

Setembro 2017

# *artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ Kit: Caraterísticas de desempenho

IVD



REF

4501363PT Kit *artus* EBV QS-RGQ, Versão 1.



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx) antes da realização do teste.

O estado de revisão atual é indicado pela data de lançamento (formato: mês/ano).

## Limite de detecção – plasma

O limite de detecção relativo à purificação (limite de sensibilidade) foi avaliado para o Kit *artus* EBV QS-RGQ utilizando amostras clínicas positivas para VEB em combinação com a extração no QIASymphony® SP.

Para o plasma, o limite de detecção relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi determinado utilizando amostras de plasma clínicas contaminadas com uma série de diluições de material do vírus VEB, que ia de 3160 ao valor nominal de 1 VEB cópia/ml. Estas amostras foram sujeitas a extração de ADN utilizando o Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi em combinação com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 10 diluições foi analisada com o Kit *artus* EBV QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 4 corridas com 8 modelos de replicação cada. Os resultados foram determinados por análise de probit. A Figura 1 apresenta uma ilustração gráfica da análise de probit. O limite de detecção relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene® Q é de 157 cópias/ml ( $p = 0,05$ ). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de serem detetadas 157 cópias/ml (que correspondem a 22,29 IU/ml).

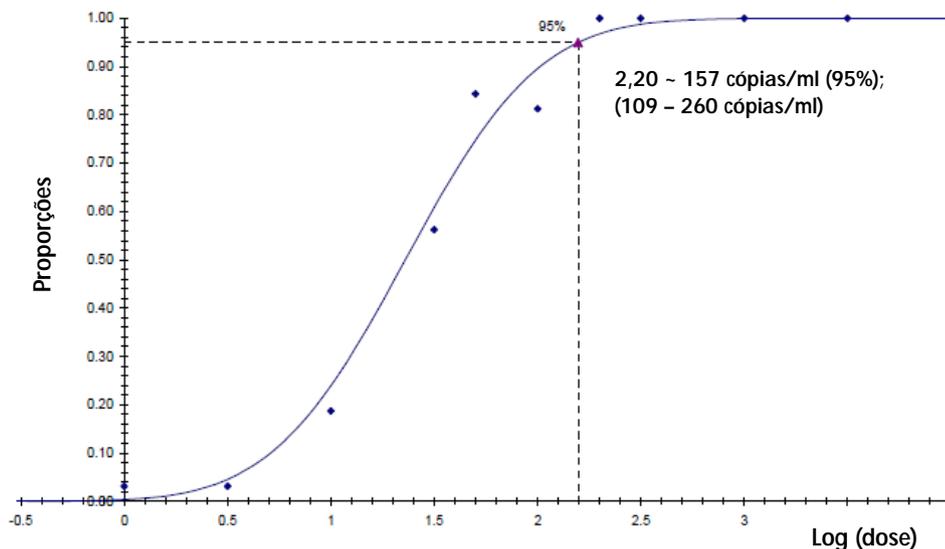


Figura 1. Análise de probit: plasma, VEB (Rotor-Gene Q). Limite de detecção relativo à purificação (plasma, utilizando o Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi) do Kit *artus* EBV QS-RGQ no Rotor-Gene Q.

## Especificidade — plasma

A especificidade do Kit *artus* EBV QS-RGQ é, antes de mais, assegurada pela seleção dos iniciadores (primers) e sondas, bem como pela seleção de condições de reação 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 detetabilidade de todos os genótipos relevantes foi assim assegurada.

Além disso, a especificidade foi validada com 30 amostras diferentes de plasma negativo para VEB. Estas amostras não geraram quaisquer sinais com os iniciadores e sondas específicos do VEB, os quais estão incluídos no EVB RG Master.

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do Kit *artus* EBV QS-RGQ, utilizando o grupo de controlo listado na Tabela 1 abaixo. Nenhum dos agentes patogénicos testados demonstrou reatividade. Não ocorreram reações cruzadas com infeções mistas.

