

Octubre 2015

Kit *artus*[®] VZV QS-RGQ: Características del rendimiento

artus VZV QS-RGQ Kit, versión 1

REF

4502363



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

Sensibilidad analítica: LCR

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

La sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ se determinó añadiendo a muestras clínicas de LCR una serie de diluciones de material de VVZ, cepa Ellen, de 1.420 a 4,5 copias/ml (valor nominal) de VVZ. Estas diluciones se sometieron a la extracción de ADN con el kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini en combinación con el protocolo Cellfree200_DSP (volumen de extracción: 0,2 ml; volumen de elución: 60 µl). Cada una de las 8 diluciones se analizó con el kit *artus* VZV QS-RGQ en 3 días diferentes y en 3 series analíticas con 11 duplicados 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* VZV QS-RGQ en combinación con el instrumento Rotor-Gene Q es de 80,67 copias/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 80,67 copias/ml.

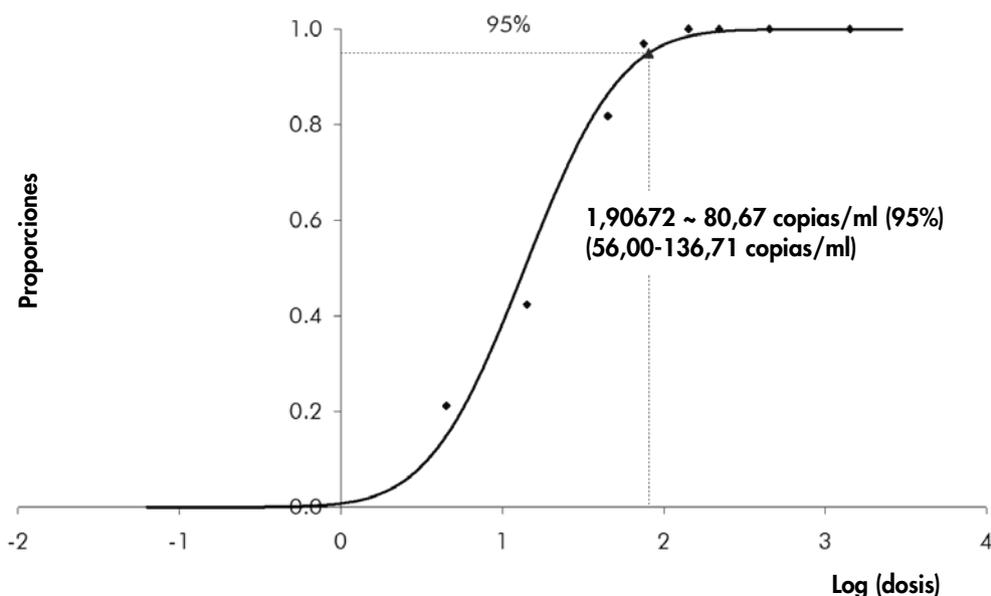


Figura 1. Análisis probit: LCR, VVZ (Rotor-Gene Q). Sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini) del kit *artus* VZV QS-RGQ en el instrumento Rotor-Gene Q.

Especificidad: LCR

La especificidad del kit *artus* VZV 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 con 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.

Además, la especificidad se validó con 30 muestras de LCR negativas para el VVZ diferentes. Estas no generaron ninguna señal con los *primers* y las sondas específicos del VVZ, incluidos en el VZV RG Master.

Se analizó una posible reactividad cruzada del kit *artus* VZV QS-RGQ mediante el grupo de control indicado en la tabla 1. Ninguno de los patógenos analizados mostró reactividad. No se produjo ninguna reactividad cruzada en el caso de infecciones mixtas.

