

Septiembre de 2017

# Kit *artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ: Características de rendimiento

**IVD**



**REF**

4501363ES      Kit *artus* EBV QS-RGQ, Versión 1.



Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) antes de realizar la prueba.

El estado de revisión actual viene indicado por la fecha de publicación (formato: mes/año).

## Límite de detección: plasma

El límite de detección teniendo en cuenta la purificación (límite de sensibilidad) se evaluó para el kit *artus* EBV QS-RGQ utilizando muestras clínicas positivas para VEB en combinación con la extracción con el instrumento QIASymphony® SP.

En el caso del plasma, el límite de detección teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ se determinó añadiendo una serie de diluciones de material del VEB de 3160 a 1 copias/ml nominales de VEB a muestras clínicas de plasma. Estas diluciones se sometieron a la extracción de ADN con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000\_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 10 diluciones se analizó con el kit *artus* EBV QS-RGQ en 4 días diferentes y en 4 series analíticas con 8 duplicados cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 1 se muestra una representación gráfica del análisis probit. El límite de detección teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ en combinación con el Rotor-Gene® Q es de 157 copias/ml ( $p = 0,05$ ). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 157 copias/ml (correspondientes a 22,29 UI/ml).

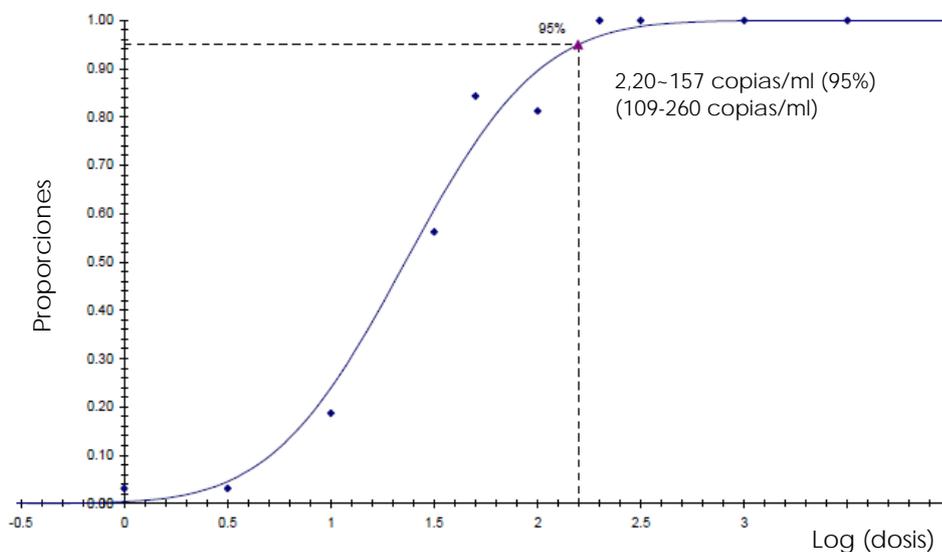


Figura 1. Análisis probit: plasma, VEB (Rotor-Gene Q). El límite de detección teniendo en cuenta la purificación (plasma, utilizando el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) del kit *artus* EBV QS-RGQ en el Rotor-Gene Q.

## Especificidad: plasma

La especificidad del kit *artus* EBV QS-RGQ se asegura ante todo mediante la selección de los cebadores y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los cebadores y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los genotipos relevantes.

La especificidad se evaluó además con 30 muestras de plasma de VEB negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los cebadores y las sondas específicos del VEB, incluidos en la mezcla maestra EBV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* EBV QS-RGQ mediante el grupo de control indicado en la tabla 1 (a continuación). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 1. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada

Grupo de control	VEB (Cycling Green)	Control interno (Cycling Yellow)
Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	-	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	-	+
Virus del herpes humano 3 (virus de la varicela-zóster)	-	+
Virus del herpes humano 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 1	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 2	-	+

## Intervalo lineal: plasma

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material del VEB de entre  $1,00 \times 10^7$  copias/ml hasta  $6,31 \times 10^2$  copias/ml en plasma. La purificación se realizó en duplicados ( $n = 4$  para concentraciones  $\geq 1,00 \times 10^6$  copias/ml;  $n = 8$  para

concentraciones  $<1,00 \times 10^6$  copias/ml) mediante el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000\_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60  $\mu$ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* EBV QS-RGQ.

