

2019 년 11 월

artus[®] EBV QS-RGQ Kit:

성능 특징

IVD

CE

REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, 버전 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1



검사 실행 전 [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](https://www.qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce) 에서 새 전자 라벨 표기 개정 버전을 사용할 수 있는지 확인하십시오. 현 개정 버전 상태는 발행일(형식: 월/연)로 표시되어 있습니다.

검출 한계 - 혈장

QIASymphony® SP 추출물과 조합한 EBV 양성 임상 시료를 사용하여 정제(감도 한계)를 고려한 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 검출 한계를 평가했습니다.

혈장의 경우, 임상 혈장 시료에서 스파이크된 3160 ~ 공칭 1 EBV copies/ml 의 EBV 물질의 연속 희석물을 사용하여, 정제를 고려한 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 검출 한계를 결정했습니다. Cellfree1000_DSP 프로토콜과 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 를 함께 사용하여 이 검체의 DNA 추출을 수행했습니다(추출량: 1 ml, 용출량: 60 µl). 10 개 희석물 각각을 *artus* EBV QS-RGQ Kit 를 사용하여 비연속적인 4 일에 각각 8 개의 복제물로 4 회 실행하여 분석했습니다. 결과는 프로빗 분석으로 결정되었습니다. 프로빗 분석 그래프는 그림 1 에 나와 있습니다. Rotor-Gene® Q 와 병합한 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 정제를 고려한 검출 한계는 157 copies/ml($p = 0.05$)입니다. 이는 157 copies/ml(22.29 IU/ml 에 해당)가 검출될 가능성이 95%임을 의미합니다.

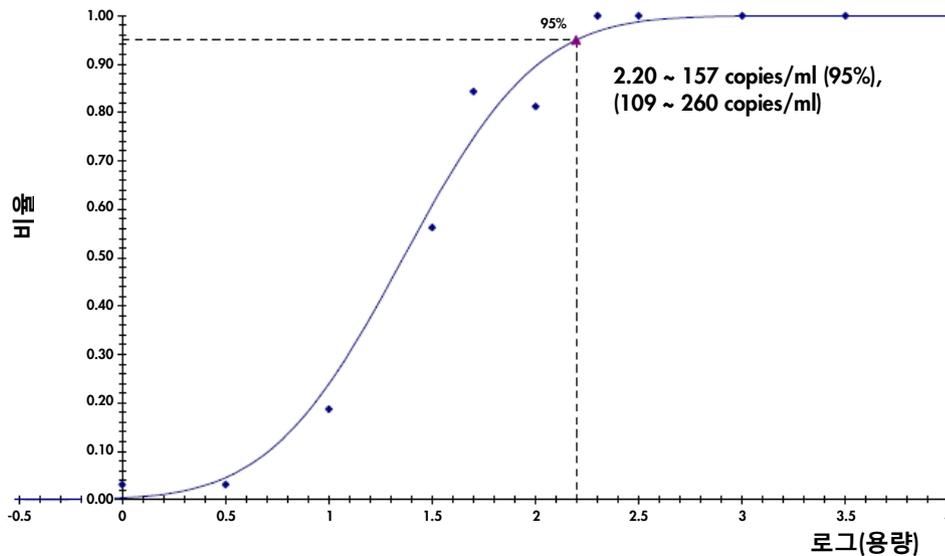


그림 1. 프로빗 분석: 혈장, EBV(Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q 에서의 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 정제를 고려한 검출 한계(혈장, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 사용).

특이성 – 혈장

artus EBV QS-RGQ Kit 의 특이성은 프라이머와 프로브 선택 그리고 엄격한 반응 조건 선택을 통해 가장 우선적으로 보장됩니다. 프라이머와 프로브는 유전자 은행에서 발행한 모든 서열에 대한 상동 가능성을 서열 비교 분석으로 확인했습니다. 따라서 관련 유전자형의 검출 가능성이 보장되었습니다.

또한 특이성은 30 가지 각기 다른 EBV 음성 혈장 검체로도 검증되었습니다. 이들은 EBV RG Master 에 포함된 EBV 특이 프라이머 및 프로브에서 어떠한 신호도 생성하지 않았습니다.

artus EBV QS-RGQ Kit 의 잠재적 교차-반응성은 아래 표 1 에 나열된 대조군을 사용하여 검사했습니다. 검사한 병원체 모두 반응성이 없었습니다. 혼합 감염으로도 교차 반응성이 나타나지 않았습니다.