Tabla 1. Análisis de la especificidad del kit con patógenos con posible reactividad cruzada (LCR)

Grupo de control	VVZ (Cycling Green)	Control interno (Cycling Orange)
Virus del herpes humano 1 (virus del herpes simple 1)	-	+
Virus del herpes humano 2 (virus del herpes simple 2)	-	+
Virus del herpes humano 4 (virus de Epstein-Barr)	-	+
Virus del herpes humano 5 (citomegalovirus)	-	+
Virus del herpes humano 6A	-	+
Virus del herpes humano 6B	-	+
Virus del herpes humano 7	-	+
Virus del herpes humano 8 (virus del herpes asociado al sarcoma de Kaposi)	-	+
Virus de la hepatitis A	-	+
Virus de la hepatitis B	-	+
Virus de la hepatitis C	-	+
Virus de la inmunodeficiencia humana 1	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 1	-	+
Virus de la leucemia de células T humana de tipo 2	-	+
Enterovirus	-	+
Parvovirus B19	-	+
Virus del Nilo Occidental	-	+

Intervalo lineal: LCR

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material estándar del VVZ, cepa Ellen, ATCC® VR-1367 que varía de $1,00 \times 10^8$ copias/ml a $5,00 \times 10^1$ copias/ml. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^7$ copias/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^7$ copias/ml) mediante el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini en combinación con el protocolo Cellfree200_DSP (volumen de extracción: 0,2 ml; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* VZV QS-RGQ. Se ha determinado el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ para incluir concentraciones de $5,00 \times 10^2$ copias/ml a $1,00 \times 10^8$ copias/ml (figura 2).

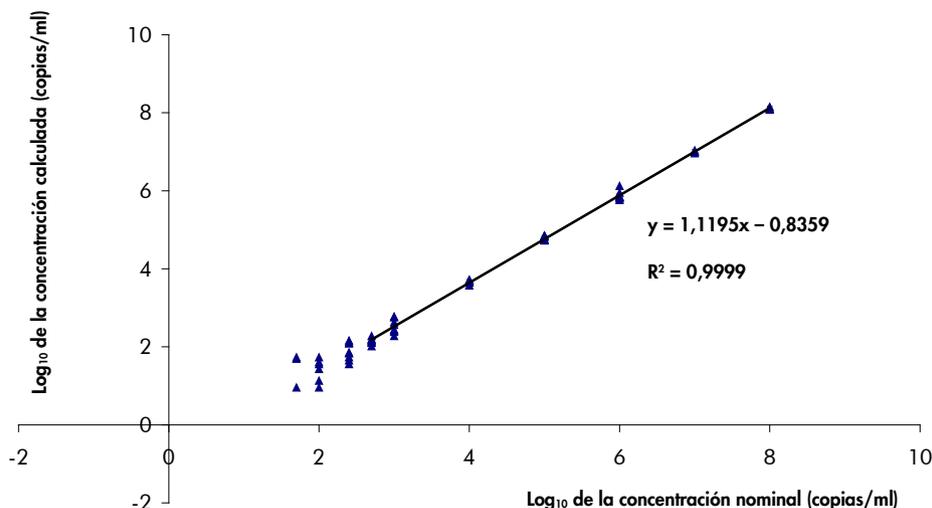


Figura 2. Intervalo lineal del kit *artus* VZV QS-RGQ (LCR). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del \log_{10} de las concentraciones calculadas con el \log_{10} de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Robustez: LCR

La verificación de la robustez permite determinar el índice total de fallos del kit *artus* VZV QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 300 copias/ml de material de VVZ (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 30 muestras de LCR negativas para el VVZ. Tras realizar la extracción con el kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Mini en combinación con el protocolo Cellfree200_DSP (volumen de extracción: 0,2 ml; volumen de elución: 60 µl), las muestras se analizaron con el kit *artus* VZV QS-RGQ.

Además, la robustez del control interno se evaluó mediante la purificación y el análisis de las 30 muestras de LCR a las que se había añadido el virus. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del kit *artus* VZV QS-RGQ es $\geq 99\%$.