Se determinó el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ para incluir concentraciones de  $6,31 \times 10^2$  copias/ml hasta  $1,00 \times 10^7$  copias/ml (correspondientes a  $8,96 \times 10^1$  hasta  $1,42 \times 10^6$  UI/ml) para plasma (figura 2).

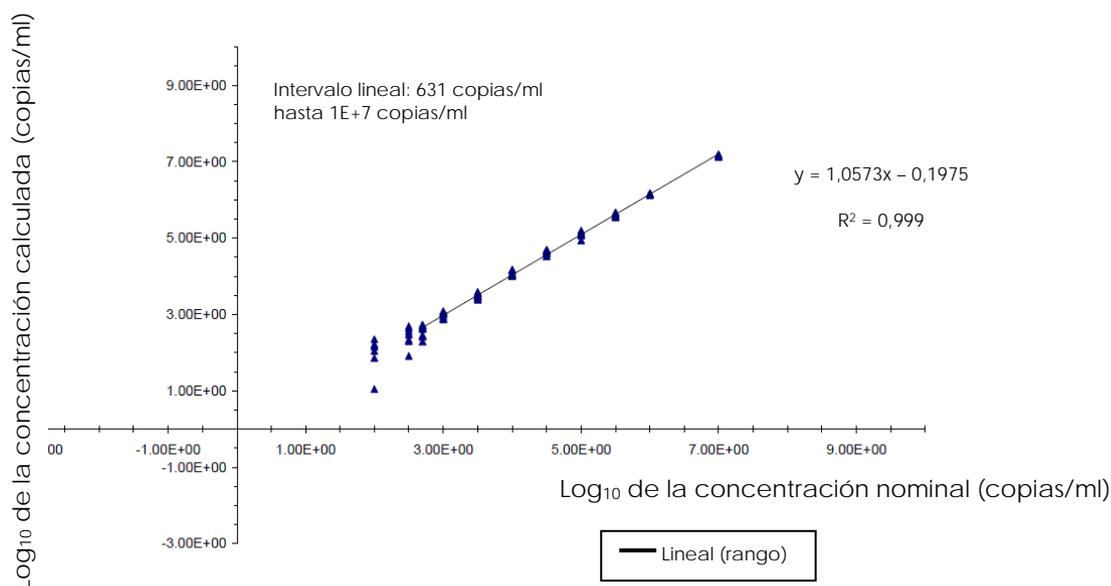


Figura 2. Intervalo lineal del kit *artus* EBV QS-RGQ (plasma). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del  $\log_{10}$  de las concentraciones calculadas con el  $\log_{10}$  de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

## Robustez: plasma

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del kit *artus* EBV

QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 500 copias/ml del VEB (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítico) a 30 muestras de plasma del VEB negativas. Tras realizar la extracción con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000\_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60  $\mu$ l), las muestras se analizaron con el kit *artus* EBV QS-RGQ. Además, la robustez del control interno se

---

evaluó mediante la purificación y el análisis de las 30 muestras de plasma a las que se había añadido el virus. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del kit *artus* EBV QS-RGQ es  $\geq 99\%$ .

## Sustancias causantes de interferencias: plasma

La bilirrubina, la hemoglobina y los triglicéridos no mostraron interferencias con el kit *artus* EBV QS-RGQ en las concentraciones mostradas en la tabla 2.

Tabla 2. Sustancias causantes de interferencias en muestras de plasma con EDTA

Concentración de VEB (copias/ml)	Sustancia causante de interferencias		C <sub>T(VEB)</sub>			C <sub>T(VEB) SI</sub> - C <sub>T(VEB) Control</sub>
	Elemento	Concentración	C <sub>T</sub> medio	SD	CV (%)	Absoluto
1600	Bilirrubina	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobina	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglicéridos	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albúmina	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Control	-	32,88	0,33	0,99	-

CV: coeficiente de variación; VEB: virus de Epstein-Barr; SI: sustancia causante de interferencias; SD: desviación típica.

