

Instruções de utilização do QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (Características de desempenho)

Versão 2



Para utilização em diagnóstico in vitro

Para utilização com os kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini e Midi



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

Características de desempenho disponíveis em versão digital e podem ser encontradas no separador de recursos da página do produto em www.qiagen.com.

Introdução geral

Os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits destinam-se a ser utilizados apenas em conjunto com o QIASymphony SP.

Os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits fornecem reagentes para a purificação totalmente automatizada e simultânea de ácidos nucleicos virais e bacterianos. Os kits podem ser utilizados para purificar ácidos nucleicos de um vasto intervalo de vírus de ADN e ARN, bem como ADN bacteriano de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Contudo, as características de desempenho para cada espécie de vírus ou bactéria não foram estabelecidas e têm de ser validadas pelo utilizador.

A tecnologia de partículas magnéticas permite a purificação de ácidos nucleicos de elevada qualidade que não contenham proteínas, nucleases e outras impurezas. Os ácidos nucleicos purificados estão prontos a ser utilizados em aplicações a jusante, tais como reações de amplificação (PCR). O QIASymphony SP executa todos os passos do procedimento de purificação. Até 96 amostras, em lotes de até 24, são processadas numa única execução.

A seguir, são apresentados dados de desempenho selecionados relativos às várias aplicações.

Características de desempenho

Nota: As características de desempenho são altamente dependentes de vários fatores e está relacionada com a aplicação a jusante específica. Foram estabelecidas para o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com aplicações a jusante exemplares. Contudo, os métodos para isolar ácidos nucleicos de espécimes biológicos são utilizados como a parte frontal de várias aplicações a jusante. Parâmetros de desempenho como contaminação cruzada ou precisão de execução necessitam de ser estabelecidos para cada fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Assim, o utilizador é responsável por validar a totalidade do fluxo de trabalho para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

Desempenho básico e compatibilidade com várias aplicações a jusante

O desempenho básico do QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit foi avaliado utilizando o ARN VIH-1 como vírus de exemplo. Os testes foram realizados com diluições de painéis de vírus quantificados feitas em plasma humano negativo para o VIH-1. Foram testadas séries de diluição com 7 títulos virais diferentes com até 6 réplicas cada, purificadas com o procedimento do QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit e analisadas quanto a VIH-1 com um ensaio RT-PCR interno (Figura 1). Os ácidos nucleicos virais foram purificados a partir de amostras de 1000 µl com um volume de eluição de 60 µl.

Para além disso, foram utilizados ácidos nucleicos virais e bacterianos e várias aplicações de qPCR a jusante durante o desenvolvimento do kit para demonstrar que os ácidos nucleicos isolados são compatíveis com várias aplicações a jusante (Tabela 2–Tabela 7, Figura 2 e Figura 3).

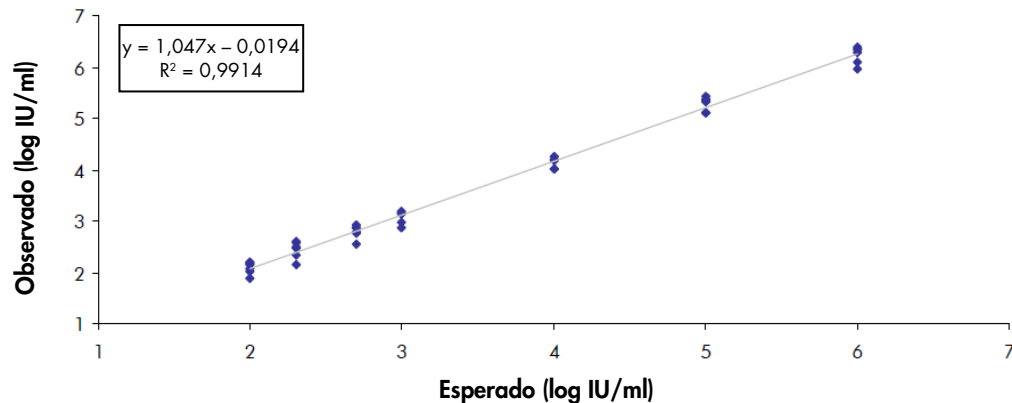


Figura 1. Rendimentos observados utilizando o protocolo Virus Cellfree 1000, com séries de diluição virais e um ensaio RT-PCR interno para o vírus ARN VIH-1.

