

September 2017

artus[®] EBV QS-RGQ Kit: Leistungsmerkmale

IVD



REF

4501363DE *artus* EBV QS-RGQ Kit, Version 1.



Überprüfen Sie unter www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx, ob aktualisierte Produktkennzeichnungen in elektronischer Form vorhanden sind, bevor Sie Tests durchführen.

Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).

Nachweisgrenze (LOD) – 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 QIASymphony® 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 Plasmaproben erstellt. Anschließend wurde die DNA aus den Proben isoliert mit dem QIASymphony 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 in Form von Achtfach-Bestimmungen unter Verwendung des *artus* EBV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Eine grafische Darstellung der Probit-Analyse ist in Abbildung 1 wiedergegeben. 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.

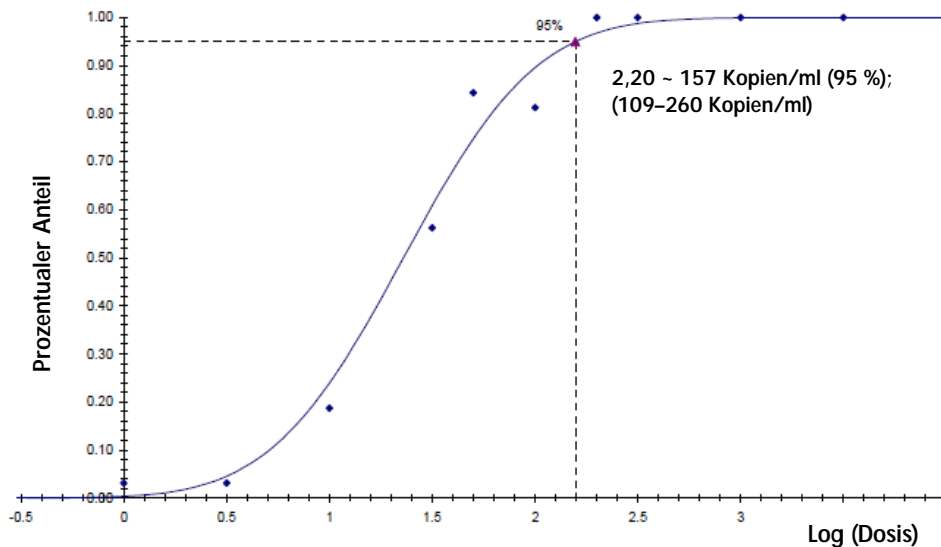


Abbildung 1: Probit-Analyse – Plasma, EBV (Rotor-Gene Q). Nachweisgrenze unter Berücksichtigung der Aufreinigung aus Plasmaproben (unter Verwendung des QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kits) des *artus* EBV QS RGQ Kits auf dem Rotor-Gene Q.

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: Spezifitätstestung 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 (Varicella-Zoster-Virus)	-	+
Humanes Herpesvirus 5 (Zytomegalievirus)	-	+
Humanes T-Zell-Leukämievirus 1	-	+
Humanes T-Zell-Leukämievirus 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 QIASymphony 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) (siehe Abb. 2).

