

November 2019

# artus<sup>®</sup> EBV QS-RGQ Kit: Leistungsmerkmale

IVD



REF

4501363 artus EBV QS-RGQ Kit, Version 2.



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, D-40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R1

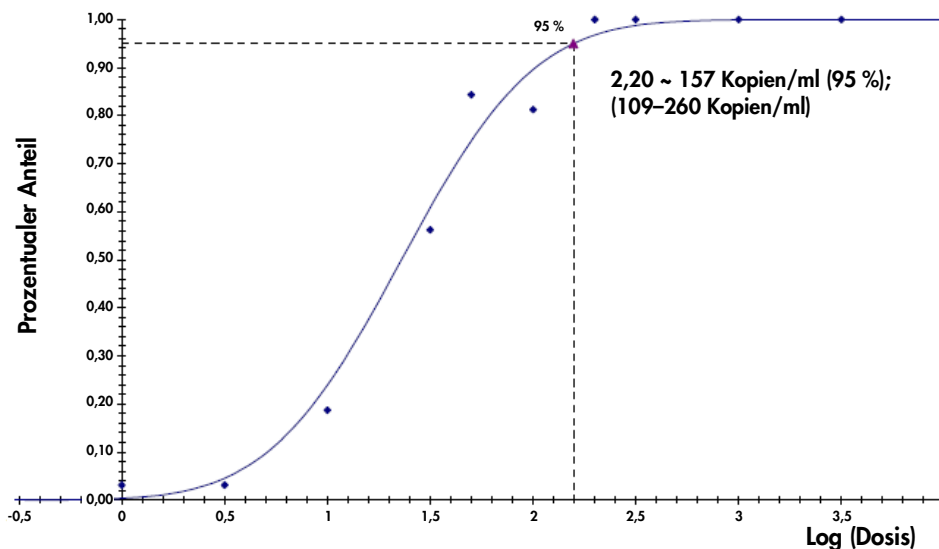


Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](http://qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce). Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).

# Nachweisgrenze – Plasma

Die Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung (Sensitivitätsgrenze) wurde für das *artus* EBV QS-RGQ Kit anhand EBV positiver klinischer Proben in Kombination mit der Extraktion auf dem QIAasymphony® SP bestimmt.

Bei Plasma als Ausgangsmaterial wurde zur Bestimmung der Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung für das *artus* EBV QS-RGQ Kit eine Verdünnungsreihe mit EBV-Material von 3160 bis nominal 1 EBV-Kopie/ml in klinischen Plasmaspezimen erstellt. Anschließend wurde die DNA aus den Proben isoliert mit dem QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls „Cellfree1000\_DSP“ (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der 10 Verdünnungsstufen wurde an 4 verschiedenen Tagen in 4 Analyseläufen mit jeweils 8 Replikaten unter Verwendung des *artus* EBV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 1 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse. Demzufolge liegt für das *artus* EBV QS-RGQ Kit in Kombination mit dem Rotor-Gene® Q die Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung bei 157 Kopien/ml ( $p = 0,05$ ). Dies bedeutet, dass 157 Kopien/ml (entspricht 22,29 IU/ml) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % detektiert werden können.



**Abbildung 1. Probit-Analyse – Plasma, EBV (Rotor-Gene Q).** Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung aus Plasmaproben (unter Verwendung des QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des *artus* EBV QS-RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q.

## Spezifität – Plasma

Die Spezifität des *artus* EBV QS-RGQ Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichs-Analyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Die Nachweisbarkeit aller relevanten Genotypen ist dadurch sichergestellt.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 30 verschiedenen EBV-negativen Plasmaproben. Bei diesen wurde mit den im EBV RG Master enthaltenen EBV-spezifischen Primern und Sonden kein Signal erzeugt.

Für die Überprüfung einer potenziellen Kreuzreaktivität des *artus* EBV QS-RGQ Kits wurde die in Tabelle 1 (siehe unten) aufgeführte Gruppe von Kontrollen untersucht. Bei keinem der getesteten Erreger trat eine Reaktion auf. Bei Mischinfektionen traten keine Kreuzreaktivitäten auf.