Sustancias causantes de interferencias: LCR

Los eritrocitos y el ADN genómico son dos sustancias endógenas que tienen la capacidad de interferir en los ensayos cuando se encuentran presentes en el LCR. Con el fin de investigar su potencial para causar interferencias, se evaluó el efecto de estas sustancias en el rendimiento del ensayo en muestras de LCR que contenían VVZ en una concentración de aproximadamente 10 veces el valor del límite de detección (LOD, *limit of detection*) (1.000 copias/ml). Estas sustancias analizadas no mostraron interferencias con los reactivos del kit *artus* VZV QS-RGQ (consulte la tabla 2).

Tabla 2. Sustancias causantes de interferencias en muestras de LCR

Concentración de VVZ (copias/ml)	Sustancia causante de interferencias		C _T medio	C _{T(IC)}		C _{T(IC) IS} - C _{T(IC) Control} Absoluto
	Elemento	Concentración		SD	CV (%)	
1.000	Eritrocitos	-	23,45	0,06	0,24	0,13
	ADNg	10.000	23,51	0,02	0,09	0,07
	ADNg	100.000	23,78	0,11	0,45	0,20
	Control	-	23,58	0,06	0,26	-

CV: coeficiente de variación; IC: control interno (*internal control*); IS: sustancia causante de interferencias (*interfering substance*); SD: desviación típica (*standard deviation*).

Evaluación clínica: LCR

El rendimiento clínico del kit *artus* VZV QS-RGQ se evaluó analizando un total de 163 muestras generadas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación en un laboratorio clínico externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del porcentaje de concordancia positiva (PCP), del porcentaje de concordancia negativa (PCN) y del porcentaje de concordancia global (PCG); la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 75 muestras de LCR que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con los valores de ordenada en el origen y pendiente correspondientes (consulte la tabla 3 y la figura 3).

Tabla 3. Datos del estudio del rendimiento clínico para muestras de plasma con EDTA

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	163/163	100,00	97,76	100,00
Porcentaje de concordancia positiva	100/100	100,00	96,38	100,00
Porcentaje de concordancia negativa	63/63	100,00	94,31	100,00

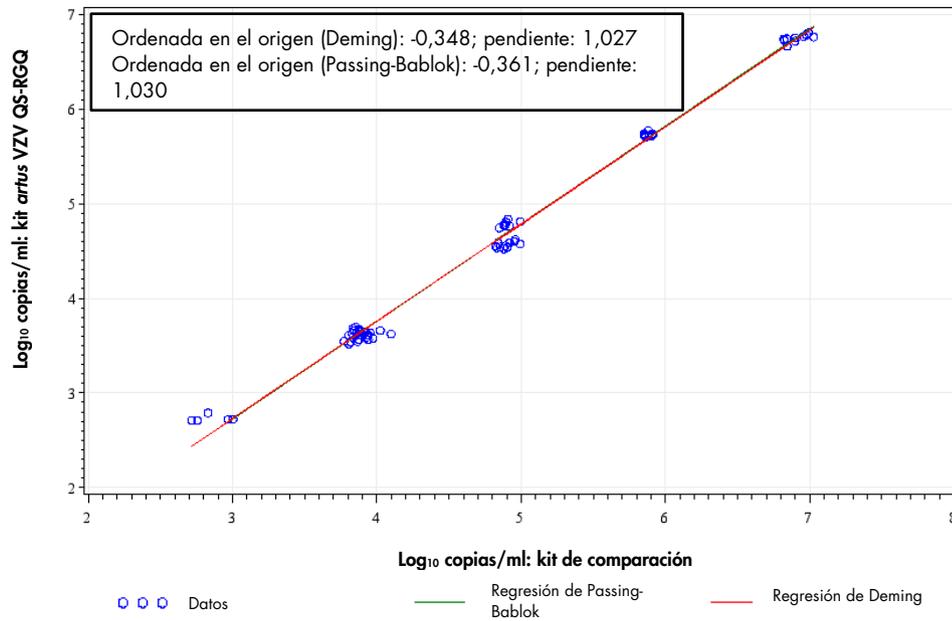


Figura 3. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-Bablok y de Deming para muestras de LCR. Se incluyeron en el análisis las muestras que se encontraban entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El gráfico de Bland-Altman presentado en la figura 4 muestra que la diferencia media del valor logarítmico observada entre los kits es de 0,22; en esta diferencia no influye la concentración de análisis.

