

Kit *artus*[®] HI Virus-1 QS-RGQ

Características de desempenho

Kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ, versão 1, n° cat. 4513356

Controle de versão

Este documento é designado como Características de desempenho do Kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ, versão 1, R1.



Verificar se há novas revisões de rotulagem eletrônica disponíveis em www.qiagen.com/artus-HIV1-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* HI Virus-1 QS-RGQ utilizando amostras clínicas positivas para HIV em combinação com a extração no QIAAsymphony[®] SP.

O LOD relativo à purificação do kit *artus* HI Virus 1 QS-RGQ foi determinado usando amostras de plasma clínicas contaminadas com uma diluição seriada do 2° Padrão Internacional da OMS para RNA de HIV-1 (código 97/650 do NIBSC), de 316 para o valor nominal de 5 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* HI Virus-1 QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 5 corridas de ensaio com 11 replicatas cada. Os resultados foram determinados por análise de probit. A figura 1 representa uma ilustração gráfica da análise de probit. O LOD relativo à purificação do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ, em combinação com o Rotor-Gene[®] Q é de 76,4 IU/ml ($p = 0,05$). Isto significa que existe uma probabilidade de 95% de o limite de 76,4 IU/ml ser detectado (correspondendo a 34,4 cópias/ml).

Setembro de 2015



Sample & Assay Technologies

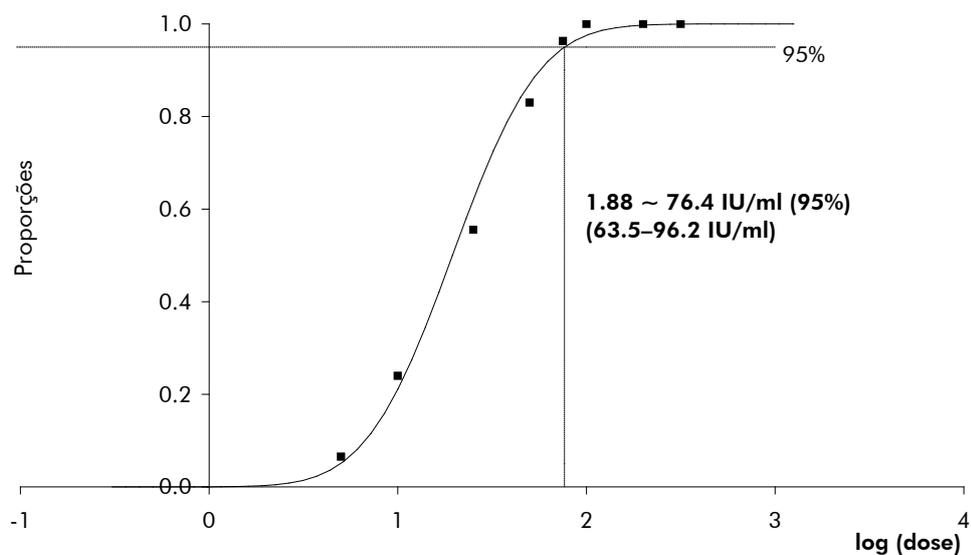


Figura 1. Análise de probit: HIV-1 (Rotor-Gene Q). LOD relativo à purificação (kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen) do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ no Rotor-Gene Q.

Especificidade

A especificidade do kit *artus* HI Virus-1 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 RT-PCR em um instrumento Rotor-Gene com os seguintes genótipos (ver tabela 1).

Tabela 1. Testes de especificidade dos genótipos relevantes

Vírus	Genótipo	Fonte	HIV (Cycling Green)	Controle interno (Cycling Orange)
HIV-1	A	NIBSC*	+	+
HIV-1	B	NIBSC	+	+
HIV-1	C	NIBSC	+	+
HIV-1	D	NIBSC	+	+
HIV-1	E	NIBSC	+	+
HIV-1	F	NIBSC	+	+
HIV-1	G	NIBSC	+	+
HIV-1	H	NIBSC	+	+

* National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire.

Além disso, a especificidade foi validada com 100 amostras diferentes de plasma negativo para HIV. Estas não geraram quaisquer sinais com os primers e sondas específicos do HIV-1 que estão incluídos nos HI Virus-1 RG Masters.

