

Setembro 2017

# Kit *artus*<sup>®</sup> EBV QS-RGQ: Características de desempenho

IVD



REF

4501363PT-BR Kit *artus* EBV QS-RGQ, versão 1.

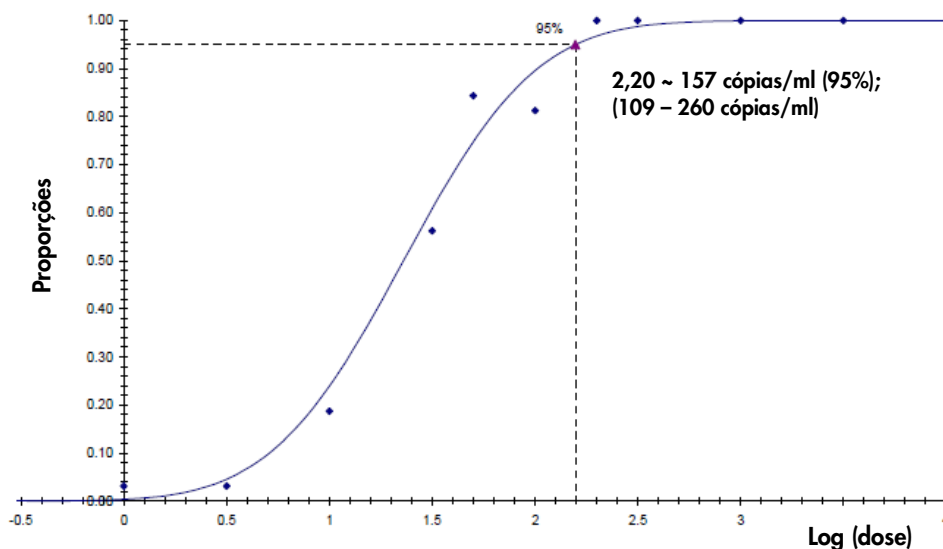


Antes da execução do teste, verifique a disponibilidade de novas revisões de classificação eletrônica em [www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx](http://www.qiagen.com/products/artusebvpcrkitce.aspx).  
O estado atual da revisão é indicado pela data de publicação (formato: mês/ano).

## Limite de detecção – plasma

Foi avaliado o limite de detecção do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação (limite de sensibilidade), com o uso de amostras clínicas positivas para o EBV em combinação com a extração no QIAasymphony® SP.

Para o plasma, o limite de detecção do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado com o uso de uma série de diluições de material com EBV de 3.160 ao valor nominal de 1 cópia/ml de EBV fortificadas em amostras clínicas de plasma. Essas diluições foram submetidas à extração de DNA com o uso do Midi Kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 10 diluições foi analisada com o Kit *artus* EBV QS-RGQ em 4 dias diferentes, em 4 ensaios, com 8 réplicas cada. Os resultados foram determinados por uma análise probit. Uma ilustração da análise probit é mostrada na Figura 1. O limite de detecção, tendo em conta a purificação, do Kit *artus* EBV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene® Q é de 157 cópias/ml ( $p = 0,05$ ). Isso significa que há 95% de probabilidade de 157 cópias/ml (correspondendo a 22,29 IU/ml) serem detectadas.



**Figura 1. Análise probit: plasma, EBV (Rotor-Gene Q).** Limite de detecção tendo em conta a purificação (plasma, usando o Midi Kit QIAasymphony DSP Virus/Pathogen) e o Kit *artus* EBV QS-RGQ no Rotor-Gene Q

## Especificidade – plasma

A especificidade do Kit *artus* EBV QS-RGQ é garantida primeiramente e acima de tudo pela seleção dos primers e sondas, bem como pela seleção de condições de reação rigorosas. Os primers e sondas foram verificados em relação a possíveis homologias com todas as sequências publicadas nos bancos de genes por análise por comparação de sequências. Desse modo, a detectabilidade de todos os genótipos pertinentes foi garantida.

Adicionalmente, a especificidade foi validada com 30 diferentes amostras de plasma negativas para o EBV. Essas amostras não geraram nenhum sinal com os primers e sondas específicos para o EBV, que são incluídos no EBV RG Master.