**Tabela 1. Testes de especificidade do kit com agentes patogénicos com potencial de reação cruzada**

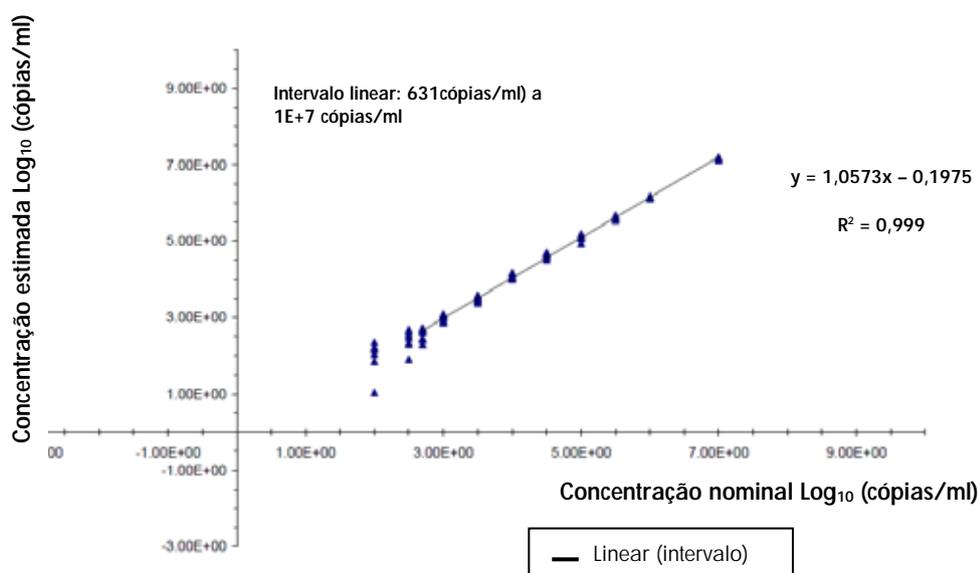
Grupo de controlo	VEB (Cycling Green)	Controlo Interno (Cycling Yellow)
Vírus herpes humano 1 (vírus herpes simplex 1)	-	+
Vírus herpes humano 2 (vírus herpes simplex 2)	-	+
Vírus herpes humano 3 (vírus varicela-zoster)	-	+
Vírus herpes humano 5 (Citomegalovírus)	-	+
Vírus da leucemia de células T humano tipo 1	-	+
Vírus da leucemia de células T humano tipo 2	-	+

## Intervalo linear — plasma

O intervalo linear relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi determinado por análise de uma série de diluições do material do vírus VEB, que ia de  $1,00 \times 10^7$  cópias/ml a  $6,31 \times 10^2$  cópias/ml, em plasma. A purificação foi efetuada em modelos de replicação ( $n = 4$  para concentrações  $\geq 1,00 \times 10^6$  cópias/ml;  $n = 8$  para concentrações  $< 1,00 \times 10^6$  cópias/ml) utilizando o Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi em combinação com o protocolo

Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das amostras foi analisada utilizando o Kit *artus EBV QS-RGQ*.

O intervalo linear relativo à purificação do Kit *artus EBV QS-RGQ* foi determinado para abranger as concentrações de  $6,31 \times 10^2$  cópias/ml a  $1,00 \times 10^7$  cópias/ml (que corresponde a  $8,96 \times 10^1$  a  $1,42 \times 10^6$  IU/ml) para plasma (Figura 2).



**Figura 2. Intervalo linear do Kit *artus EBV QS-RGQ* (plasma).** Cálculo do intervalo linear. A linha reta foi determinada por uma regressão linear das concentrações calculadas de log<sub>10</sub> com as concentrações nominais de log<sub>10</sub>. A equação da linha de regressão está incluída na figura.

