

Ноябрь 2019 г.

Набор *artus*[®] EBV QS-RGQ Kit: Рабочие характеристики

IVD



REF

4501363 набор *artus* EBV QS-RGQ Kit, версия 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1



Перед выполнением анализа проверяйте наличие новых редакций электронной маркировки на веб-сайте по адресу: qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce. Дата выпуска (формат: месяц/год) показывает текущий статус редакции.

Предел обнаружения — плазма

Предел обнаружения с учетом очистки (предел чувствительности) оценивали при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit с EBV-положительными клиническими образцами в сочетании с процедурой выделения на модуле QIAasymphony® SP.

В плазме предел обнаружения с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit определяли с применением серии разведения материала EBV от значения 3160 до номинального значения 1 реплика EBV/мл, внесенной в клинические образцы плазмы. Из этих образцов с помощью набора QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit в сочетании с протоколом Cellfree1000_DSP была выделена ДНК (выделенный объем: 1 мл, элюирующий объем: 60 мкл). Каждое из 10 разведений анализировали с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit в 4 разных дня за 4 цикла, в 8 повторений каждый. Результаты определяли путем пробит-анализа. Графическое изображение пробит-анализа представлено на рис. 1. Предел обнаружения с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit в сочетании с прибором Rotor-Gene® Q составляет 157 реплик/мл ($p = 0,05$). Это означает, что существует 95%-ная вероятность, что будет обнаружено 157 реплик/мл (что соответствует 22,29 МЕ/мл).

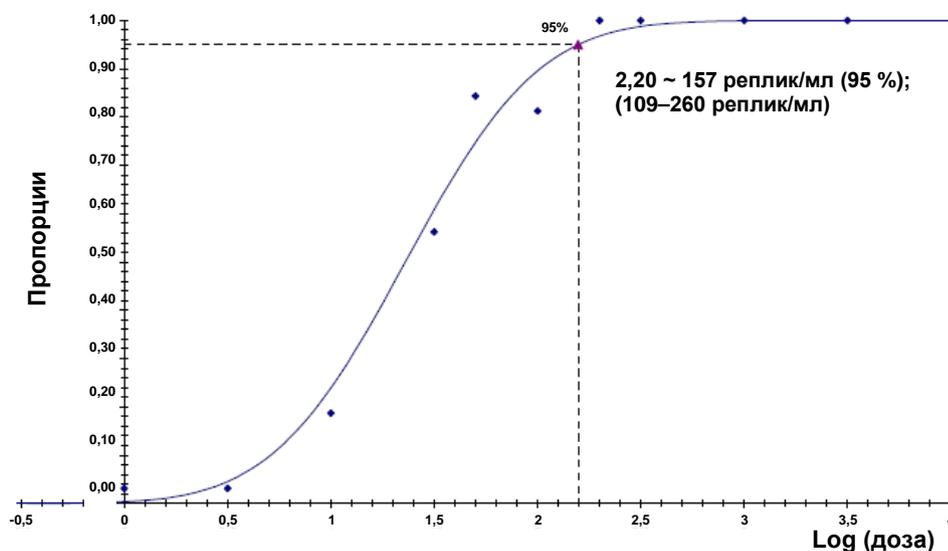


Рис. 1. Пробит-анализ: плазма, EBV (Rotor-Gene Q). Предел обнаружения с учетом очистки (плазма, с использованием набора QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) и с использованием набора *artus* EBV QS-RGQ Kit на приборе Rotor-Gene Q

Специфичность — плазма

Специфичность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit первым и главным образом обеспечивается выбором праймеров и зондов, а также выбором жестких условий реакции. Праймеры и зонды проверяли на возможную гомологичность всем последовательностям, опубликованным в генных банках, путем последовательного сравнительного анализа. Таким образом была обеспечена возможность обнаружения всех актуальных генотипов.

Более того, специфичность была утверждена с использованием 30 различных EBV-отрицательных проб плазмы. В этих пробах не создается никаких сигналов при использовании специфичных для EBV праймеров и зондов, которые внесены в мастер EBV RG Master.

Потенциальная перекрестная реакционная способность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit была испытана с использованием группы контролей, указанной в таблице 1 ниже. Ни один из испытанных патогенов не показал реакционной способности. В материалах со смешанными инфекциями не было выявлено перекрестной реакционной способности.