## Evaluación clínica: plasma

El rendimiento clínico del kit *artus* EBV QS-RGQ se evaluó analizando muestras clínicas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación. Se analizó un total de 166 muestras de plasma con EDTA obtenidas de pacientes infectados por el VEB, así como de controles negativos, con el kit *artus* EBV QS-RGQ y con el método de comparación en un centro externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del porcentaje de concordancia positiva (PCP), del porcentaje de concordancia negativa (PCN) y del porcentaje de concordancia global (PCG); la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 83 muestras de plasma con EDTA que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con el coeficiente de correlación correspondiente (consulte la tabla 3 y la figura 3).

Tabla 3. Datos del estudio de rendimiento clínico para muestras de plasma con EDTA

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	154/166	92,77	87,71	96,21
Porcentaje de concordancia positiva	100/102	98,04	93,10	99,76
Porcentaje de concordancia negativa	54/64	84,38	73,14	92,24

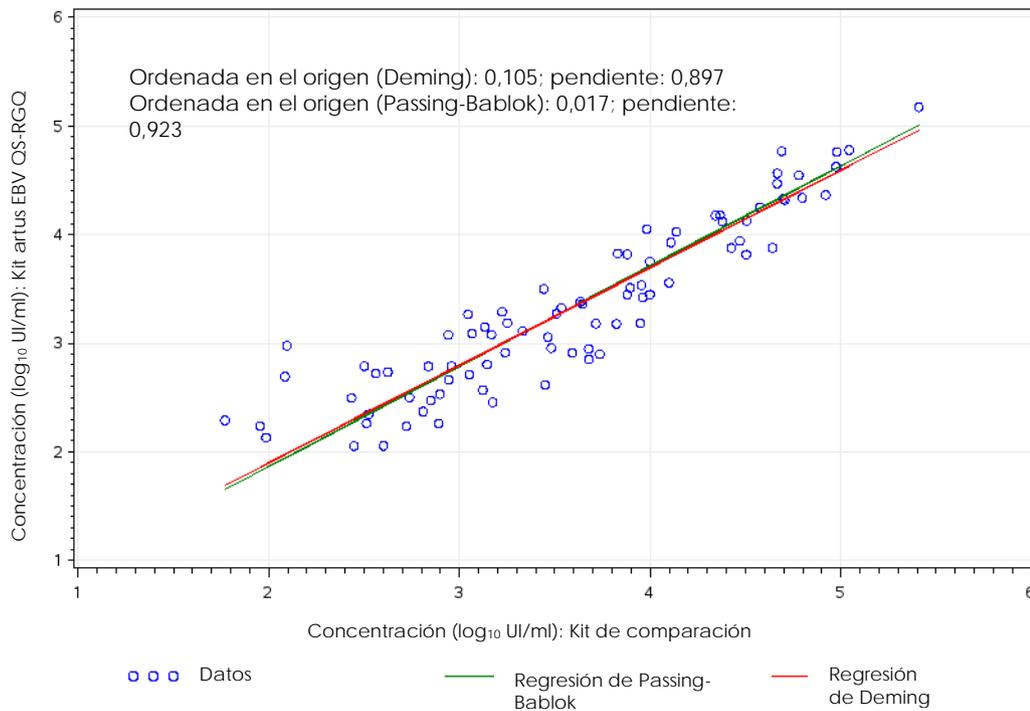


Figura 3. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-bablok y de Deming. Se incluyen en el análisis las muestras que se encuentran entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El análisis de regresión lineal entre los dos ensayos generó un coeficiente de correlación de Pearson de 0,922 y un coeficiente de correlación de Spearman de 0,928.

## Límite de detección: sangre completa

En el caso de sangre completa, el límite de detección teniendo en cuenta la purificación del kit *artus EBV QS-RGQ* se determinó añadiendo una serie de diluciones de material del VEB de 3160 a 3,16 copias/ml nominales de VEB a muestras clínicas de sangre completa. Estas se sometieron a la extracción de ADN con el kit *QIASymphony DNA Mini* en combinación con el protocolo *VirusBlood200\_DSP* (volumen de extracción: 200 µl; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 10 diluciones se analizó con el kit *artus EBV QS-RGQ* en 3 días diferentes y en 3 series analíticas con 11 duplicados cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 4 se muestra una representación gráfica del análisis probit.