## Robustez — plasma

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do Kit *artus EBV QS-RGQ*. Para verificação da robustez, 30 amostras de plasma negativas para VEB foram contaminadas com 500 cópias/ml de VEB (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao limite de sensibilidade analítica). Após extração utilizando o Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, em combinação com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl), estas amostras foram analisadas com o Kit *artus EBV QS-RGQ*. Adicionalmente, a robustez do controlo interno foi avaliada por purificação e análise das 30 amostras de plasma contaminadas. Não foram observadas inibições. A robustez do Kit *artus EBV QS-RGQ* é, assim, de 99%.

## Substâncias interferentes – plasma

A bilirrubina, a hemoglobina e os triglicerídeos não apresentaram interferência com o kit *artus* EBV QS-RGQ em concentrações iguais às apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2. Substâncias interferentes em amostras de plasma com EDTA**

Concentração de VEB (cópias/ml)	Substância interferente		C <sub>T</sub> médio	C <sub>T(VEB)</sub>		C <sub>T(VEB) SI</sub> – C <sub>T(VEB) Controlo</sub> Absoluto
	Item	Concentração		DP	CV (%)	
1600	Bilirrubina	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobina	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglicerídeos	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumina	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Controlo	-	32,88	0,33	0,99	-

CV: coeficiente de variação; VEB: Vírus Epstein-Barr; SI: substância interferente; DP: desvio padrão

## Avaliação clínica – plasma

O desempenho clínico do kit *artus* EBV QS-RGQ foi avaliado testando amostras clínicas e analisando os resultados obtidos por confronto com os resultados de um método de comparação. Um total de 166 amostras de plasma com EDTA colhido em doentes infetados por VEB, assim como em controlos negativos, foi testado com o Kit *artus* EBV QS-RGQ e com um método comparável, num local externo. Os resultados foram analisados em duas partes: a parte um consistia numa análise de concordância categórica de Percentagem de Concordância Positiva, Percentagem de Concordância Negativa e Percentagem de Concordância Geral; a parte dois consistia numa análise dos resultados de um total de 83 amostras de plasma com EDTA que se situavam dentro do intervalo dinâmico de ensaio comum, utilizando as análises de regressão Deming e Passing-Bablok, sendo os resultados reportados juntamente com o coeficiente de correlação correspondente (consultar a Tabela 3 e a Figura 3).

Tabela 3. Dados do estudo de desempenho clínico para amostras de plasma com EDTA

Medida de concordância	Frequências	Porcentagem de concordância	Limite de confiança de 95% bilateral binomial (exato) inferior Clopper-Pearson	Limite de confiança de 95% bilateral binomial (exato) superior Clopper-Pearson
Porcentagem de concordância geral	154/166	92,77	87,71	96,21
Porcentagem de concordância positiva	100/102	98,04	93,10	99,76
Porcentagem de concordância negativa	54/64	84,38	73,14	92,24