표 1. 교차 반응 가능성이 있는 병원체를 사용한 키트 특이성 검사

대조군	EBV (Cycling Green)	내부 대조물질(Cycling Yellow)
사람 헤르페스 바이러스 1(단순 헤르페스 바이러스 1)	-	+
사람 헤르페스 바이러스 2(단순 헤르페스 바이러스 2)	-	+
사람 헤르페스 바이러스 3(수두 대상포진 바이러스)	-	+
사람 헤르페스 바이러스 5(사이토메갈로바이러스)	-	+
사람 T 세포 백혈병 바이러스 1	-	+
사람 T 세포 백혈병 바이러스 2	-	+

선형 범위 – 혈장

혈장에서 1.00×10^7 copies/ml ~ 6.31×10^2 copies/ml 범위의 EBV 바이러스 물질의 연속 희석물을 분석하여 정제를 고려한 artus EBV QS-RGQ Kit 의 선형 범위를 결정했습니다. 정제는 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 와 Cellfree1000_DSP 프로토콜을 함께 사용하여 복제물에서($\geq 1.00 \times 10^6$ copies/ml 의 농도의 경우 n = 4, $< 1.00 \times 10^6$ copies/ml 의 농도의 경우 n = 8) 수행했습니다(추출량: 1 ml, 용출량: 60 μ l). 각 검체는 artus EBV QS-RGQ Kit 를 사용하여 분석했습니다.

artus EBV QS-RGQ Kit의 정제를 고려한 선형 범위는 혈장의 경우 6.31×10^2 copies/ml ~ 1.00×10^7 copies/ml(8.96×10^1 to 1.42×10^6 IU/ml에 해당)에 걸친 것으로 결정되었습니다(그림 2).

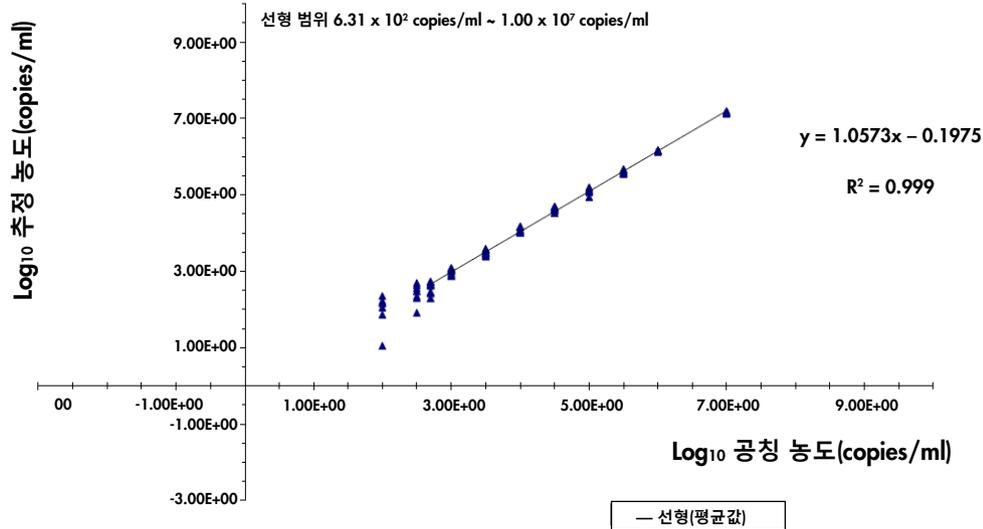


그림 2. artus EBV QS-RGQ Kit의 선형 범위(혈장). 선형 범위 계산. 직선은 \log_{10} 공칭 농도를 사용해 계산된 \log_{10} 농도의 선형 회귀로 측정되었습니다. 회귀선의 등식이 그림에 포함되어 있습니다.