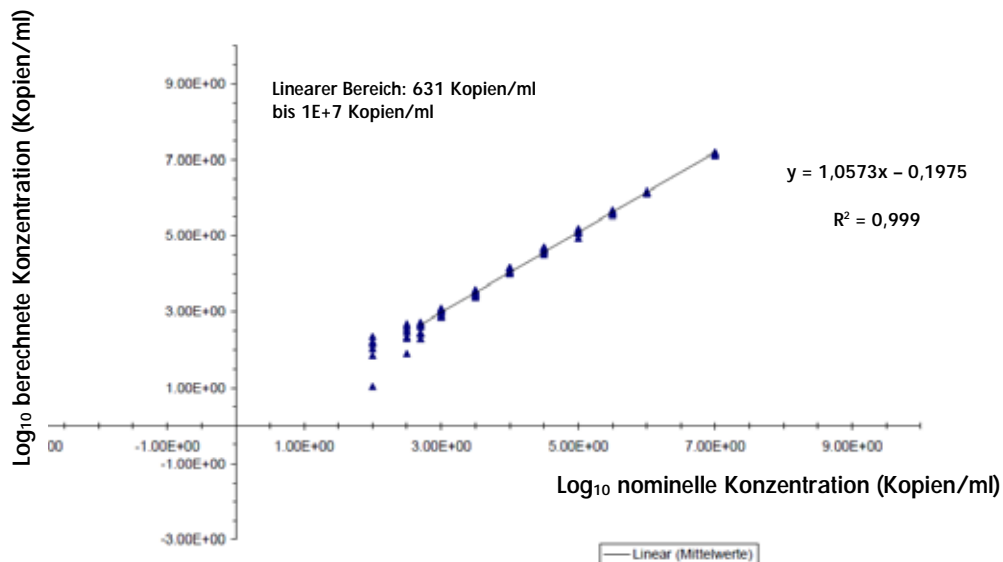


Abbildung 2: Linearer Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits (Ausgangsmaterial:Plasma). Berechnung des linearen Bereichs. Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der log₁₀-Werte der berechneten Konzentrationen mit den log₁₀-Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung der Regressionsgeraden 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 Extraktion mit dem QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit unter Verwendung des Protokolls „Cellfree1000_DSP“ (Extraktionsvolumen: 1 ml, Elutionsvolumen: 60 µl) 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 ³ 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		C _T (EBV)			C _T (EBV) SS – C _T (EBV) Kontrolle
	Parameter	Konzentration	Mittelwert C _T	SD	VK (%)	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 positiven prozentualen Übereinstimmung (Positive Percent Agreement, PPA), der negativen prozentualen Übereinstimmung (Negative Percent Agreement, NPA) und der gesamten prozentualen Übereinstimmung (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

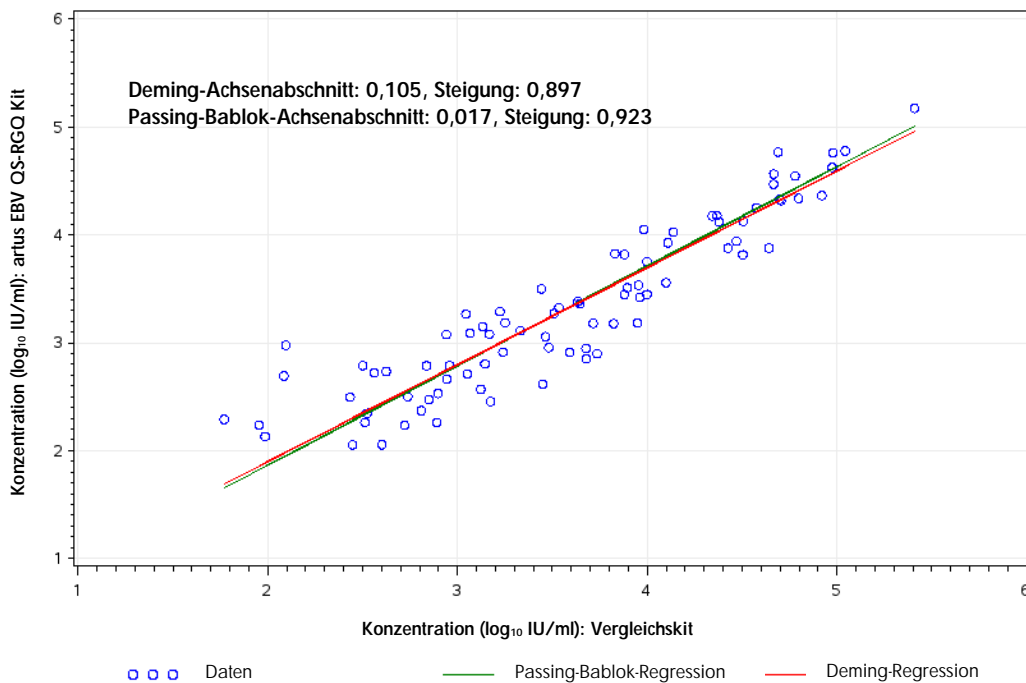


Abbildung 3: Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, sind in die Analyse einbezogen.

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 QIASymphony 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 in Form von 11-fach-Bestimmung unter Verwendung des *artus* EBV QS-RGQ Kits analysiert. Die Ergebnisse wurden mittels Probit-Analyse bestimmt. Eine grafische Darstellung der Probit-Analyse ist in Abbildung 4 wiedergegeben.

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.