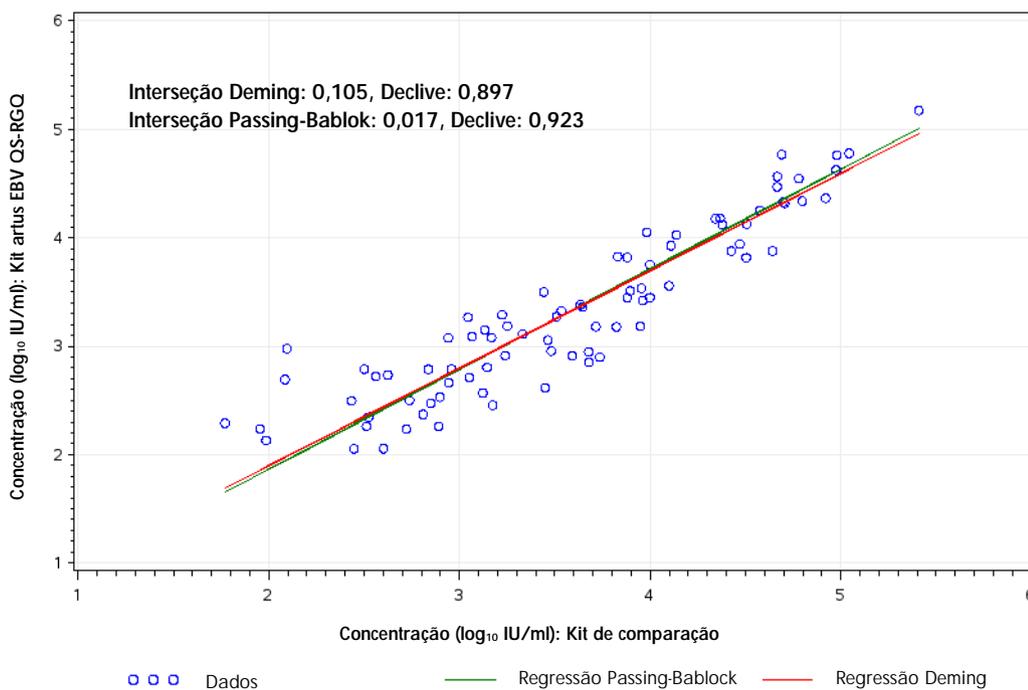


Figura 3. Gráfico de regressão com linhas Passing-Bablok e Deming. São incluídas na análise as amostras que se encontram entre o limite inferior de quantificação e o limite superior de quantificação para ambos os kits.

A análise de regressão linear entre os dois ensaios resultou num Coeficiente de Correlação Pearson de 0,922 e num Coeficiente de Correlação Spearman de 0,928.

## Limite de detecção – sangue total

Para o sangue total, o limite de detecção relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi determinado utilizando amostras de sangue total humano contaminadas com uma série de diluições de material do vírus VEB, que ia de 3160 ao valor nominal de 3,16 VEB cópia/ml. Estas amostras foram sujeitas a extração de ADN utilizando o Kit QIASymphony DNA Mini em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200 µl, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 10 diluições foi analisada com o Kit *artus* EBV QS-RGQ em 3 dias diferentes, em 3 corridas com 11 modelos de replicação cada. Os resultados foram determinados por análise de probit. A Figura 4 apresenta uma ilustração gráfica da análise de probit.

O limite de detecção relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene Q é de 288,29 cópias/ml ( $p = 0,05$ ). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de serem detetadas 288,29 cópias/ml (que correspondem a 40,36 IU/ml).