강건성 – 혈장

강건성 검증을 통해 artus EBV QS-RGQ Kit의 총 실패율을 측정할 수 있습니다. 강건성을 검증하기 위해 EBV 음성 혈장 검체 30 개를 EBV 500 copies/ml(분석 민감도 한계의 약 3 배)로 스파이크했습니다. QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit와 Cellfree1000_DSP 프로토콜을 함께 사용하여 추출한 후(추출량: 1 ml, 용출량: 60 μ l), artus EBV QS-RGQ Kit로 이러한 검체들을 분석했습니다. 이와 더불어 정제 및 스파이크된 혈장 검체 30 개에 대한 분석으로 내부 대조물질의 강건성을 평가했습니다. 역제는 관찰되지 않았습니다. 따라서 artus EBV QS-RGQ Kit의 강건성은 $\geq 99\%$ 입니다.

간섭 물질 – 혈장

빌리루빈, 헤모글로빈 및 트리글리세리드는 표 2 에 나온 농도에서 *artus* EBV QS-RGQ Kit 에 간섭을 보이지 않았습니다.

표 2. EDTA 혈장 검체 내 간섭 물질

EBV 농도(copies/ml)	간섭 물질		C _{T(EBV)}			C _{T(EBV) IS} - C _{T(EBV) Control}
	항목	농도	평균 C _T	SD	CV(%)	절대값
1600	빌리루빈	30 mg/dl	32.30	0.37	1.14	0.58
	헤모글로빈	2 g/dl	32.82	0.20	0.60	0.06
	트리글리세리드	1 g/dl	32.42	0.28	0.87	0.46
	알부민	4 g/dl	31.71	0.54	1.69	1.15
	대조물질	-	32.88	0.33	0.99	-

CV: Coefficient of Variation(변동 계수), EBV: Epstein-Barr Virus(엡스타인-바 바이러스), IS: Interfering Substance(간섭 물질), SD: Standard Deviation(표준 편차)

임상 평가 – 혈장

임상 시료를 검사하고 비교 방법의 결과와 해당 결과를 비교 분석하여 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 임상적 성능을 평가했습니다. 음성 대조군 뿐만 아니라 EBV 감염 환자에게서 채취한 총 166 개의 EDTA 혈장 시료를 외부 기관에서 *artus* EBV QS-RGQ Kit 및 비교 방법으로 검사했습니다. 결과는 2 부로 분석하였습니다. 1 부는 양성 일치율(Positive Percent Agreement, PPA), 음성 일치율(Negative Percent Agreement, NPA) 및 전체 일치율(Overall Percent Agreement, OPA)에 대한 범주 일치율 분석이었고, 2 부는 Deming 회귀 분석과 Passing-Bablok 회귀 분석을 사용한 공통 분석 동적 범위 내에 속한 83 개의 EDTA 혈장 검체의 결과에 대한 분석이었고, 그 결과를 상응하는 상관 계수와 함께 보고하였습니다(표 3 및 그림 3 참조).

표 3. EDTA 혈장 검체에 대한 임상적 성능 연구 데이터

일치도 척도	빈도	일치율	Clopper-Pearson (정확) 이항 양측 95% 신뢰 하한	Clopper-Pearson (정확) 이항 양측 95% 신뢰 상한
전체 일치율	154/166	92.77	87.71	96.21
양성 일치율	100/102	98.04	93.10	99.76
음성 일치율	54/64	84.38	73.14	92.24

