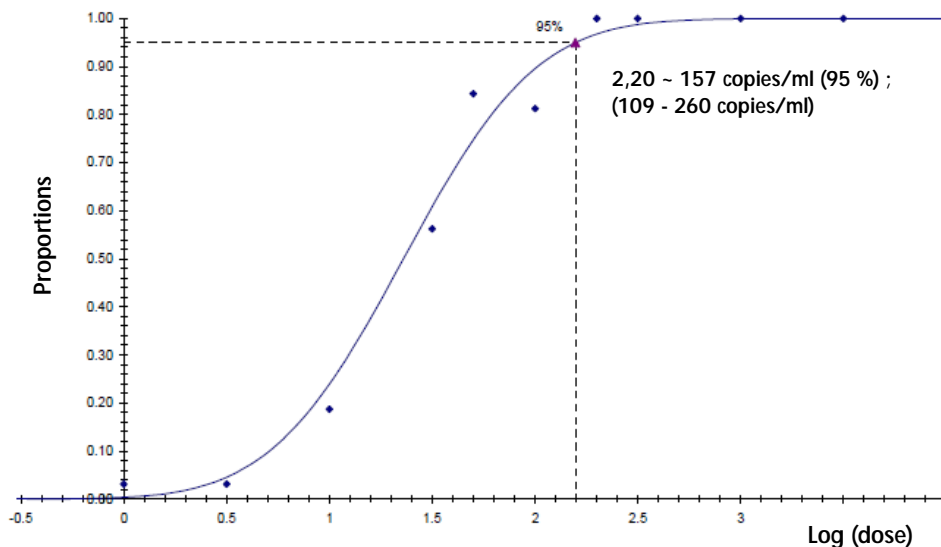


Figure 1. Analyse probit : plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ sur Rotor-Gene® Q et tenant compte de la purification (plasma, au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi).

Spécificité – plasma

La spécificité du kit *artus* EBV QS-RGQ est garantie en premier lieu par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction les plus strictes. Une analyse par comparaison de séquences des amorces et des sondes a été effectuée afin de rechercher d'éventuelles homologues avec toutes les séquences représentées dans les banques génétiques. De cette façon, la détectabilité de tous les génotypes importants a également été garantie.

De plus, la spécificité a été validée avec 30 échantillons différents de plasma négatif pour l'EBV. Ceux-ci n'ont généré aucun signal avec les amorces et les sondes spécifiques à l'EBV intégrées dans l'EBV RG Master.

Pour déterminer la spécificité du kit *artus* EBV QS-RGQ, le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 ci-dessous a été analysé pour rechercher une éventuelle réaction croisée. Aucun des agents pathogènes testés n'a été positif. Aucune réactivité croisée n'est apparue avec les infections mixtes.

Tableau 1. Test de spécificité du kit avec un pathogène éventuellement apte à une réaction croisée

Groupe de contrôle	EBV (Cycling Green)	Contrôle interne (Cycling Yellow)
Herpèsvirus humain 1 (virus herpès simplex 1)	-	+
Herpèsvirus humain 2 (virus herpès simplex 2)	-	+
Herpèsvirus humain 3 (virus varicelle-zona)	-	+
Herpèsvirus humain 5 (cytomégalovirus)	-	+
Virus humain de la leucémie à cellules T 1	-	+
Virus humain de la leucémie à cellules T 2	-	+

Plage linéaire — plasma

La plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière d'EBV allant de $1,00 \times 10^7$ copies/ml à $6,31 \times 10^2$ copies/ml dans le plasma. La purification a été effectuée par réplicats ($n = 4$ pour les concentrations $\geq 1,00 \times 10^6$ copies/ml ; $n = 8$ pour les concentrations $< 1,00 \times 10^6$ copies/ml) au moyen du kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'élution : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec le kit *artus* EBV QS-RGQ.

La plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre $6,31 \times 10^2$ copies/ml et $1,00 \times 10^7$ copies/ml (soit $8,96 \times 10^1$ à $1,42 \times 10^6$ UI/ml) pour le plasma (figure 2).