El límite de detección teniendo en cuenta la purificación del kit *artus EBV QS-RGQ* en combinación con el *Rotor-Gene Q* es de 288,29 copias/ml ( $p = 0,05$ ). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 288,29 copias/ml (correspondientes a 40,36 UI/ml).

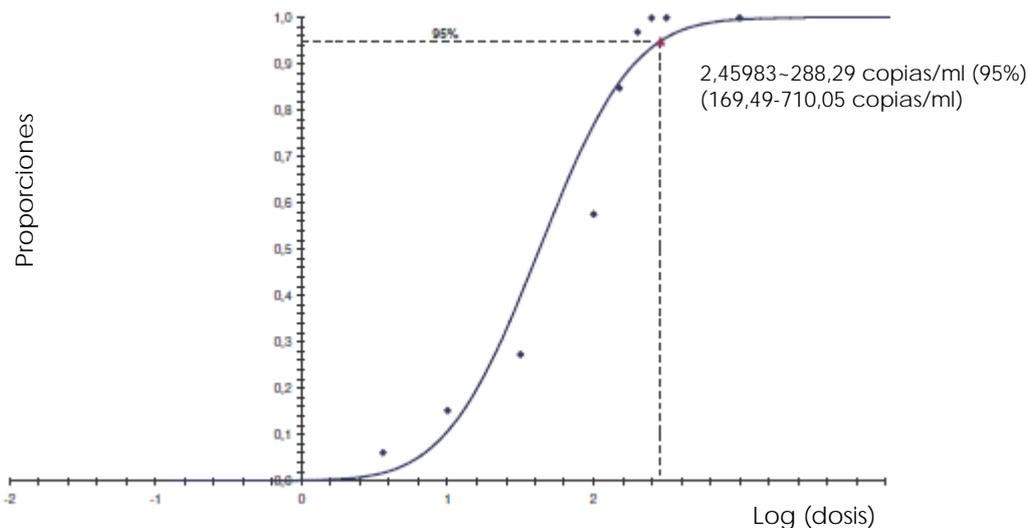


Figura 4. Análisis Probit: sangre completa, VEB (Rotor-Gene Q). Límite de detección teniendo en cuenta la purificación (sangre completa, utilizando el kit *QIASymphony DNA Mini*) del kit *artus EBV QS-RGQ* en el *Rotor-Gene Q*.

## Especificidad: sangre completa

La especificidad del kit *artus* EBV QS-RGQ se asegura ante todo mediante la selección de los cebadores y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los cebadores y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías con todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los genotipos relevantes.

La especificidad se evaluó además con 30 muestras de sangre completa de VEB negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los cebadores y las sondas específicos del VEB, incluidos en la mezcla maestra EBV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* EBV QS-RGQ mediante el grupo de control indicado en la tabla 1 (véase la página 3). Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

## Intervalo lineal: sangre completa

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material del VEB de entre  $5,00 \times 10^7$  copias/ml hasta  $1,00 \times 10^3$  copias/ml en sangre completa. La purificación se realizó en duplicados ( $n = 4$  para concentraciones  $\geq 1,00 \times 10^7$  copias/ml;  $n = 8$  para concentraciones  $< 1,00 \times 10^7$  copias/ml) mediante el kit QIA-symphony DNA Mini en combinación con el protocolo VirusBlood200\_DSP (volumen de extracción: 200  $\mu$ l; volumen de elución: 60  $\mu$ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* EBV QS-RGQ. Se determinó el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* EBV QS-RGQ para incluir concentraciones de  $1,00 \times 10^3$  copias/ml hasta  $5,00 \times 10^7$  copias/ml (correspondientes a  $1,4 \times 10^2$  hasta  $7,0 \times 10^6$  UI/ml) para sangre completa (figura 5).

