

Kit *artus*[®] HBV QS-RGQ

Características del rendimiento

Kit *artus* HBV QS-RGQ, versión 1, **REF** 4506363, 4506366

CE
0197



Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx antes de realizar la prueba. El estado de revisión actual viene indicado por la fecha de publicación (formato: mes/año).

Sensibilidad analítica (plasma)

El límite de detección analítica teniendo en cuenta la purificación (límite de sensibilidad) se evaluó para el kit *artus* HBV QS-RGQ utilizando muestras clínicas VHB-positivas en combinación con la extracción con el instrumento QIASymphony[®] SP.

La sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HBV QS-RGQ se determinó añadiendo a muestras clínicas de plasma una serie de diluciones del segundo estándar internacional de la OMS para el ADN del virus de la hepatitis B (VHB) para técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (código NIBSC 97/750) de 316 a 0,316 UI/ml nominales de VHB. Estas se sometieron a la extracción de ADN con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el protocolo Cellfree1000 (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 9 diluciones se analizó con el kit *artus* HBV QS-RGQ en 4 días diferentes y en 4 series analíticas con 8 duplicaciones cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit. En la figura 1 se muestra una representación gráfica del análisis probit. El límite de detección analítica teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HBV QS-RGQ en combinación con el instrumento Rotor-Gene Q es de 10,22 UI/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 10,22 UI/ml.

Mayo 2012



Sample & Assay Technologies

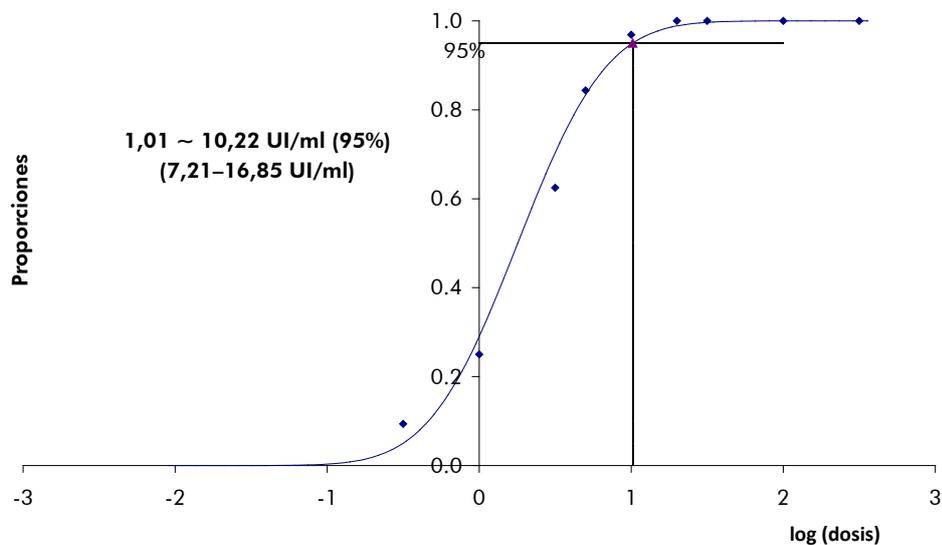


Figura 1. Análisis probit: plasma, VHB (Rotor-Gene Q). Sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (plasma, utilizando el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) del kit *artus* HBV QS-RGQ en el instrumento Rotor-Gene Q.

Especificidad (plasma)

La especificidad del kit *artus* HBV QS-RGQ se asegura ante todo mediante la selección de los *primers* (cebadores) y de las sondas, así como mediante la selección de condiciones estrictas para la reacción. Los *primers* y las sondas se comprobaron con respecto a posibles homologías de todas las secuencias publicadas en los bancos de genes por medio de un análisis de comparación de secuencias. De este modo se ha asegurado la detección de todos los genotipos relevantes mediante una alineación de la base de datos y mediante un ciclo de PCR en instrumentos Rotor-Gene con los genotipos indicados a continuación (consulte la tabla 1).

Tabla 1. Análisis de la especificidad de las cepas relevantes.