Uma possível reatividade cruzada do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi testada usando o grupo-controle apresentado na Tabela 1 abaixo. Nenhum dos agentes patogênicos testados foi reativo. Não surgiu nenhuma reatividade cruzada com as infecções misturadas.

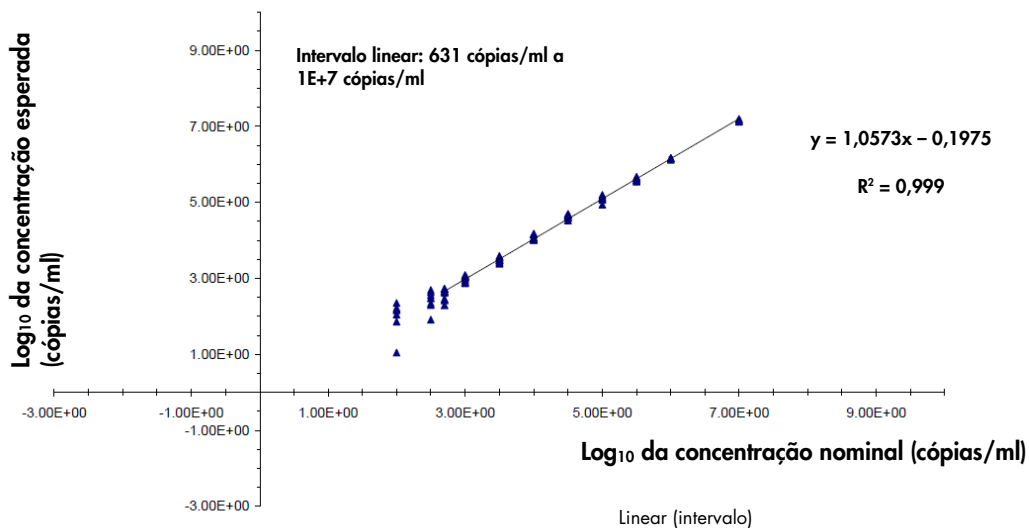
**Tabela 1. Testagem da especificidade do kit com agentes patogênicos com potencial para reação cruzada**

Grupo-controle	EBV (Cycling Green)	Controle interno (Cycling Yellow)
Herpes-vírus humano 1 (Herpes-vírus simples 1)	-	+
Herpes-vírus humano 2 (Herpes-vírus simples 2)	-	+
Herpes-vírus humano 3 (Vírus Varicela-zoster)	-	+
Herpes-vírus humano 5 (Citomegalovírus)	-	+
Vírus da leucemia humana de células T 1	-	+
Vírus da leucemia humana de células T 2	-	+

## Intervalo linear – plasma

O intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado por meio da análise de uma série de diluições de material com EBV, com uma variação de  $1,00 \times 10^7$  cópias/ml a  $6,31 \times 10^2$  cópias/ml, em plasma. A purificação foi realizada em réplicas ( $n = 4$  para concentrações  $\geq 1,00 \times 10^6$  cópias/ml;  $n = 8$  para concentrações  $< 1,00 \times 10^6$  cópias/ml) com o uso do Midi Kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60  $\mu$ l). Cada uma das amostras foi analisada com o uso do Kit *artus* EBV QS-RGQ.

O intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado para cobrir concentrações de  $6,31 \times 10^2$  cópias/ml a  $1,00 \times 10^7$  cópias/ml (correspondendo a  $8,94 \times 10^1$  a  $1,42 \times 10^6$  IU/ml) para o plasma (Figura 2).



**Figura 2. Intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ (plasma).** Cálculo do intervalo linear. A linha reta foi determinada por uma regressão linear do log<sub>10</sub> das concentrações calculadas com o log<sub>10</sub> das concentrações nominais. A equação da linha de regressão foi incluída na figura.

