

Kit *artus*[®] HBV QS-RGQ

Caratteristiche delle prestazioni

Kit *artus* HBV QS-RGQ, versione 1,

REF

 4506363, 4506366



Prima di eseguire il test, verificare la disponibilità delle nuove revisioni delle etichette elettroniche in www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx. Lo stato corrente della revisione è indicato dalla data di emissione (formato: mese/anno).

Sensibilità analitica — plasma

Il limite di rilevazione analitica, tenendo conto della purificazione (limite di sensibilità), è stato determinato per il kit *artus* HBV QS-RGQ utilizzando campioni clinici HBV-positivi in combinazione con l'estrazione sul QIASymphony[®] SP.

La sensibilità analitica del kit *artus* HBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) è stata determinata utilizzando una serie di diluizioni da 316 a 0,316 UI/ml nominali di HBV, aggiunte a campioni di plasma clinici, come previsto dal 2° Standard Internazionale OMS per le Tecniche di Amplificazione dell'Acido Nucleico relative al DNA del virus dell'epatite B (codice NIBSC 97/750). I campioni sono stati poi sottoposti ad estrazione del DNA con il kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 µl). Ciascuna delle 9 diluizioni è stata analizzata con il kit *artus* HBV QS-RGQ in 4 giorni diversi nell'ambito di 4 sedute con 8 replicati ciascuna. I risultati sono stati determinati mediante un'analisi probit. La Fig. 1 illustra graficamente l'analisi probit. Il limite di rilevazione analitica (tenendo conto della purificazione) del kit *artus* HBV QS-RGQ in combinazione con il Rotor-Gene Q è pari a 10,22 UI/ml ($p = 0,05$). Ciò significa che esiste una probabilità del 95% che vengano rilevati 10,22 UI/ml.

Maggio 2012



Sample & Assay Technologies

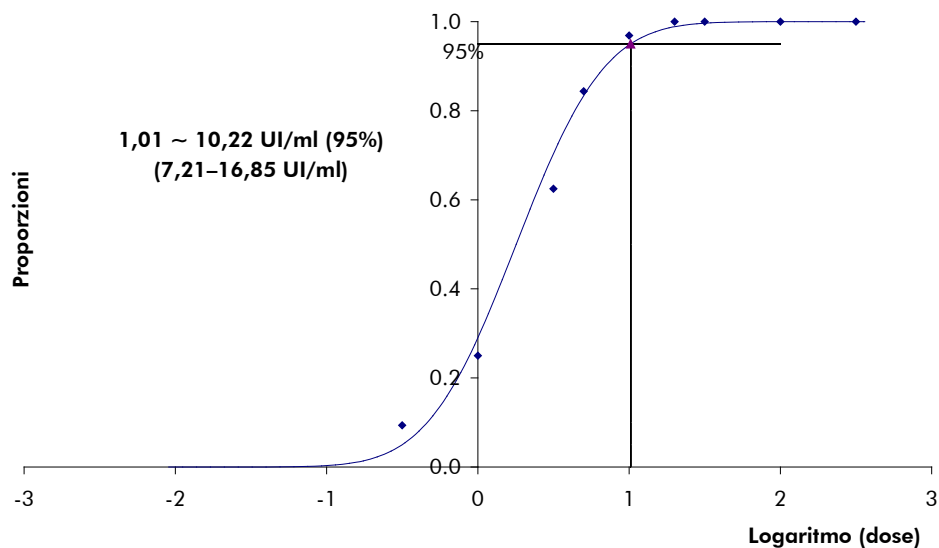


Figura 1. Analisi probit: plasma, HBV (Rotor-Gene Q). Sensibilità analitica, tenendo conto della purificazione, (plasma, utilizzando il kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi) del kit *artus* HBV QS-RGQ sul Rotor-Gene Q.

Specificità — plasma

La specificità del kit *artus* HBV QS-RGQ è garantita in primo luogo dalla selezione dei primer e delle sonde, nonché dalla selezione di rigorose condizioni di reazione. 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 pertinenti 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 1).

Tabella 1. Test della specificità dei ceppi pertinenti

Virus	Genotipo	Origine	BK (Cycling Green)	Virus interno (Cycling Yellow)
HBV	A (USA)	Teragenix*	+	+
HBV	B (Indonesia)	Teragenix	+	+
HBV	C (Indonesia)	Teragenix	+	+
HBV	C (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	D (USA)	Teragenix	+	+
HBV	E (Costa d'Avorio)	Teragenix	+	+
HBV	F (Venezuela)	Teragenix	+	+
HBV	G (USA)	Teragenix	+	+
HBV	H (Nicaragua)	Teragenix	+	+

* Teragenix Corporation, Florida, USA.

Per ulteriori analisi di specificità sono stati impiegati ceppi di HBV con differenze di sequenza note nella regione pre-core del genoma di HBV (HBV Pre-Core Mutant Panel, Teragenix, Florida, USA). Tutti i 9 ceppi mutanti pre-core di questo pool sono stati rilevati con il kit *artus* HBV QS-RGQ.