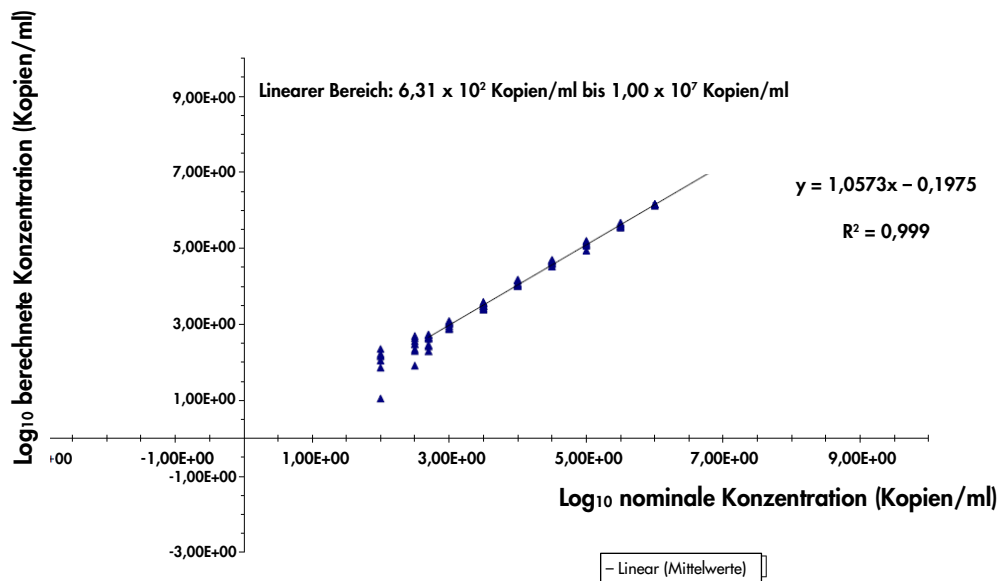
**Tabelle 1. Spezifitätstest des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen**

Kontrollgruppe	EBV (Cycling Green)	Interne Kontrolle (Cycling Yellow)
Humanes Herpesvirus 1 (Herpes-simplex-Virus 1)	-	+
Humanes Herpesvirus 2 (Herpes-simplex-Virus 2)	-	+
Humanes Herpesvirus 3 (Varizella-Zoster-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	-	+
Humanes T-Zell-Leukämie-Virus 1	-	+
Humanes T-Zell-Leukämie-Virus 2	-	+

## Linearer Bereich – Plasma

Der lineare Bereich unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für das *artus* EBV QS-RGQ Kit durch Analyse einer Verdünnungsreihe mit EBV-Material über einen Konzentrationsbereich von  $1,00 \times 10^7$  Kopien/ml bis  $6,31 \times 10^2$  Kopien/ml bestimmt. Die Aufreinigung wurde in mehreren Replikaten durchgeführt ( $n = 4$  für Konzentrationen  $\geq 1,00 \times 10^6$  Kopien/ml;  $n = 8$  für Konzentrationen  $< 1,00 \times 10^6$  Kopien/ml) mit dem QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls „Cellfree1000\_DSP“ (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede Probe wurde mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit analysiert.

Für Plasmaproben erstreckt sich der lineare Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung demnach über Konzentrationen von  $6,31 \times 10^2$  Kopien/ml bis  $1,00 \times 10^7$  Kopien/ml (entspricht  $8,96 \times 10^1$  bis  $1,42 \times 10^6$  IU/ml) (Abbildung 2).



**Abbildung 2. Linearer Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits (Ausgangsmaterial:Plasma).** Berechnung des linearen Bereichs. Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der  $\log_{10}$ -Werte der berechneten Konzentrationen mit den  $\log_{10}$ -Werten der nominalen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben.