Virus	Genotipo	Origen	Virus BK (Cycling Green)	Control interno (Cycling Yellow)
VHB	A (EE. UU.)	Teragenix*	+	+
VHB	B (Indonesia)	Teragenix	+	+
VHB	C (Indonesia)	Teragenix	+	+
VHB	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
VHB	D (EE. UU.)	Teragenix	+	+
VHB	E (Costa de Marfil)	Teragenix	+	+
VHB	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
VHB	G (EE.UU.)	Teragenix	+	+
VHB	H (Nicaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, Estados Unidos.

Para los análisis ulteriores de la especificidad se utilizaron cepas del VHB con diferencias de secuencia conocidas en la región precore del genoma del VHB (HBV Pre-Core Mutant Panel [conjunto de pruebas analíticas para mutantes precore del VHB], Teragenix, Florida, Estados Unidos). Las 9 cepas de mutantes precore de este conjunto de pruebas analíticas se pudieron detectar con el kit *artus* HBV QS-RGQ.

Además, la especificidad se validó con 100 muestras de plasma VHB-negativas diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los *primers* y las sondas específicos del VHB, que se incluyen en la mezcla maestra HBV RG/TM Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* HBV QS-RGQ mediante el grupo de control indicado en la tabla 2. Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 2. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada

Grupo de control	VHB (Cycling Green)	Control interno (Cycling Yellow)
Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	-	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	-	+
Virus del herpes humano 3 (virus de la varicela-zóster)	-	+
Virus del herpes humano 4 (virus de Epstein-Barr)	-	+
Virus del herpes humano 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus del herpes humano 6	-	+
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	-	+
Virus de la hepatitis A	-	+
Virus de la hepatitis C	-	+
Parvovirus B19	-	+
Virus de la fiebre amarilla	-	+
Virus linfotrópico humano de linfocitos T tipos 1 y 2	-	+
Virus Coxsackie B3	-	+
Virus del dengue 1-4	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+

Intervalo lineal

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HBV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material estándar de VHB Acrometrix® que varía de $2,00 \times 10^7$ UI/ml a $3,16 \times 10^0$ UI/ml. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^7$ UI/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^7$ UI/ml) mediante el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el protocolo Cellfree1000 (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: $60 \mu\text{l}$). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* HBV QS-RGQ. Se determinó el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HBV QS-RGQ para incluir concentraciones de $3,16 \times 10^1$ UI/ml hasta $2,00 \times 10^7$ UI/ml (figura 2).

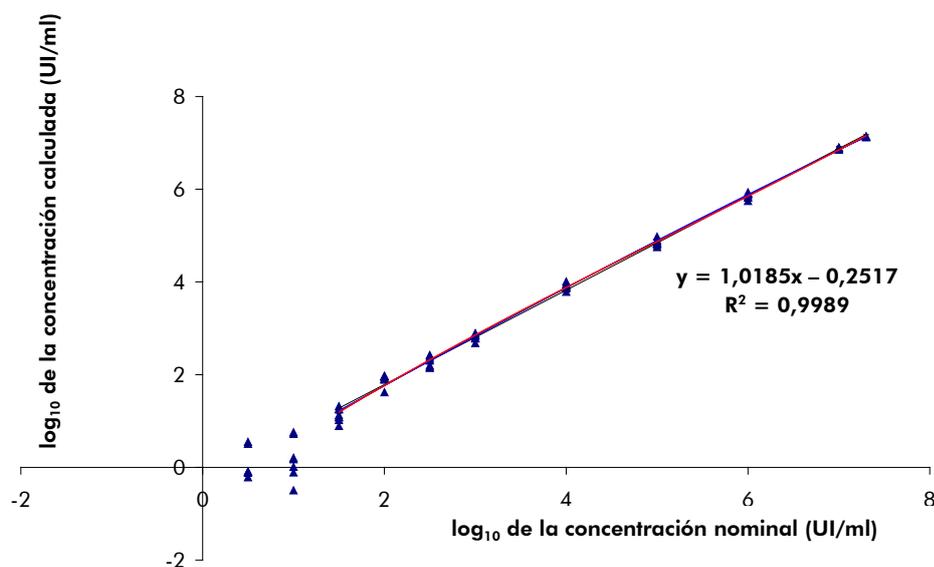


Figura 2. Intervalo lineal del kit *artus* HBV QS-RGQ. Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del \log_{10} de las concentraciones calculadas con el \log_{10} de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Precisión

