

artus[®] HCV QS-RGQ Kit

Características de desempenho

artus HCV QS-RGQ Kit, versão 1, **REF** 4518363, 4518366

Gestão da versão

Este documento é designado de Características de desempenho do kit *artus* HCV QS-RGQ, versão 1, R3.



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com/products/artushcivrqpckitce.aspx antes da realização do teste.

Limite de deteção (LOD)

O limite de deteção (LOD) analítica relativo à purificação (limite de sensibilidade) foi avaliado para o kit *artus* HCV QS-RGQ utilizando amostras clínicas positivas para HCV em combinação com a extração no QIAasymphony[®] SP.

O LOD relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foi determinado utilizando amostras de plasma clínicas contaminadas com uma série de diluições de material do HCV padrão de Acrometix[®] (o padrão foi calibrado para o 2.º padrão internacional da OMS) de 150 ao valor nominal de 0,316 HCV IU/ml. Estas foram sujeitas a extração de ARN usando o kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen, em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 8 diluições foi analisada com o kit *artus* HCV QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 4 corridas com até 15 modelos de replicação cada. O valor LOD foi determinado por uma análise de Probit e verificado com lotes adicionais do kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen e do kit *artus* HCV QS-RGQ a 20 IU/ml (analisado em 4 dias diferente em 4 corridas com 15 modelos de replicação por corrida). As taxas de incidência de ensaio de Probit e de ensaio de verificação são mostradas na tabela 1. O LOD relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene Q, usando a análise de Probit, é de 21 IU/ml ($p = 0,05$; 95% de intervalo de confiança de 16–33 IU/ml). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de o limite 21 IU/ml ser detetado.



Janeiro 2014

Sample & Assay Technologies

Tabela 1. Análise da taxa de incidência para o estudo HCV LOD (os dados foram usados para análise de Probit e estudo de verificação)

Titulação HCV (IU/ml)	Número total de replicados	Número total positivo	Porcentagem de positivos
Análise de Probit			
150	12	12	100
100	12	12	100
50	12	12	100
30	32	32	100
20	60	59	98
15	60	51	85
5	60	40	67
0,316	57	3	5
Verificação			
20	60	57	95,00

Especificidade

A especificidade do kit *artus* HCV QS-RGQ é, antes de mais, assegurada pela seleção dos iniciadores (primers) e sondas, bem como pela seleção de condições de reação rigorosas. Os primers e as sondas foram verificados em termos de possível homologia com todas as sequências publicadas nos bancos de genes, por análise comparativa de sequências. A detetabilidade de todos os genótipos relevantes foi assim assegurada por um alinhamento da base de dados e por um ensaio de PCR nos instrumentos Rotor-Gene com os seguintes genótipos (ver Tabela 2).

Além disso, a especificidade foi validada com 100 amostras diferentes de plasma negativo para HCV. Estas não geraram quaisquer sinais com os iniciadores (primers) e sondas específicos do HCV que estão incluídos nos Hep. C Virus RG Masters.

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do kit *artus* HCV QS-RGQ usando o grupo de controlo elencado na tabela 3 (página 4). Nenhum dos patógenos testados demonstrou reatividade. Não ocorreram reações cruzadas com infeções mistas.

Tabela 2. Testes de especificidade dos genótipos relevantes

Vírus	Genótipo	Fonte	HCV (Cycling Green)	Controlo interno (Cycling Orange)
Vírus da hepatite C	1	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+
Vírus da hepatite C	2	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+
Vírus da hepatite C	3	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+
Vírus da hepatite C	4	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+
Vírus da hepatite C	5	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+
Vírus da hepatite C	6	NIBSC, HemaCare, Universidade de Essen	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire (instituto nacional de padrões e controlos biológicos, Hertfordshire).

Tabela 3. Testes de especificidade do kit com agentes patogénicos com potencial de reação cruzada

Grupo de controlo	HCV (Cycling Green)	Controlo interno (Cycling Orange)
Vírus da imunodeficiência humana 1	-	+
Vírus da hepatite A	-	+
Vírus da hepatite B	-	+
Vírus do herpes humano tipo 1 (vírus do herpes simplex 1)	-	+
Vírus do herpes humano tipo 2 (vírus do herpes simplex 2)	-	+
Vírus do herpes humano tipo 3 (vírus varicella-zoster)	-	+
Vírus do herpes humano tipo 5 (citomegalovírus)	-	+
Vírus da leucemia humana das células T tipo 1 e tipo 2	-	+
Vírus do herpes humano tipo 6A	-	+
Vírus do herpes humano tipo 6B	-	+
Vírus do herpes humano tipo 8 (vírus do herpes do sarcoma de Kaposi)	-	+
Enterovírus	-	+
Parvovírus B19	-	+
Dengue	-	+
Febre amarela	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+

A tabela continua na página seguinte

Tabela 3. Continuação

Grupo de controlo	HCV (Cycling Green)	Controlo interno (Cycling Orange)
<i>Cryptosporidium parvum</i>	–	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	–	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–	+
<i>Pneumocystis carinii</i>	–	+
<i>Staphylococcus</i> sp.	–	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	–	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	–	+

Intervalo linear

O intervalo linear relativo à purificação do kit *artus* HCV QS RGQ foi determinado por análise de uma série de diluições do material de referência HCV Acrometrix, variando entre $1,77 \times 10^7$ IU/ml e $2,50 \times 10^1$ IU/ml. A purificação foi efetuada em modelos de replicação ($n = 4$ para concentrações $\geq 1,00 \times 10^5$ IU/ml; $n = 8$ para concentrações $< 1,00 \times 10^5$ IU/ml) usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: $60 \mu\text{l}$). Cada uma das amostras foi analisada usando o kit *artus* HCV QS-RGQ. O intervalo linear relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foi determinado para abranger as concentrações de $3,50 \times 10^1$ IU/ml a $1,77 \times 10^7$ IU/ml.

