

Novembre 2019

artus[®] EBV QS-RGQ Kit :

Caractéristiques de performances

IVD

CE

REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, version 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1



Vérifier la disponibilité de nouvelles versions des notices électroniques à l'adresse [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) avant la réalisation du test. L'état de la version actuelle est indiqué par la date de parution (format : mois/année).

Limite de détection : plasma

La limite de détection de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification (limite de sensibilité) a été évaluée à partir de prélèvements cliniques positifs à l'EBV en association avec l'extraction sur le QIAAsymphony® SP.

Pour le plasma, la limite de détection de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée à l'aide d'une série de dilutions d'EBV de 3 160 à 1 copie nominale d'EBV/ml inoculée dans des échantillons cliniques de plasma. L'extraction d'ADN de ces échantillons a été effectuée à l'aide du QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit en association avec le protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml ; volume d'élution : 60 µl). Chacune des 10 dilutions a été analysée avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit sur 4 jours différents dans 4 cycles comprenant 8 réplicats chacun. Les résultats ont été déterminés à l'aide d'une analyse probit. Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée dans la figure 1. La limite de détection de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit associé au Rotor-Gene® Q et tenant compte de la purification est de 157 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie qu'il existe une probabilité de 95 % que 157 copies/ml (soit 22,29 UI/ml) soient détectées.

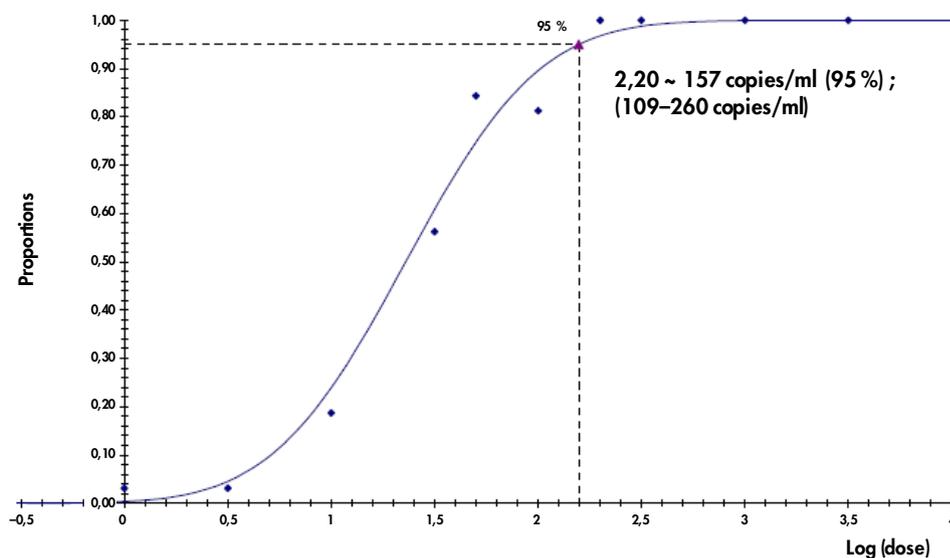


Figure 1. Analyse probit : plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Limite de détection de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit sur le Rotor-Gene Q en tenant compte de la purification (plasma, avec le QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit).

Spécificité : plasma

La spécificité de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit est garantie avant tout par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction 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 utiles a également été garantie.

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

Le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 a été utilisé pour tester la réactivité croisée de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit. Aucun des agents pathogènes testés n'a donné de résultat positif. Aucune réactivité croisée n'est apparue avec les infections mixtes.

Tableau 1. Tests de spécificité du kit avec des agents pathogènes susceptibles de réactivité croisée

Groupe de contrôle	EBV (Cycling Green)	Contrôle interne (Cycling Yellow)
Herpèsvirus humain de type 1 (virus Herpes simplex 1)	-	+
Herpèsvirus humain de type 2 (virus Herpes simplex 2)	-	+
Herpèsvirus humain de type 3 (virus varicelle-zona)	-	+
Herpèsvirus humain de type 5 (cytomégalovirus)	-	+
Virus T-lymphotrope humain de type 1	-	+
Virus T-lymphotrope humain de type 2	-	+

Plage linéaire : plasma

La plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions d'EBV 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) avec le QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml ; volume d'élution : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit.

La plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée pour couvrir 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).