Таблица 1. Испытание специфичности набора, содержащего патогены с потенциальной перекрестной реакционной способностью

Группа контролей	EBV (Cycling Green)	Внутренний контроль (Cycling Yellow)
Вирус герпеса человека 1 (вирус простого герпеса 1)	–	+
Вирус герпеса человека 2 (вирус простого герпеса 2)	–	+
Вирус герпеса человека 3 (вирус ветряной оспы)	–	+
Вирус герпеса человека 5 (цитомегаловирус)	–	+
Вирус Т-клеточного лейкоза человека 1	–	+
Вирус Т-клеточного лейкоза человека 2	–	+

Линейный диапазон — плазма

Линейный диапазон с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit определяли путем анализа серии разведений материала EBV с концентрацией в диапазоне от $1,00 \times 10^7$ реплик/мл до $6,31 \times 10^2$ реплик/мл в плазме. Очистку проводили в повторениях ($n = 4$ для концентрации $\geq 1,00 \times 10^6$ реплик/мл; $n = 8$ для концентрации $< 1,00 \times 10^6$ реплик/мл) с использованием набора QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit в сочетании с протоколом Cellfree1000_DSP (выделенный объем: 1 мл, элюирующий объем: 60 мкл). Каждую из проб подвергали анализу с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit.

Линейный диапазон набора *artus* EBV QS-RGQ Kit с учетом очистки определяли в диапазоне концентраций от $6,31 \times 10^2$ реплик/мл до $1,00 \times 10^7$ реплик/мл (что соответствует значениям от $8,96 \times 10^1$ до $1,42 \times 10^6$ МЕ/мл) в плазме (рис. 2).

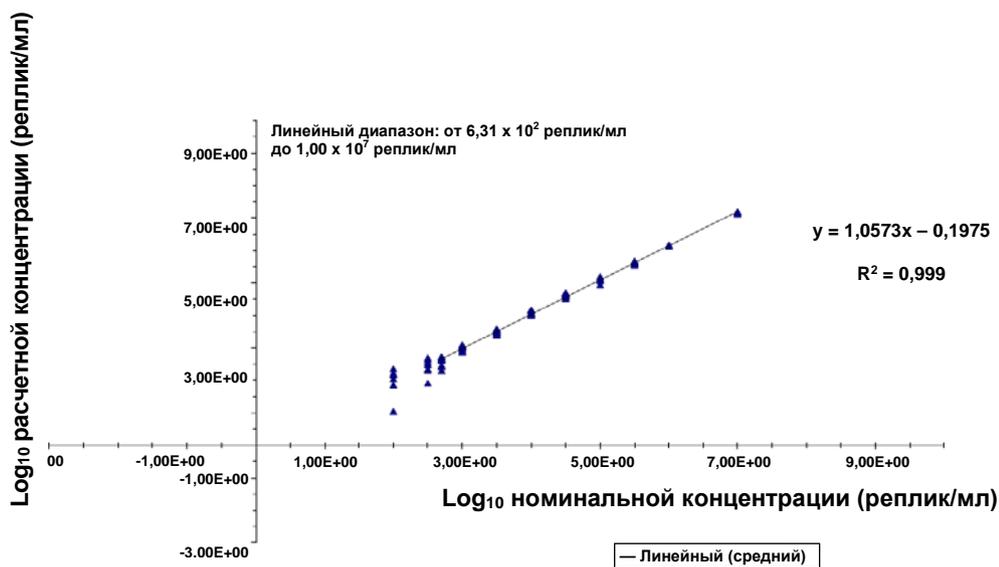


Рис. 2. Линейный диапазон набора *artus* EBV QS-RGQ Kit (плазма). Вычисление линейного диапазона. Прямая линия определена с помощью линейной регрессии вычисленных по \log_{10} концентраций с \log_{10} номинальных концентраций. Уравнение линии регрессии изображено на рисунке.