## Robustheit – Plasma

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* EBV QS-RGQ Kits. Hierzu wurden 30 EBV-negative Plasmaproben mit je 500 Kopien/ml EBV-Material (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) dotiert. Nach Nukleinsäure-Extraktion mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls Cellfree1000\_DSP (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60  $\mu$ l) wurden die Proben mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch die Aufreinigung und Analyse der 30 dotierten Proben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* EBV QS-RGQ Kits  $\geq 99$  %.

## Störsubstanzen – Plasma

Bilirubin, Hämoglobin und Triglyceride störten die Analyse mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit bei den in Tabelle 2 gezeigten Konzentrationen nicht.

**Tabelle 2. Störsubstanzen in EDTA-Plasmaproben**

EBV-Konzentration (Kopien/ml)	Störsubstanz Parameter	Konzentration	C <sub>T</sub> (EBV)		VK (%)	C <sub>T</sub> (EBV) SS –
			Mittelwert C <sub>T</sub>	SD		C <sub>T</sub> (EBV) Kontrolle Absolut
1600	Bilirubin	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hämoglobin	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglycerid	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumin	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Kontrolle	-	32,88	0,33	0,99	-

VK: Variationskoeffizient; EBV: Epstein-Barr-Virus; SS: Störsubstanz; SD: Standardabweichung

## Klinische Bewertung – Plasma

Die klinische Leistung des *artus* EBV QS-RGQ Kits wurde durch Testen klinischer Proben und Analysieren der Befunde gegen die Ergebnisse aus einem vergleichbaren Verfahren bewertet. Insgesamt wurden 166 EDTA-Plasmaproben, die von EBV-infizierten Patienten sowie von negativen Kontrollen entnommen wurden, mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit und dem Vergleichsverfahren an einem externen Ort getestet. Die Ergebnisse wurden in zwei Teilen analysiert: Teil Eins war eine kategorische Übereinstimmungsanalyse der prozentualen positiven Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA), der prozentualen negativen Übereinstimmung (Negative Percent Agreement, NPA) und der prozentualen Gesamtübereinstimmung (Overall Percent Agreement, OPA); Teil Zwei war eine Analyse der Ergebnisse von insgesamt 83 EDTA-Plasmaproben, die in den gemeinsamen dynamischen Bereich des Assays unter Verwendung der Regressionsanalysen nach Deming und Passing-Bablok fielen, wobei die Ergebnisse zusammen mit dem entsprechenden Korrelationskoeffizienten berichtet wurden (siehe Tabelle 3 und Abbildung 3).

Tabelle 3. Daten der klinischen Leistungsstudie für EDTA-Plasmaproben

Übereinstimmungsmessung	Häufigkeiten	Prozentuale Übereinstimmung	(Exakte) binominale zweiseitige untere 95 %-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson	(Exakte) binominale zweiseitige obere 95 %-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	154/166	92,77	87,71	96,21
Prozentuale positive Übereinstimmung	100/102	98,04	93,10	99,76
Prozentuale negative Übereinstimmung	54/64	84,38	73,14	92,24