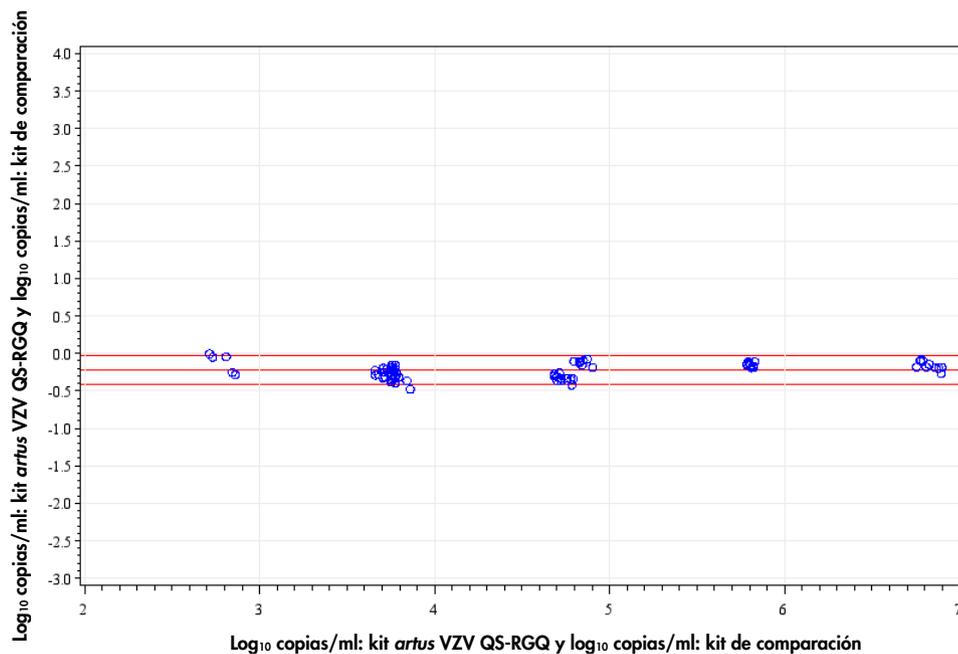


Figura 4. Gráfico de Bland-Altman (plasma). Las líneas de referencia horizontales corresponden a $-0,22$, $-0,42$ y $-0,03$ e indican la diferencia media (\log_{10} copias/ml: kit *artus* VZV QS-RGQ $-$ \log_{10} copias/ml: kit de comparación) y su intervalo predictivo del 95% correspondiente. Se incluyeron en el análisis las muestras que se encontraban entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

Sensibilidad analítica: plasma

En el caso del plasma, la sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ se determinó añadiendo a plasma humano una serie de diluciones de material vírico de 100 a 0,316 copias/ml.

Estas diluciones se sometieron a la extracción de ADN con el kit QIA-symphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las 8 diluciones se analizó con el kit *artus* VSV QS-RGQ en 4 días diferentes y en 4 series analíticas con 11 duplicados cada una. Los resultados se determinaron mediante un análisis probit.

En la figura 5 se muestra una representación gráfica del análisis probit. El límite de detección analítica para el VZV teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ en combinación con el instrumento Rotor-Gene Q es de 12,725 copias/ml ($p = 0,05$). Esto significa que existe una probabilidad del 95% de que se detecten 12,725 copias/ml.