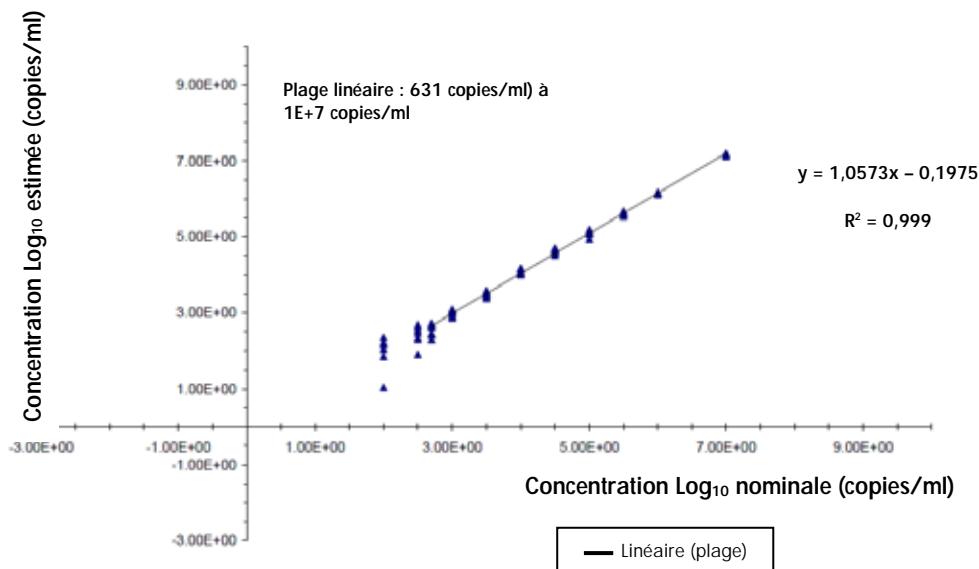


Figure 2. Plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ (plasma). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations \log_{10} calculées avec les concentrations \log_{10} nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

Fiabilité — plasma

La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total du kit *artus* EBV QS-RGQ. Pour vérifier la fiabilité, 30 échantillons de plasma négatifs à l'EBV ont été inoculés avec 500 copies/ml d'EBV (environ trois fois la concentration de la limite de sensibilité analytique). Après extraction avec le kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml, volume d'éluion : 60 μ l), ces échantillons ont été analysés avec le kit *artus* EBV QS-RGQ. En outre, la fiabilité du contrôle interne a été évaluée par purification et analyse des 30 échantillons de plasma inoculés. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du kit *artus* EBV QS-RGQ est donc de 99 %.

Substances interférentes — plasma

La bilirubine, l'hémoglobine et les triglycérides n'ont généré aucune interférence avec le kit *artus* EBV QS-RGQ aux concentrations mentionnées dans le tableau 2.

Tableau 2. Substances interférentes dans des échantillons de plasma sur EDTA

Concentration d'EBV (copies/ml)	Substance interférente		Moyenne C _T	C _T (EBV)		C _T (EBV) SI – C _T (EBV) Contrôle Absolu
	Élément	Concentration		É.-T.	CV (%)	
1600	Bilirubine	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hémoglobine	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglycéride	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumine	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Contrôle	-	32,88	0,33	0,99	-

CV : coefficient de variation ; EBV : Virus Epstein-Barr ; SI : substance interférente ; É.-T. : écart type

Évaluation clinique – plasma

La performance clinique du kit *artus* EBV QS-RGQ a été évaluée en testant des échantillons cliniques et en analysant les résultats par comparaison avec ceux obtenus selon un procédé comparable. Au total, 166 échantillons de plasma prélevé sur EDTA provenant de patients infectés par l'EBV et de contrôles négatifs ont été testés avec le kit *artus* EBV QS-RGQ et un procédé comparable sur un site externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consiste en une analyse de concordance catégorique de la concordance de pourcentage positif (Positive Percent Agreement, PPA), de la concordance de pourcentage négatif (Negative Percent Agreement, NPA) et de la concordance de pourcentage global (Overall Percent Agreement, OPA) ; la deuxième partie consiste en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 83 échantillons de plasma prélevés sur EDTA respectant la plage dynamique courante de test, en appliquant les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant indiqués conjointement avec le coefficient de corrélation correspondant (voir le tableau 3 et la figure 3).

