

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

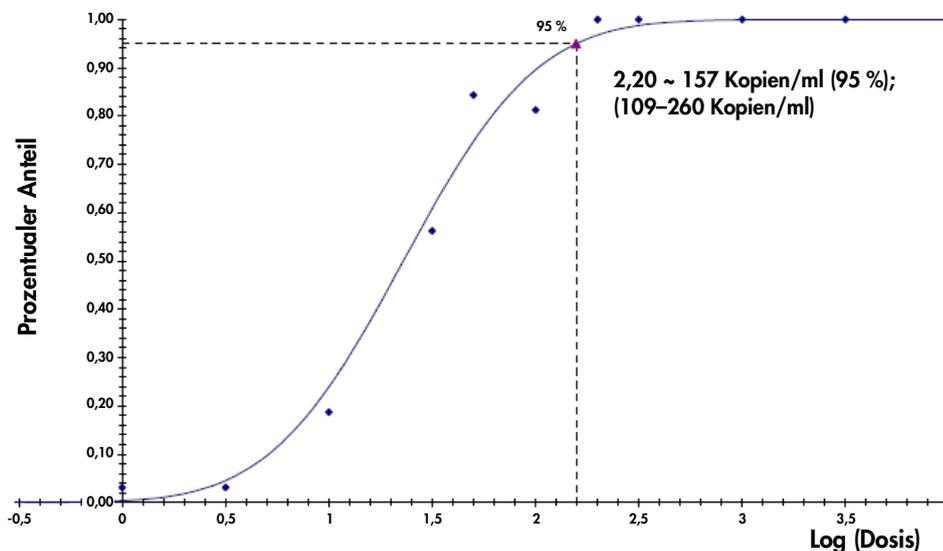


Prüfen Sie vor einer Testausführung die Verfügbarkeit neuer elektronischer Etikettierungsrevisionen im Internet unter [qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce](http://qiagen.com/products/artus-ebv-pcr-kit-ce). Der aktuelle Revisionsstand wird durch das Veröffentlichungsdatum angegeben (Format: Monat/Jahr).

# 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.

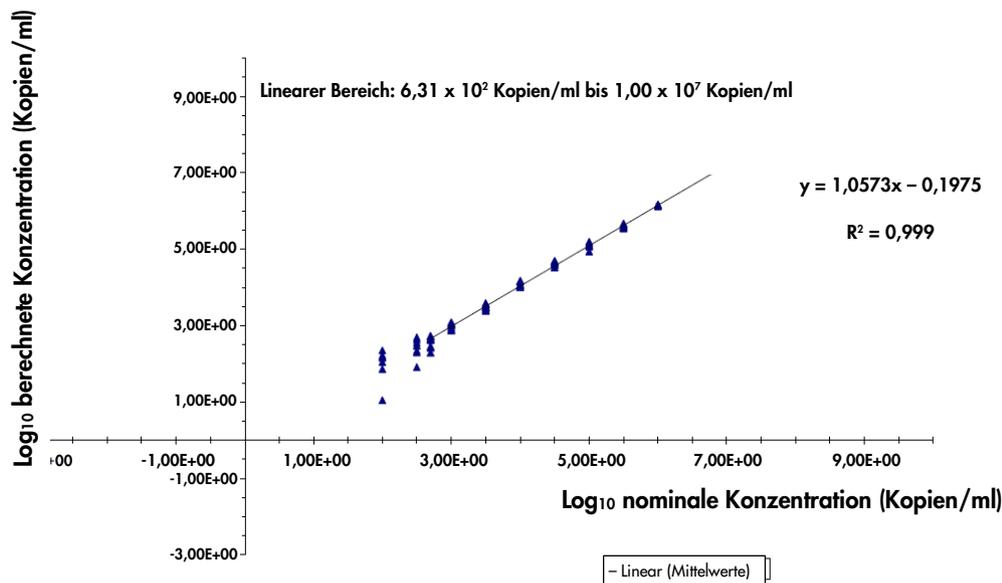
**Tabelle 1. Spezifitätstest des Kits mit potenziell kreuzreaktiven Pathogenen**

| Kontrollgruppe                                    | EBV<br>(Cycling Green) | Interne Kontrolle<br>(Cycling Yellow) |
|---|------------------------|---------------------------------------|
| Humanes Herpesvirus 1<br>(Herpes-simplex-Virus 1) | -                      | +                                     |
| Humanes Herpesvirus 2<br>(Herpes-simplex-Virus 2) | -                      | +                                     |
| Humanes Herpesvirus 3<br>(Varizella-Zoster-Virus) | -                      | +                                     |
| Humanes Herpesvirus 5<br>(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<sub>10</sub>-Werte der berechneten Konzentrationen mit den log<sub>10</sub>-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 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  $\geq 99$  %.