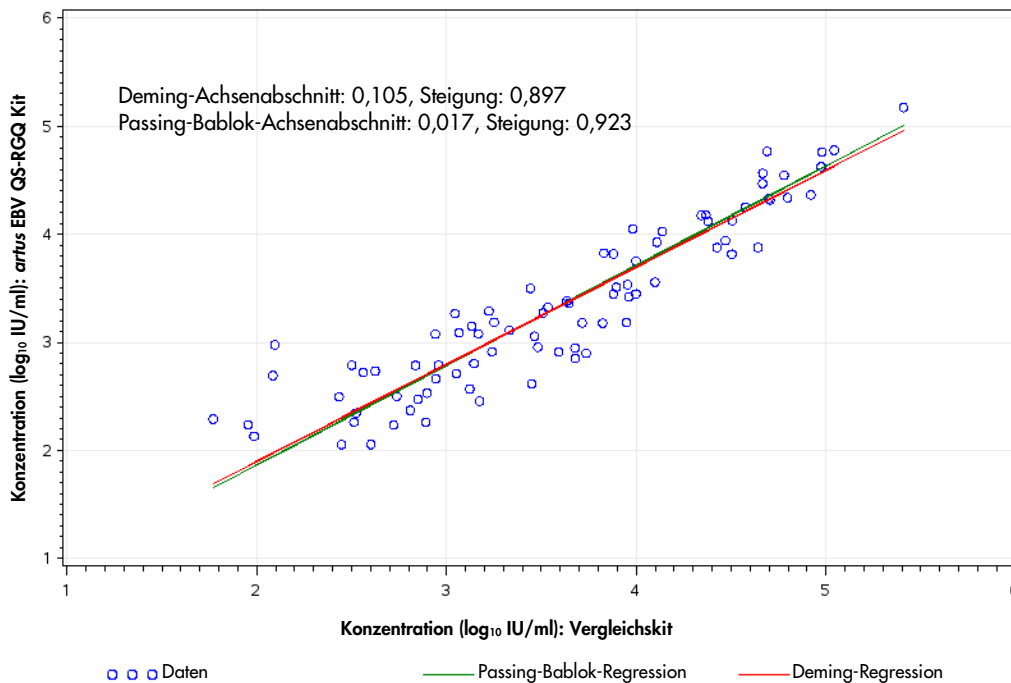


Abbildung 3. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, wurden in die Analyse einbezogen.

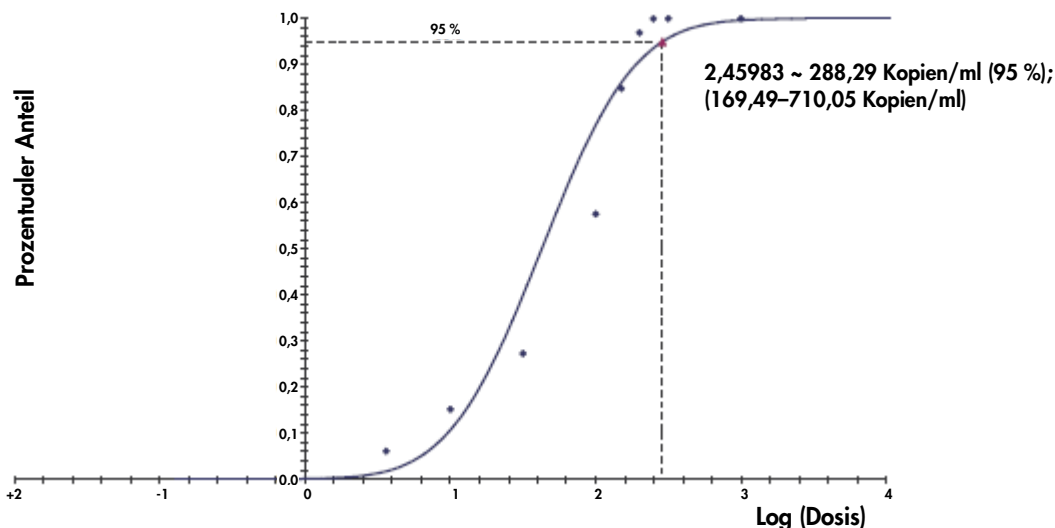
Eine lineare Regressionsanalyse zwischen den beiden Assays ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,922 und einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von 0,928.

## Nachweisgrenze – Vollblut

Bei Vollblut als Ausgangsmaterial wurde zur Bestimmung der Nachweisgrenze des artus EBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung eine Verdünnungsreihe mit EBV-Material von 3160 bis nominal 3,16 EBV-Kopien/ml in humanen Vollblutproben erstellt. Anschließend wurde unter Verwendung des QIA Symphony DNA Mini Kits aus diesen Proben die DNA nach dem „VirusBlood200\_DSP“-Protokoll isoliert (Extraktionsvolumen: 200 µl, Elutionsvolumen: 60 µl). Jede der zehn Verdünnungsstufen wurde an drei verschiedenen Tagen in drei Analyseläufen mit

jeweils 11 Replikaten unter Verwendung des artus EBV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Abbildung 4 zeigt eine grafische Darstellung der Probit-Analyse.