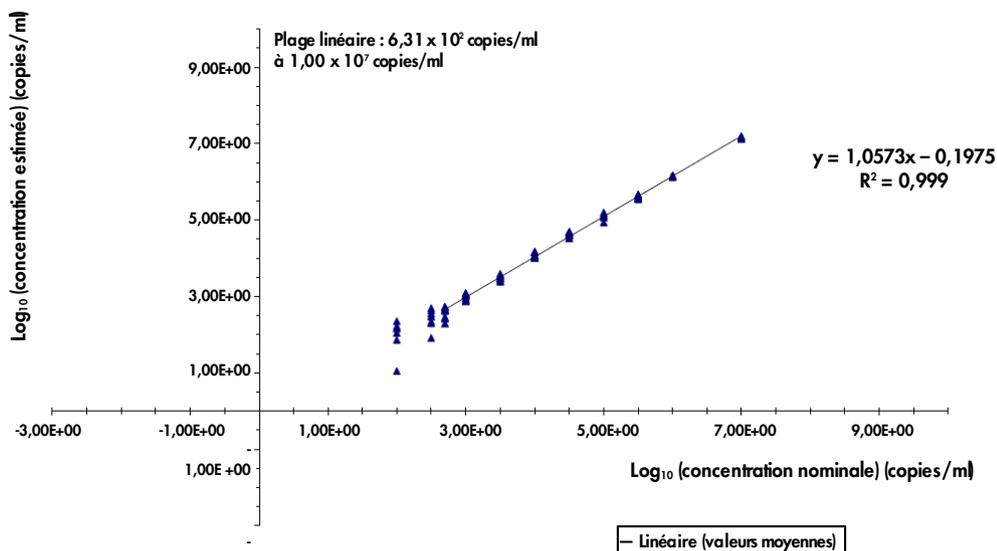


Figure 2. Plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit (plasma). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire du \log_{10} des concentrations calculées en fonction du \log_{10} des concentrations nominales. La droite de régression est incluse dans la figure.

Fiabilité : plasma

La vérification de la fiabilité permet de déterminer le taux d'échec total de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit. 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 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit associé au protocole Cellfree1000_DSP (volume d'extraction : 1 ml ; volume d'éluion : 60 μ l), ces échantillons ont été analysés avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit. 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. Ainsi, la fiabilité de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit est de ≥ 99 %.

Substances interférentes : plasma

La bilirubine, l'hémoglobine et les triglycérides n'ont présenté aucune interférence avec l'artus EBV QS-RGQ Kit aux concentrations indiquées dans le tableau 2.

Tableau 2. Substances interférentes dans des échantillons de plasma EDTA

Concentration d'EBV (copies/ml)	Substance interférente		$C_{T(EBV)}$ C_T moyenne	ÉT	CV (%)	$C_{T(EBV) SI} - C_{T(EBV) contrôle}$ Absolu
	Élément	Concentration				
1 600	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 d'Epstein-Barr ; SI : substance interférente ; ÉT : écart type

Évaluation clinique : plasma

Les performances cliniques de l'artus EBV QS-RGQ Kit ont été évaluées en testant des prélèvements cliniques et en analysant les résultats par rapport à des résultats obtenus avec une méthode comparable. Au total, 166 prélèvements de plasma EDTA provenant de patients infectés par l'EBV et de contrôles négatifs ont été testés avec l'artus EBV QS-RGQ Kit et avec une méthode comparable sur un site externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consistait en une analyse de concordance catégorique du pourcentage de concordance positive (PCP), du pourcentage de concordance négative (PCN) et du pourcentage de concordance globale (PCG) ; la seconde partie consistait en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 83 échantillons de plasma EDTA compris dans la plage dynamique courante de l'essai, en effectuant des analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant rapportés avec le coefficient de corrélation correspondant (voir tableau 3 et figure 3).

