

# Kit *artus*<sup>®</sup> HCV QS-RGQ

---

## Características de desempenho

Kit *artus* HCV QS-RGQ, versão 1, n° cat. 4518356

### Controle de versão

Este documento é designado como Características de desempenho do kit *artus* HCV QS-RGQ, versão 1, R1.



Verificar se há novas revisões de rotulagem eletrônica disponíveis em [www.qiagen.com/artus-HCV-QS-RGQ-eL](http://www.qiagen.com/artus-HCV-QS-RGQ-eL) antes de realizar o teste.

### Limite de detecção

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

O LOD relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foi determinado utilizando amostras de plasma clínicas contaminadas com uma diluição seriada do padrão HCV da Acrometix<sup>®</sup> (o padrão foi calibrado conforme o 2º Padrão Internacional da OMS) de 150 ao valor nominal de 0,316 HCV IU/ml. Estas amostras foram sujeitas a extração de RNA usando o kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 8 diluições foi analisada com o kit *artus* HCV QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 4 corridas de ensaio com até 15 replicatas cada. O valor LOD foi determinado por uma análise de probit e verificado usando lotes adicionais do kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen e do kit *artus* HCV QS-RGQ Kit a 20 IU/ml (analisado em 4 dias diferentes em 4 corridas com 15 replicatas por corrida). As taxas de incidência do experimento probit e do experimento de verificação são apresentadas na tabela 1. O LOD relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene Q utilizando análise de probit é de 21 IU/ml ( $p = 0,05$ ; intervalo de confiança de 95% de 16–33 IU/ml). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de o limite 21 IU/ml ser detectado.

Setembro de 2015



---

Sample & Assay Technologies

**Tabela 1. Análise da taxa de incidência para o estudo LOD do HCV (os dados foram usados para a análise de probit e para o estudo de verificação)**

| <b>Titulação de HCV (IU/ml)</b> | <b>Número total de replicatas</b> | <b>Número total de positivos</b> | <b>Porcentagem de positivos</b> |
|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| <b>Análise de probit</b>        |                                   |                                  |                                 |
| 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                               |
| <b>Verificação</b>              |                                   |                                  |                                 |
| 20                              | 60                                | 57                               | 95,00                           |

## Especificidade

A especificidade do kit *artus* HCV 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 2).

Além disso, a especificidade foi validada com 100 amostras diferentes de plasma negativo para HCV. Estas não geraram quaisquer sinais com os primers e sondas específicos do HCV que estão incluídos nos Hep. C Virus RG Masters.

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do kit *artus* HCV QS-RGQ usando o grupo de controle listado na tabela 3 (página 4). Nenhum dos patógenos testados demonstrou reatividade. Não ocorreram reações cruzadas com infecções mistas.

**Tabela 2. Testes de especificidade dos genótipos relevantes**

| <b>Vírus</b>           | <b>Genótipo</b> | <b>Fonte</b>                              | <b>HCV<br/>(Cycling<br/>Green)</b> | <b>Controle<br/>interno (Cycling<br/>Orange)</b> |
|------------------------|-----------------|---|------------------------------------|--|
| Vírus da<br>hepatite C | 1               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |
| Vírus da<br>hepatite C | 2               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |
| Vírus da<br>hepatite C | 3               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |
| Vírus da<br>hepatite C | 4               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |
| Vírus da<br>hepatite C | 5               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |
| Vírus da<br>hepatite C | 6               | NIBSC, HemaCare,<br>Universidade de Essen | +                                  | +  |

\* National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire.

**Tabela 3. Testes de especificidade do kit com patógenos com potencial de reação cruzada**

| <b>Grupo de controle</b>                                  | <b>HCV<br/>(Cycling Green)</b> | <b>Controle interno<br/>(Cycling Orange)</b> |
|---|--------------------------------|--|
| Vírus da imunodeficiência humana 1                        | –                              | +  |
| Vírus da hepatite A                                       | –                              | +  |
| Vírus da hepatite B                                       | –                              | +  |
| 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 5 (citomegalovírus)                   | –                              | +  |
| Vírus da leucemia de células T humano tipo 1 e tipo 2     | –                              | +  |
| Vírus herpes humano 6A                                    | –                              | +  |
| Vírus herpes humano 6B                                    | –                              | +  |
| Vírus herpes humano 8 (vírus herpes do sarcoma de Kaposi) | –                              | +  |
| Enterovírus   | –                              | +  |
| Parvovírus B19  | –                              | +  |
| Dengue  | –                              | +  |
| Febre amarela   | –                              | +  |
| <i>Aspergillus flavus</i>                                 | –                              | +  |
| <i>Aspergillus fumigatus</i>                              | –                              | +  |
| <i>Candida albicans</i>                                   | –                              | +  |
| <i>Chlamydia trachomatis</i>                              | –                              | +  |
| <i>Cryptosporidium parvum</i>                             | –                              | +  |
| <i>Filobasidiella neoformans</i>                          | –                              | +  |

A tabela continua na página seguinte

**Tabela 3. Continuação**

| <b>Grupo de controle</b>        | <b>HCV<br/>(Cycling Green)</b> | <b>Controle interno<br/>(Cycling Orange)</b> |
|---------------------------------|--------------------------------|--|
| <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 linear

O intervalo linear relativo à purificação do kit *artus* HCV QS RGQ foi determinado pela análise de uma diluição seriada do material-padrão HCV Acrometrix, variando entre  $1,77 \times 10^7$  IU/ml e  $2,50 \times 10^1$  IU/ml. A purificação foi efetuada em replicatas ( $n = 4$  para concentrações  $\geq 1,00 \times 10^5$  IU/ml;  $n = 8$  para concentrações  $< 1,00 \times 10^5$  IU/ml) usando o kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen junto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60  $\mu$ l). Cada uma das amostras foi analisada usando o kit *artus* HCV QS-RGQ. O intervalo linear relativo à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foi determinado para abranger as concentrações entre  $3,50 \times 10^1$  IU/ml e  $1,77 \times 10^7$  IU/ml.