Tableau 3. Données de l'étude de performance clinique pour les échantillons de plasma sur EDTA

Mesure de la concordance	Fréquences	Concordance de pourcentage	Limite de confiance inférieure et supérieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson	Limite de confiance supérieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson
Concordance de pourcentage global	154/166	92,77	87,71	96,21
Concordance de pourcentage positif	100/102	98,04	93,10	99,76
Concordance de pourcentage négatif	54/64	84,38	73,14	92,24

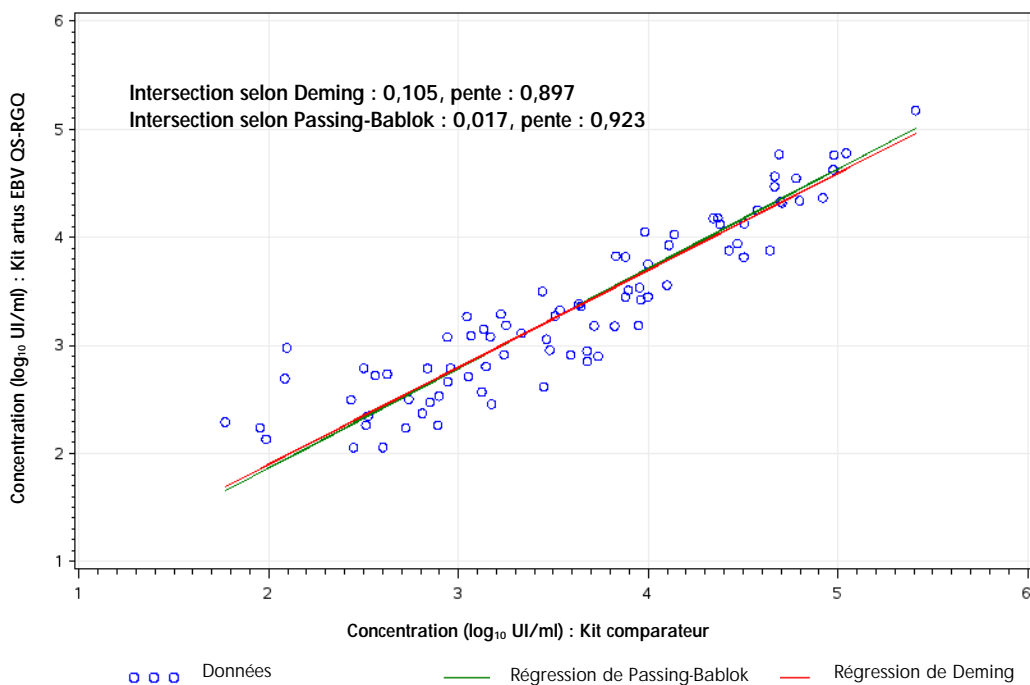


Figure 3. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

L'analyse de régression linéaire entre les deux tests donne un coefficient de corrélation de Pearson de 0,922 et un coefficient de corrélation de Spearman de 0,928.

Limite de détection – sang total

Pour le sang total, la limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée par le biais d'une série de dilutions de matière d'EBV de 3 160 à 3,16 copies nominales d'EBV/ml étudiée à partir d'échantillons de sang total humain. Ces échantillons ont subi un procédé d'extraction d'ADN au moyen du kit QIASymphony DNA Mini associé au protocole VirusBlood200_DSP (volume d'extraction : 200 µl, volume d'éluion : 60 µl). Chacune des 10 dilutions a été analysée avec le kit *artus* EBV QS-RGQ sur 3 jours différents en 3 cycles comprenant 11 réplicats chacun. Le résultat a été déterminé par analyse probit. Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée sur la figure 4.

La limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ associé à Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 288,29 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie que la probabilité de détecter 288,29 copies/ml (soit 40,36 UI/ml) est de 95 %.