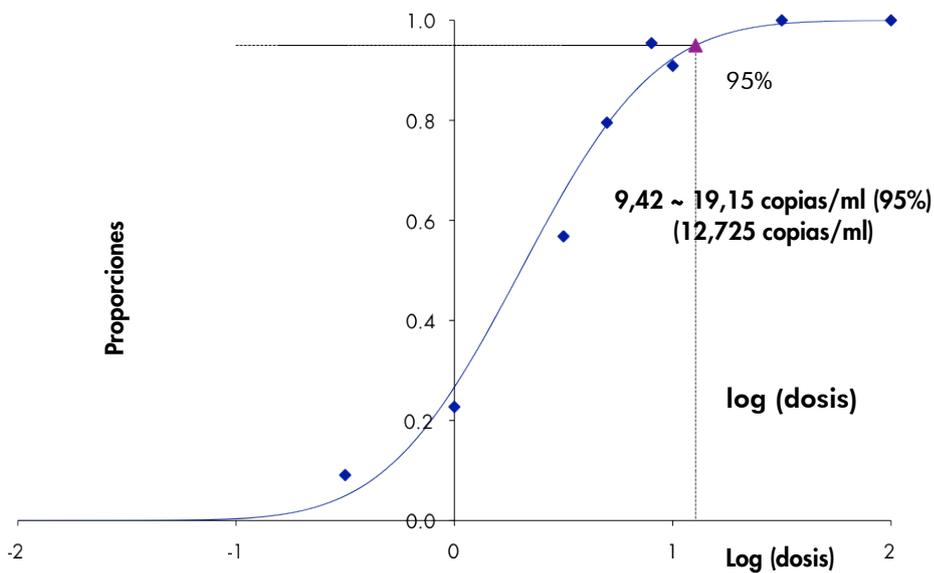


Figura 5. Análisis probit: plasma, VZV (Rotor-Gene Q). Sensibilidad analítica teniendo en cuenta la purificación (utilizando el kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi) del kit *artus* VZV QS-RGQ en el instrumento Rotor-Gene Q.

Intervalo lineal: plasma

El intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ se determinó mediante el análisis de una serie de diluciones de material vírico en plasma que varía de $6,92 \times 10^6$ copias/ml a $1,0 \times 10^1$ copias/ml. La purificación se realizó en duplicados ($n = 4$ para concentraciones $\geq 1,00 \times 10^6$ copias/ml; $n = 8$ para concentraciones $< 1,00 \times 10^6$ copias/ml) mediante el kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). Cada una de las muestras se analizó con el kit *artus* VZV QS-RGQ.

En plasma, se ha determinado el intervalo lineal teniendo en cuenta la purificación del kit *artus* VZV QS-RGQ para el material de VVZ para incluir concentraciones de 127 copias/ml a $6,92 \times 10^6$ copias/ml (figura 6).

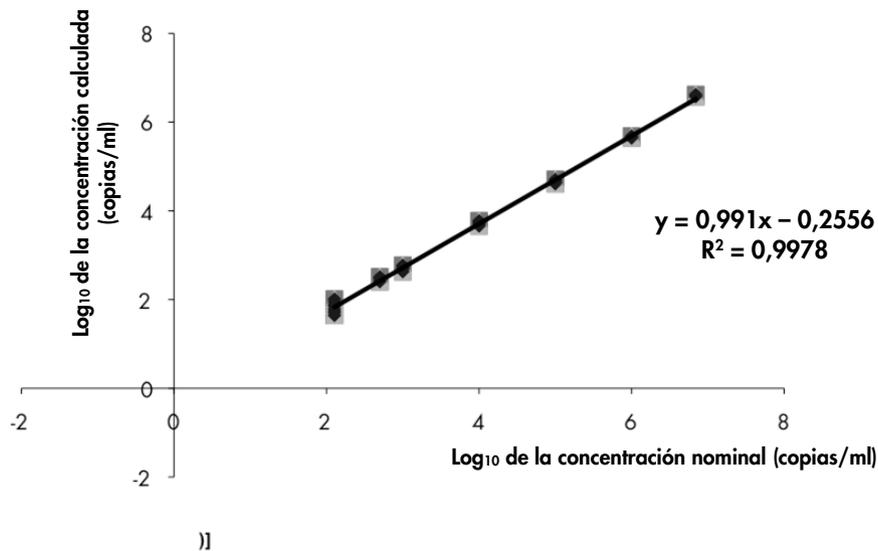


Figura 6. Intervalo lineal del kit *artus* VZV QS-RGQ (plasma). Cálculo del intervalo lineal. La línea recta se determinó mediante una regresión lineal del \log_{10} de las concentraciones calculadas con el \log_{10} de las concentraciones nominales. En la figura se incluye la ecuación de la línea de regresión.