Precisão

Os dados de precisão do kit *artus* HCV QS-RGQ permitem a determinação da variância total do ensaio. A variância total consiste na variabilidade intra-ensaio (variabilidade de múltiplos resultados de amostras da mesma concentração dentro de um ensaio), na variabilidade entre ensaios (variabilidade de resultados múltiplos do ensaio gerados nos diversos instrumentos do mesmo tipo, por diferentes operadores num laboratório) e a na variabilidade entre lotes (variabilidade de resultados múltiplos do ensaio utilizando diversos lotes). Os dados obtidos foram utilizados para determinar o desvio-padrão, a variância e o coeficiente de variação para o patógeno específico e a PCR de controlo interno.

Os dados de precisão analítica do kit *artus* HCV QS-RGQ (sem considerar a purificação) foram recolhidos usando os padrões de quantificação de concentração mais baixos (QS 4; 10 IU/ μl). O teste foi realizado com 8 modelos de replicação. Os dados de precisão foram calculados com

base nos valores de C_T das curvas de amplificação (C_T : ciclo limite, ver tabela 4). Além disso, foram determinados dados de precisão para resultados quantitativos em IU/ μ l, utilizando os valores de C_T correspondentes (tabela 5, página 7). Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,52% (C_T) ou 25,71% (concentração), e 0,75% (C_T) para a deteção do controlo interno. Estes valores baseiam-se na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas.

Tabela 4. Dados de precisão em função dos valores de C_T

	Valor C_T	Desvio-padrão	Coefficiente de variação (%)
Variabilidade intra-ensaio: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilidade intra-ensaio: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilidade entre ensaios: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilidade entre ensaios: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilidade entre lotes: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilidade entre lotes: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Variância total: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Variância total: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabela 5. Dados de precisão com base nos resultados quantitativos (em IU/ μ l)

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Variabilidade intra-ensaio: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilidade entre ensaios: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilidade entre lotes: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Variância total: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Os dados de precisão relativos à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foram recolhidos usando material de referência de HCV Acrometrix com uma concentração de $1,00 \times 10^3$ IU/ml introduzido nas amostras clínicas de plasma. Os testes foram efetuados usando o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 μ l). Os testes foram efetuados em 36 modelos de replicação, utilizando uma matriz de vários lotes do kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi e do kit *artus* HCV QS-RGQ. Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 0,95% (C_T) ou 20,07% (concentração), e 1,26% (C_T) para a deteção do controlo interno (tabelas 6 e 7). Estes valores baseiam-se na totalidade de todos os valores individuais das variabilidades determinadas tendo em conta a purificação.

Tabela 6. Dados de precisão (variância total) em função dos valores de C_T

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Standard HCV Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,30	0,09	0,95
Controlo interno (HCV, $1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,43	0,18	1,26

Tabela 7. Dados de precisão (variância total) com base nos resultados quantitativos (em IU/ml)

	Média	Desvio-padrão	Coefficiente de variação (%)
Standard HCV Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	2,37 x 10 ³	4,76 x 10 ²	20,07

Robustez

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do kit *artus* HCV QS-RGQ. Para verificação da robustez, 100 amostras de plasma negativas para HCV foram contaminadas com 110 IU/ml de HCV (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao LOD). Após extração usando o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi em conjunto com o protocolo Cellfree1000_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl), estas amostras foram analisadas com o kit *artus* HCV QS-RGQ. Adicionalmente, a robustez do controlo interno foi avaliada por purificação e análise das 100 amostras de plasma contaminadas. Não foram observadas inibições. Assim, a robustez do kit *artus* HCV QS-RGQ é de ≥99%.

Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do kit *artus* HCV QS-RGQ, bem como uma comparação de eficiência com outros produtos. Estes dados foram obtidos pela participação nos programas de competência estabelecidos.

Contaminação cruzada

A ausência de contaminação cruzada entre amostras para a totalidade do fluxo de trabalho foi comprovada pela deteção correta de todas as amostras positivas e negativas conhecidas, em posições alternadas (padrão xadrez) para o sistema *artus* QS-RGQ representativo.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncia de responsabilidades específicas do produto, consultar o manual do utilizador ou o manual de instruções do kit QIAGEN respetivo. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas registadas: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); Acrometrix® (Life Technologies).

Janeiro 2014 HB-0372-D01-003 © 2012–2014 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Australia = 1-800-243-800

Austria = 0800-281011

Belgium = 0800-79612

Brazil = 0800-557779

Canada = 800-572-9613

China = 800-988-0325

Denmark = 80-885945

Finland = 0800-914416

France = 01-60-920-930

Germany = 02103-29-12000

Hong Kong = 800 933 965

India = 1-800-102-4114

Ireland = 1800 555 049

Italy = 800-787980

Japan = 03-6890-7300

Korea (South) = 080-000-7145

Luxembourg = 8002 2076

Mexico = 01-800-7742-436

The Netherlands = 0800 0229592

Norway = 800-18859

Singapore = 1800-742-4368

Spain = 91-630-7050

Sweden = 020-790282

Switzerland = 055-254-22-11

Taiwan = 0080-665-1947

UK = 0808-2343665

USA = 800-426-8157



Sample & Assay Technologies