Die Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung des artus EBV QS-RGQ Kits in Kombination mit dem Rotor-Gene Q liegt bei 288,29 Kopien/ml ( $p = 0,05$ ). Dies bedeutet, dass 288,29 Kopien/ml (entspricht 40,36 IU/ml) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % nachgewiesen werden können.



**Abbildung 4. Probit-Analyse: EBV-Nachweis in Vollblut (Rotor-Gene Q).** Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Nukleinsäure-Aufreinigung aus Vollblutproben (unter Verwendung des QIASymphony DNA Mini Kits) mit dem artus EBV QS-RGQ Kit auf dem Rotor-Gene Q Thermocycler.

## Spezifität – Vollblut

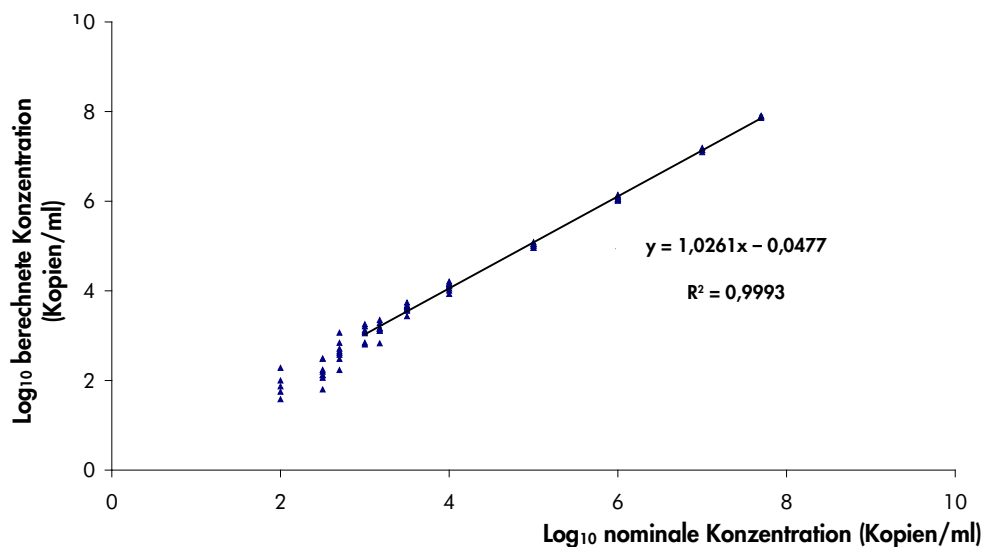
Die Spezifität des artus EBV QS-RGQ Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichs-Analyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Die Nachweisbarkeit aller relevanten Genotypen ist dadurch sichergestellt.

Die Validierung der Spezifität erfolgte zudem an 30 verschiedenen EBV-negativen Vollblutproben. Bei diesen wurde mit den im EBV RG Master enthaltenen EBV-spezifischen Primern und Sonden kein Signal erzeugt.

Für die Überprüfung einer potenziellen Kreuzreaktivität des artus EBV QS-RGQ Kits wurde die in Tabelle 1 (siehe Seite 3) aufgeführte Gruppe von Kontrollen untersucht. Bei keinem der getesteten Erreger trat eine Reaktion auf. Bei Mischinfektionen traten keine Kreuzreaktivitäten auf.

## Linearer Bereich – Vollblut

Der lineare Bereich unter Berücksichtigung der Aufreinigung wurde für das *artus* EBV QS-RGQ Kit durch Analyse einer Verdünnungsreihe mit EBV-Material über einen Konzentrationsbereich von  $5,00 \times 10^7$  Kopien/ml bis  $1,00 \times 10^3$  Kopien/ml in Vollblut bestimmt. Die Aufreinigung wurde in mehreren Replikaten ( $n = 4$  für Konzentrationen  $\geq 1,00 \times 10^7$  Kopien/ml;  $n = 8$  für Konzentrationen  $< 1,00 \times 10^7$  Kopien/ml) mit dem QIA Symphony DNA Mini Kit unter Verwendung des Protokolls „VirusBlood200\_DSP“ durchgeführt (Extraktionsvolumen: 200  $\mu$ l, Elutionsvolumen: 60  $\mu$ l). Jede Probe wurde mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit analysiert. Für Vollblutproben erstreckt sich der lineare Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits unter Berücksichtigung der Aufreinigung demnach über Konzentrationen von  $1,00 \times 10^3$  Kopien/ml bis  $5,00 \times 10^7$  Kopien/ml (entspricht  $1,4 \times 10^2$  bis  $7,0 \times 10^6$  IU/ml) (Abbildung 5).