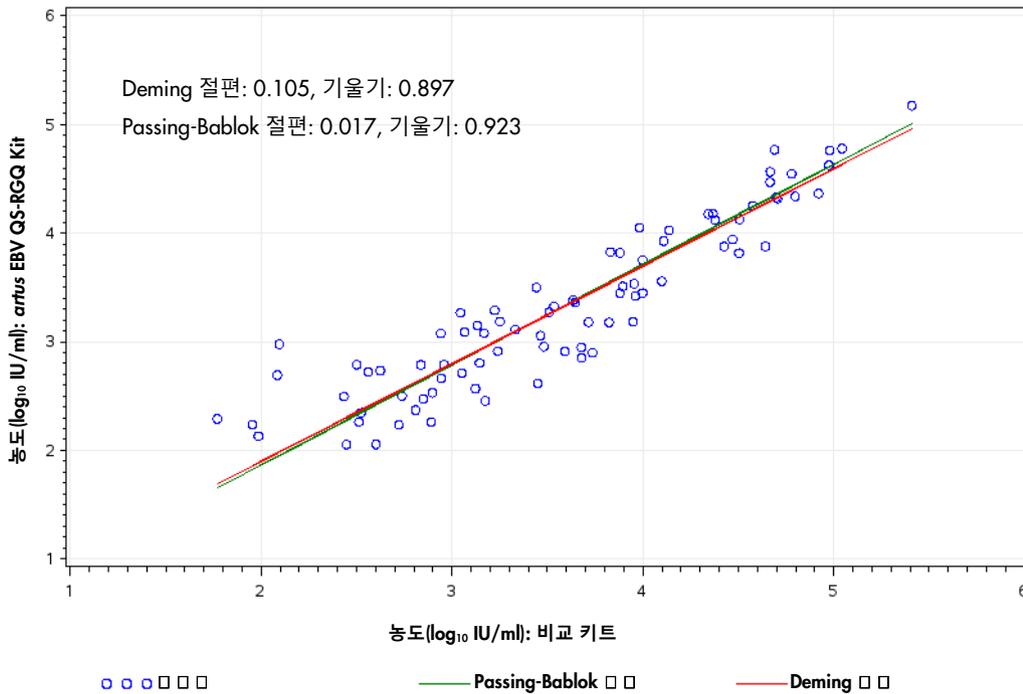


그림 3. Passing-Bablok 및 Deming 선을 사용한 회귀 그림. 두 키트에 대한 정량 하한과 정량 상한 사이에 있는 검체가 분석에 포함됩니다.

두 분석 간의 선형 회귀 분석 결과, Pearson 상관 계수는 0.922 였고 Spearman 상관 계수는 0.928 이었습니다.

검출 한계 – 전혈

전혈의 경우, 사람 전혈 시료에서 스파이크된 3160 ~ 공칭 3.16 EBV copies/ml 의 EBV 물질의 연속 희석물을 사용하여, 정제를 고려한 artus EBV QS-RGQ Kit 의 검출 한계를 결정했습니다. VirusBlood200_DSP 프로토콜과 QIASymphony DNA Mini Kit 를 함께 사용하여 이 검체의 DNA 추출을 수행했습니다(추출량: 200 µl, 용출량: 60 µl). 10 개 희석물 각각을 artus EBV QS-RGQ Kit 를 사용하여 비연속적인 3 일에 각각 11 개의 복제물로 3 회 실행하여 분석했습니다. 결과는 프로빗 분석으로 결정되었습니다. 프로빗 분석 그래프는 그림 4 에 나와 있습니다.

Rotor-Gene Q 와 병합한 artus EBV QS-RGQ Kit 의 정제를 고려한 검출 한계는 288.29 copies/ml(p = 0.05)입니다. 이는 288.29 copies/ml(40.36 IU/ml 에 해당)가 검출될 가능성이 95%임을 의미합니다.

