

Características de desempenho

Kit *artus* HBV QS-RGQ, versão 1, n^o cat. 4506356



Verificar se há novas revisões de rotulagem eletrônica disponíveis em www.qiagen.com/artus-HBV-QS-RGQ-eL antes de realizar o teste. O estado de revisão atual é indicado pela data de lançamento (formato: mês/ano).

Sensibilidade analítica — plasma

O limite de detecção analítica relativo à purificação (limite de sensibilidade) foi avaliado para o kit HBV QS-RGQ *artus* utilizando amostras clínicas positivas para HBV em combinação com a extração no QIA Symphony SP.

O limite de detecção (LOD) do kit *artus* HBV QS-RGQ com o sistema QIA Symphony RGQ foi determinado usando amostras de plasma clínicas contaminadas com uma diluição seriada do 2^o Padrão Internacional da OMS para Técnicas de Amplificação de Ácidos Nucleicos de DNA do Vírus da Hepatite B (código 97/750 do NIBSC), de 316 ao valor nominal 0,316 HBV IU/ml. Estas amostras foram sujeitas a extração de DNA usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 9 diluições foi analisada com o kit *artus* HBV QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 4 corridas de ensaio com 8 replicatas cada. Os resultados foram determinados por análise de probit. A figura 1 representa uma ilustração gráfica da análise de probit. O LOD do kit *artus* HBV QS-RGQ com o sistema QIA Symphony RGQ é de 10,22 IU/ml ($p = 0,05$). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de o limite de 10,22 IU/ml ser detectado (correspondendo a 83,91 cópias/ml).

Setembro de 2015



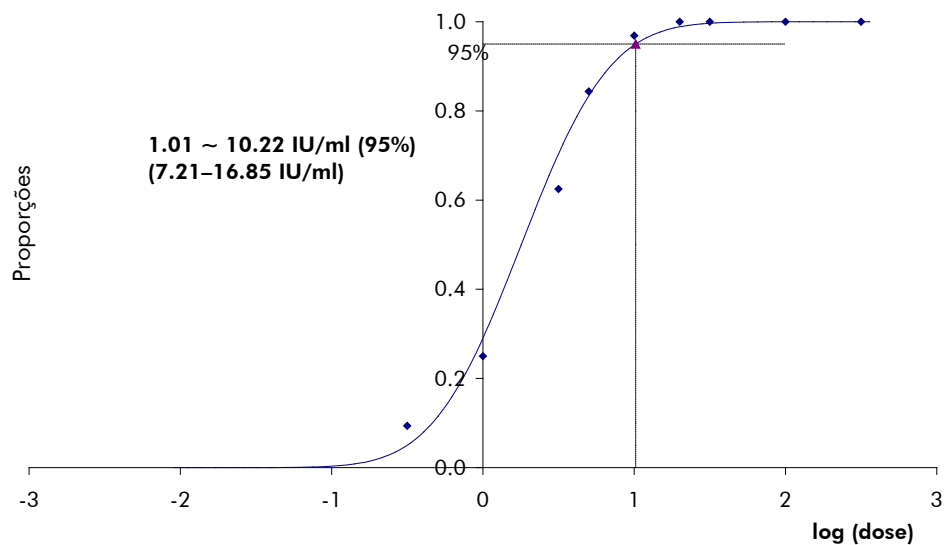


Figura 1. Análise de probit: plasma, HBV (QIASymphony RGQ). LOD (plasma, purificação utilizando o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit) do kit *artus* HBV QS-RGQ no QIASymphony RGQ.

Especificidade — plasma

A especificidade do kit *artus* HBV QS-RGQ é assegurada, antes de mais nada, pela seleção dos primers e sondas, além da seleção de condições de reação rigorosas. Os primers 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 genótipos relevantes foi assim assegurada por um alinhamento da base de dados e por um ensaio de PCR nos instrumentos Rotor-Gene com os seguintes genótipos (ver tabela 1).

Tabela 1. Testes de especificidade dos genótipos relevantes

| Vírus | Genótipo | Fonte | HBV (Cycling Green) | Controle 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 HBV com diferenças de sequências conhecidas na região pré-cerne do genoma do HBV (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Flórida, EUA). Todas as 9 estirpes mutantes do pré-cerne deste painel podem ser detectadas usando o kit *artus* HBV QS-RGQ.

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

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do kit *artus* HBV QS-RGQ usando o grupo de controle listado na tabela 2. Nenhum dos patógenos testados demonstrou reatividade. Não ocorreram reações cruzadas com infecções mistas.

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

| Grupo de controle | HBV (Cycling Green) | Controle 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 zóster) | - | + |
| 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 do kit *artus* HBV QS-RGQ com o sistema QIASymphony RGQ foi determinado analisando uma diluição seriada de plasma positivo para HBV de titulação alta (National University Hospital, Cingapura), com diluições entre $4,21 \times 10^8$ IU/ml e $7,15 \times 10^0$ IU/ml. A purificação foi efetuada em replicatas (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 kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen junto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 μ l). Cada uma das amostras foi analisada usando o kit *artus* HBV QS-RGQ. O intervalo linear do kit *artus* HBV QS-RGQ foi determinado para abranger as concentrações entre $3,16 \times 10^1$ IU/ml e $2,00 \times 10^7$ IU/ml (figura 2).

