

Características de desempenho

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



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem electrónica em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx antes da realização do teste. O estado de revisão actual é indicado pela data de emissão (formato: mês/ano).

Sensibilidade analítica — plasma

O limite de detecção analítica relativa à purificação (limite de sensibilidade) foi avaliado para o artus HBV QS-RGQ Kit utilizando amostras clínicas positivas para HBV em combinação com a extracção no QIAasymphony[®] SP.

A sensibilidade analítica relativa à purificação do artus HBV QS-RGQ Kit foi determinada com recurso a amostras de plasma clínicas contaminadas com séries de diluição do 2^o Padrão Internacional da OMS para Técnicas de Amplificação de Ácidos Nucleicos de ADN do Vírus da Hepatite B (código 97/750 do NIBSC), de 316 para valor nominal 0,316 VHB IU/ml. Estas foram sujeitas a extracção de ADN usando o QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit, em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extracção: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 9 diluições foi analisada com o artus HBV QS-RGQ Kit em 4 dias diferentes, em 4 procedimentos de ensaio com 8 modelos de replicação cada. Os resultados foram determinados por análise de probit. A figura 1 representa uma ilustração gráfica da análise de probit. O limite de detecção analítica relativa à purificação do artus HBV QS-RGQ Kit em combinação com o Rotor-Gene Q é de 10,22 IU/ml ($p = 0,05$). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de o limite 10,22 IU/ml ser detectado.

Maio 2012



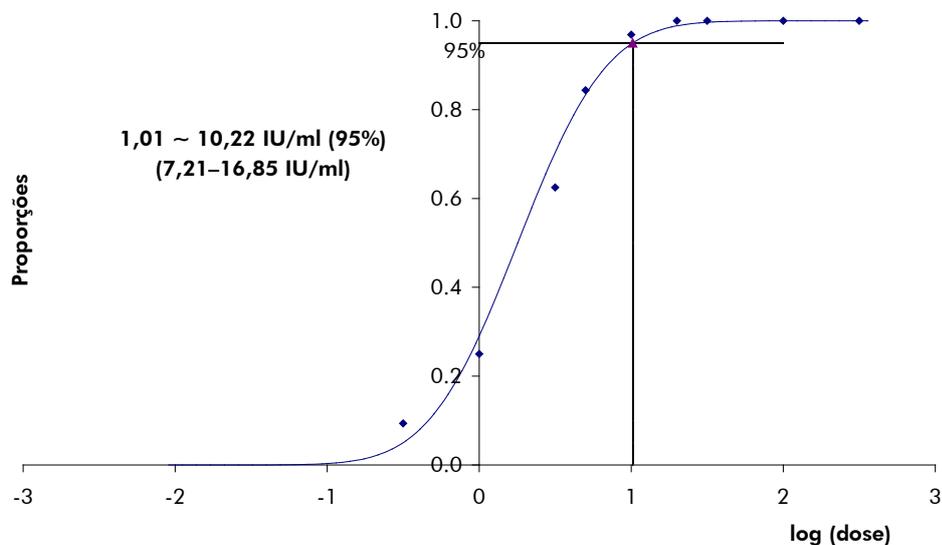


Figura 1. Análise de probit: plasma, HBV (Rotor-Gene Q). Sensibilidade analítica relativa à purificação (plasma, utilizando o QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) do *artus* HBV QS-RGQ Kit no Rotor-Gene Q.

Especificidade — plasma

A especificidade do *artus* HBV QS-RGQ Kit é, antes de mais, assegurada pela selecção dos iniciadores (primers) e sondas, bem como pela selecção de condições de reacção rigorosas. Os iniciadores 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 detectabilidade de todos os génotipos relevantes foi assim assegurada por um alinhamento da base de dados e por um ensaio de PCR nos instrumentos Rotor-Gene com os seguintes génotipos (ver Tabela 1).

Tabela 1. Testes de especificidade das estirpes relevantes

Vírus	Genótipo	Fonte	BK Virus (Cycling Green)	Controlo Interno (Cycling Yellow)
HBV	A (EUA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonésia)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonésia)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (EUA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Costa do Marfim)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (EUA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nicarágua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Flórida, EUA.