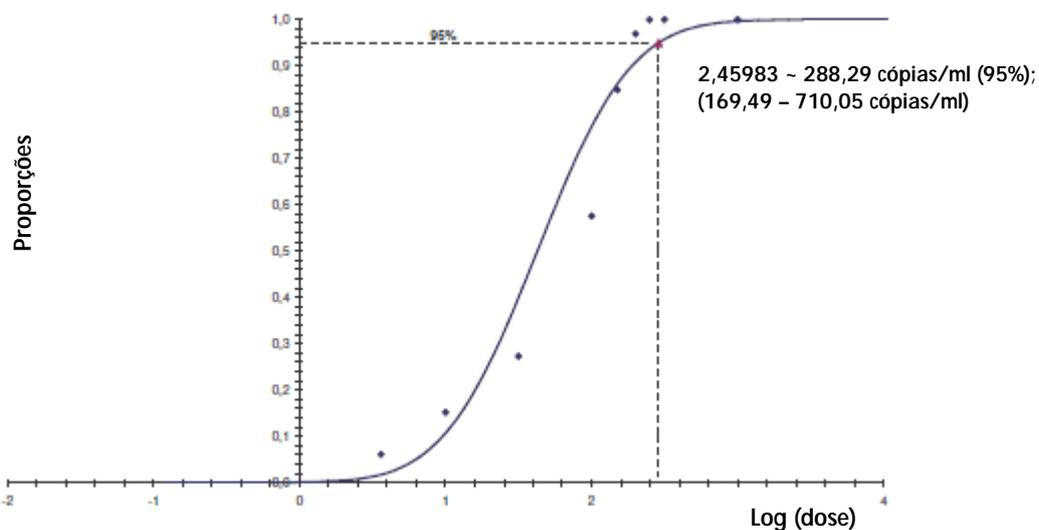


Figura 4. Análise de probit: sangue total, VEB (Rotor-Gene Q). Limite de detecção relativo à purificação (sangue total, utilizando o Kit QIASymphony DNA Mini) do Kit *artus* EBV QS-RGQ no Rotor-Gene Q.

## Especificidade — sangue total

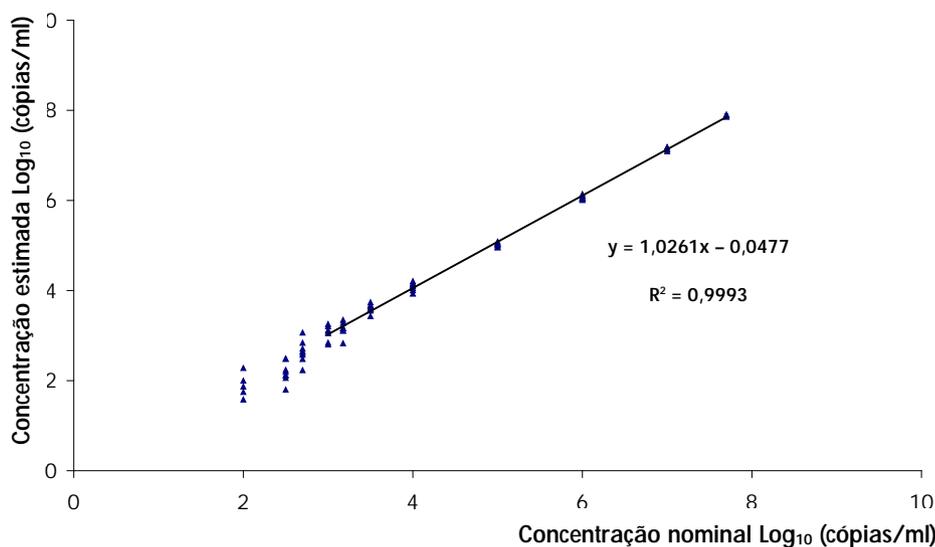
A especificidade do Kit *artus* EBV QS-RGQ é, antes de mais, assegurada pela seleção dos iniciadores (primers) e sondas, bem como pela seleção de condições de reação rigorosas. Os iniciadores e as sondas foram verificados em termos de possível homologia com todas as sequências publicadas nos bancos de genes, por análise comparativa de sequências. A detetabilidade de todos os genótipos relevantes foi assim assegurada.

Além disso, a especificidade foi validada com 30 amostras diferentes de sangue total negativo para VEB. Estas amostras não geraram quaisquer sinais com os iniciadores e sondas específicos do VEB, os quais estão incluídos no EVB RG Master.

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do Kit *artus* EBV QS-RGQ, utilizando o grupo de controlo listado na Tabela 1 (consulte a página 3). Nenhum dos agentes patogénicos testados demonstrou reatividade. Não ocorreram reações cruzadas com infeções mistas.