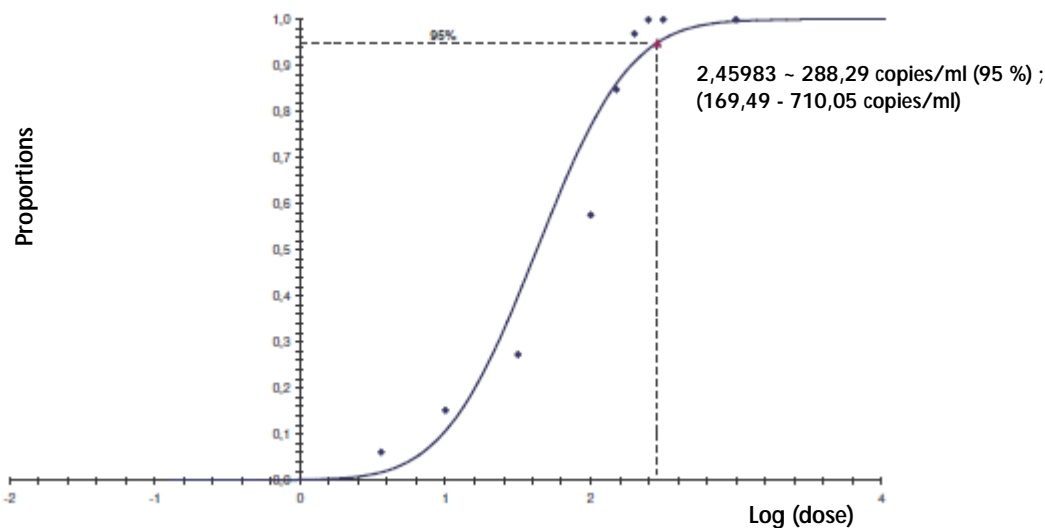


Figure 4. Analyse probit : sang total, EBV (Rotor-Gene Q). Limite de détection du kit *artus* EBV QS-RGQ sur Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification (sang total, avec le kit QIASymphony DNA Mini).

Spécificité – sang total

La spécificité du kit *artus* EBV QS-RGQ est garantie en premier lieu par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction les plus strictes. Une analyse par comparaison de séquences des amorces et des sondes a été effectuée afin de rechercher d'éventuelles homologues avec toutes les séquences représentées dans les banques génétiques. De cette façon, la détectabilité de tous les génotypes importants a également été garantie.

De plus, la spécificité a été validée avec 30 échantillons différents de sang total négatif à l'EBV. Ceux-ci n'ont généré aucun signal avec les amorces et les sondes spécifiques à l'EBV intégrées dans l'EBV RG Master.

Pour déterminer la spécificité du kit *artus* EBV QS-RGQ, le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 ci-dessous a été analysé pour rechercher une éventuelle réaction croisée (voir page 3). Aucun des agents pathogènes testés n'a été positif. Aucune réactivité croisée n'est apparue avec les infections mixtes.

Plage linéaire – sang total

La plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions de matière d'EBV allant de $5,00 \times 10^7$ copies/ml à $1,00 \times 10^3$ copies/ml dans le sang total. La purification a été effectuée par réplicats ($n = 4$ pour les concentrations $\geq 1,00 \times 10^7$ copies/ml ; $n = 8$ pour les concentrations $< 1,00 \times 10^7$ copies/ml) au moyen du kit QIASymphony DNA Mini associé au protocole VirusBlood200_DSP (volume d'extraction : 200 μ l, volume d'élution : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec le kit *artus* EBV QS-RGQ. La plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ tenant compte de la purification a été déterminée pour traiter les concentrations entre $1,00 \times 10^3$ copies/ml et $5,00 \times 10^7$ copies/ml (soit $1,4 \times 10^2$ à $7,0 \times 10^6$ UI/ml) pour le sang total (figure 5).