## Precisão

Os dados de precisão do kit *artus* HCV 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 diferentes 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* HCV QS-RGQ (sem considerar a purificação) foram coletados usando os padrões de quantificação de concentração mais baixos (QS 4; 10 IU/ $\mu$ 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 4). Além disso, foram

determinados dados de precisão para resultados quantitativos em IU/ $\mu$ l, utilizando os valores de  $C_T$  correspondentes (tabela 5, página 7). Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,52% ( $C_T$ ) ou 25,71% (concentração), e 0,75% ( $C_T$ ) 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 valores de  $C_T$**

|   | <b>Valor <math>C_T</math></b> | <b>Desvio-padrão</b> | <b>Coefficiente de variação (%)</b> |
|---|-------------------------------|----------------------|-------------------------------------|
| Variabilidade intra-ensaio:<br>Hep. C Virus RG QS 4 | 32,81                         | 0,09                 | 0,28                                |
| Variabilidade intra-ensaio:<br>Hep. C Virus RG IC   | 30,04                         | 0,08                 | 0,27                                |
| Variabilidade inter-ensaio<br>Hep. C Virus RG QS 4  | 32,14                         | 0,5                  | 1,57                                |
| Variabilidade inter-ensaio<br>Hep. C Virus RG IC    | 30,23                         | 0,22                 | 0,71                                |
| Variabilidade inter-lote:<br>Hep. C Virus RG QS 4   | 32,56                         | 0,48                 | 1,46                                |
| Variabilidade inter-lote:<br>Hep. C Virus RG IC     | 30,28                         | 0,24                 | 0,78                                |
| Variância total:<br>Hep. C Virus RG QS 4            | 32,41                         | 0,49                 | 1,52                                |
| Variância total:<br>Hep. C Virus RG IC              | 30,29                         | 0,29                 | 0,75                                |

**Tabela 5. Dados de precisão com base nos resultados quantitativos (em IU/ $\mu$ l)**

|   | <b>Desvio-padrão</b> | <b>Variância</b> | <b>Coefficiente de variação (%)</b> |
|---|----------------------|------------------|-------------------------------------|
| Variabilidade intra-ensaio:<br>Hep. C Virus RG QS 4 | 0,64                 | 0,41             | 6,34                                |
| Variabilidade inter-ensaio<br>Hep. C Virus RG QS 4  | 1,00                 | 1,00             | 9,93                                |
| Variabilidade inter-lote:<br>Hep. C Virus RG QS 4   | 3,92                 | 15,34            | 37,35                               |
| Variância total:<br>Hep. C Virus RG QS 4            | 2,63                 | 6,93             | 25,71                               |

Os dados de precisão relativos à purificação do kit *artus* HCV QS-RGQ foram coletados usando material-padrão de HCV 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 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60  $\mu$ l). Os testes foram efetuados em 36 replicatas utilizando uma matriz de vários lotes do kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi e do kit *artus* HCV QS-RGQ. Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 0,95% ( $C_T$ ) ou 20,07% (concentração), e 1,26% ( $C_T$ ) para a detecção do controle interno (tabelas 6 e 7). Estes valores baseiam-se na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas para a purificação.

**Tabela 6. Dados de precisão (variância total) com base nos valores de  $C_T$** 

|  | <b>Desvio-padrão</b> | <b>Variância</b> | <b>Coefficiente de variação (%)</b> |
|--|----------------------|------------------|-------------------------------------|
| Padrão de HCV Acrometrix ( $1,00 \times 10^3$ IU/ml) | 0,30                 | 0,09             | 0,95                                |
| Controle interno (HCV, $1,00 \times 10^3$ IU/ml)     | 0,43                 | 0,18             | 1,26                                |

**Tabela 7. Dados de precisão (variância total) com base nos resultados quantitativos (em IU/ml)**

|   | <b>Média</b>           | <b>Desvio-padrão</b>   | <b>Coefficiente de variação (%)</b> |
|---|------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Padrão de HCV Acrometrix (1,00 x 10 <sup>3</sup> IU/ml) | 2,37 x 10 <sup>3</sup> | 4,76 x 10 <sup>2</sup> | 20,07                               |

## Robustez

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do kit *artus* HCV QS-RGQ. Para verificar a robustez, 100 amostras de plasma negativas para HCV foram contaminadas com 110 IU/ml de HCV (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao LOD). Após extração usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi em conjunto com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl), estas amostras foram analisadas com o kit *artus* HCV 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* HCV QS-RGQ é de ≥99%.

## Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do kit *artus* HCV 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](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à assistência técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

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

Setembro de 2015 HB-2002-D01-001 © 2015 QIAGEN, todos os direitos reservados.

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

Brasil = 0800-557779



---

Sample & Assay Technologies