## Robustez – plasma

A verificação da robustez permite determinar a taxa total de erro do Kit *artus* EBV QS-RGQ. Para verificar a robustez, 30 amostras de plasma negativas para o EBV foram fortificadas com 500 cópias/ml de EBV (aproximadamente o triplo da concentração do limite de sensibilidade analítica). Após a extração com o uso do Midi Kit QIA-symphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o protocolo Cellfree1000\_DSP (volume de extração: 1 ml, volume de eluição: 60 µl); essas amostras foram analisadas com o uso do Kit *artus* EBV QS-RGQ. Adicionalmente, a robustez do controle interno foi avaliada por meio da purificação e análise de 30 amostras de plasma fortificadas. Não foram observadas inibições. Dessa forma, a robustez do Kit *artus* EBV QS-RGQ é de  $\geq 99\%$ .

## Substâncias interferentes – plasma

Bilirrubina, hemoglobina e triglicerídeos não mostraram interferência com o Kit *artus* EBV QS-RGQ nas concentrações mostradas na Tabela 2.

**Tabela 2. Substâncias interferentes em amostras de plasma com EDTA**

Concentração de EBV (cópias/ml)	Substância interferente		C <sub>T</sub> médio	C <sub>T</sub> (EBV)		C <sub>T</sub> (EBV) IS – C <sub>T</sub> (EBV) Controle Absoluto
	Item	Concentração		DP	CV (%)	
1.600	Bilirrubina	30 mg/dl	32,30	0,37	1,14	0,58
	Hemoglobina	2 g/dl	32,82	0,20	0,60	0,06
	Triglicerídeo	1 g/dl	32,42	0,28	0,87	0,46
	Albumina	4 g/dl	31,71	0,54	1,69	1,15
	Controle	-	32,88	0,33	0,99	-

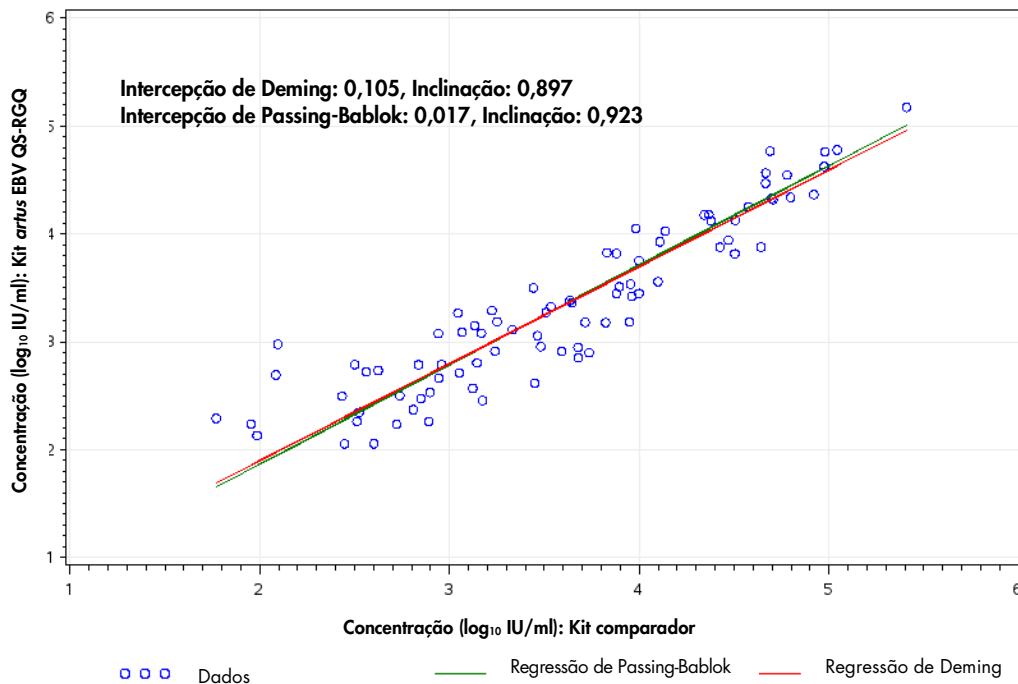
CV: coeficiente de variação; EBV: vírus Epstein-Barr; IS: substância interferente; SD: desvio padrão