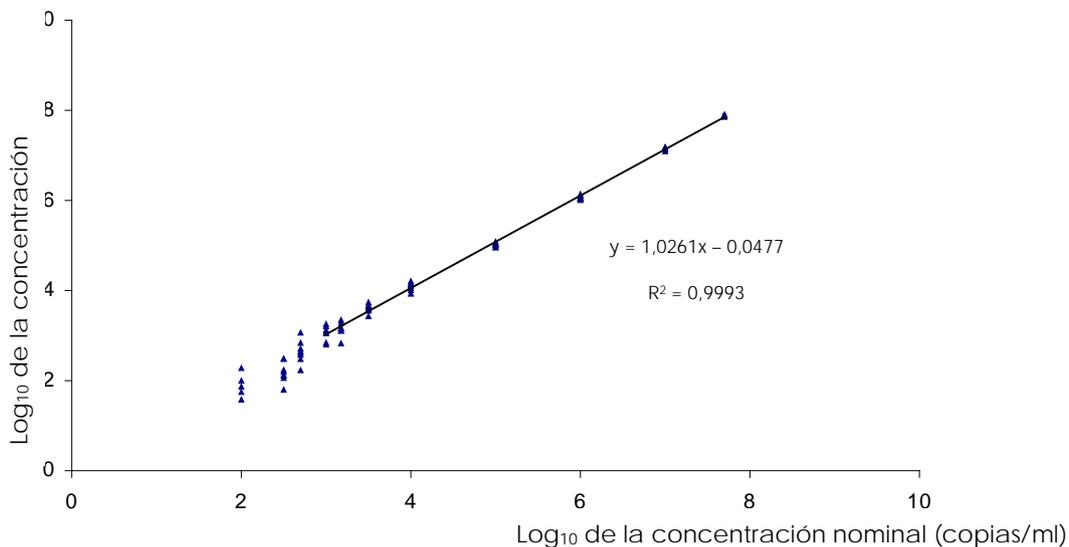


Figura 5. Intervalo lineal del kit *artus* EBV QS-RGQ (sangre completa). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del  $\log_{10}$  de las concentraciones calculadas con el  $\log_{10}$  de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

## Robustez: sangre completa

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del kit *artus* EBV QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 750 copias/ml de VEB (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítico) a 51 muestras de sangre completa de VEB negativas. Tras realizar la extracción de ADN con el kit QIASymphony DNA Mini en combinación con el protocolo VirusBlood200\_DSP (volumen de extracción: 200  $\mu$ l, volumen de elución: 60  $\mu$ l), las muestras se analizaron con el kit *artus* EBV QS-RGQ. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de 51 muestras de sangre completa adicionadas. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del kit *artus* EBV QS-RGQ es  $\geq 99\%$ .

## Sustancias causantes de interferencias: sangre completa

Se analizaron las sustancias que podrían interferir en los resultados obtenidos con el kit *artus* EBV QS-RGQ; en la tabla 4 se muestran las concentraciones de estas sustancias que no interfirieron con el kit.

Tabla 4. Sustancias causantes de interferencias en muestras de sangre completa

Concentración de VEB (copias/ml)	Sustancia causante de interferencias		C <sub>T(VEB)</sub>			C <sub>T(VEB) SI</sub> - C <sub>T(VEB) Control</sub>
	Elemento	Concentración	C <sub>T</sub> medio	SD	CV (%)	Absoluto
2500	Bilirrubina	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglicéridos	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	ADNg	3 µg/muestra	34,79	0,18	0,52	0,38
	ADNg	2,5 µg/muestra	34,57	0,39	1,13	0,60
	ADNg	2 µg/muestra	34,73	0,49	1,41	0,44
	ADNg	1 µg/muestra	34,86	0,22	0,62	0,31
	Control	-	35,17	0,40	1,13	-

CV: coeficiente de variación; VEB: virus de Epstein-Barr; ADNg: ADN genómico; SI: sustancia causante de interferencias; SD: desviación típica

## Evaluación clínica: sangre completa

El rendimiento clínico del kit *artus EBV QS-RGQ* se evaluó analizando muestras clínicas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación. Se analizó un total de 178 muestras de sangre completa obtenidas de pacientes infectados por el VEB, así como de controles negativos, con el kit *artus EBV QS-RGQ* y con un método de comparación en un centro externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del PCP, del PCN y del PCG; la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 98 muestras de sangre completa que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con el coeficiente de correlación correspondiente (consulte la tabla 5 y la figura 6).