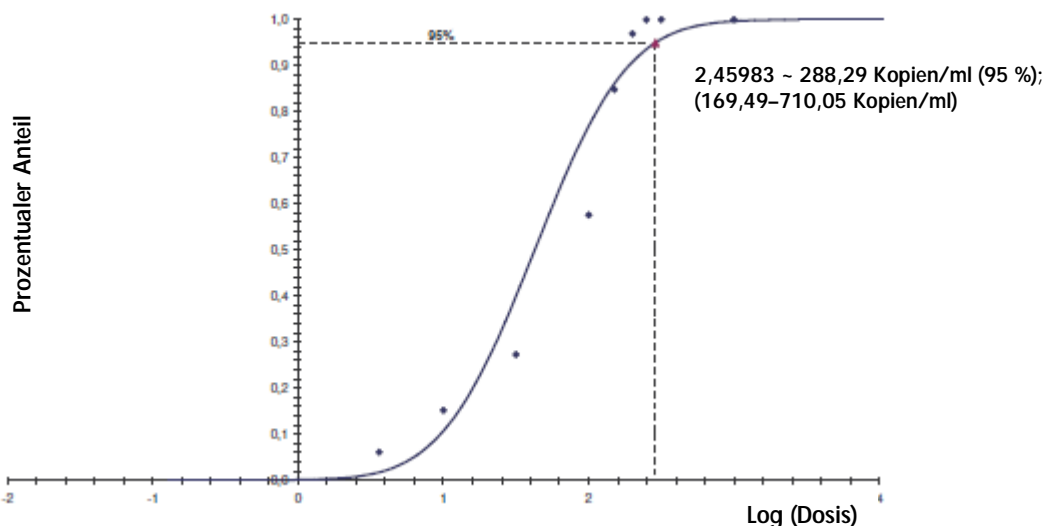


Abbildung 4: Probit-Analyse: EBV-Nachweis in Vollblut (Rotor-Gene Q). Nachweisgrenze für Vollblutproben unter Berücksichtigung der Aufreinigung (mit dem QIASymphony DNA Mini Kit) und mit dem *artus* EBV QS-RGQ Kit auf dem Rotor-Gene Q.

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 QIASymphony DNA Mini Kit unter Verwendung des Protokolls „VirusBlood200_DSP“ durchgeführt (Extraktionsvolumen: 200 μ l, Elutionsvolumen: 60 μ 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) (siehe Abb. 5).

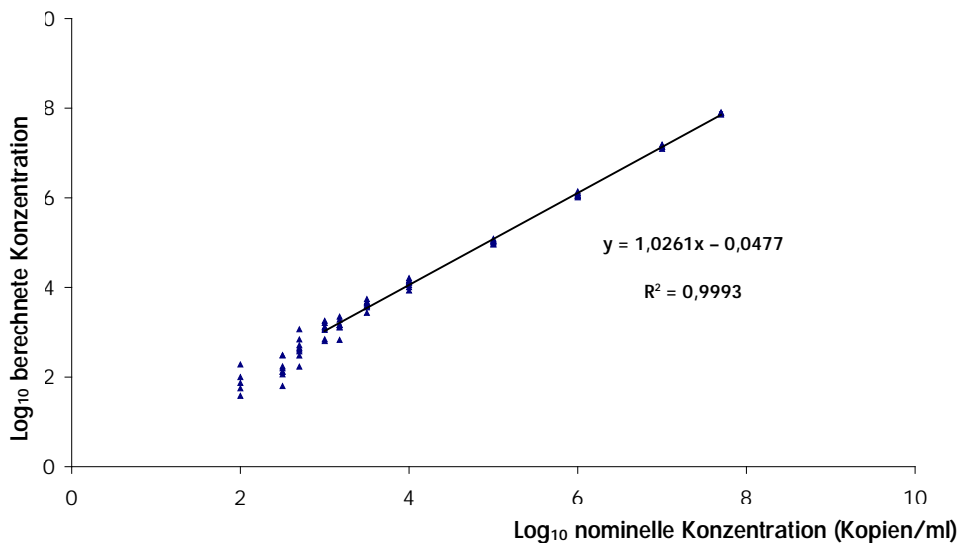


Abbildung 5: Linearer Bereich des *artus* EBV QS-RGQ Kits (Ausgangsmaterial: Vollblut). Berechnung des linearen Bereichs. Die Gerade wurde ermittelt durch eine lineare Regression der \log_{10} -Werte der berechneten Konzentrationen mit den \log_{10} -Werten der nominellen Konzentrationen. Die Gleichung 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 QIASymphony DNA Mini Kit unter Verwendung des Protokolls „VirusBlood200_DSP“ (Extraktionsvolumen: 200 μ l, Elutionsvolumen: 60 μ 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 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		C _T (EBV)			C _T (EBV) SS – C _T (EBV) Kontrolle
	Parameter	Konzentration	Mittelwert C _T	SD	VK (%)	Absolut
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; SD: Standardabweichung