Tableau 3. Données de l'étude des performances cliniques pour les échantillons de plasma EDTA

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

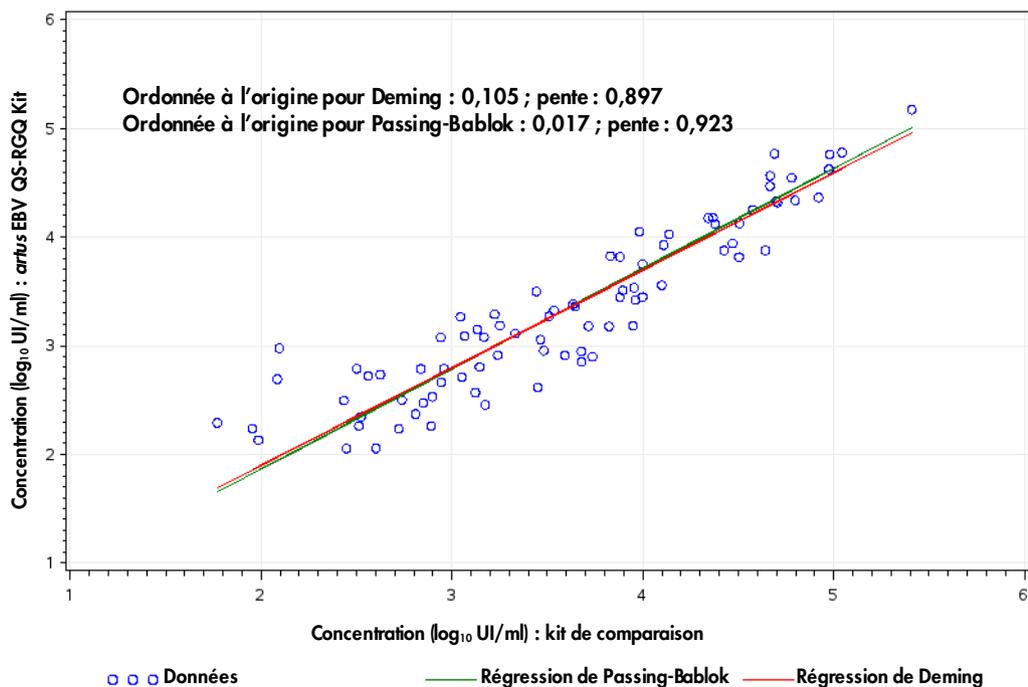


Figure 3. Courbe de régression avec droites de Passing-Bablok et de Deming. Les échantillons compris entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

L'analyse de régression linéaire entre les deux essais a donné 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 de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée à l'aide d'une série de dilutions d'EBV de 3 160 à 3,16 copies nominales d'EBV/ml inoculées dans des prélèvements cliniques de sang total. L'extraction d'ADN de ces échantillons a été effectuée à l'aide du QIA Symphony DNA Mini Kit en association avec le protocole VirusBlood200_DSP (volume d'extraction : 200 µl ; volume d'élution : 60 µl). Chacune des 10 dilutions a été analysée avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit sur 3 jours différents dans 3 cycles comprenant 11 réplicats chacun. Les résultats ont été déterminés à l'aide d'une analyse probit. Une illustration graphique de l'analyse probit est présentée dans la figure 4.

La limite de détection de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit associé au Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification est de 288,29 copies/ml ($p = 0,05$). Cela signifie qu'il existe une probabilité de 95 % que 288,29 copies/ml (soit 40,36 UI/ml) soient détectées.