Precisão

Os desvios-padrão e os coeficientes de variação (CV) foram determinados para séries de diluição de VIH-1 no intervalo linear dos ensaios a jusante apropriados. Para a análise da precisão, foram utilizados os mesmos ensaios a jusante que foram utilizados para a determinação do desempenho básico (Figura 1). Os dados de precisão entre ensaios são apresentados na Tabela 1. Para cada membro do painel, foram extraídas 5 ou 6 replicações no QIASymphony SP.

Tabela 1. Precisão entre ensaios do protocolo Virus Cellfree 1000 utilizando um ensaio RT-PCR interno para o vírus ARN VIH-1

Membro do painel	n	IU/ml	CV (%)	log IU/ml	DP (log IU/ml)
1	6	1 835 700	30,04	6,24	0,15
2	6	199 931	26,99	5,28	0,13
3	5	13 785	21,02	4,13	0,09
4	5	1363	17,49	3,13	0,09
5	6	642	24,82	2,79	0,12
6	6	294	31,12	2,44	0,16
7	6	123	23,25	2,08	0,11

Repetibilidade dos protocolos Complex 200, 400 e 800

O ADN de *Chlamydia trachomatis* foi purificado no QIAAsymphony SP a partir de 200, 400 e 800 µl de urina, e foi eluído em 110 µl. Para cada protocolo (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP e Complex800_V5_DSP), um operador realizou 3 execuções de teste individuais no mesmo equipamento, em 3 dias diferentes, sendo cada execução constituída por 4 lotes de 22 amostras.

Tabela 2. Repetibilidade do protocolo Complex 200 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

Execução	Lote	n	C _t médio	DP	CV (%)
1	1	22	28,74	0,32	1,10
	2	22	29,03	0,49	1,68
	3	22	29,00	0,53	1,84
	4	22	29,04	0,45	1,55
2	1	22	28,26	0,36	1,28
	2	22	28,90	0,27	0,93
	3	22	28,84	0,26	0,91
	4	22	28,94	0,31	1,08
3	1	22	27,87	0,39	1,40
	2	22	28,35	0,32	1,12
	3	22	28,52	0,28	0,97
	4	22	28,94	0,32	1,09

Número total de amostras = 264

Média geral = 28,70

Tabela 3. Precisão do protocolo Complex 200 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

	Lote-a-lote dentro da mesma execução do teste (S_{PWR})	Execução a execução (S_{BR})	Total (S_t)
DP	0,46	0,26	0,53
CV (%)	1,60	0,91	1,84

Tabela 4. Repetibilidade do protocolo Complex 400 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

Execução	Lote	n	C_t médio	DP	CV (%)
1	1	22	27,32	0,43	1,57
	2	22	27,35	0,37	1,37
	3	22	27,54	0,44	1,61
	4	22	27,37	0,57	2,08
2	1	22	28,07	0,46	1,62
	2	22	28,42	0,55	1,93
	3	22	28,47	0,55	1,95
	4	22	28,61	0,32	1,11
3	1	22	27,85	0,53	1,89
	2	22	28,60	0,44	1,53
	3	22	28,09	0,87	3,11
	4	22	28,23	0,35	1,24

Número total de amostras = 264

Média geral = 27,99

Tabela 5. Precisão do protocolo Complex 400 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

	Lote-a-lote dentro da mesma execução do teste (S_{PWR})	Execução a execução (S_{BR})	Total (S_t)
DP	0,51	0,52	0,73
CV (%)	1,83	1,87	2,62

Tabela 6. Repetibilidade do protocolo Complex 800 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