**Abbildung 5. Linearer Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits (Ausgangsmaterial: Vollblut).** Berechnung des linearen Bereichs. Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der  $\log_{10}$ -Werte der berechneten Konzentrationen mit den  $\log_{10}$ -Werten der nominalen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden ist in der Abbildung angegeben.

## Robustheit – Vollblut

Die Überprüfung der Robustheit dient der Ermittlung der Gesamtausfallrate des *artus* EBV QS-RGQ Kits. Zur Überprüfung der Robustheit wurden 51 EBV-negative Vollblutproben mit je 750 Kopien/ml EBV (ca. dreifache Konzentration der analytischen Sensitivitätsgrenze) dotiert. Nach Durchführung der Extraktion mit dem QIA Symphony DNA Mini Kit unter Verwendung des Protokolls „VirusBlood200\_DSP“ (Extraktionsvolumen: 200  $\mu$ l, Elutionsvolumen: 60  $\mu$ l) wurden die Proben mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit analysiert. Zusätzlich wurde auch die Robustheit der internen Kontrolle durch Aufreinigung und Analyse der 51 dotierten Vollblutproben überprüft. Inhibitionen wurden nicht beobachtet. Damit beträgt die Robustheit des *artus* EBV QS-RGQ Kits  $\geq 99$  %.



## Störsubstanzen – Vollblut

Es wurden Substanzen getestet, die potenziell die Ergebnisse des *artus* EBV QS-RGQ Kits stören könnten. In Tabelle 4 sind diese Substanzen und deren Konzentrationen aufgeführt, die die Kitleistungen nicht beeinträchtigen.

Tabelle 4. Störsubstanzen in Vollblutproben

EBV-Konzentration (Kopien/ml)	Störsubstanz		Mittelwert $C_t$	$C_t$ (EBV)		$C_t$ (EBV) SS – $C_t$ (EBV) Kontrolle Absolut
	Parameter	Konzentration		SD	VK (%)	
2500	Bilirubin	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglycerid	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/Probe	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/Probe	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/Probe	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/Probe	34,86	0,22	0,62	0,31
	Kontrolle	–	35,17	0,40	1,13	–

VK: Variationskoeffizient; EBV: Epstein-Barr-Virus; gDNA: genomische DNA; SS: Störsubstanz; SA: Standardabweichung

## Klinische Bewertung – Vollblut

Die klinische Leistung des *artus*EBV QS-RGQ Kits wurde durch Testen klinischer Proben und Analysieren gegen ein vergleichbares Verfahren bewertet. Insgesamt wurden 178 Vollblutspezimen, die von EBV-infizierten Patienten sowie von negativen Kontrollen entnommen wurden, mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit und mit einem Vergleichsverfahren an einem externen Ort getestet. Die Ergebnisse wurden in zwei Teilen analysiert: Teil Eins war eine kategorische Übereinstimmungsanalyse der PPA, der NPA und der OPA; Teil Zwei war eine Analyse der Ergebnisse von insgesamt 98 Vollblutproben, die in den gemeinsamen dynamischen Bereich der Assays unter Verwendung der Regressionsanalysen nach Deming und Passing-Bablok fielen, wobei die Ergebnisse zusammen mit dem entsprechenden Korrelationskoeffizienten berichtet wurden (siehe Tabelle 5 und Abbildung 6).