## Intervalo linear — sangue total

O intervalo linear relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi determinado por análise de uma série de diluições do material do vírus VEB, que ia de  $5,00 \times 10^7$  cópias/ml a  $1,00 \times 10^3$  cópias/ml, em sangue total. A purificação foi efetuada em modelos de replicação ( $n = 4$  para concentrações  $\geq 1,00 \times 10^7$  cópias/ml;  $n = 8$  para concentrações  $< 1,00 \times 10^7$  cópias/ml) utilizando o Kit QIASymphony DNA Mini em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200  $\mu$ l, volume de eluição: 60  $\mu$ l). Cada uma das amostras foi analisada utilizando o Kit *artus* EBV QS-RGQ. O intervalo linear relativo à purificação do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi determinado para abranger as concentrações de  $1,00 \times 10^3$  cópias/ml a  $5,00 \times 10^7$  cópias/ml (que corresponde a  $1,4 \times 10^2$  a  $7,0 \times 10^6$  IU/ml) para sangue total (Figura 5).



**Figura 5. Intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ (sangue total).** Cálculo do intervalo linear. A linha reta foi determinada por uma regressão linear das concentrações calculadas de log<sub>10</sub> com as concentrações nominais de log<sub>10</sub>. A equação da linha de regressão está incluída na figura.

## Robustez — sangue total

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do Kit *artus* EBV QS-RGQ. Para verificação da robustez, 51 amostras de sangue total negativas para VEB foram contaminadas com 750 cópias/ml de VEB (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao limite de sensibilidade analítica). Após extração utilizando o Kit QIASymphony DNA Mini, em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200 µl, volume de eluição: 60 µl), estas amostras foram analisadas com o Kit *artus* EBV QS-RGQ. Adicionalmente, a robustez do controlo interno foi avaliada por purificação e análise das 51 amostras de sangue total contaminadas. Não foram observadas inibições. A robustez do Kit *artus* EBV QS-RGQ é, assim, de <sup>3</sup>99%.

## Substâncias interferentes – sangue total

Foram testadas substâncias que poderiam potencialmente interferir com os resultados do Kit *artus* EBV QS-RGQ e as concentrações destas substâncias que não apresentaram qualquer interferência com o kit são apresentadas na tabela 4.

**Tabela 4. Substâncias interferentes em amostras de sangue total**

Concentração de VEB (cópias/ml)	Substância interferente		C <sub>T(VEB)</sub>			C <sub>T(VEB) SI</sub> – C <sub>T(VEB) Controlo</sub>
	Item	Concentração	C <sub>T</sub> médio	DP	CV (%)	Absoluto
2500	Bilirrubina	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglicédeos	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gADN	3 µg/amostra	34,79	0,18	0,52	0,38
	gADN	2,5 µg/amostra	34,57	0,39	1,13	0,60
	gADN	2 µg/amostra	34,73	0,49	1,41	0,44
	gADN	1 µg/amostra	34,86	0,22	0,62	0,31
	Controlo	-	35,17	0,40	1,13	-

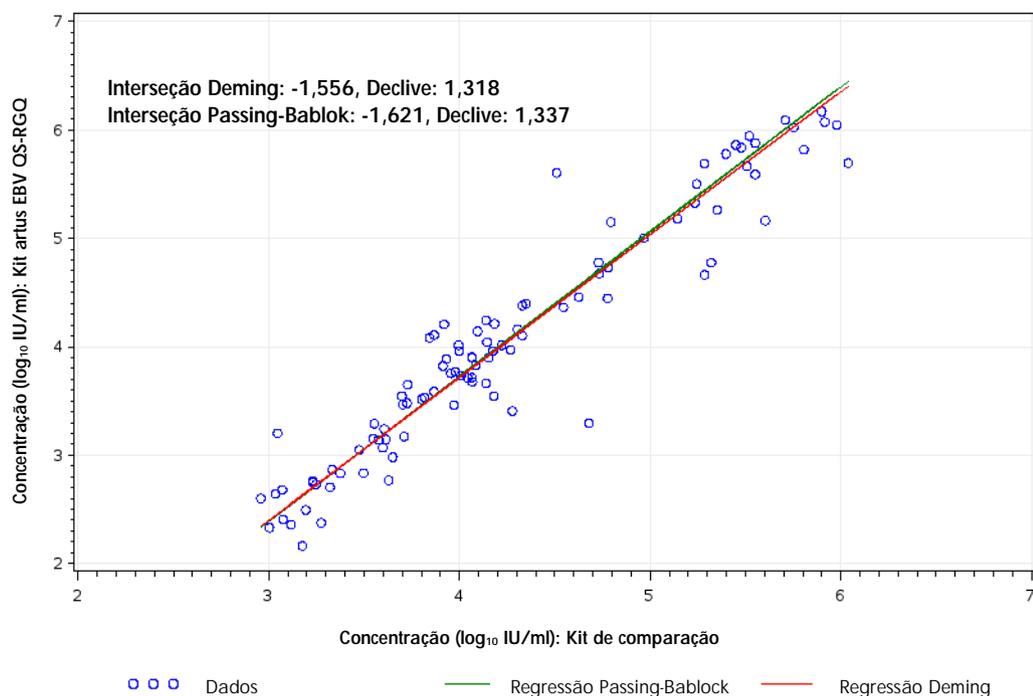
CV: coeficiente de variação; VEB: Vírus Epstein-Barr; gADN: ADN genómico; SI: substância interferente; DP: desvio padrão