## 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<br>(Kopien/ml) | Störsubstanz<br>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<br>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  |

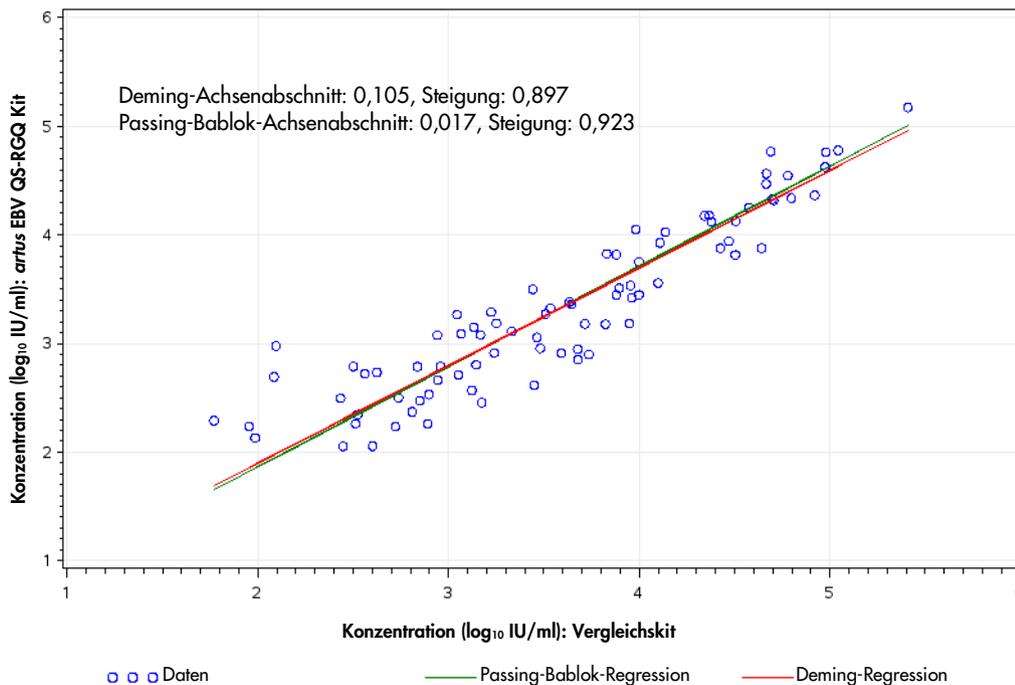


Abbildung 3. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, wurden in die Analyse einbezogen.

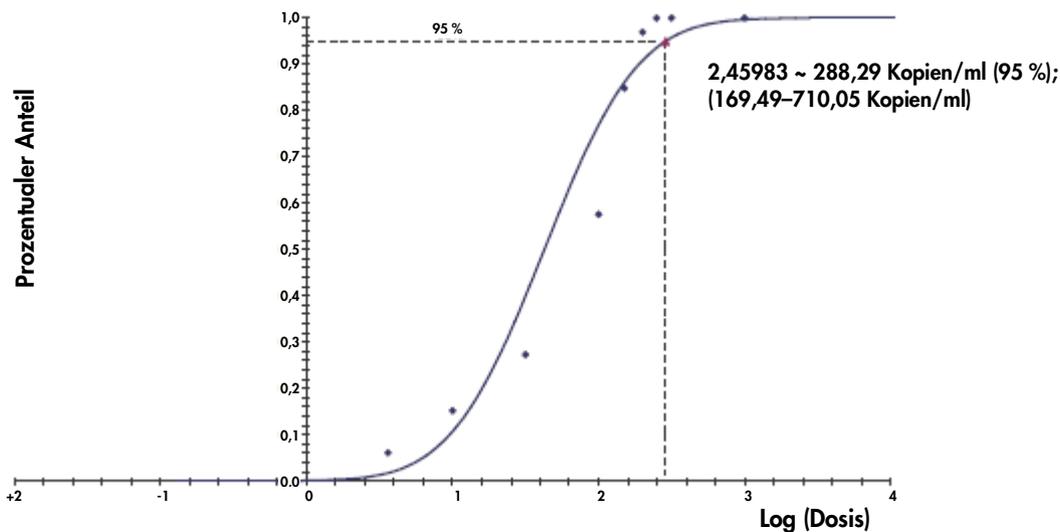
Eine lineare Regressionsanalyse zwischen den beiden Assays ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,922 und einen Spearman-Korrelationskoeffizienten von 0,928.