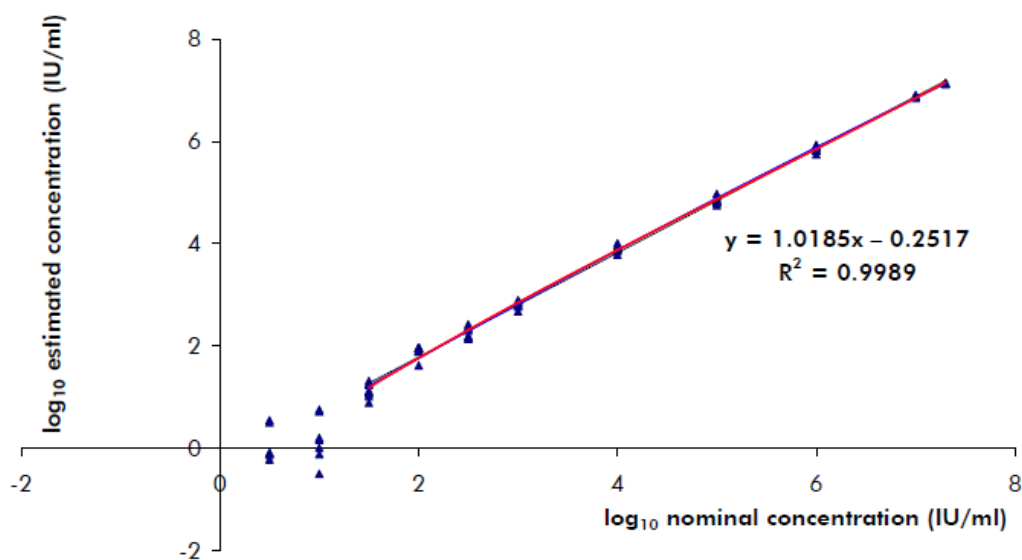


Figura 2. Intervalo linear para o kit *artus* HBV QS-RGQ. O gráfico foi determinado por análise de regressão das concentrações calculadas de log₁₀ com as concentrações nominais de log₁₀. A equação da linha de regressão está incluída na figura.

Precisão

Os dados de precisão do kit *artus* HBV QS-RGQ permitem a determinação da variância total do ensaio. A variância total consiste na variabilidade intra-ensaio (variabilidade de resultados múltiplos de amostras da mesma concentração num experimento), na variabilidade inter-ensaio (variabilidade de resultados múltiplos do ensaio gerados em vários instrumentos do mesmo tipo por operadores diferentes num laboratório) e na variabilidade inter-lote (variabilidade de resultados múltiplos do ensaio usando vários 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 controle interno.

Os dados de precisão analítica do kit *artus* HBV QS-RGQ (sem considerar a purificação) foram coletados usando o padrão de quantificação da concentração mais baixa (QS 5; 10 IU/ μ l). O teste foi realizado com 8 replicatas. Os dados de precisão foram calculados com base nos valores de C_T das curvas de amplificação (C_T : "threshold cycle", 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: Controle interno | 0,10 | 0,01 | 1,06 |
| Variabilidade inter-ensaio HBV RG/TM QS 5 | 0,14 | 0,02 | 0,49 |
| Variabilidade inter-ensaio Controle interno | 0,29 | 0,08 | 1,00 |
| Variabilidade inter-lote: HBV RG/TM QS 5 | 0,38 | 0,15 | 1,39 |
| Variabilidade inter-lote: Controle interno | 0,62 | 0,39 | 2,23 |
| Variância total: HBV RG/TM QS 5 | 0,36 | 0,13 | 1,29 |
| Variância total: Controle 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 controle interno. Estes valores se baseiam 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 inter-lote: 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 do kit *artus* HBV QS-RGQ no QIA Symphony RGQ foram coletados usando material-padrão de HBV Acrometrix com uma concentração de $1,00 \times 10^3$ IU/ml introduzido nas amostras clínicas de plasma. Os testes foram efetuados usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen, em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 μ l). Os testes foram realizados em 36 replicatas, utilizando uma matriz de vários lotes do kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen e do kit *artus* HBV QS-RGQ. 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 controle interno (tabelas 5 e 6). Estes valores se baseiam na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas no QIA Symphony RGQ.

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

| | Desvio-padrão | Variância | Coefficiente de variação (%) |
|---|----------------------|------------------|-------------------------------------|
| Padrão de HBV Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ IU/ml) | 0,37 | 0,13 | 1,22 |
| Controle 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 (%) |
|--|------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Padrão de HBV 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 kit *artus* HBV QS-RGQ. Para verificar a robustez, 100 amostras de plasma negativas para HBV foram contaminadas com 30 IU/ml de HBV (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao limite de sensibilidade analítica). Após extração usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen 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* HBV QS-RGQ. Adicionalmente, a robustez do controle interno foi avaliada por purificação e análise das 100 amostras de plasma contaminadas. Não foram observadas inibições. Sendo assim, a robustez do kit *artus* HBV QS-RGQ é de ≥99%.

Reprodutibilidade

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

Contaminação cruzada

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

Para obter informações de licenciamento atualizadas e termos de isenção de responsabilidade específicos do produto, consultar o manual do usuário ou o manual de instruções do respectivo kit QIAGEN. Os manuais dos kits QIAGEN e manuais do usuário estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à assistência técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

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

Setembro de 2015 HB-2001-D01-001 © 2015 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com Brasil # 0800-557779



Sample & Assay Technologies