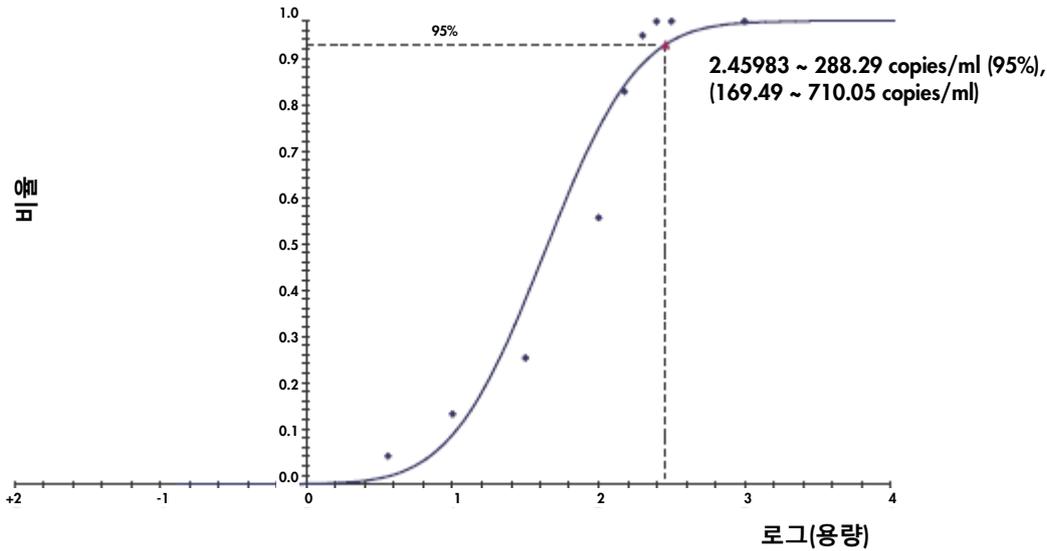


그림 4. 프로빗 분석: 전혈, EBV(Rotor-Gene Q). Rotor-Gene Q 에서의 artus EBV QS-RGQ Kit 의 정체를 고려한 검출 한계(전혈, QIASymphony DNA Mini Kit 사용).

특이성 – 전혈

artus EBV QS-RGQ Kit 의 특이성은 프라이머와 프로브 선택 그리고 엄격한 반응 조건 선택을 통해 가장 우선적으로 보장됩니다. 프라이머와 프로브는 유전자 은행에서 발행한 모든 서열에 대한 상동 가능성을 서열 비교 분석으로 확인했습니다. 따라서 관련 유전자형의 검출 가능성이 보장되었습니다.

또한 특이성은 30 가지 각기 다른 EBV 음성 전혈 검체를 사용하여 검증되었습니다. 이들은 EBV RG Master 에 포함된 EBV 특이 프라이머 및 프로브에서 어떠한 신호도 생성하지 않았습니다.

artus EBV QS-RGQ Kit 의 잠재적 교차-반응성은 아래 표 1 에 나열된 대조군을 사용하여 검사했습니다(3 페이지 참조). 검사한 병원체 모두 반응성이 없었습니다. 혼합 감염으로도 교차 반응성이 나타나지 않았습니다.

선형 범위 – 전혈

전혈에서 5.00×10^7 copies/ml ~ 1.00×10^3 copies/ml 범위의 EBV 바이러스 물질의 연속 희석물을 분석하여 정제를 고려한 *artus* EBV QS-RGQ Kit의 선형 범위를 결정했습니다. 정제는 QIASymphony DNA Mini Kit와 VirusBlood200_DSP 프로토콜을 함께 사용하여 복제물에서($\geq 1.00 \times 10^7$ copies/ml의 농도의 경우 $n = 4$, $< 1.00 \times 10^7$ copies/ml의 농도의 경우 $n = 8$) 수행했습니다(추출량: 200 μ l, 용출량: 60 μ l). 각 검체는 *artus* EBV QS-RGQ Kit를 사용하여 분석했습니다. *artus* EBV QS-RGQ Kit의 정제를 고려한 선형 범위는 전혈의 경우 1.00×10^3 copies/ml ~ 5.00×10^7 copies/ml(1.4×10^2 to 7.0×10^6 IU/ml에 해당)에 걸친 것으로 결정되었습니다(그림 5).