Надежность — плазма

Подтверждение надежности позволяет определить общую частоту сбоев набора *artus* EBV QS-RGQ Kit. Для подтверждения надежности в 30 EBV-отрицательных проб плазмы внесли 500 реплик/мл EBV (приблизительно трехкратная концентрация предела аналитической чувствительности). После выделения ДНК с помощью набора QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit в сочетании с протоколом Cellfree1000_DSP (выделенный объем: 1 мл, элюирующий объем: 60 мкл) эти пробы подвергали анализу с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit. Кроме того, надежность внутреннего контроля оценивали путем очистки и анализа 30 проб плазмы с добавлением внутреннего стандарта. Ингибирования не наблюдалось. Таким образом, надежность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit составляет ≥ 99 %.

Интерферирующие вещества — плазма

Билирубин, гемоглобин и триглицериды не продемонстрировали интерференции с набором *artus* EBV QS-RGQ Kit при концентрациях, указанных в таблице 2.

Таблица 2. Интерферирующие вещества в пробах плазмы с ЭДТА

Концентрация EBV (реплик/мл)	Интерферирующее вещество		C _T (EBV)			C _T (EBV) IS – C _T (EBV) контроль
	Параметр	Концентрация	Среднее C _T	SD	CV (%)	Абсолютное
1600	Билирубин	30 мг/дл	32,30	0,37	1,14	0,58
	Гемоглобин	2 г/дл	32,82	0,20	0,60	0,06
	Триглицерид	1 г/дл	32,42	0,28	0,87	0,46
	Альбумин	4 г/дл	31,71	0,54	1,69	1,15
	Контроль	-	32,88	0,33	0,99	-

CV: Coefficient of Variation (коэффициент вариации); EBV: Epstein-Barr virus (вирус Эпштейна-Барра); IS: Interfering Substance (интерферирующее вещество); SD: Standard Deviation (среднеквадратичное отклонение)

Клиническая оценка — плазма

Клиническую эффективность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit оценивали путем испытания клинических образцов и анализа результатов сравнительного метода. В общей сложности 166 образцов плазмы с ЭДТА, забранных у пациентов, инфицированных EBV, а также из отрицательных контролей были испытаны с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit с применением сравнительного метода во внешнем учреждении. Результаты подвергли анализу в двух частях: часть первая заключалась в категорийном анализе согласованности по проценту совпадения положительных результатов (Positive Percent Agreement, PPA), проценту совпадения отрицательных результатов (Negative Percent Agreement, NPA) и проценту совпадения общего результата (Overall Percent Agreement, OPA); вторая часть заключалась в анализе результатов по 83 пробам плазмы с ЭДТА, попадающим в общий динамический диапазон тест-систем, с использованием регрессионного анализа Деминга и Пассинга-Баблока, с регистрацией результатов вместе с соответствующим коэффициентом корреляции (см. таблицу 3 и рис. 3).

Таблица 3. Данные исследования клинической эффективности проб плазмы с ЭДТА

Показатель совпадений	Частоты	Процент совпадения	Двухчленный нижний двусторонний 95%-ный (достоверный) доверительный интервал Клоппера-Пирсона	Двухчленный верхний двусторонний 95%-ный (достоверный) доверительный интервал Клоппера-Пирсона
Процент совпадения общего результата	154/166	92,77	87,71	96,21
Процент совпадения положительных результатов	100/102	98,04	93,10	99,76
Процент совпадения отрицательных результатов	54/64	84,38	73,14	92,24