Robustez: plasma

La verificación de la robustez en plasma permite determinar el índice total de fallos del kit *artus* VZV QS-RGQ. Para verificar la robustez se añadieron 38,175 copias/ml de material de VVZ (aproximadamente tres veces la concentración del límite de sensibilidad analítica) a 30 muestras de plasma negativas para el VVZ. Tras realizar la extracción con el kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l), las muestras se analizaron con el kit *artus* VZV QS-RGQ. En relación con la robustez para el análisis de los analitos del VVZ, el 100% (30/30) de las muestras se identificaron como positivas para el VVZ.

Además, la robustez del control interno se evaluó tras la purificación y el análisis de 116 muestras de plasma a las que se había añadido el virus. Estas muestras fueron negativas para el VVZ en el 100% de los casos y positivas para el analito del control interno en el 100% de los casos. No se observaron inhibiciones. Así, la robustez del kit *artus* VZV QS-RGQ es $\geq 99\%$.

Sustancias causantes de interferencias: plasma

Se han identificado cuatro sustancias endógenas (bilirrubina, hemoglobina, triglicéridos y albúmina) en una concentración elevada como posibles sustancias causantes de interferencias presentes en muestras de plasma. Sus efectos se evaluaron en plasma que contenía VVZ en niveles de aproximadamente 10 veces el valor LOD (127,25 copias/ml). Como control se incluyeron muestras de plasma a las que se había añadido VVZ sin adición de ninguna sustancia causante de interferencia. Todas las muestras, con o sin la adición de sustancias causantes de interferencia, se analizaron en 4 duplicados con el kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi en combinación con el protocolo Cellfree1000_DSP (volumen de extracción: 1 ml; volumen de elución: 60 μ l). En las muestras que contenían niveles elevados de inhibidores endógenos (bilirrubina, hemoglobina, triglicéridos y albúmina) no se observó interferencia para la detección del VVZ.

Evaluación clínica: plasma

El rendimiento clínico del kit *artus* VZV QS-RGQ se evaluó analizando un total de 161 muestras de plasma con EDTA generadas y comparando los resultados con los obtenidos con un método de comparación en un laboratorio clínico externo. Los resultados se analizaron en dos partes: la primera parte fue un análisis categórico de concordancia del porcentaje de concordancia positiva (PCP), del porcentaje de concordancia negativa (PCN) y del porcentaje de concordancia global (PCG); la segunda parte fue un análisis de los resultados de un total de 97 muestras de plasma con EDTA que se encontraban dentro del intervalo dinámico común del ensayo utilizando los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok, cuyos resultados se notificaron junto con los valores de intersección y pendiente correspondientes (consulte la tabla 4 y la figura 7).

Tabla 4. Datos del estudio del rendimiento clínico para muestras de plasma con EDTA

Medida de concordancia	Frecuencias	Porcentaje de concordancia	Límite inferior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)	Límite superior del intervalo de confianza del 95% bilateral binomial de Clopper-Pearson (exacto)
Porcentaje de concordancia global	161/161	100,00	97,73	100,00
Porcentaje de concordancia positiva	101/101	100,00	96,41	100,00
Porcentaje de concordancia negativa	60/60	100,00	94,04	100,00

