

artus[®] HCV QS-RGQ Kit

Caratteristiche delle prestazioni

artus HCV QS-RGQ Kit, versione 1, REF 4518363, 4518366

Gestione della versione

Questo documento descrive le caratteristiche delle prestazioni del kit *artus* HCV QS-RGQ, versione 1, R3.



Prima di eseguire il test verificare la disponibilità di nuove revisioni delle etichette elettroniche nel sito www.qiagen.com/products/artushcvsrgqprkitce.aspx.

Limite di rilevabilità

Il limite di rilevabilità (LOD), tenendo conto della purificazione (limite di sensibilità), è stato calcolato per il kit *artus* HCV QS-RGQ utilizzando campioni clinici HCV-positivi in combinazione con l'estrazione sul QIA Symphony[®] SP.

Il LOD del kit *artus* HCV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione, è stata determinata utilizzando una serie di diluizioni dello standard HCV di Acrometrix[®] (lo standard è stato calibrato in base al secondo Standard Internazionale WHO) da 150 al valore nominale di 0,316 HCV UI/ml, aggiunte a campioni clinici di plasma. I campioni sono stati sottoposti ad estrazione dell'RNA con il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 µl). Ciascuna delle 8 diluizioni è stata analizzata con il kit *artus* HCV QS-RGQ in 4 giorni diversi nell'ambito di 4 sedute con massimo 15 replicati ciascuna. Il LOD è stato calcolato mediante un'analisi probit e verificato utilizzando ulteriori lotti del kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen e del kit *artus* HCV QS-RGQ a 20 UI/ml (analisi effettuate in 4 giorni diversi nell'ambito di 4 sedute con 15 replicati ciascuna). I tassi di successo dell'analisi probit e dell'analisi di verifica sono illustrati nella Tabella 1. Il LOD del kit *artus* HCV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione in combinazione con il Rotor-Gene Q, è stato calcolato utilizzando un'analisi probit ed è pari a 21 UI/ml ($p = 0,05$; intervallo di confidenza al 95% di 16–33 UI/ml). Ciò significa che esiste una probabilità del 95% che vengano rilevate 21 UI/ml.

Gennaio 2014



Sample & Assay Technologies

Tabella 1. Tassi di successo per stabilire il LOD per HCV (i dati sono stati utilizzati per l'analisi probit e l'analisi di verifica)

Titolo HCV (UI/ml)	Numero totale replicati	Numero totale di positivi	Percentuale di positivi
Analisi 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
Verifica			
20	60	57	95,00

Specificità

La specificità del kit *artus* HCV QS-RGQ è garantita in primo luogo dalla selezione dei primer e delle sonde, e poi dalla selezione di condizioni di reazione stringenti. I primer e le sonde sono stati controllati per accertare eventuali omologie con tutte le sequenze pubblicate nelle banche genetiche mediante analisi comparativa delle sequenze. La rilevabilità di tutti i genotipi importanti è stata così assicurata da un allineamento del database e da un'analisi PCR eseguita su strumenti Rotor-Gene con i seguenti genotipi (vedi Tabella 2).

Inoltre, la specificità è stata convalidata con 100 diversi campioni di plasma HCV-negativi. Tali campioni non hanno generato segnali con i primer e le sonde specifici per HCV inclusi negli Hep. C Virus RG Master.

Una potenziale cross-reattività del kit *artus* HCV QS-RGQ è stata rilevata con il gruppo di controllo elencato nella Tabella 3 (pag. 4). Nessuno dei patogeni testati è risultato reattivo. Non sono state riscontrate cross-reattività con infezioni miste.

Tabella 2. Analisi della specificità di genotipi importanti

Virus	Genotipo	Origine	HCV (Cycling Green, ciclo verde)	Controllo interno (Cycling Orange, ciclo arancione)
Virus dell'epatite C	1	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	2	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	3	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	4	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	5	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+
Virus dell'epatite C	6	NIBSC, HemaCare, Università di Essen	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control (Istituto Nazionale per il Controllo e gli Standard Biologici), Hertfordshire.

Tabella 3. Analisi della specificità del kit con patogeni potenzialmente cross-reattivi

Gruppo di controllo	HCV (Cycling Green)	Controllo interno (Cycling Orange)
Virus dell'immunodeficienza umana 1	–	+
Virus dell'epatite A	–	+
Virus dell'epatite B	–	+
Herpesvirus umano 1 (virus dell'herpes simplex 1)	–	+
Herpesvirus umano 2 (virus dell'herpes simplex 2)	–	+
Herpesvirus umano 3 (virus della varicella-zoster)	–	+
Herpesvirus umano 5 (citomegalovirus)	–	+
Virus della leucemia a cellule T umana tipo 1 e tipo 2	–	+
Herpesvirus umano 6A	–	+
Herpesvirus umano 6B	–	+
Herpesvirus umano 8 (herpes virus del sarcoma di Kaposi)	–	+
Enterovirus	–	+
Parvovirus B19	–	+
Febbre dengue	–	+
Febbre gialla	–	+
<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 tabella continua alla pagina seguente

Tabella 3. Continua

Gruppo di controllo	HCV (Cycling Green)	Controllo 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>	–	+

Range lineare

Il range lineare del kit *artus* HCV QS RGQ, tenendo conto della purificazione, è stato determinato analizzando una serie di diluizioni del materiale standard HCV Acrometrix in un intervallo da $1,77 \times 10^7$ UI/ml a $2,50 \times 10^1$ UI/ml. La purificazione è stata eseguita in replicati ($n = 4$ per concentrazioni $\geq 1,00 \times 10^5$ UI/ml; $n = 8$ per concentrazioni $< 1,00 \times 10^5$ UI/ml) utilizzando il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 μ l). Ogni campione è stato analizzato con il kit *artus* HCV QS-RGQ. Il range lineare del kit *artus* HCV QS-RGQ, tenendo conto della purificazione, è stato determinato per coprire le concentrazioni da $3,50 \times 10^1$ UI/ml a $1,77 \times 10^7$ UI/ml.