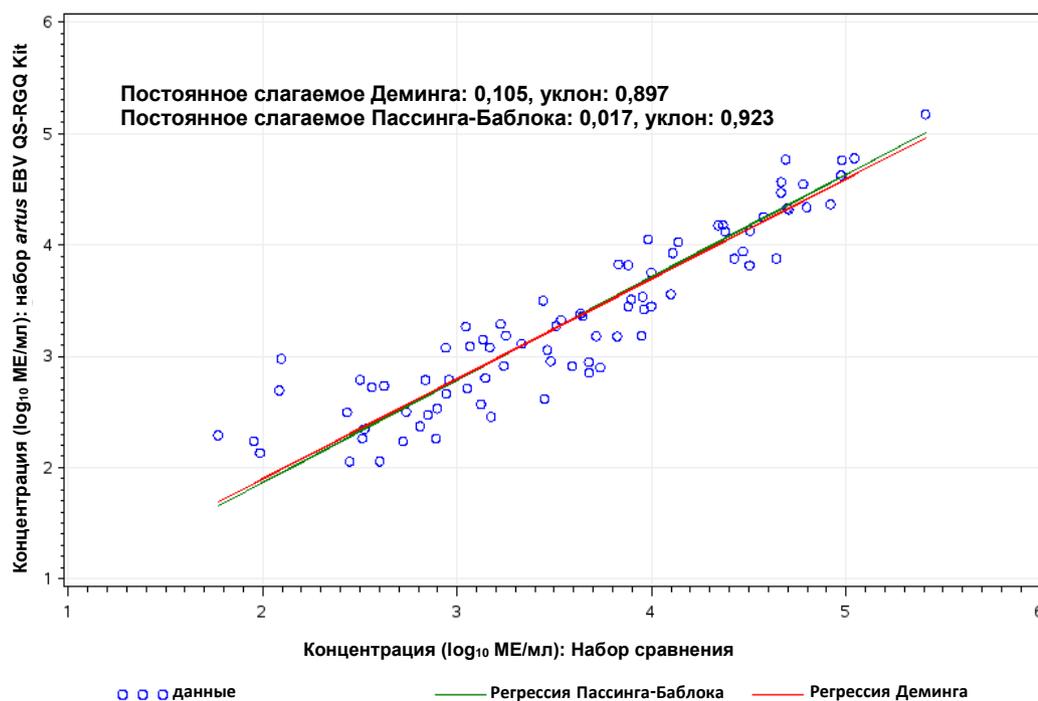


Рис. 3. График регрессии с изображением линий Пассинга-Баблока и Деминга. Пробы, относящиеся к диапазону между нижним пределом количественного анализа и верхним пределом количественного анализа для обоих наборов, входят в анализ.

Результатом линейного регрессионного анализа между двумя тест-системами стал коэффициент корреляции Пирсона 0,922 и коэффициент корреляции Спирмена 0,928.

Предел обнаружения — цельная кровь

Применительно к цельной крови предел обнаружения с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit определяли с применением серии разведения материала EBV от значения 3160 до номинального значения 3,16 реплики EBV/мл, внесенной в образцы цельной крови человека. Из этих образцов с помощью набора QIASymphony DNA Mini Kit в сочетании с протоколом VirusBlood200_DSP была выделена ДНК (выделенный объем: 200 мкл, элюирующий объем: 60 мкл). Каждое из 10 разведений анализировали с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit в 3 разных дня за 3 цикла, в 11 повторений каждый. Результаты определяли путем пробит-анализа. Графическое изображение пробит-анализа представлено на рис. 4.

Предел обнаружения с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit в сочетании с прибором Rotor-Gene Q составляет 288,29 реплики/мл ($p = 0,05$). Это означает, что существует 95%-ная вероятность, что будет обнаружено 288,29 реплики/мл (что соответствует 40,36 МЕ/мл).

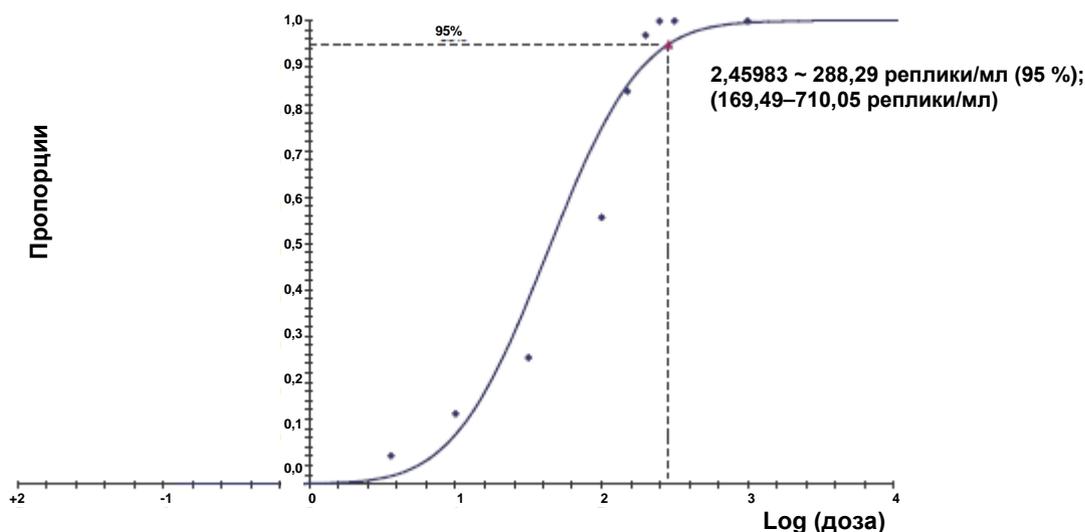


Рис. 4. Пробит-анализ: цельная кровь, EBV (Rotor-Gene Q). Предел обнаружения с учетом очистки (цельная кровь, с использованием набора QIASymphony DNA Mini Kit) и с использованием набора *artus* EBV QS-RGQ Kit на приборе Rotor-Gene Q.