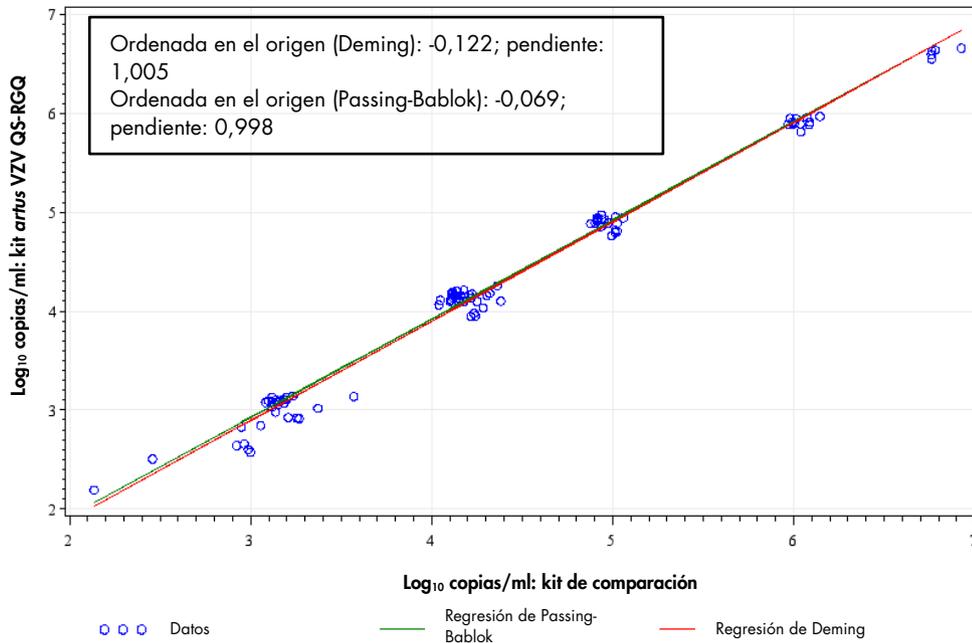


Figura 7. Gráfico de regresión con las líneas de Passing-Bablok y de Deming para muestras de plasma. Se incluyeron en el análisis las muestras que se encontraban entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

El gráfico de Bland-Altman presentado en la figura 8 muestra que la diferencia media del valor logarítmico observada entre los kits es de $-0,10$; en esta diferencia no influye la concentración de análisis.