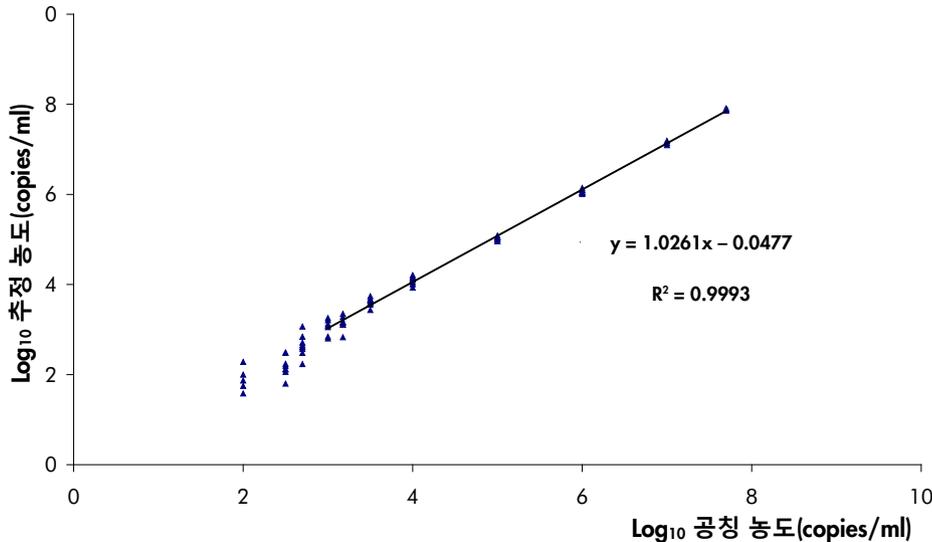


그림 5. *artus* EBV QS-RGQ Kit의 선형 범위(전혈). 선형 범위 계산. 직선은 \log_{10} 공칭 농도를 사용해 계산된 \log_{10} 농도의 선형 회귀로 측정되었습니다. 회귀선의 등식이 그림에 포함되어 있습니다.

강건성 – 전혈

강건성 검증을 통해 *artus* EBV QS-RGQ Kit의 총 실패율을 측정할 수 있습니다. 강건성을 검증하기 위해 EBV 음성 전혈 검체 51 개를 EBV 750 copies/ml(분석 민감도 한계의 약 3 배)로 스파이크했습니다. QIASymphony DNA Mini Kit와 VirusBlood200_DSP 프로토콜을 함께 사용하여 추출한 후(추출량: 200 μ l, 용출량: 60 μ l), *artus* EBV QS-RGQ Kit로 이러한 검체들을 분석했습니다. 이와 더불어 정제 및 스파이크된 전혈 검체 51 개에 대한 분석으로 내부 대조물질의 강건성을 평가했습니다. 역제는 관찰되지 않았습니다. 따라서 *artus* EBV QS-RGQ Kit의 강건성은 $\geq 99\%$ 입니다.

간섭 물질 – 전혈

artus EBV QS-RGQ Kit 결과에 간섭할 가능성이 있는 물질을 검사하였으며 이들 물질에 대해 이 키트와 간섭하지 않는 농도가 표 4 에 나와 있습니다.

표 4. 전혈 검체 내 간섭 물질

EBV 농도(copies/ml)	간섭 물질		평균 C _T	C _{T(EBV)}		C _{T(EBV) IS} - C _{T(EBV) Control}
	항목	농도		SD	CV(%)	절대값
2500	빌리루빈	30 mg/dl	34.44	0.27	0.78	0.73
	트리글리세리드	1 g/dl	34.58	0.32	0.91	0.59
	gDNA	검체당 3 µg	34.79	0.18	0.52	0.38
	gDNA	검체당 2.5 µg	34.57	0.39	1.13	0.60
	gDNA	검체당 2 µg	34.73	0.49	1.41	0.44
	gDNA	검체당 1 µg	34.86	0.22	0.62	0.31
	대조물질	-	35.17	0.40	1.13	-

CV: Coefficient of Variation (변동 계수), EBV: Epstein-Barr Virus (엡스타인-바 바이러스), gDNA: Genomic DNA (유전체 DNA), IS: Interfering Substance (간섭 물질), SD: Standard Deviation (표준 편차)

임상 평가 – 전혈

임상 시료를 검사하고 비교 방법과 비교 분석하여 artus EBV QS-RGQ Kit 의 임상적 성능을 평가했습니다. 음성 대조군 뿐만 아니라 EBV 감염 환자에게서 채취한 총 178 개의 전혈 시료를 외부 기관에서 artus EBV QS-RGQ Kit 및 비교 방법으로 검사했습니다. 결과는 2 부로 분석하였습니다. 1 부는 PPA, NPA 및 OPA 에 대한 범주 일치율 분석이었고, 2 부는 Deming 분석과 Passing-Bablok 회귀 분석을 사용한 공통 분석 동적 범위 내에 속한 98 개의 전혈 검체의 결과에 대한 분석이었고, 그 결과를 상응하는 상관 계수와 함께 보고하였습니다(표 5 및 그림 6 참조).