Tabelle 5. Daten der klinischen Leistungsstudie für Vollblutproben

Übereinstimmungsmessung	Häufigkeiten	Prozentuale Übereinstimmung	(Exakte) binominale zweiseitige untere 95 %-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson	(Exakte) binominale zweiseitige obere 95 %-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson
Prozentuale Gesamtübereinstimmung	169/178	94,94	90,62	97,66
Prozentuale positive Übereinstimmung	115/119	96,64	91,62	99,08
Prozentuale negative Übereinstimmung	54/59	91,53	81,32	97,19

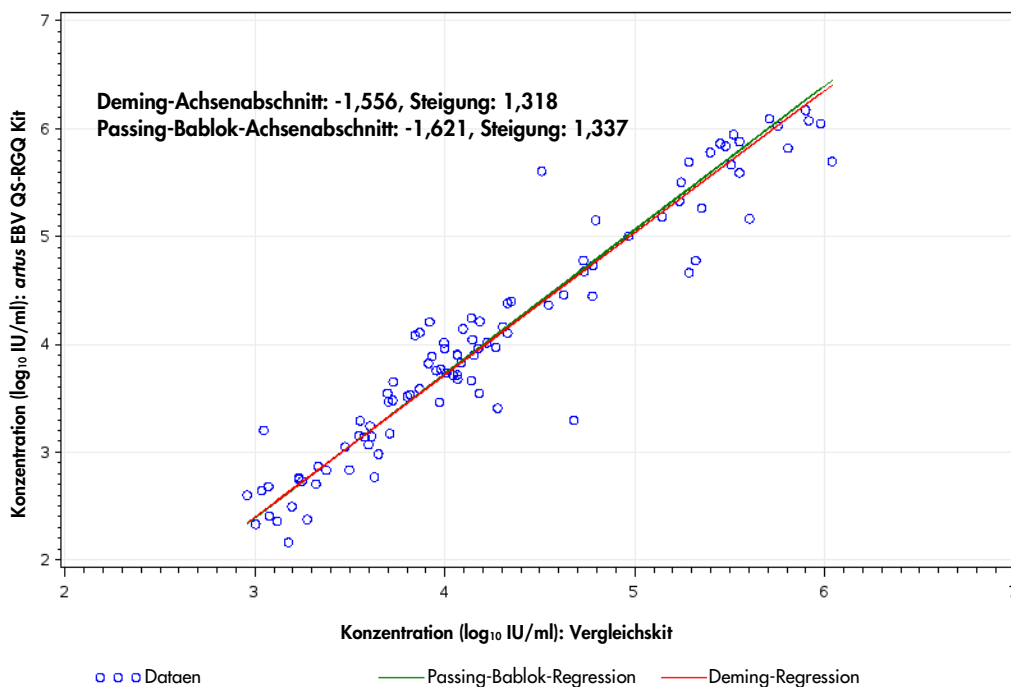


Abbildung 6. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, wurden in die Analyse einbezogen.

Eine lineare Regressionsanalyse zwischen den beiden Assays ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,956 und einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von 0,945.

---

## Reproduzierbarkeit

Die Daten zur Reproduzierbarkeit erlauben eine regelmäßige Leistungsbewertung des *artus* EBV QS-RGQ Kits sowie einen Leistungsvergleich mit anderen Produkten. Diese Daten werden durch die Teilnahme an etablierten Ringversuchsprogrammen erhoben.

## Kreuzkontamination

Die Abwesenheit von Kreuzkontaminationen zwischen Proben während des gesamten Arbeitsablaufs wurde durch korrekten Nachweis aller abwechselnd angeordneten Positiv- und Negativproben (Schachbrettmuster) mit einem repräsentativen *artus* QS-RGQ System gezeigt.

Verwandte Produkte und Bestellinformationen finden Sie im Handbuch für das *artus* EBV QS-RGQ Kits aufgeführt.

## Bearbeitungshistorie des Dokuments

Datum	Änderungen
R1 11/2019	Version des <i>artus</i> EBV QS-RGQ Kits von Version 1 auf Version 2 aktualisiert, Layout aktualisiert.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch oder Benutzerhandbuch des jeweiligen QIAGEN®-Kits. Handbücher und Benutzerhandbücher zu QIAGEN-Kits sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