Специфичность — цельная кровь

Специфичность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit первым и главным образом обеспечивается выбором праймеров и зондов, а также выбором жестких условий реакции. Праймеры и зонды проверяли на возможную гомологичность всем последовательностям, опубликованным в генных банках, путем последовательного сравнительного анализа. Таким образом была обеспечена возможность обнаружения всех актуальных генотипов.

Более того, специфичность была утверждена с использованием 30 различных EBV-отрицательных проб цельной крови. В этих пробах не создается никаких сигналов при использовании специфичных для EBV праймеров и зондов, которые внесены в мастер EBV RG Master.

Потенциальная перекрестная реакционная способность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit была испытана с использованием группы контролей, указанной в таблице 1 (см. стр. 3). Ни один из испытанных патогенов не показал реакционной способности. В материалах со смешанными инфекциями не было выявлено перекрестной реакционной способности.

Линейный диапазон — цельная кровь

Линейный диапазон с учетом очистки при использовании набора *artus* EBV QS-RGQ Kit определяли путем анализа серии разведений материала EBV с концентрацией в диапазоне от $5,00 \times 10^7$ реплик/мл до $1,00 \times 10^3$ реплик/мл в цельной крови. Очистку проводили в повторениях ($n = 4$ для концентрации $\geq 1,00 \times 10^7$ реплик/мл; $n = 8$ для концентрации $< 1,00 \times 10^7$ реплик/мл) с использованием набора QIA Symphony DNA Mini Kit в сочетании с протоколом VirusBlood200_DSP (выделенный объем: 200 мкл, элюирующий объем: 60 мкл). Каждую из проб подвергали анализу с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit. Линейный диапазон набора *artus* EBV QS-RGQ Kit с учетом очистки определяли в диапазоне концентраций от $1,00 \times 10^3$ реплик/мл до $5,00 \times 10^7$ реплик/мл (что соответствует значениям от $1,4 \times 10^2$ до $7,0 \times 10^6$ МЕ/мл) в цельной крови (рис. 5).

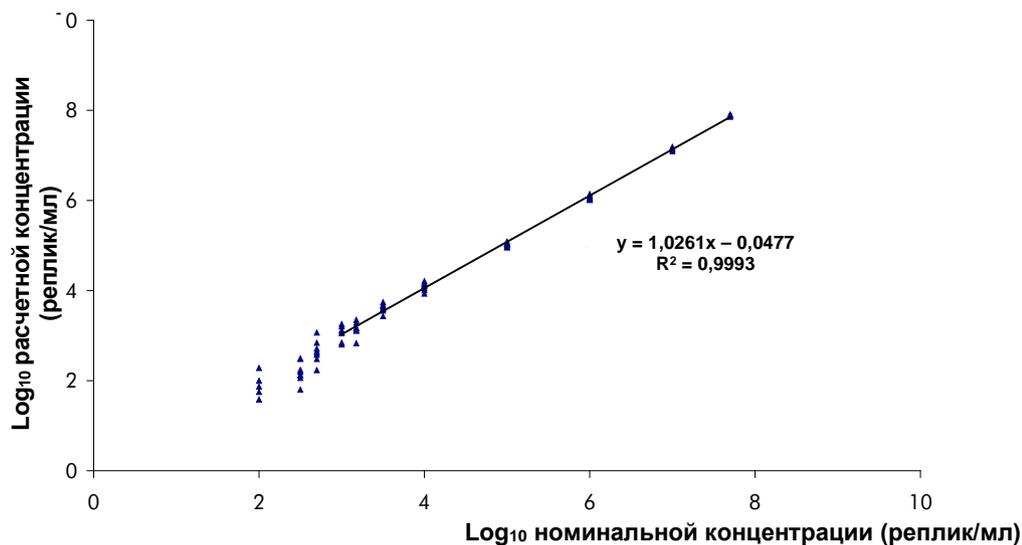


Рис. 5. Линейный диапазон набора artus EBV QS-RGQ Kit (цельная кровь). Вычисление линейного диапазона. Прямая линия определена с помощью линейной регрессии вычисленных по \log_{10} концентраций с \log_{10} номинальных концентраций. Уравнение линии регрессии изображено на рисунке.