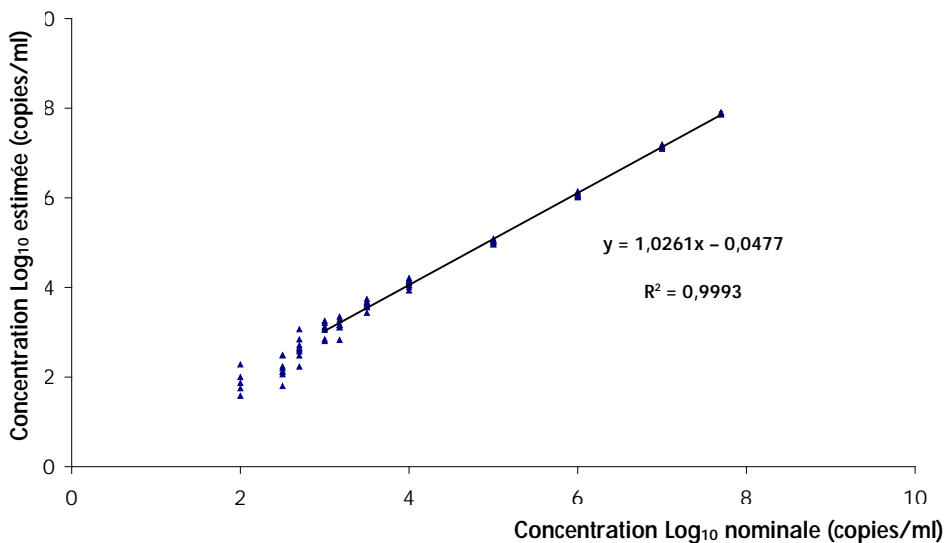


Figure 5. Plage linéaire du kit *artus* EBV QS-RGQ (sang total). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire des concentrations log₁₀ calculées avec les concentrations log₁₀ nominales. La figure comprend l'équation de la droite de régression.

Fiabilité – sang total

La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total du kit *artus* EBV QS-RGQ. Pour vérifier la fiabilité, 51 échantillons de sang total négatifs à l'EBV ont été étudiés avec 750 copies/ml d'EBV (environ trois fois la concentration de la limite de sensibilité analytique). Après extraction avec le kit QIASymphony DNA Mini associé au protocole VirusBlood200_DSP (volume d'extraction : 200 µl, volume d'élution : 60 µl), ces échantillons ont été analysés avec le kit *artus* EBV QS-RGQ. En outre, la fiabilité du témoin interne a été évaluée par purification et analyse des 51 échantillons de sang total étudiés. Aucune inhibition n'a été observée. La fiabilité du kit *artus* EBV QS-RGQ est donc de 99 %.

Substances interférentes — sang total

Les substances à même d'interférer avec les résultats du kit *artus* EBV QS-RGQ Kit ont été testées, et leurs concentrations n'ont généré aucune interférence avec le kit comme montré dans le tableau 4.

Tableau 4. Substances interférentes dans des échantillons de sang total

Concentration d'EBV (copies/ml)	Substance interférente		C _{T(EBV)}			C _{T(EBV) SI} – C _{T(EBV) Contrôle}
	Élément	Concentration	Moyenne C _T	É.-T.	CV (%)	Absolu
2 500	Bilirubine	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglycéride	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	ADNg	3 µg/échantillon	34,79	0,18	0,52	0,38
	ADNg	2,5 µg/échantillon	34,57	0,39	1,13	0,60
	ADNg	2 µg/échantillon	34,73	0,49	1,41	0,44
	ADNg	1 µg/échantillon	34,86	0,22	0,62	0,31
	Contrôle	–	35,17	0,40	1,13	–

CV : coefficient de variation ; EBV : Virus Epstein-Barr ; ADNg : ADN génomique ; SI : substance interférente ; É.-T. : écart type

Évaluation clinique — sang total

La performance clinique du kit *artus* EBV QS-RGQ a été évaluée en testant des échantillons cliniques et en analysant les résultats par comparaison avec un procédé comparable. Au total, 178 échantillons de sang total provenant de patients infectés par l'EBV et de contrôles négatifs ont été testés avec le kit *artus* EBV QS-RGQ et avec un procédé comparable sur un site externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consiste en une analyse de concordance catégorique des PPA, NPA et OPA ; la deuxième partie consiste en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 98 échantillons de sang total respectant la plage dynamique courante de test en appliquant les analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant indiqués conjointement avec le coefficient de corrélation correspondant (voir le tableau 5 et la figure 6).