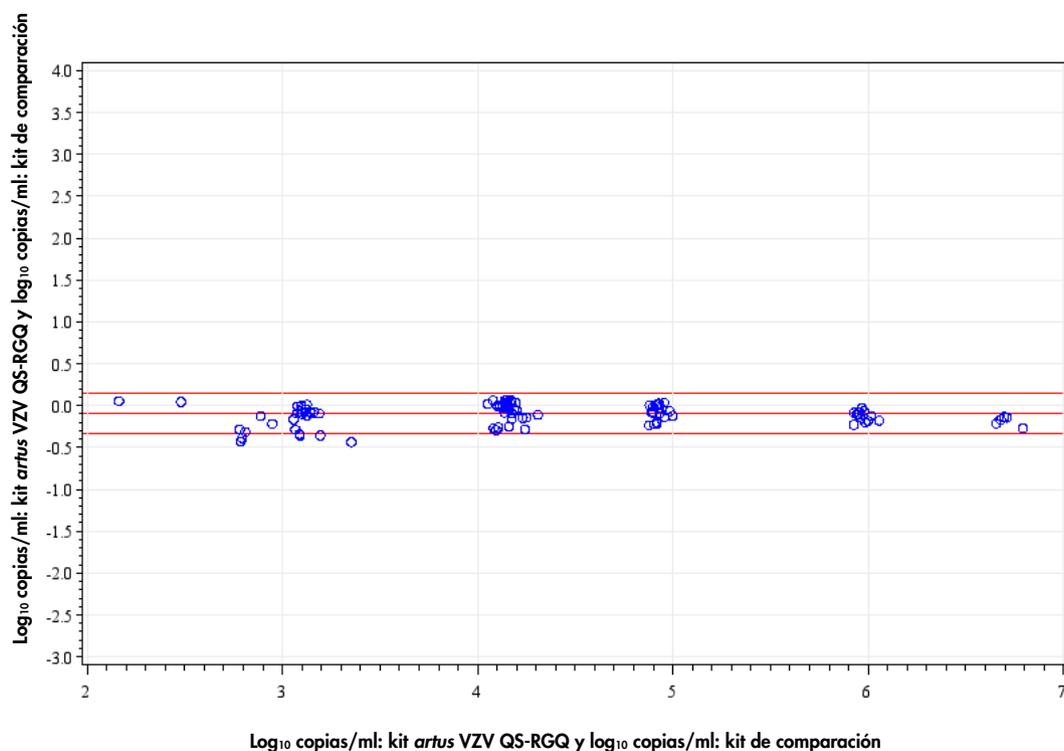


Figura 8. Gráfico de Bland-Altman (plasma). Las líneas de referencia horizontales corresponden a $-0,10$, $-0,34$ y $0,14$ e indican la diferencia media (\log_{10} copias/ml: kit *artus* VZV QS-RGQ – \log_{10} copias/ml: kit de comparación) y su intervalo predictivo del 95% correspondiente. Se incluyeron en el análisis las muestras que se encontraban entre el límite inferior de cuantificación y el límite superior de cuantificación para ambos kits.

Precisión

Los datos de precisión del kit *artus* VZV QS-RGQ permiten la determinación de la varianza total del ensayo. La varianza total consta de la variabilidad intraensayo (variabilidad de múltiples resultados de muestras de la misma concentración en un único experimento), la variabilidad interensayo (variabilidad de múltiples resultados del ensayo generados en diferentes instrumentos del mismo tipo por diferentes operadores en un mismo laboratorio) y la variabilidad interlote (variabilidad de 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 para la PCR del control interno.

Se recopilieron datos de precisión analítica del kit *artus* VZV QS-RGQ (sin tener en cuenta la purificación) utilizando el estándar de cuantificación de la concentración más baja (QS 4; 10 copias/ μ l). El análisis se realizó por octuplicado. Los datos de precisión se calcularon según los valores de C_T de las curvas de amplificación (C_T : ciclo umbral, consulte la tabla 2). Además, se determinaron los datos de precisión para los resultados cuantitativos en copias/ μ l mediante los valores de C_T correspondientes (tabla 3). En función

de estos resultados, la dispersión estadística total de cualquier muestra existente con la concentración mencionada es del 0,45% (C_T) o del 8,32% (concentración) y del 2,81% (C_T) para la detección del control interno. Estos valores se basan en la totalidad de los valores individuales de las variabilidades determinadas.

Tabla 5. Datos de precisión para el VVZ en función de los valores de C_T

	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: VZV QS 4	0,08	0,01	0,26
Variabilidad intraensayo: Control interno	0,04	0,002	0,17
Variabilidad interensayo: VZV QS 4	0,15	0,02	0,50
Variabilidad interensayo: Control interno	0,39	0,15	1,63
Variabilidad interlote: VZV QS 4	0,10	0,01	0,34
Variabilidad interlote: Control interno	0,66	0,43	2,65
Varianza total: VZV QS 4	0,13	0,02	0,45
Varianza total: Control interno	0,68	0,47	2,81

Tabla 6. Datos de precisión para el VVZ en función de los resultados cuantitativos (en copias/ml)

	Desviación estándar	Varianza	Coficiente de variación (%)
Variabilidad intraensayo: VZV QS 4	0,50	0,25	5,46
Variabilidad interensayo: VZV QS 4	0,85	0,72	8,72
Variabilidad interlote: VZV QS 4	0,75	0,56	7,67
Varianza total: VZV QS 4	0,81	0,66	8,32

Reproducibilidad

Los datos de reproducibilidad permiten evaluar periódicamente el rendimiento del kit *artus* VZV 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.

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco.

En el manual de uso del kit *artus* VZV QS-RGQ PCR encontrará los productos relacionados y la información para pedidos.

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 al distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC®, VR-1367™ (American Type Culture Collection). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales. 10/2015 HB-0401-D01-002 © 2012-2015 QIAGEN, todos los derechos reservados

Pedidos www.qiagen.com/contact | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com