Надежность — цельная кровь

Подтверждение надежности позволяет определить общую частоту сбоев набора artus EBV QS-RGQ Kit. Для подтверждения надежности в 51 EBV-отрицательную пробу цельной крови внесли 750 реплик/мл EBV (приблизительно трехкратная концентрация предела аналитической чувствительности). После выделения ДНК с помощью набора QIA Symphony DNA Mini Kit в сочетании с протоколом VirusBlood200_DSP (выделенный объем: 200 мкл, элюирующий объем: 60 мкл) эти пробы подвергали анализу с помощью набора artus EBV QS-RGQ Kit. Кроме того, надежность внутреннего контроля оценивали путем очистки и анализа 51 проб цельной крови с добавлением внутреннего стандарта. Ингибирования не наблюдалось. Таким образом, надежность набора artus EBV QS-RGQ Kit составляет $\geq 99\%$.

Интерферирующие вещества — цельная кровь

Вещества, которые потенциально могут влиять на результаты по набору *artus* EBV QS-RGQ Kit, были испытаны и концентрации этих веществ, которые не повлияли на результаты по набору, представлены в таблице 4.

Таблица 4. Интерферирующие вещества в пробах цельной крови с ЭДТА

Концентрация EBV (реплик/мл)	Интерферирующее вещество		C _{T(EBV)}			C _{T(EBV) IS} – C _{T(EBV) контроль}
	Параметр	Концентрация	Среднее C _T	SD	CV (%)	Абсолютное
2500	Билирубин	30 мг/дл	34,44	0,27	0,78	0,73
	Триглицерид	1 г/дл	34,58	0,32	0,91	0,59
	гДНК	3 мкг/пробу	34,79	0,18	0,52	0,38
	гДНК	2,5 мкг/пробу	34,57	0,39	1,13	0,60
	гДНК	2 мкг/пробу	34,73	0,49	1,41	0,44
	гДНК	1 мкг/пробу	34,86	0,22	0,62	0,31
	Контроль	–	35,17	0,40	1,13	–

CV: Coefficient of Variation (коэффициент вариации); EBV: Epstein-Barr Virus (вирус Эпштейна-Барра); гДНК: геномная ДНК; IS: Interfering Substance (интерферирующее вещество); SD: Standard Deviation (среднеквадратичное отклонение)

Клиническая оценка — цельная кровь

Клиническую эффективность набора *artus* EBV QS-RGQ Kit оценивали путем испытания клинических образцов и анализа в сопоставлении со сравнительным методом. В общей сложности 178 образцов цельной крови с ЭДТА, забранных у пациентов, инфицированных EBV, а также из отрицательных контролей были испытаны с помощью набора *artus* EBV QS-RGQ Kit с применением сравнительного метода во внешнем учреждении. Результаты подвергли анализу в двух частях: часть первая заключалась в категорийном анализе согласованности по PPA, NPA и OPA; вторая часть заключалась в анализе результатов по 98 пробам цельной крови, попадающим в общий динамический диапазон тест-систем, с использованием регрессионного анализа Деминга и Пассинга-Баблока, с регистрацией результатов вместе с соответствующим коэффициентом корреляции (см. таблицу 5 и рис. 6).