## Avaliação clínica – plasma

O desempenho clínico do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi avaliado por teste de amostras clínicas e análise dos achados em relação aos resultados de um método equivalente. Um total de 166 amostras de plasma com EDTA coletadas de pacientes infectados com o EBV, bem como de controles negativos, foi testado com o Kit *artus* EBV QS-RGQ e o método equivalente em um local externo. Os resultados foram analisados em duas partes: a parte um era uma análise de concordância categórica da Porcentagem de Concordância Positiva (Positive Percent Agreement, PPA), Porcentagem de Concordância Negativa (Negative Percent Agreement, NPA) e Porcentagem de Concordância Geral (Overall Percent Agreement, OPA); a parte dois era uma análise dos resultados de um total de 83 amostras de plasma com EDTA que se enquadravam no intervalo dinâmico do ensaio comum, com o uso das análises de regressão de Deming e Passing-Bablok, com os achados reportados junto com o coeficiente de correlação correspondente (veja a Tabela 3 e a Figura 3).

**Tabela 3. Dados do estudo de desempenho clínico para amostras de plasma com EDTA**

Medida de concordância	Frequências	Porcentagem de concordância	Limite de confiança de 95% (exato) bilateral binomial inferior de Clopper-Pearson	Limite de confiança de 95% (exato) bilateral binomial superior de Clopper-Pearson
Porcentagem de concordância geral	154/166	92,77	87,71	96,21
Porcentagem de concordância positiva	100/102	98,04	93,10	99,76
Porcentagem de concordância negativa	54/64	84,38	73,14	92,24



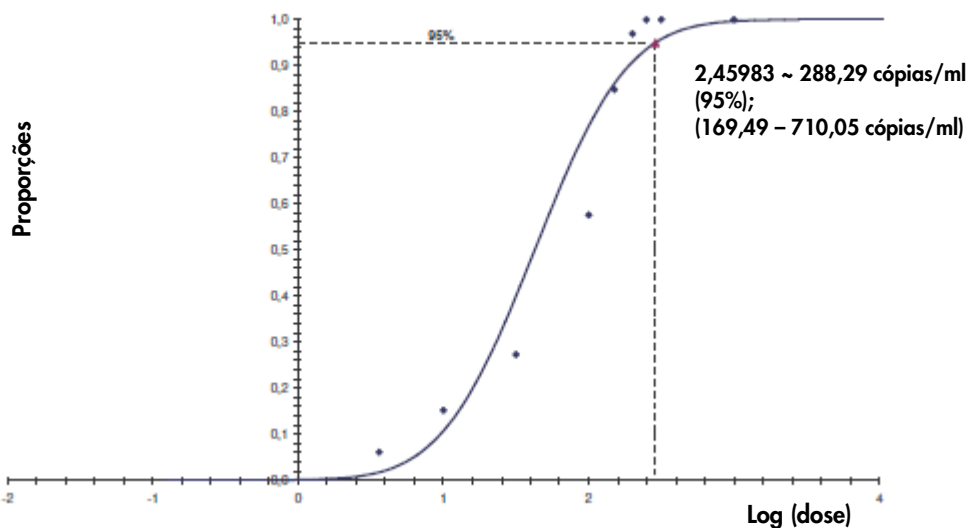
**Figura 3. Gráfico de regressão com Linhas de Passing-Bablok e Deming.** As amostras que estão entre os limites inferior e superior de quantificação de ambos os kits foram incluídas na análise.

A análise da regressão linear entre os dois ensaios resultou em um coeficiente de correlação de Pearson de 0,922 e um coeficiente de correlação de Spearman de 0,928.

## Limite de detecção – sangue total

Para o sangue total, o limite de detecção do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado com o uso de uma série de diluições de material com EBV de 3.160 ao valor nominal de 3,16 cópias/ml de EBV fortificadas em amostras de sangue total humano. Essas diluições foram submetidas à extração de DNA com o uso do Mini-kit QIASymphony DNA em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200 µl, volume de eluição: 60 µl). Cada uma das 10 diluições foi analisada com o Kit *artus* EBV QS-RGQ em 3 dias diferentes, em 3 ensaios, com 11 réplicas cada. Os resultados foram determinados por uma análise probit. Uma ilustração da análise probit é mostrada na Figura 4.