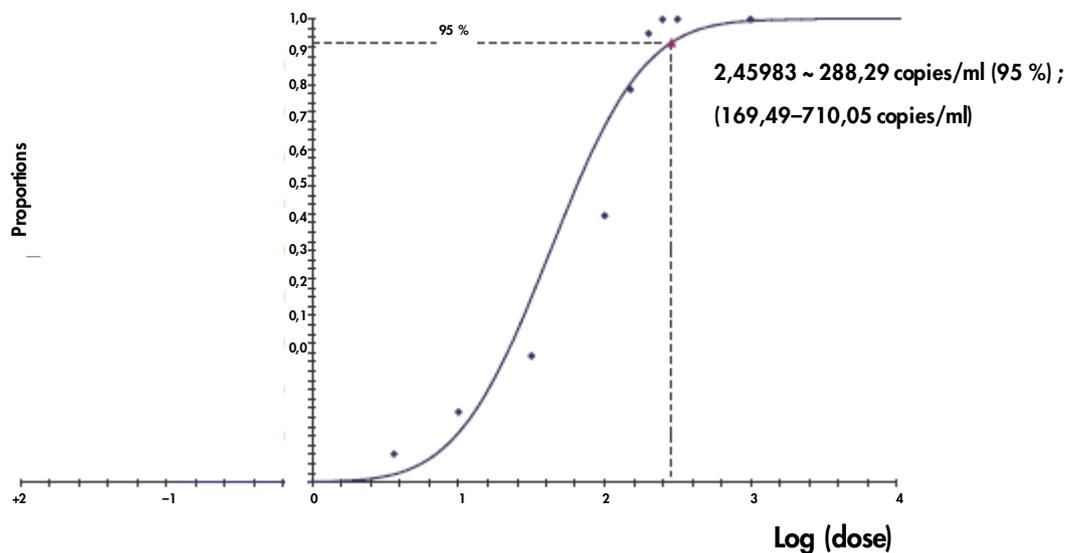


Figure 4. Analyse probit : sang total, EBV (Rotor-Gene Q). Limite de détection de l'artus EBV QS-RGQ Kit sur le Rotor-Gene Q et tenant compte de la purification (sang total, avec le QIA Symphony DNA Mini Kit).

Spécificité : sang total

La spécificité de l'artus EBV QS-RGQ Kit est garantie avant tout par la sélection des amorces et des sondes ainsi que des conditions de réaction strictes. Une analyse par comparaison de séquences des amorces et des sondes a été effectuée afin de rechercher d'éventuelles homologies avec toutes les séquences représentées dans les banques génétiques. De cette façon, la détectabilité de tous les génotypes utiles a également été garantie.

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

Le groupe de contrôle indiqué dans le tableau 1 a été utilisé pour tester la réactivité croisée de l'artus EBV QS-RGQ Kit (voir page 3). Aucun des agents pathogènes testés n'a donné de résultat positif. Aucune réactivité croisée n'est apparue avec les infections mixtes.

Plage linéaire : sang total

La plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée en analysant une série de dilutions d'EBV 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) avec le QIASymphony DNA Mini Kit associé au protocole VirusBlood200_DSP (volume d'extraction : 200 μ l ; volume d'élution : 60 μ l). Chaque échantillon a été analysé avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit. La plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit tenant compte de la purification a été déterminée pour couvrir 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).

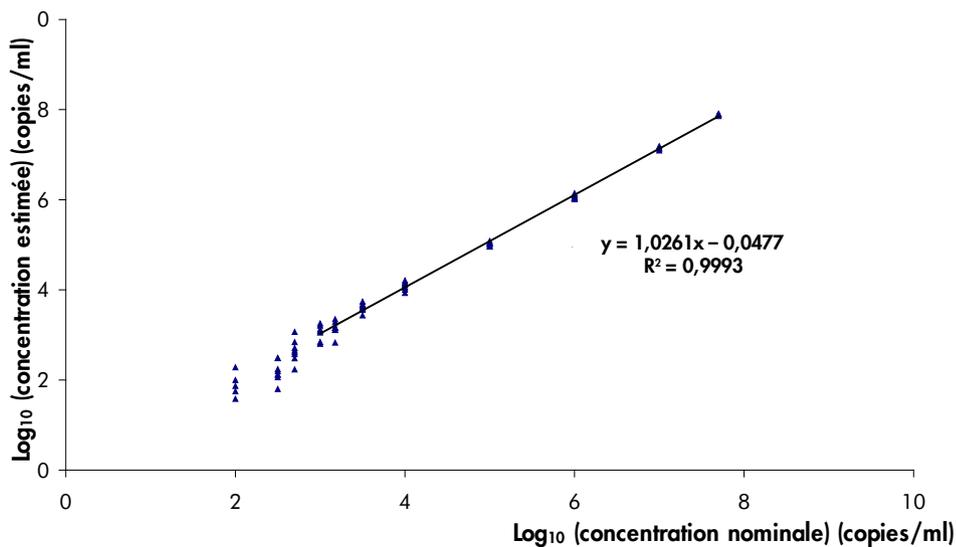


Figure 5. Plage linéaire de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit (sang total). Calcul de la plage linéaire. La droite a été déterminée par régression linéaire du \log_{10} des concentrations calculées en fonction du \log_{10} des concentrations nominales. La droite de régression est incluse dans la figure.