Таблица 5. Данные исследования клинической эффективности проб цельной крови

Показатель совпадений	Частоты	Процент совпадения	Двухчленный нижний двусторонний 95%-ный (достоверный) доверительный интервал Клоппера-Пирсона	Двухчленный верхний двусторонний 95%-ный (достоверный) доверительный интервал Клоппера-Пирсона
Процент совпадения общего результата	169/178	94,94	90,62	97,66
Процент совпадения положительных результатов	115/119	96,64	91,62	99,08
Процент совпадения отрицательных результатов	54/59	91,53	81,32	97,19

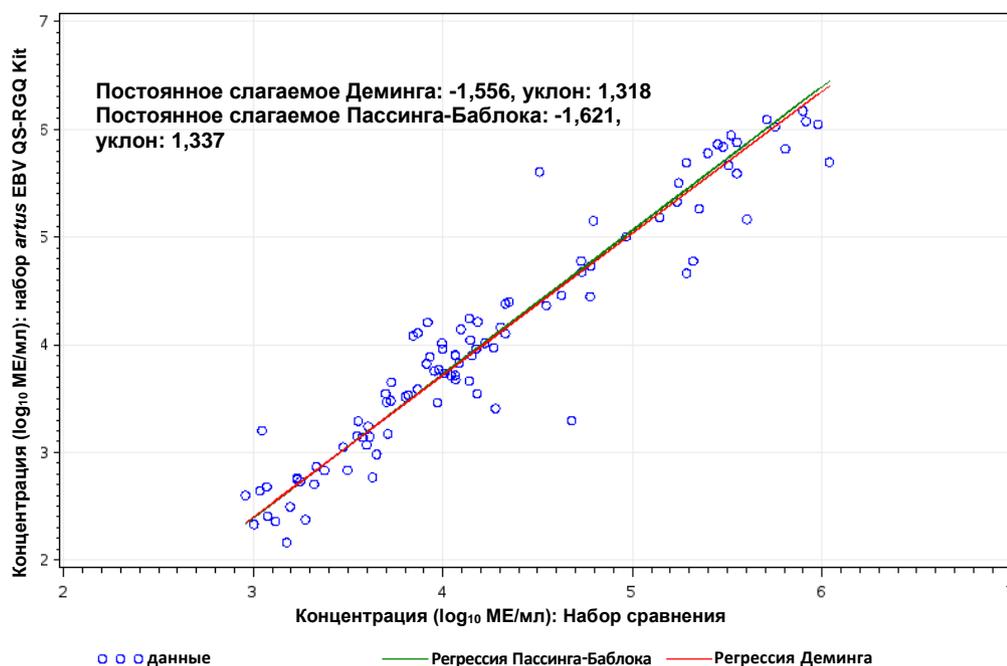


Рис. 6. График регрессии с изображением линий Пассинга-Баблока и Деминга. Пробы, относящиеся к диапазону между нижним пределом количественного анализа и верхним пределом количественного анализа для обоих наборов, входят в анализ.

Результатом линейного регрессионного анализа между двумя тест-системами стал коэффициент корреляции Пирсона 0,956 и коэффициент корреляции Спирмена 0,945.

Воспроизводимость

Данные по воспроизводимости обеспечивают регулярную оценку эффективности набора *artus EBV QS-RGQ Kit*, а также сравнения его эффективности с эффективностью других продуктов. Эти данные получены путем участия в учрежденных квалификационных программах.

Перекрестное загрязнение

Отсутствие перекрестного загрязнения между пробами в течение всего рабочего процесса доказано путем верного обнаружения всех проб, для которых получены положительные или отрицательные результаты в переменных позициях (в шахматном порядке) при использовании типовой системы *artus QS-RGQ*.

Сопутствующие продукты и информация для заказа приведены в руководстве пользователя набора *artus EBV QS-RGQ Kit*.

Перечень изменений документа

Дата	Изменения
R1 11/2019	Версия набора <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit обновлена с версии 1 на версию 2, внесены обновления в макет.

Актуальную информацию о лицензиях, а также заявления об отказе об ответственности применительно к конкретным изделиям см. в соответствующем руководстве к набору QIAGEN® или руководстве пользователя. С руководствами к наборам QIAGEN и руководствами пользователя можно ознакомиться на веб-сайте по адресу www.qiagen.com. Их также можно заказать через техническую службу QIAGEN или регионального дистрибьютора.

Товарные знаки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (группа QIAGEN).
Используемые в настоящем документе зарегистрированные наименования, товарные знаки и т. п.,
даже не отмеченные специально как таковые, не должны рассматриваться как не защищенные законодательством.
11/2019 HB-2733-D01-001 © QIAGEN, 2019 г. Все права защищены.

Контактная информация для заказа: www.qiagen.com/shop | Техническая поддержка: support.qiagen.com |

Веб-сайт: www.qiagen.com