Para testes de especificidade adicionais, foram usadas estirpes de VHB com diferenças de sequências conhecidas na região pré-kerne do genoma do VHB (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Flórida, EUA). Todas as 9 estirpes mutantes do pré-kerne deste painel podem ser detectadas com recurso ao *artus* HBV QS-RGQ Kit.

Além disso, a especificidade foi validada com 100 amostras diferentes de plasma negativo para VHB. Estas não geraram quaisquer sinais com os iniciadores e sondas específicos do VHB, os quais estão incluídos no HBV RG/TM Master.

Foi testada uma potencial reactividade cruzada do *artus* HBV QS-RGQ Kit usando o grupo de controlo listado na Tabela 2. Nenhum dos patogéneos testados foi reactivo. Não ocorreram reacções cruzadas com infecções mistas.

Tabela 2. Testes de especificidade do kit com patógenos com potencial de reacção cruzada

Grupo de controlo	VHB (Cycling Green)	Controlo Interno (Cycling Yellow)
Vírus herpes humano 1 (vírus herpes simplex 1)	-	+
Vírus herpes humano 2 (vírus herpes simplex 2)	-	+
Vírus herpes humano 3 (vírus varicela-zoster)	-	+
Vírus herpes humano 4 (vírus Epstein-Barr)	-	+
Vírus herpes humano 5 (citomegalovírus)	-	+
Vírus herpes humano 6	-	+
Vírus da imunodeficiência humana 1	-	+
Vírus da hepatite A	-	+
Vírus da hepatite C	-	+
Parvovírus B19	-	+
Vírus da febre amarela	-	+
Vírus da leucemia de células T humano tipo 1 e tipo 2	-	+
Vírus Coxsackie B3	-	+
Vírus da dengue 1-4	-	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+

Intervalo linear

O intervalo linear relativo à purificação do *artus* HBV QS-RGQ Kit foi determinado por análise de uma série de diluições do material de referência de VHB Acrometrix® com uma concentração de $2,00 \times 10^7$ IU/ml a $3,16 \times 10^0$ IU/ml. A purificação foi efectuada em modelos de replicação ($n = 4$ para concentrações $\geq 1,00 \times 10^7$ IU/ml; $n = 8$ para concentrações $< 1,00 \times 10^7$ IU/ml) usando o QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit em combinação com o protocolo Cellfree1000 (volume de extracção: 1 ml, volume de eluição: 60 μ l). Cada uma das amostras foi analisada usando o *artus* HBV QS-RGQ Kit. O intervalo linear relativo à purificação do *artus* HBV QS-RGQ Kit foi determinado para abranger as concentrações de $3,16 \times 10^1$ IU/ml a $2,00 \times 10^7$ IU/ml (Figura 2).

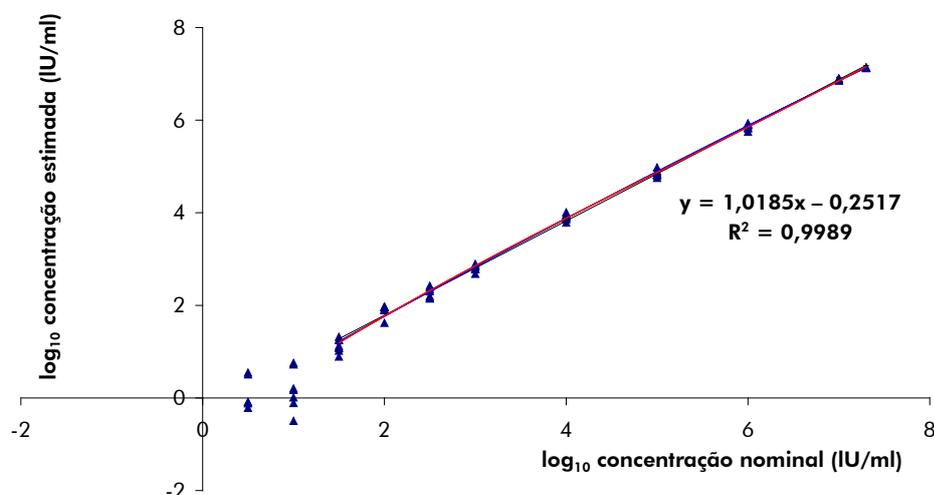


Figura 2. Intervalo linear do *artus* HBV QS-RGQ Kit. Cálculo do intervalo linear. A linha recta foi determinada por uma regressão linear das concentrações calculadas de \log_{10} com as concentrações nominais de \log_{10} . A equação da linha de regressão está incluída na figura.