Execução	Lote	n	C _t médio	DP	CV (%)
1	1	22	26,04	0,34	1,32
	2	22	26,07	0,43	1,66
	3	22	26,81	0,47	1,76
	4	22	26,10	0,41	1,59
2	1	22	26,17	0,29	1,10
	2	22	26,35	0,43	1,65
	3	22	26,11	0,34	1,31
	4	22	26,15	0,37	1,41
3	1	22	26,05	0,33	1,25
	2	22	26,32	0,54	2,04
	3	22	25,72	0,41	1,60
	4	22	26,59	0,48	1,81
Número total de amostras = 264					
Média geral = 26,20					

Tabela 7. Precisão do protocolo Complex 800 utilizando um ensaio de *C. trachomatis* interno

	Lote-a-lote dentro da mesma execução do teste (S _{FWR})	Execução a execução (S _{BR})	Total (S _t)
DP	0,46	0,00	1,76
CV (%)	0,46	0,00	1,76

Estabilidade do eluato

Nota: A estabilidade do eluato é altamente dependente de vários fatores e está relacionada com a aplicação a jusante específica. Foi estabelecida para o QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com aplicações a jusante exemplares. O utilizador é responsável por consultar as instruções de utilização relativas à aplicação a jusante específica que é utilizada no seu laboratório e/ou validar a totalidade do fluxo de trabalho para estabelecer condições de armazenamento adequadas.

Foi avaliada a estabilidade do eluato no QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit, utilizando ácido nucleico extraído de urina enriquecida com material padrão VIH e material padrão CMV. A estabilidade do ácido nucleico foi determinada com ensaios de real-time PCR internos para VIH e CMV. A estabilidade do eluato a 2–8 °C não foi afetada pela duração de armazenamento até 1 mês. Contudo, para períodos de armazenamento superiores a 24 horas, recomendamos que armazene ácidos nucleicos purificados a –20 °C.

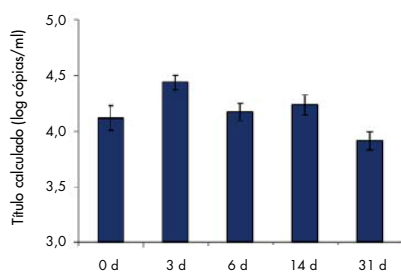


Figura 2. Estabilidade do ARN VIH em eluatos. O material padrão de VIH introduzido em urina foi purificado no QIAAsymphony SP utilizando o protocolo Complex 200. Os eluatos foram incubados durante 31 dias a 2–8 °C. Foi utilizado um ensaio de real-time PCR interno para o VIH para detecção em momentos regulares. Os eluatos foram analisados em réplicas de 8.

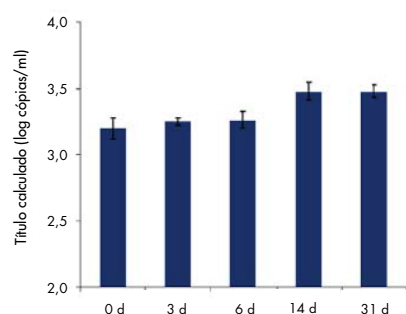


Figura 3. Estabilidade do CMV em eluatos. O material padrão de CMV introduzido em urina foi purificado no QIAAsymphony SP utilizando o protocolo Complex 200. Os eluatos foram incubados durante 31 dias a 2–8 °C. Foi utilizado um ensaio de real-time PCR interno para o CMV para detecção em momentos regulares. Os eluatos foram analisados em réplicas de 8.

Substâncias interferentes

Vários potenciais interferentes endógenos e exógenos foram enriquecidos em plasma EDTA, LCR, urina e meio de transporte (eNAT) com material de vírus para testar o seu impacto em ensaios a jusante exemplares após a preparação da amostra com o QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Os potenciais interferentes relevantes e comuns e os respectivos materiais de amostra testados estão listados abaixo na Tabela 8. Não foi observado qualquer impacto negativo significativo nos interferentes listados e em mais de 80 potenciais interferentes adicionais.

Tabela 8. Potenciais substâncias interferentes testadas com vários materiais de amostra

Substâncias interferentes	Plasma	LCR	Urina	eNAT
(Soro humano) Albumina	√		√	
Bilirrubina	√		√	
Eritrócitos		√	√	
Gamaglobulina	√			
gADN	√	√	√	
Hemoglobina	√			
ARN total do fígado humano	√			
Triglicérido (Intralípido)	√			
EDTA	√			
Heparina	√			
Solução de amónio	√			
Glucose			√	
Muco			√	√
Sangue			√	√
Leucócitos			√	√
pH 4, pH 9			√	

Nota: "√" indica os materiais de amostra testados na respetiva potencial substância interferente.