Tabla 5. Datos del estudio de rendimiento clínico para muestras de sangre completa

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Limite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Limite superior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	169/178	94,94	90,62	97,66

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia positiva	115/119	96,64	91,62	99,08
Porcentaje de concordancia negativa	54/59	91,53	81,32	97,19

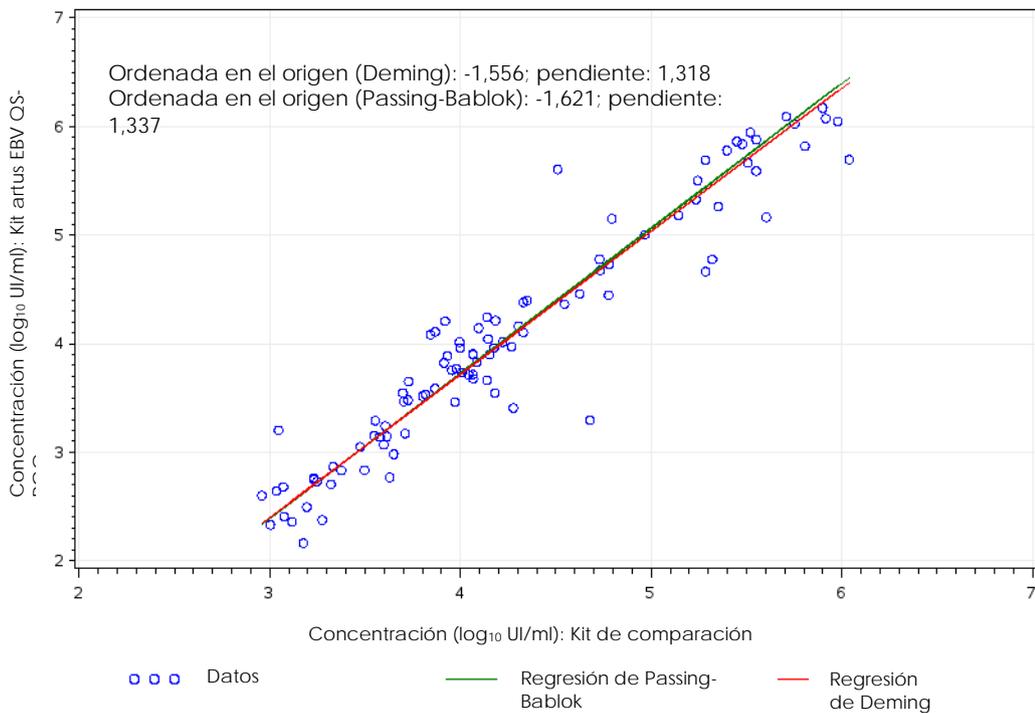


Figura 6. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-Bablok y de Deming. Se incluyen en el análisis las muestras que se encuentran entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El análisis de regresión lineal entre los dos ensayos generó un coeficiente de correlación de Pearson de 0,956 y un coeficiente de correlación de Spearman de 0,945.

## Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar periódicamente el rendimiento del kit *artus* EBV QS-RGQ y comparar su eficiencia con la de otros productos. Estos datos se obtienen por medio de la participación en programas de competencia establecidos.

## Contaminación cruzada

Se ha demostrado la ausencia de una contaminación cruzada entre las muestras para el flujo de trabajo completo por medio de la detección correcta de todas las muestras positivas y negativas conocidas en posiciones alternantes (patrón de cuadrícula) para un sistema *artus* QS-RGQ representativo.

En el manual de uso del kit *artus* EBV QS-RGQ encontrará los productos relacionados y la información para pedidos.

Historial de versiones de los documentos	
Septiembre de 2017	Tabla 5 actualizada: Datos del estudio del rendimiento clínico para muestras de sangre completa. Añadidas las unidades de concentración UI/ml además de copias/ml en todo el documento.

---

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales del usuario y los manuales del kit de QIAGEN están disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no se encuentren protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales. 09/2017 HB-0357-D01-003  
© 2012-2017 QIAGEN, todos los derechos reservados

Pedidos [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Asistencia técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

---