## Avaliação clínica – sangue total

O desempenho clínico do kit *artus* EBV QS-RGQ foi avaliado testando amostras clínicas e analisando por confronto com um método comparável. Um total de 178 amostras de sangue total colhido em doentes infetados por VEB, assim como em controlos negativos, foi testado com o Kit *artus* EBV QS-RGQ e com um método comparável, num local externo. Os resultados foram analisados em duas partes: a parte um consistia numa análise de concordância categórica de Percentagem de Concordância Positiva, Percentagem de Concordância Negativa e Percentagem de Concordância Geral; a parte dois consistia numa análise dos resultados de um total de 98 amostras de sangue total que se situavam dentro do intervalo dinâmico de ensaio comum, utilizando as análises de regressão Deming e Passing-Bablok, sendo os resultados reportados juntamente com o coeficiente de correlação correspondente (consultar a Tabela 5 e a Figura 6).

**Tabela 5. Dados do estudo de desempenho clínico para amostras de sangue total**

Medida de concordância	Frequências	Percentagem de concordância	Limite de confiança de 95% bilateral binomial (exato) inferior Clopper-Pearson	Limite de confiança de 95% bilateral binomial (exato) superior Clopper-Pearson
Percentagem de concordância geral	169/178	94,94	90,62	97,66
Percentagem de concordância positiva	115/119	96,64	91,62	99,08
Percentagem de concordância negativa	54/59	91,53	81,32	97,19



**Figura 6. Gráfico de regressão com linhas Passing-Bablok e Deming.** São incluídas na análise as amostras que se encontram entre o limite inferior de quantificação e o limite superior de quantificação para ambos os kits.

A análise de regressão linear entre os dois ensaios resultou num Coeficiente de Correlação Pearson de 0,956 e num Coeficiente de Correlação Spearman de 0,945.

## Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do Kit *artus* EBV QS-RGQ, bem como uma comparação de eficiência com outros produtos. Estes dados foram obtidos pela participação em programas de proficiência estabelecidos.

## Contaminação cruzada

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

Os produtos relacionados e as informações de encomenda estão listados no manual do Kit *artus* EBV QS-RGQ.

#### Histórico de revisões do documento

Setembro 2017	Tabela 5 atualizada Dados do estudo de desempenho clínico para amostras de sangue total. Foram adicionadas em todo o documento as unidades de concentração IU/ml, assim como cópias/ml.
---------------	---

Para informações atualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar os respectivos manual do utilizador ou manual do kit QIAGEN®. Os manuais do utilizador e os manuais do kit QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Os nomes registrados, as marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, não devem ser considerados como não estando protegidos por lei. 09/2017 HB-0357-D01-003

© 2012-2017 QIAGEN, todos os direitos reservados

Encomendas [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)