Inoltre, la specificità è stata convalidata con 100 diversi campioni di plasma HBV-negativi. Tali campioni non hanno generato segnali con i primer e le sonde specifici dell'HBV inclusi nell'HBV RG/TM Master.

È stata rilevata una potenziale cross-reattività del kit *artus* HBV QS-RGQ utilizzando il gruppo di controllo elencato nella Tabella 2. Nessuno dei patogeni testati è risultato reattivo. Non sono state riscontrate cross-reattività con infezioni miste.

Tabella 2. Test della specificità del kit con patogeni potenzialmente cross-reattivi

Gruppo di controllo	HBV (Cycling Green)	Controllo interno (Cycling Yellow)
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 4 (virus di Epstein-Barr)	-	+
Herpesvirus umano 5 (cytomegalovirus)	-	+
Herpesvirus umano 6	-	+
Virus da immunodeficienza umana 1	-	+
Virus dell'epatite A	-	+
Virus dell'epatite C	-	+
Parvovirus B19	-	+
Virus della febbre gialla	-	+
Virus della leucemia a cellule T umana tipo 1 e tipo 2	-	+
Virus Coxsackie B3	-	+
Virus Dengue tipo 1-4	-	+
Escherichia coli	-	+

Intervallo lineare

L'intervallo lineare del kit *artus* HBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) è stato determinato analizzando una serie di diluizioni del materiale standard HBV Acrometrix® in un range compreso tra $2,00 \times 10^7$ UI/ml e $3,16 \times 10^0$ UI/ml. La purificazione è stata eseguita in replicati ($n = 4$ per concentrazioni $\geq 1,00 \times 10^7$ UI/ml; $n = 8$ per concentrazioni $< 1,00 \times 10^7$ UI/ml) utilizzando il kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: $60 \mu\text{l}$). Ogni campione è stato analizzato con il kit *artus* HBV QS-RGQ. L'intervallo lineare del kit *artus* HBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) è stato determinato per coprire le concentrazioni da $3,16 \times 10^1$ UI/ml a $2,00 \times 10^7$ UI/ml (Figura 2).

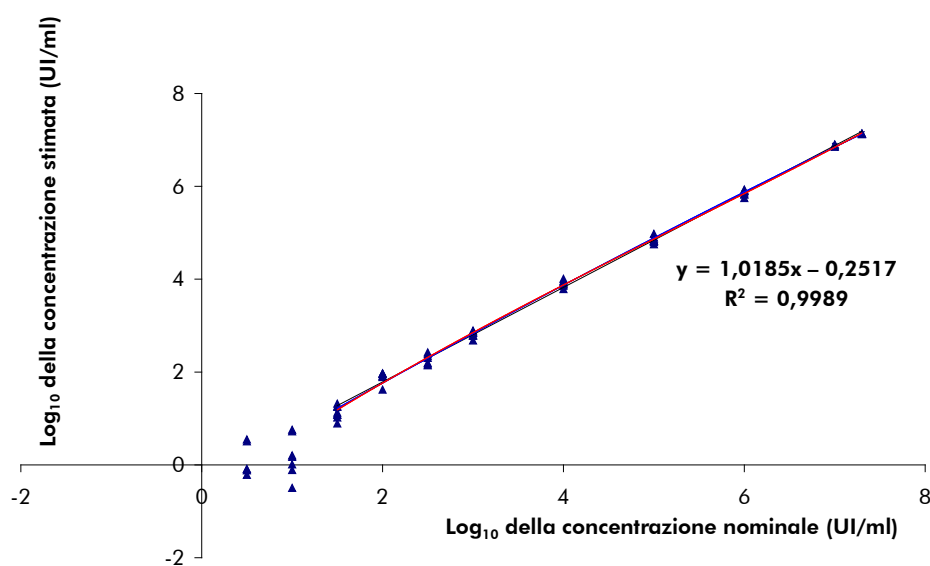


Figura 2. Intervallo lineare del kit *artus* HBV QS-RGQ. Calcolo dell'intervallo lineare. La linea retta è stata determinata mediante una regressione lineare del \log_{10} delle concentrazioni calcolate con il \log_{10} delle concentrazioni nominali. La figura mostra l'equazione della linea di regressione.

Precisione

I dati sulla precisione del kit *artus* HBV QS-RGQ consentono la determinazione della varianza totale del test. La varianza totale è costituita dalla variabilità intra-test (variabilità di risultati multipli di campioni con la stessa concentrazione all'interno di uno stesso esperimento), dalla variabilità inter-test (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 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 PCR.

I dati di precisione analitica del kit *artus* HBV QS-RGQ (senza tenere conto della purificazione) sono stati raccolti utilizzando la quantità standard della concentrazione più bassa (QS 5; 10 UI/ μ l). I test sono stati effettuati con 8 replicati. I dati di precisione sono stati calcolati sulla base dei valori C_T delle curve di amplificazione (C_T : ciclo soglia, vedere Tabella 3).