Foi também testada a possibilidade de reações cruzadas do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ usando o grupo de controle listado na tabela 2 (página 4). 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	HIV (Cycling Green)	Controle interno (Cycling Orange)
Vírus da hepatite A	-	+
Vírus da hepatite B	-	+
Vírus da hepatite C	-	+
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	-	+
Enterovírus	-	+
Parvovírus B19	-	+
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>	-	+
<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* HI Virus-1 QS RGQ foi determinado por análise de uma diluição seriada do material-padrão HIV Acrometrix[®], variando entre $1,00 \times 10^8$ IU/ml e $2,50 \times 10^1$ IU/ml. A purificação foi efetuada em replicatas ($n = 4$ para concentrações $\geq 1,00 \times 10^7$ IU/ml; $n = 8$ para concentrações $< 1,00 \times 10^7$ IU/ml) usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen em conjunto com o protocolo Cellfree1000 (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: $60 \mu\text{l}$). Cada uma das amostras foi analisada usando o kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. O intervalo linear relativo à purificação do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ foi determinado para abranger as concentrações entre $1,00 \times 10^2$ IU/ml e $1,00 \times 10^8$ IU/ml (correspondendo a um valor entre $4,5 \times 10^1$ e $4,5 \times 10^7$ cópias/ml).

Precisão

Os dados de precisão do kit *artus* HI Virus-1 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* HI Virus-1 QS-RGQ (sem considerar a purificação) foram coletados usando o padrão de quantificação da concentração mais baixa (QS4; $10 \text{ IU}/\mu\text{l}$). 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). Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,66% (C_T) e 2,15% (C_T) para a detecção do controle interno. Estes valores se baseiam na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas.

Tabela 3. Dados de precisão com base nos valores de C_T

	Valor C_T	Desvio-padrão	Coefficiente de variação (%)
Variabilidade intra-ensaio: HI Virus-1 RG QS 4	35,62	0,45	1,26
Variabilidade intra-ensaio: Controle interno	31,24	0,18	0,58
Variabilidade inter-ensaio HI Virus-1 RG QS 4	35,75	0,56	1,55
Variabilidade inter-ensaio Controle interno	31,65	0,36	1,13
Variabilidade inter-lote: HI Virus-1 RG QS 4	35,40	0,61	1,73
Variabilidade inter-lote: Controle interno	31,20	0,55	1,76
Variância total: HI Virus-1 RG QS 4	35,58	0,59	1,66
Variância total: Controle interno	31,40	0,67	2,15

Os dados de precisão relativos à purificação do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ foram coletados usando material-padrão de HIV Acrometrix com uma concentração de $1,00 \times 10^3$ IU/ml introduzido nas amostras clínicas de plasma. Os testes foram realizados usando o kit QIASymphony 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 QIASymphony DSP Virus/Pathogen e do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. Tendo por base estes resultados, a dispersão estatística global de uma dada amostra com a concentração referida é de 1,45% (C_T) ou 31,34% (concentração), e 1,47% (C_T) para a detecção do controle interno (tabelas 4 e 5). Estes valores se baseiam na totalidade dos valores individuais das variabilidades determinadas para a purificação.

Tabela 4. Dados de precisão (variância total) com base nos valores de C_T

	Desvio-padrão	Variância	Coefficiente de variação (%)
Padrão de HIV Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,48	0,24	1,45
Controle interno (HIV, 1,00 x 10 ³ IU/ml)	0,51	0,26	1,47

Tabela 5. Dados de precisão (variância total) com base nos resultados quantitativos (em IU/ml)

	Média	Desvio-padrão	Coefficiente de variação (%)
Padrão de HIV Acrometrix (1,00 x 10 ³ IU/ml)	1,54 x 10 ³	4,84 x 10 ²	31,34

Robustez

A verificação da robustez permite a determinação da taxa de insucesso total do kit *artus* HI Virus-1 QS-RGQ. Para verificar a robustez, 100 amostras de plasma negativas para HIV foram contaminadas com 230 IU/ml de HIV (uma concentração aproximadamente três vezes superior ao LOD). 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* HI Virus-1 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* HI Virus-1 QS-RGQ é de ≥99%.

Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do kit *artus* HI Virus-1 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-2004-D01-001 ©2015 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Brasil = 0800-557779



Sample & Assay Technologies