O limite de detecção, tendo em conta a purificação, do Kit *artus* EBV QS-RGQ em combinação com o Rotor-Gene Q é de 288,29 cópias/ml ( $p = 0,05$ ). Isso significa que há 95% de probabilidade de 288,29 cópias/ml (correspondendo a 40,36 IU/ml) serem detectadas.



**Figura 4. Análise probit: sangue total, EBV (Rotor-Gene Q).** Limite de detecção tendo em conta a purificação (sangue total, usando o Mini-kit QIASymphony DNA) e o Kit *artus* EBV QS-RGQ no Rotor-Gene Q.

## Especificidade – sangue total

A especificidade do Kit *artus* EBV QS-RGQ é garantida primeiramente e acima de tudo pela seleção dos primers e sondas, bem como pela seleção de condições de reação rigorosas. Os primers e sondas foram verificados em relação a possíveis homologias com todas as sequências publicadas nos bancos de genes por análise por comparação de sequências. Desse modo, a detectabilidade de todos os genótipos pertinentes foi garantida.

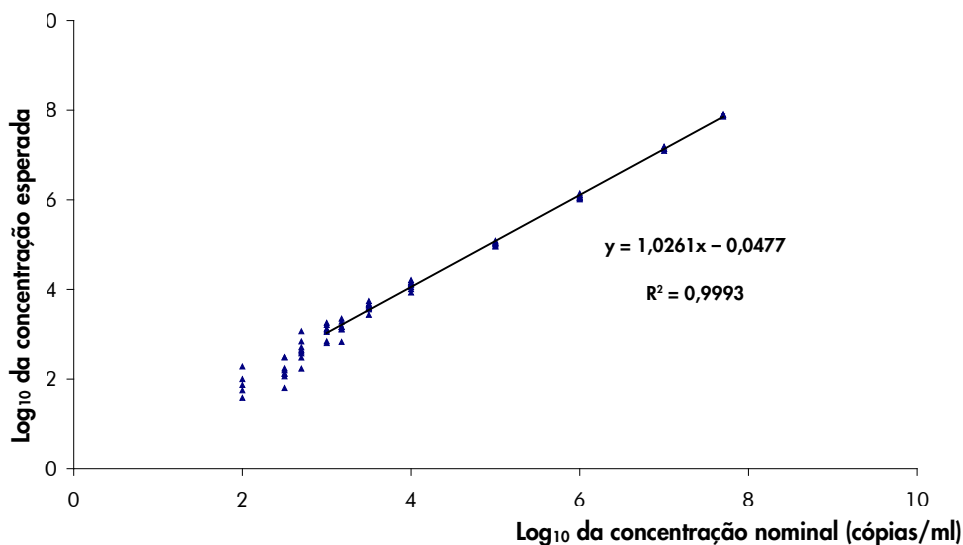
Adicionalmente, a especificidade foi validada com 30 diferentes amostras de sangue total negativas para o EBV. Essas amostras não geraram nenhum sinal com os primers e sondas específicos para o EBV, que são incluídos no EBV RG Master.

Uma possível reatividade cruzada do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi testada usando o grupo-controle apresentado na Tabela 1 (veja a página 3). Nenhum dos agentes patogênicos testados foi reativo. Não surgiu nenhuma reatividade cruzada com as infecções misturadas.

## Intervalo linear – sangue total

O intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado por meio da análise de uma série de diluições de material com EBV, com uma variação de  $5,00 \times 10^7$  cópias/ml a  $1,00 \times 10^3$  cópias/ml, em sangue total. A purificação foi realizada em réplicas ( $n = 4$  para concentrações  $\geq 1,00 \times 10^7$  cópias/ml;  $n = 8$  para concentrações  $< 1,00 \times 10^7$  cópias/ml) com o uso do Mini-kit QIA-symphony DNA em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200  $\mu$ l, volume de eluição: 60  $\mu$ l). Cada uma das amostras foi analisada com o uso do Kit *artus* EBV QS-RGQ. O intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ, tendo em conta a purificação, foi determinado para cobrir concentrações de  $1,00 \times 10^3$  cópias/ml a  $5,00 \times 10^7$  cópias/ml (correspondendo a  $1,4 \times 10^2$  a  $7,0 \times 10^6$  IU/ml) para o sangue total (Figura 5).