Fiabilité : sang total

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

Substances interférentes : sang total

Les substances à même d'interférer avec les résultats de l'artus EBV QS-RGQ Kit ont été testées et les concentrations de ces substances qui n'ont pas interféré avec le kit sont indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4. Substances interférentes dans des échantillons de sang total

Concentration d'EBV (copies/ml)	Substance interférente		C _t moyenne	C _t (EBV)		C _t (EBV) SI - C _t (EBV) contrôle
	Élément	Concentration		ÉT	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 d'Epstein-Barr ; ADNg : ADN génomique ; SI : substance interférente ; ÉT : écart type

Évaluation clinique : sang total

Les performances cliniques de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit ont été évaluées en testant des prélèvements cliniques et en analysant les résultats par rapport à une méthode comparable. Au total, 178 prélèvements de sang total provenant de patients infectés par l'EBV et de contrôles négatifs ont été testés avec l'*artus* EBV QS-RGQ Kit et avec une méthode comparable sur un site externe. Les résultats ont été analysés en deux parties : la première partie consistait en une analyse de concordance catégorique du PCP, du PCN et du PCG ; la seconde partie consistait en une analyse des résultats obtenus à partir d'un total de 98 échantillons de sang total compris dans la plage dynamique courante de l'essai, en effectuant des analyses de régression de Deming et de Passing-Bablok, les résultats étant rapportés avec le coefficient de corrélation correspondant (voir tableau 5 et figure 6).

Tableau 5. Données de l'étude des performances cliniques pour les échantillons de sang total

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

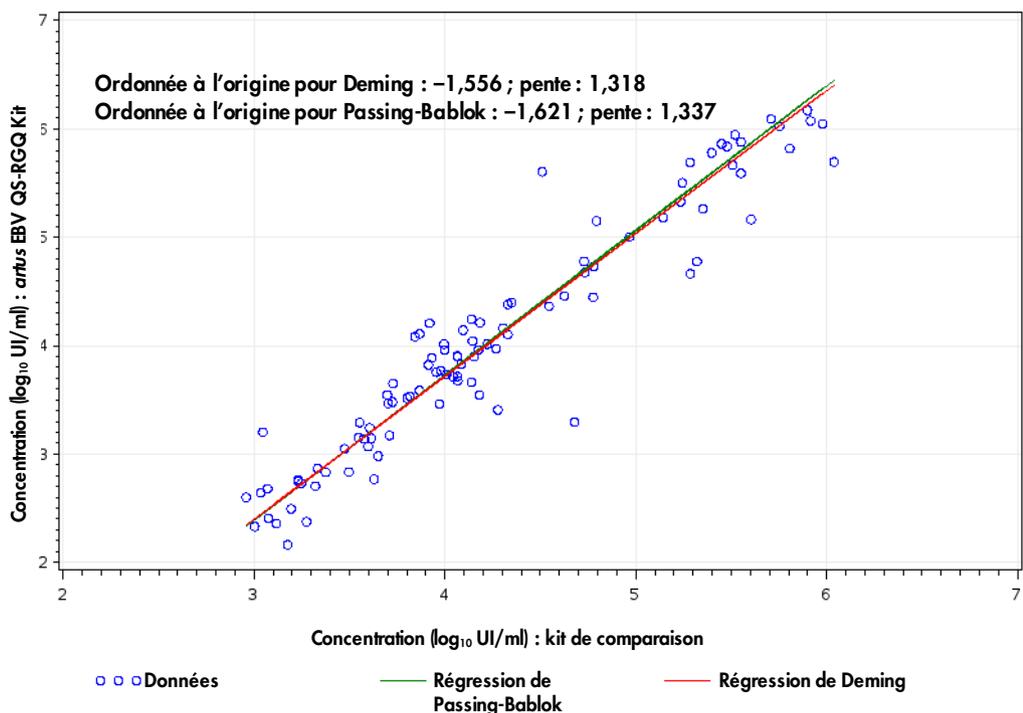


Figure 6. Courbe de régression avec droites de Passing-Bablok et de Deming. Les échantillons compris entre la limite de quantification inférieure et la limite de quantification supérieure pour les deux kits ont été inclus dans l'analyse.

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

Reproductibilité

Les données de reproductibilité permettent l'évaluation régulière des performances de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit et la comparaison de son efficacité avec d'autres produits. Ces données proviennent de programmes d'étude des performances établis.

Contamination croisée

L'absence de contamination croisée entre les échantillons sur l'ensemble de la procédure a été prouvée par la 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 pour commander sont répertoriés dans le manuel de l'*artus* EBV QS-RGQ Kit.

Historique des révisions du document

Date	Modifications
R1 11/2019	Réactualisation de la version de l' <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit de la version 1 à la version 2, réactualisations de la mise en page.

Pour les dernières informations sur les licences et les clauses limitatives de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques de QIAGEN ou de votre distributeur local.