Klinische Bewertung – Vollblut

Die klinische Leistung des *artusEBV QS-RGQ* Kits wurde durch Testen klinischer Proben und Analysieren gegen ein vergleichbares Verfahren bewertet. Insgesamt wurden 178 Vollblutproben, 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)	(Exakte)
			binominale zweiseitige untere 95 %-Vertrauensgrenze nach Clopper-Pearson	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

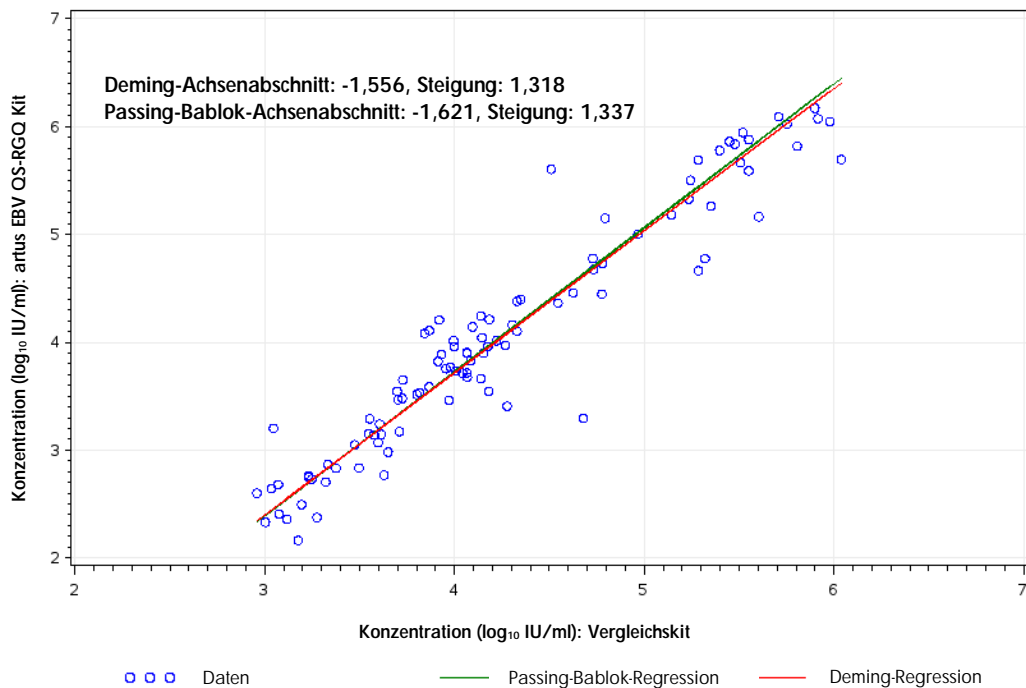


Abbildung 6: Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, sind in die Analyse einbezogen.

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.

Bearbeitungsverlauf des Dokuments

September 2017	Aktualisierung der Daten der klinischen Leistungsstudie für Vollblutproben in Tabelle 5. Durchgängige Hinzufügung von Angaben in der Konzentrationseinheit IU/ml zusätzlich zu den Angaben in Kopien/ml.
----------------	--

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch bzw. der Gebrauchsanweisung des jeweiligen QIAGEN®-Kits. Diese stehen unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können vom technischen Service von QIAGEN oder dem für Sie zuständigen Vertriebspartner angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Eingetragene Marken, Warenzeichen usw., die in diesem Dokument verwendet werden, auch wenn sie nicht ausdrücklich als solche gekennzeichnet sind, gelten als gesetzlich geschützt. 09/2017 HB-0357-D01-003
© 2012-2017 QIAGEN. Alle Rechte sind vorbehalten.

Bestellungen im www.qiagen.com/shop | Technische Beratung support.qiagen.com | Internetseite www.qiagen.com