Quaisquer potenciais substâncias interferentes (por ex., medicamentos) e correspondentes concentrações são muito específicas para a aplicação a jusante e possíveis tratamentos médicos anteriores de um paciente, sendo necessária a investigação durante a verificação de tal aplicação a jusante, utilizando os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Nota: A testagem foi efetuada com utilização de aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. Contudo, aplicações a jusante diferentes podem ter requisitos diferentes relativamente à pureza (ou seja, ausência ou concentração de potenciais substâncias interferentes). Assim, a identificação e testagem de substâncias relevantes, e as respetivas concentrações, também necessitam de ser estabelecidas como parte da aplicação a jusante de qualquer fluxo de trabalho que envolva os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Nota: De acordo com a norma ISO 20186-2:2019(E), a heparina de tubos de colheita de sangue pode impactar a pureza de ácidos nucleicos isolados e a possível transferência para eluatos pode causar inibições em certas aplicações a jusante. Por este motivo, recomenda-se a utilização de amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante para a preparação do plasma.

Contaminação cruzada





O risco de contaminação cruzada do QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits foi analisado ao realizar três execuções de 96 amostras no instrumento QIAasymphony SP com lotes em posições alternadas (xadrez) (amostras positivas e negativas alternadas). Plasma EDTA humano e urina enriquecida com material VIH ($2,93E + 07$ e $>1,00E + 07$ IU/ml, respetivamente) foram utilizados como um sistema modelo. A preparação da amostra foi realizada utilizando todos os protocolos disponíveis (para aplicações Virus Cellfree e Pathogen Complex). Foi avaliada uma potencial contaminação das amostras de plasma e urina negativas durante as execuções de extração através de análises subsequentes dos eluatos, utilizando o ensaio RT-PCR interno para o vírus VIH. Não foi detetada qualquer contaminação cruzada em transferências amostra para amostra, lote para lote ou execução para execução.

Intervalo entrada de amostra/saída de eluato

Podem ser seleccionados volumes de eluição e de entrada de amostra diferentes para a preparação da amostra utilizando os QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Para obter mais detalhes, consulte as folhas de protocolo que podem ser encontradas no separador de recursos da página do produto em www.qiagen.com. Foram realizados estudos de correlação exemplares para plasma EDTA enriquecido com material de vírus VHB e VIH, utilizando os protocolos Cellfree 200 e Cellfree 1000 para analisar a influência dos três volumes de eluição diferentes. Os resultados não apresentam diferenças significativas na quantificação de um vírus ARN ou ADN utilizando o protocolo Cellfree 200 ou Cellfree 1000 em conjunto com um dos três volumes de eluição diferentes (60, 85 e 110 µl).

Símbolos

Os seguintes símbolos são apresentados neste documento. Para obter uma lista completa dos símbolos utilizados nas instruções de utilização ou na embalagem e nos rótulos, consulte o manual.

Símbolo	Definição do símbolo
	Este produto cumpre os requisitos do Regulamento europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
Rn	R refere-se à revisão das Instruções de utilização e n é o número da revisão
	Fabricante

Histórico de revisões

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<p>Versão 2, revisão 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Atualização para a versão 2 para conformidade com IVDR• Transferência da secção Intervalo linear para a secção Desempenho básico e compatibilidade com várias aplicações a jusante• Extensão da secção Estabilidade do eluato• Adição da secção Substâncias interferentes• Adição da secção Contaminação cruzada• Adição da secção Intervalo entrada de amostra/saída de eluato• Adição da secção Símbolos

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consulte o respetivo manual do utilizador ou manual do kit da QIAGEN. Os manuais do utilizador e os manuais dos kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados aos Serviços de Assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Grupo QIAGEN). Os nomes registados, as marcas comerciais etc., utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.

06/2022 HB-3028-D01-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.