**Figura 5. Intervalo linear do Kit *artus* EBV QS-RGQ (sangue total).** Cálculo do intervalo linear. A linha reta foi determinada por uma regressão linear do  $\log_{10}$  das concentrações calculadas com o  $\log_{10}$  das concentrações nominais. A equação da linha de regressão foi incluída na figura.

## Robustez – sangue total

A verificação da robustez permite determinar a taxa total de erro do Kit *artus* EBV QS-RGQ. Para verificar a robustez, 51 amostras de sangue total negativas para o EBV foram fortificadas com 750 cópias/ml de EBV (aproximadamente o triplo da concentração do limite de sensibilidade analítica). Após a extração com o uso do Mini-kit QIASymphony DNA em combinação com o protocolo VirusBlood200\_DSP (volume de extração: 200  $\mu$ l, volume de eluição: 60  $\mu$ l); essas amostras foram analisadas com o uso do Kit *artus* EBV QS-RGQ. Adicionalmente, a robustez do controle interno foi avaliada por meio da purificação e análise de 51 amostras de sangue total fortificadas. Não foram observadas inibições. Dessa forma, a robustez do Kit *artus* EBV QS-RGQ é de  $\geq 99\%$ .

## Substâncias interferentes – sangue total

As substâncias que poderiam interferir nos resultados do Kit *artus* EBV QS-RGQ foram testadas, e as concentrações dessas substâncias que não interferiram no kit são mostradas na Tabela 4.

**Tabela 4. Substâncias interferentes em amostras de sangue total**

Concentração de EBV (cópias/ml)	Substância interferente		C <sub>T</sub> médio	C <sub>T</sub> (EBV)		C <sub>T</sub> (EBV) IS – C <sub>T</sub> (EBV) Controle Absoluto
	Item	Concentração		DP	CV (%)	
2500	Bilirrubina	30 mg/dl	34,44	0,27	0,78	0,73
	Triglicerídeo	1 g/dl	34,58	0,32	0,91	0,59
	gDNA	3 µg/amostra	34,79	0,18	0,52	0,38
	gDNA	2,5 µg/amostra	34,57	0,39	1,13	0,60
	gDNA	2 µg/amostra	34,73	0,49	1,41	0,44
	gDNA	1 µg/amostra	34,86	0,22	0,62	0,31
	Controle	–	35,17	0,40	1,13	–

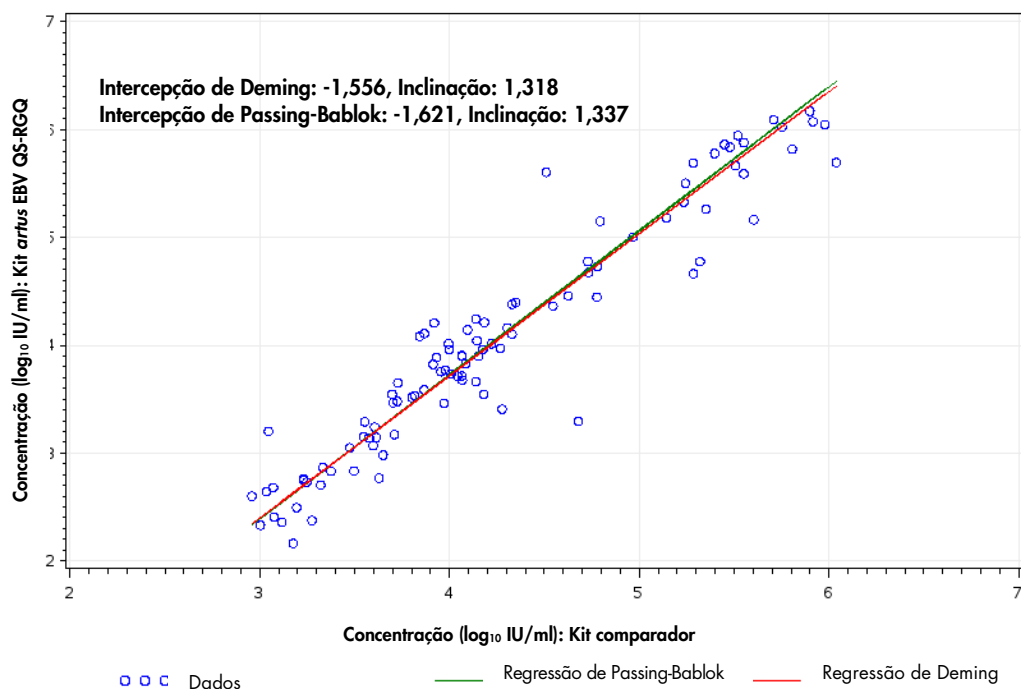
CV: coeficiente de variação; EBV: vírus Epstein-Barr; gDNA: DNA genômico; IS: substância interferente; SD: desvio padrão