## 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

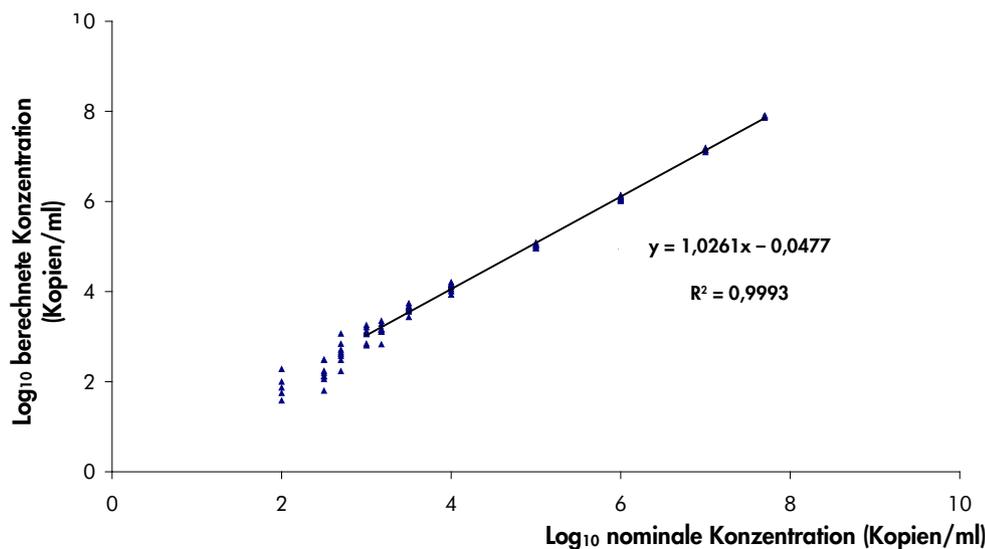
Die Spezifität des artus EBV QS-RGQ Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichs-Analyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen 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<br>(Kopien/ml) | Störsubstanz |               | Mittelwert $C_t$ | $C_t$ (EBV) |        | $C_t$ (EBV) SS – $C_t$ (EBV) Kontrolle |
|----------------------------------|--------------|---------------|------------------|-------------|--------|--|
|                                  | Parameter    | Konzentration |                  | 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; 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  |

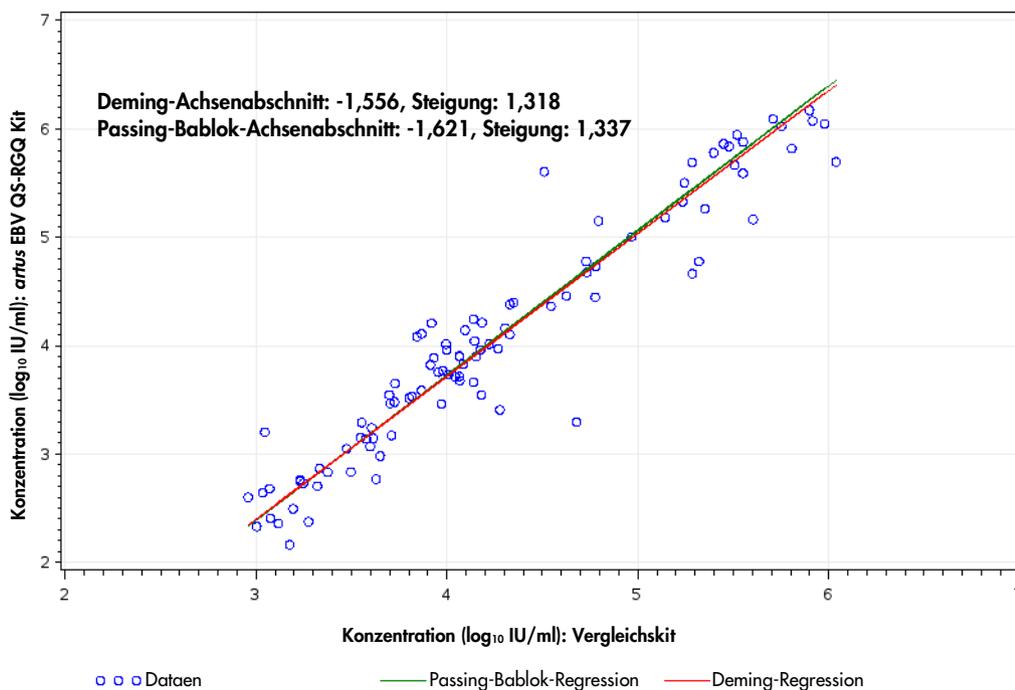


Abbildung 6. Regressionsauftragung mit Passing-Bablok- und Deming-Linien. Proben, die für beide Kits zwischen der unteren Quantifizierungsgrenze und der oberen Quantifizierungsgrenze liegen, wurden in die Analyse einbezogen.

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<br>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.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).  
Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.  
11/2019 HB-2733-D01-001 © 2019 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