Tabella 3. Dati di precisione sulla base dei valori C_T

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-test: HBV RG/TM QS 5	0,09	0,01	0,32
Variabilità intra-test: Controllo interno	0,10	0,01	1,06
Variabilità inter-test: HBV RG/TM QS 5	0,14	0,02	0,49
Variabilità inter-test: Controllo interno	0,29	0,08	1,00
Variabilità inter-lotto: HBV RG/TM QS 5	0,38	0,15	1,39
Variabilità inter-lotto: Controllo interno	0,62	0,39	2,23
Varianza totale: HBV RG/TM QS 5	0,36	0,13	1,29
Varianza totale: Controllo interno	0,52	0,27	1,87

Inoltre, i dati di precisione per i risultati quantitativi in UI/ μ l sono stati stabiliti utilizzando i corrispondenti valori C_T (Tabella 4). Sulla base di questi risultati, lo scarto statistico generale di un dato campione alla concentrazione menzionata è pari a 1,29% (C_T) o 8,99% (concentrazione) e a 1,87% (C_T) per la rilevazione del controllo interno. Questi valori si basano sulla totalità dei singoli valori delle variabilità stabilite.

Tabella 4. Dati di precisione sulla base dei risultati quantitativi (in UI/ μ l)

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Variabilità intra-test: HBV RG/TM QS 5	0,93	0,87	9,28
Variabilità inter-test: HBV RG/TM QS 5	0,79	0,63	7,92
Variabilità inter-lotto: HBV RG/TM QS 5	1,03	1,05	10,21
Varianza totale: HBV RG/TM QS 5	0,90	0,81	8,99

Precisione — plasma

I dati di precisione del kit *artus* HBV QS-RGQ (tenendo conto della purificazione) sono stati raccolti utilizzando il materiale standard HBV Acrometrix con una concentrazione di $1,00 \times 10^3$ UI/ml aggiunto a campioni di plasma clinici. I test sono stati eseguiti utilizzando il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen con il protocollo Cellfree1000 (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluzione: 60 μ l). I test sono stati condotti su 36 replicati con una matrice di vari lotti dei kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen e *artus* HBV QS-RGQ. Sulla base di questi risultati, lo scarto statistico generale di un dato campione alla concentrazione menzionata è pari a 1,22% (C_T) o 20,56% (concentrazione) e a 1,29% (C_T) per la rilevazione del controllo interno (Tabelle 5 e 6). Questi valori si basano sulla totalità di tutti i singoli valori delle variabilità determinate tenendo conto della purificazione.

Tabella 5. Dati di precisione (varianza totale) sulla base dei valori C_T

	Deviazione standard	Varianza	Coefficiente di variazione (%)
Standard HBV Acrometrix ($1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,37	0,13	1,22
Controllo interno (HBV, $1,00 \times 10^3$ UI/ml)	0,37	0,14	1,29

Tabella 6. Dati di precisione (varianza totale) sulla base dei risultati quantitativi (in UI/ml)

	Media	Deviazione standard	Coefficiente di variazione (%)
Standard HBV Acrometrix (1,00 x 103 UI/ml)	1,12 x 103	2,29 x 102	20,56

Robustezza

La verifica della robustezza consente la determinazione del tasso globale d'errore del kit *artus* HBV QS-RGQ. Per verificare la robustezza, a 100 campioni di plasma HBV-negativi sono stati aggiunti 30 UI/ml di HBV (all'incirca tre volte la concentrazione del limite di sensibilità analitica). In seguito ad estrazione con il kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen in combinazione con il protocollo Cellfree1000_DSP (volume di estrazione: 1 ml, volume di eluizione: 60 µl), questi campioni sono stati analizzati con il kit *artus* HBV 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* HBV QS-RGQ è risultata $\geq 99\%$.

Riproducibilità

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

Cross-contaminazione

L'assenza di cross-contaminazione fra i campioni per l'intero flusso di lavoro è stata dimostrata dalla corretta rilevazione 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 QIAGEN specifico. 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).

Maggio 12 © 2012 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

www.qiagen.com

Australia # 1-800-243-800

Austria # 0800/281010

Belgium # 0800-79612

Canada # 800-572-9613

China # 021-51345678

Denmark # 80-885945

Finland # 0800-914416

France # 01-60-920-930

Germany # 02103-29-12000

Hong Kong # 800 933 965

Ireland # 1800 555 049

Italy # 800 787980

Japan # 03-5547-0811

Korea (South) # 1544 7145

Luxembourg # 8002 2076

The Netherlands # 0800 0229592

Norway # 800-18859

Singapore # 65-67775366

Spain # 91-630-7050

Sweden # 020-790282

Switzerland # 055-254-22-11

UK # 01293-422-911

USA # 800-426-8157



Sample & Assay Technologies