Precisione

I dati sulla precisione del kit *artus* HCV QS-RGQ consentono la determinazione della varianza totale del test. La varianza totale è costituita dalla variabilità intra-assay (variabilità di risultati multipli di campioni con la stessa concentrazione all'interno di uno stesso esperimento), dalla variabilità inter-assay (variabilità di risultati multipli del test ottenuti su diversi strumenti dello stesso tipo da diversi operatori all'interno dello stesso laboratorio) e dalla variabilità inter-lotto (variabilità di risultati multipli del test ottenuti utilizzando diversi lotti). I dati ottenuti sono stati utilizzati per determinare la deviazione standard, la varianza e il coefficiente di variazione per il patogeno specifico e il controllo interno di PCR.

I dati sulla precisione analitica del kit *artus* HCV QS-RGQ (senza tenere conto della purificazione) sono stati raccolti utilizzando lo standard di quantificazione della concentrazione più bassa (QS 4; 10 UI/ μ l). I test sono stati effettuati con 8 replicati. I dati sulla precisione sono stati calcolati sulla base dei valori C_T delle curve di amplificazione (C_T : ciclo soglia, vedi Tabella 4). Inoltre, i dati sulla

precisione per i risultati quantitativi in UI/ μ l sono stati stabiliti utilizzando i corrispondenti valori CT (Tabella 5, pag. 7). Sulla base di questi risultati, lo scarto statistico generale di un dato campione alla concentrazione menzionata è pari a 1,52% (C_T) o 25,71% (concentrazione), e a 0,75% (C_T) per il rilevamento del controllo interno. Questi valori si basano sulla totalità dei singoli valori delle variabilità stabilite.

Tabella 4. Dati sulla precisione basati sui valori C_T

	Valore C_T	Deviazione standard	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG QS 4	32,81	0,09	0,28
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG IC	30,04	0,08	0,27
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG QS 4	32,14	0,5	1,57
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG IC	30,23	0,22	0,71
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG QS 4	32,56	0,48	1,46
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG IC	30,28	0,24	0,78
Varianza totale: Hep. C Virus RG QS 4	32,41	0,49	1,52
Varianza totale: Hep. C Virus RG IC	30,29	0,29	0,75

Tabella 5. Dati sulla precisione basati sui risultati quantitativi (in UI/ μ l)

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-assay: Hep. C Virus RG QS 4	0,64	0,41	6,34
Variabilità inter-assay: Hep. C Virus RG QS 4	1,00	1,00	9,93
Variabilità inter-lotto: Hep. C Virus RG QS 4	3,92	15,34	37,35
Varianza totale: Hep. C Virus RG QS 4	2,63	6,93	25,71

I dati sulla precisione del kit *artus* HCV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) sono stati raccolti utilizzando il materiale standard HCV Acrometrix con una concentrazione di $1,00 \times 10^3$ UI/ml aggiunto a campioni clinici di plasma. I test sono stati eseguiti con il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 μ l). I test sono stati condotti su 36 replicati con una matrice di vari lotti del kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi e del kit *artus* HCV QS-RGQ. Sulla base di questi risultati, lo scarto statistico generale di un dato campione alla concentrazione menzionata è pari a 0,95% (C_T) o 20,07% (concentrazione), e a 1,26% (C_T) per il rilevamento del controllo interno (Tabelle 6 e 7). Questi valori si basano sulla totalità di tutti i singoli valori delle variabilità determinate tenendo conto della purificazione.

Tabella 6. Dati sulla precisione (varianza totale) basati sui valori C_T

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Standard HCV Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,30	0,09	0,95
Controllo interno (HCV, $1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,43	0,18	1,26

Tabella 7. Dati sulla precisione (varianza totale) basati sui risultati quantitativi (in UI/ml)

	Media	Deviazione standard	Coefficiente di variazione (%)
Standard HCV Acrometrix (1,00 x 10 ³ UI/ml)	2,37 x 10 ³	4,76 x 10 ²	20,07

Robustezza

La verifica della robustezza consente la determinazione del tasso globale d'errore del kit *artus* HCV QS-RGQ. Per verificare la robustezza, sono stati aggiunti a 100 campioni di plasma HCV-negativi 110 UI/ml di HCV (all'incirca tre volte la concentrazione del LOD). In seguito ad estrazione con il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi in combinazione con il protocollo Cellfree1000_DSP (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 µl), i campioni sono stati analizzati con il kit *artus* HCV QS-RGQ. Inoltre, la robustezza del controllo interno è stata valutata mediante purificazione e analisi dei 100 campioni di plasma arricchiti. Non sono state osservate inibizioni. La robustezza del kit *artus* HCV QS-RGQ è pari al ≥99%.

Riproducibilità

I dati di riproducibilità consentono una regolare valutazione delle prestazioni del kit *artus* HCV QS-RGQ, nonché un confronto di efficacia con altri prodotti. Questi dati sono ottenuti dalla partecipazione a programmi di valutazione consolidati.

Cross-contaminazione

L'assenza di cross-contaminazione fra i campioni per l'intero flusso di lavoro è stata dimostrata dal corretto rilevamento di tutti i campioni positivi e negativi in posizioni alternate (modello a scacchiera) per un sistema *artus* QS-RGQ rappresentativo.

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili nel sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi: QIAGEN®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (Gruppo QIAGEN); Acrometrix® (Life Technologies).

Gennaio 14 HB-0372-D01-003 © 2012–2014 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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