Precisão

Os dados de precisão do *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 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 *artus* HBV QS-RGQ Kit (sem considerar a purificação) foram recolhidos usando o padrão de quantificação da concentração mais baixa (QS 5; 10 IU/ μ l). Os testes foram efectuados em 8 modelos de replicação. Os dados de precisão foram calculados com base nos valores C_T das curvas de amplificação (C_T : ciclo limite, ver Tabela 3).

Tabela 3. Dados de precisão com base nos valores de C_T

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Variabilidade intra-ensaio: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilidade intra-ensaio: Controlo interno	0,10	0,01	1,06
Variabilidade inter-ensaio: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilidade inter-ensaio: Controlo interno	0,29	0,08	1,00
Variabilidade entre lotes: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilidade entre lotes: Controlo interno	0,62	0,39	2,23
Variância total: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Variância total: Controlo interno	0,52	0,27	1,87

Além disso, foram determinados dados de precisão para resultados quantitativos em IU/ μ l utilizando os valores de C_T correspondentes (Tabela 4). Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,29% (C_T) ou 8,99% (concentração) e 1,87% (C_T) para a detecção do controlo interno. Estes valores baseiam-se na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas.

Tabela 4. Dados de precisão com base nos resultados quantitativos (em IU/ μ l)

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Variabilidade intra-ensaio: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilidade inter-ensaio: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilidade entre lotes: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Variância total: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Precisão — plasma

Os dados de precisão relativos à purificação do *artus* HBV QS-RGQ Kit foram recolhidos usando material de referência de VHB Acrometrix com uma concentração de $1,00 \times 10^3$ IU/ml introduzido nas amostras clínicas de plasma. Os testes foram efectuados usando o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extracção: 1 ml, volume de eluição: 60 μ l). Os testes foram efectuados em 36 modelos de replicação, utilizando uma matriz de vários lotes do QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit e o *artus* HBV QS-RGQ Kit. Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,22% (C_T) ou 20,56% (concentração) e 1,29% (C_T) para a detecção do controlo interno (Tabelas 5 e 6). Estes valores baseiam-se na totalidade de todos os valores individuais das variabilidades determinadas para a purificação.

Tabela 5. Dados de precisão (variância total) com base nos valores de C_T

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Referência de VHB Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,37	0,13	1,22
Controlo interno (HBV, $1,00 \times 10^3$ IU/ml)	0,37	0,14	1,29

Tabela 6. Dados de precisão (variância total) com base nos resultados quantitativos (em IU/ml)

	Média	Desvio-padrão	Coefficiente de variação (%)
Referência de VHB Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	1,12 x 10 ³	2,29 x 10 ²	20,56

Robustez

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do *artus* HBV QS-RGQ Kit. Para verificação da robustez, 100 amostras negativas para VHB foram contaminadas com 30 IU/ml de VHB (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao limite de sensibilidade analítica). Após extração usando o QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com o protocolo Cellfree1000_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl), estas amostras foram analisadas com o *artus* HBV QS-RGQ Kit. Adicionalmente, a robustez do controlo interno foi avaliada por purificação e análise das 100 amostras de plasma contaminadas. Não foram observadas inibições. A robustez do *artus* HBV QS-RGQ Kit é, assim, ≥99%.

Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do *artus* HBV QS-RGQ Kit, 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 processo foi comprovada pela detecção correcta de todas as amostras positivas e negativas conhecidas, em posições alternadas (padrão xadrez) para o sistema *artus* QS-RGQ representativo.

Para informações actualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respectivo manual do kit QIAGEN ou do utilizador. 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).

Maior 2012 © 2012 QIAGEN, todos os direitos reservados.

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

France ■ 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

The Netherlands ■ 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