## Avaliação clínica – sangue total

O desempenho clínico do Kit *artus* EBV QS-RGQ foi avaliado por teste de amostras clínicas e análise dos achados em relação a um método equivalente. Um total de 178 amostras de sangue total coletadas de pacientes infectados com o EBV, bem como de controles negativos, foi testado com o Kit *artus* EBV QS-RGQ e o método equivalente em um local externo. Os resultados foram analisados em duas partes: a parte um era uma análise de concordância categórica da PPA, NPA e OPA; a parte dois era uma análise dos resultados de um total de 98 amostras de sangue total que se enquadravam no intervalo dinâmico do ensaio comum, com o uso das análises de regressão de Deming e Passing-Bablok, com os achados reportados junto com o coeficiente de correlação correspondente (veja a Tabela 5 e a Figura 6).

**Tabela 5. Dados do estudo de desempenho clínico para amostras de sangue total**

Medida de concordância	Frequências	Porcentagem de concordância	Limite de confiança de 95% (exato) bilateral binomial inferior de Clopper-Pearson	Limite de confiança de 95% (exato) bilateral binomial superior de Clopper-Pearson
Porcentagem de concordância geral	169/178	94,94	90,62	97,66
Porcentagem de concordância positiva	115/119	96,64	91,62	99,08
Porcentagem de concordância negativa	54/59	91,53	81,32	97,19



**Figura 6. Gráfico de regressão com Linhas de Passing-Bablok e Deming.** As amostras que estão entre os limites inferior e superior de quantificação de ambos os kits foram incluídas na análise.

A análise da regressão linear entre os dois ensaios resultou em um coeficiente de correlação de Pearson de 0,956 e um coeficiente de correlação de Spearman de 0,945.

## Reprodutibilidade

Os dados de reprodutibilidade permitem uma avaliação regular do desempenho do Kit *artus* EBV QS-RGQ, bem como uma comparação de eficiência com outros produtos. Esses dados foram obtidos pela participação nos programas de competência estabelecidos.

## Contaminação cruzada

Foi comprovada a ausência de contaminação cruzada entre as amostras para todo o fluxo de trabalho pela detecção correta de todas as amostras identificadas como positivas e negativas em posições alternadas (padrão quadriculado) para um sistema *artus* QS-RGQ representativo.

Os produtos relacionados e as informações para pedidos são apresentados no manual do Kit *artus* EBV QS-RGQ.

### Histórico de revisão do documento

Setembro 2017	Dados do estudo de desempenho clínico da Tabela 5 atualizados para amostras de sangue total. Adicionadas as unidades de concentração IU/ml e cópias/ml em todo o documento.
---------------	---

Para informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do kit da QIAGEN® pertinente ou o manual do usuário. Os manuais dos kits da QIAGEN e os manuais dos usuários estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados aos Serviços técnicos da QIAGEN ou ao distribuidor local.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Os nomes registrados, marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tais, não devem ser considerados como não protegidos pela lei HB-0357-D01-003 de 09/2017

© 2012–2017 QIAGEN, todos os direitos reservados

Pedidos [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência Técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)