표 5. 전혈 검체에 대한 임상적 성능 연구 데이터

일치도 척도	빈도	일치율	Clopper-Pearson (정확) 이항 양측 95% 신뢰 하한	Clopper-Pearson (정확) 이항 양측 95% 신뢰 상한
전체 일치율	169/178	94.94	90.62	97.66
양성 일치율	115/119	96.64	91.62	99.08
음성 일치율	54/59	91.53	81.32	97.19

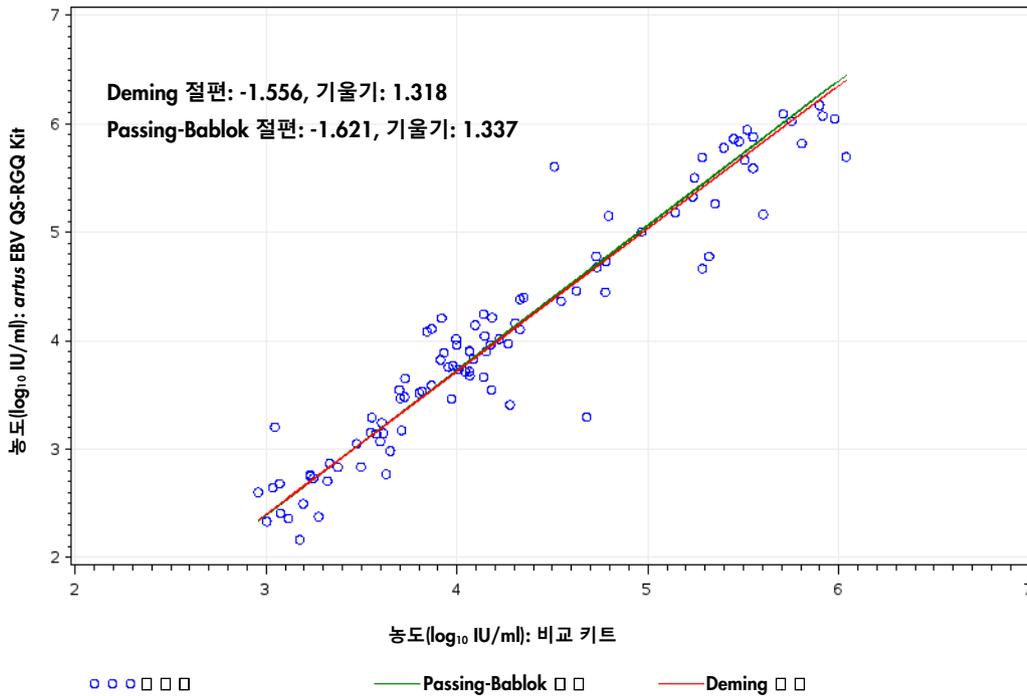


그림 6. Passing-Bablok 및 Deming 선을 사용한 회귀 그림. 두 키트에 대한 정량 하한과 정량 상한 사이에 있는 검체가 분석에 포함됩니다.

두 분석 간의 선형 회귀 분석 결과, Pearson 상관 계수는 0.956 였고 Spearman 상관 계수는 0.945 이었습니다.

재현성

재현성 데이터를 사용하여 *artus* EBV QS-RGQ Kit 의 정기적인 성능 평가를 수행하고 다른 제품과의 효율성 비교를 실시할 수 있습니다. 이러한 데이터는 확립된 신빙도 프로그램에 참여하여 확보합니다.

교차 오염

대표적인 *artus* QS-RGQ 시스템의 경우 교체 위치에서 모든 알려진 양성 및 음성 검체가 올바르게 검출됨으로써(체크무늬 패턴) 전체적인 작업 흐름에 대해 검체 간 교차 오염이 없음이 입증되었습니다.

관련 제품 정보 및 주문 정보는 *artus* EBV QS-RGQ Kit 안내서에 기재되어 있습니다.

문서 개정 이력

날짜	변경 사항
R1 2019 년 11 월	<i>artus</i> EBV QS-RGQ Kit 버전을 버전 1 에서 버전 2 로 업데이트함, 레이아웃을 업데이트함.

최신 라이선스 정보 및 제품별 면책 사항은 각 QIAGEN® 키트 안내서 또는 사용 설명서를 참조하십시오. QIAGEN 키트 안내서와 사용 설명서는 www.qiagen.com 에서 확인하거나 QIAGEN 기술 서비스 또는 현지 유통업체에 요청할 수 있습니다.

상표: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene®(QIAGEN 그룹).
이 문서에 사용된 등록된 이름, 상표 등은 별도로 표시되지 않은 경우에도 법적 보호를 받는 것으로 간주됩니다.
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, 모든 권리 보유.