Tableau 5. Données de l'étude de performance clinique pour les échantillons de sang total

Mesure de la concordance	Fréquences	Concordance de pourcentage	Limite de confiance inférieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson	Limite de confiance supérieure binomiale et bilatérale (exacte) à 95 % de Clopper-Pearson
Concordance de pourcentage global	169/178	94,94	90,62	97,66
Concordance de pourcentage positif	115/119	96,64	91,62	99,08
Concordance de pourcentage négatif	54/59	91,53	81,32	97,19

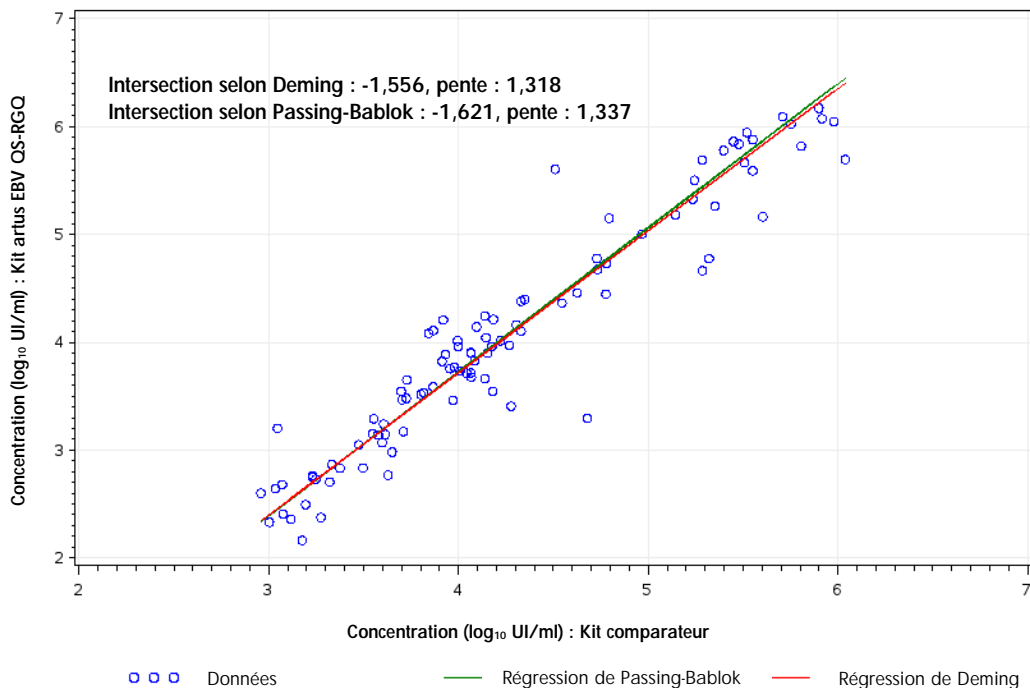


Figure 6. Courbe de régression avec tracés de Passing-Bablok et de Deming. Les échantillons se situant entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

L'analyse de régression linéaire entre les deux tests donne un coefficient de corrélation de Pearson de 0,956 et un coefficient de corrélation de Spearman de 0,945.

Reproductibilité

Les données de reproductibilité sont fournies dans le but de procéder à une évaluation régulière de la performance du kit *artus* EBV QS-RGQ et d'en comparer l'efficacité avec d'autres produits. Ces données proviennent de programmes d'étude de performance établis.

Contamination croisée

L'absence de contamination croisée entre les échantillons sur l'ensemble du flux de travail a été prouvée par détection correcte de tous les échantillons positifs et négatifs connus en positions alternées (modèle en damier) pour un système *artus* QS-RGQ représentatif.

Les produits associés et les informations relatives aux commandes sont répertoriés dans le manuel du kit *artus* EBV QS-RGQ.

Historique des révisions du document

Septembre 2017	Mise à jour du Tableau 5, Données de l'étude de performance clinique pour les échantillons de sang total. Ajout des unités UI/ml en complément des relevés de copies/ml dans l'ensemble du document.
----------------	--

Pour obtenir des informations mises à jour sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques des produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® approprié. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques déposées : QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN).

Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans le présent document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi 09/2017 HB-0357-D01-003

© 2012-2017 QIAGEN, tous droits réservés

Pour commander www.qiagen.com/shop | Support technique support.qiagen.com | Site Web www.qiagen.com