

artus[®] HCV QS-RGQ Kit

Características del rendimiento

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

Administración de versiones

Este documento es Características del rendimiento del kit *artus* HCV QS-RGQ, versión 1, R3.



Compruebe la disponibilidad de nuevas versiones de la documentación electrónica en www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx antes de realizar la prueba.

Límite de detección (LOD)

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

El LOD teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV QS-RGQ se determinó añadiendo a muestras clínicas de plasma una serie de diluciones de estándar del VHC de Acrometrix[®] (el estándar se calibró respecto del segundo estándar internacional de la OMS) de 150 a 0,316 UI/ml (valor nominal) de VHC. Estas diluciones se sometieron a la extracción de ARN 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 8 diluciones se analizó con el kit *artus* HCV QS-RGQ en 4 días diferentes y en 4 series analíticas con un máximo de 15 duplicados cada una. El LOD se determinó mediante un análisis probit y se verificó utilizando lotes adicionales del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen y del kit *artus* HCV QS-RGQ a una concentración de 20 UI/ml (analizados en 4 días diferentes en 4 series analíticas con 15 duplicados por serie). En la tabla 1 se presentan las tasas de resultados positivos del experimento probit y del experimento de verificación. El LOD teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV QS-RGQ en combinación con el instrumento Rotor-Gene Q utilizando el análisis probit es de 21 UI/ml ($p = 0,05$; intervalo de confianza del 95% de 16–33 UI/ml). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 21 UI/ml.



Enero 2014

Sample & Assay Technologies

Tabla 1. Análisis de la tasa de resultados positivos para el estudio del LOD del VHC (los datos se utilizaron para el análisis probit y para el estudio de verificación).

Título de VHC (UI/ml)	Número total de duplicados	Número total de positivos	Porcentaje de positivos
Análisis 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
Verificación			
20	60	57	95,00

Especificidad

La especificidad del kit *artus* HCV QS-RGQ se asegura ante todo mediante la selección de los *primers* 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 los genotipos relevantes mediante una alineación de la base de datos y mediante una serie de PCR en los instrumentos Rotor-Gene con los genotipos siguientes (consulte la tabla 2).

Además, la especificidad se evaluó con 100 muestras diferentes de plasma negativas para VHC. Estas no generaron ninguna señal con los *primers* y las sondas específicos del VHC, incluidos en los Hep. C Virus RG Masters.

Se analizó la posible reactividad cruzada del kit *artus* HCV QS-RGQ mediante el grupo de control indicado en la tabla 3 (página 4). 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 de los genotipos relevantes.

Virus	Genotipo	Origen	VHC (Cycling Green)	Control interno (Cycling Orange)
Virus de la hepatitis C	1	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	2	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	3	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	4	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	5	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+
Virus de la hepatitis C	6	NIBSC, HemaCare, Universidad de Essen	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control (Instituto nacional de estándares biológicos y controles), Hertfordshire (Reino Unido).

Tabla 3. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada

Grupo de control	VHC (Cycling Green)	Control interno (Cycling Orange)
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	-	+
Virus de la hepatitis A	-	+
Virus de la hepatitis B	-	+
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 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus linfotrópico humano de linfocitos T tipos 1 y 2	-	+
Virus del herpes humano 6A	-	+
Virus del herpes humano 6B	-	+
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi)	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Fiebre del dengue	-	+
Fiebre amarilla	-	+
<i>Aspergillus flavus</i>	-	+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	+
<i>Candida albicans</i>	-	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	+
<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	+
<i>Filobasidiella neoformans</i>	-	+

La tabla continúa en la página siguiente

Tabla 3. Continuación.

Grupo de control	VHC (Cycling Green)	Control interno (Cycling Orange)
<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 lineal

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material estándar del VHC Acrometrix que varía de $1,77 \times 10^7$ UI/ml a $2,50 \times 10^1$ UI/ml. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^5$ UI/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^5$ UI/ml) mediante el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen en combinación con el protocolo Cellfree1000 (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* HCV QS-RGQ. Se ha determinado el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV QS-RGQ para incluir concentraciones de $3,50 \times 10^1$ UI/ml a $1,77 \times 10^7$ UI/ml.

Precisión

Los datos de precisión del kit *artus* HCV 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 utilizando 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 para la PCR del control interno.

Se recopilaron datos de precisión analítica del kit *artus* HCV QS-RGQ (sin tener en cuenta la purificación) utilizando el estándar de cuantificación de la concentración más baja (QS 4; 10 UI/ μ l). El análisis se realizó con 8 duplicados. Los datos de precisión se calcularon según los valores de C_T de las curvas de amplificación (C_T : umbral del ciclo, consulte la tabla 4). Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en UI/ μ l mediante los valores de C_T correspondientes (tabla 5, página 7). En función de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 1,52% (C_T) o del

25,71% (concentración) y del 0,75% (C_T) para la detección del control interno. Estos valores se basan en la totalidad de los valores individuales de las variabilidades determinadas.

Tabla 4. Datos de precisión en función de los valores de C_T .

	Valor de C_T	Desviación estándar	Coficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilidad intraensayo: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilidad interensayo: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilidad interensayo: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilidad interlote: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilidad interlote: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Varianza total: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Varianza total: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabla 5. Datos de precisión en función de los resultados cuantitativos (en UI/ μ l).

	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilidad interensayo: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilidad interlote: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Varianza total: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

Se recopilaron datos de precisión teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* HCV QS-RGQ añadiendo a muestras clínicas de plasma material estándar del VHC Acrometrix con una concentración de $1,00 \times 10^3$ UI/ml. Los análisis se realizaron con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000 (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Los análisis se realizaron en 36 duplicados utilizando una matriz de diferentes lotes del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi y del kit *artus* HCV QS-RGQ. En función de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 0,95% (C_T) o del 20,07% (concentración) y del 1,26% (C_T) para la detección del control interno (tablas 6 y 7). Estos valores se basan en la totalidad de los valores simples de las variabilidades determinadas teniendo en cuenta la purificación.

Tabla 6. Datos de precisión (varianza total) en función de los valores de C_T .

	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Estándar de VHC Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,30	0,09	0,95
Control interno (VHC, $1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,43	0,18	1,26

Tabla 7. Datos de precisión (varianza total) en función de los resultados cuantitativos (en UI/ml).

	Media	Desviación estándar	Coficiente de variación (%)
Estándar de VHC Acrometrix (1,00 x 10 ³ UI/ml)	2,37 x 10 ³	4,76 x 10 ²	20,07

Robustez

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del kit *artus* HCV QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 110 UI/ml de VHC (aproximadamente tres veces la concentración del LOD) a 100 muestras de plasma negativas para el VHC. Tras realizar la extracción con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 µl), las muestras se analizaron con el kit *artus* HCV 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* HCV QS-RGQ es del ≥99%.

Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar periódicamente el rendimiento del kit *artus* HCV QS-RGQ y comparar su eficiencia 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.

Para obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía de 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 al distribuidor local.

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

Ene-14 HB-0372-D01-003 © 2012-2014 QIAGEN, todos los derechos 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