Los datos de precisión del kit *artus* HBV QS-RGQ permiten la determinación de la varianza total del ensayo. La varianza total consta de la variabilidad intraensayo (variabilidad de los múltiples resultados de las muestras de concentración idéntica en un único experimento), de la variabilidad interensayo (variabilidad de los múltiples resultados del ensayo generados en diferentes instrumentos del mismo tipo por diferentes operadores en un único laboratorio) y de la variabilidad interlote (variabilidad de los múltiples resultados del ensayo con diferentes lotes). Los datos

obtenidos se utilizaron para determinar la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación para la PCR específica del patógeno y del control interno.

Se recopilaron datos de precisión analíticos del kit *artus* HBV QS-RGQ (sin tener en cuenta la purificación) mediante el estándar de cuantificación de la concentración más baja (QS 5; 10 UI/ μ l). El análisis se realizó con 8 duplicados. Los datos de precisión se calcularon según los valores C_T de las curvas de amplificación (C_T : umbral del ciclo, consulte la tabla 3).

Tabla 3. Datos de precisión en función de los valores C_T .

	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilidad intraensayo: Control interno	0,10	0,01	1,06
Variabilidad interensayo: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilidad interensayo: Control interno	0,29	0,08	1,00
Variabilidad interlote: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilidad interlote: Control interno	0,62	0,39	2,23
Varianza total: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Varianza total: Control interno	0,52	0,27	1,87

Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en UI/ μ l mediante los valores C_T correspondientes (tabla 4). En base a estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 1,29% (C_T) o del 8,99% (concentración), y del 1,87% (C_T) para la detección del control interno. Estos valores se basan en la totalidad de todos los valores individuales de las variabilidades determinadas.

Tabla 4. Datos de precisión en función de los resultados cuantitativos (en UI/ μ l)

	Desviación estándar	Varianza	Coefficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilidad interensayo: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilidad interlote: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Varianza total: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Precisión (plasma)

Se recopilieron datos de precisión teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HBV QS-RGQ añadiendo a muestras clínicas de plasma el material estándar de VHB Acrometrix con una concentración de $1,00 \times 10^3$ UI/ml. Los análisis se realizaron con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el protocolo Cellfree1000 (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Los análisis se realizaron en 36 duplicaciones utilizando una matriz de diferentes lotes del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen y del kit *artus* HBV QS-RGQ. En base a estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 1,22% (C_T) o del 20,56% (concentración), y del 1,29% (C_T) para la detección del control interno (tablas 5 y 6). Estos valores se basan en la totalidad de los valores simples de las variabilidades determinadas teniendo en cuenta la purificación.

Tabla 5. Datos de precisión (varianza total) en función de los valores de C_T .

	Desviación estándar	Varianza	Coefficiente de variación (%)
Estándar de VHB Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,37	0,13	1,22
Control interno (VHB, $1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,37	0,14	1,29

Tabla 6. Datos de precisión (varianza total) en base a los resultados cuantitativos (en UI/ml).

	Media	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
Estándar de VHB Acrometrix (1,00 x 10 ³ UI/ml)	1,12 x 10 ³	2,29 x 10 ²	20,56

Robustez

La verificación de la robustez permite determinar el índice de fracaso total del kit *artus* HBV QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 30 UI/ml de VHB (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 100 muestras de plasma VHB-negativas. Tras la extracción mediante el kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl), estas muestras se analizaron con el kit *artus* HBV QS-RGQ. Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de las 100 muestras de plasma a las que se había añadido el virus. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del kit *artus* HBV QS-RGQ es del ≥99%.

Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar periódicamente el rendimiento del kit *artus* HBV QS-RGQ y comparar la eficacia con la de otros productos. Estos datos se obtienen por medio de la participación en programas de competencia establecidos.

Contaminación cruzada

Se ha demostrado la ausencia de una contaminación cruzada entre las muestras para el flujo de trabajo completo por medio de la detección correcta de todas las muestras positivas y negativas conocidas en posiciones alternantes (patrón de cuadrícula) para un sistema *artus* QS-RGQ representativo.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al Servicio Técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

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

Mayo 2012 © 2012 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

Francia ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

Países Bajos ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies