



Junho de 2022

Instruções de uso (Características de desempenho) do QIAasymphony® DSP Virus/Pathogen Kit

Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini e Midi Kits



937036, 937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

As características de desempenho estão disponíveis eletronicamente e podem ser encontradas na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Introdução geral

Os QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits destinam-se ao uso somente em conjunto com o QIAasymphony SP.

Os QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits fornecem reagentes para a purificação totalmente automatizada e simultânea de ácidos nucleicos virais e bacterianos. Os kits podem ser usados para purificar ácidos nucleicos de um amplo espectro de vírus de DNA e RNA e também de DNA bacteriano de bactérias gram-negativas e gram-positivas. Contudo, não foram estabelecidas características de desempenho para cada espécie de vírus ou bactéria, sendo que as mesmas devem ser validadas pelo usuário.

A tecnologia de partículas magnéticas permite a purificação de ácidos nucleicos de alta qualidade isentos de proteínas, nucleases e outras impurezas. Os ácidos nucleicos purificados estão prontos para serem usados diretamente em aplicações a jusante, como reações em amplificação (PCR). O QIAasymphony SP executa todas as etapas do processo de purificação. Em uma única execução, são processadas até 96 amostras em lotes de até 24.

A seguir, exibem-se os dados de desempenho selecionados para diferentes aplicações.

Características de desempenho

Nota: As características de desempenho dependem muito de vários fatores e estão relacionadas à aplicação a jusante específica. Elas foram estabelecidas para o QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. Contudo, os métodos para isolar ácidos nucleicos de espécimes biológicas são usados como um front-end para diversas aplicações a jusante. Os parâmetros de desempenho, tais como contaminação cruzada ou precisão de execução, precisam ser estabelecidos para qualquer fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Portanto, o usuário é responsável por validar todo o fluxo de trabalho de modo a estabelecer os parâmetros de desempenho adequados.

Desempenho básico e compatibilidade para diferentes aplicações a jusante

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

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

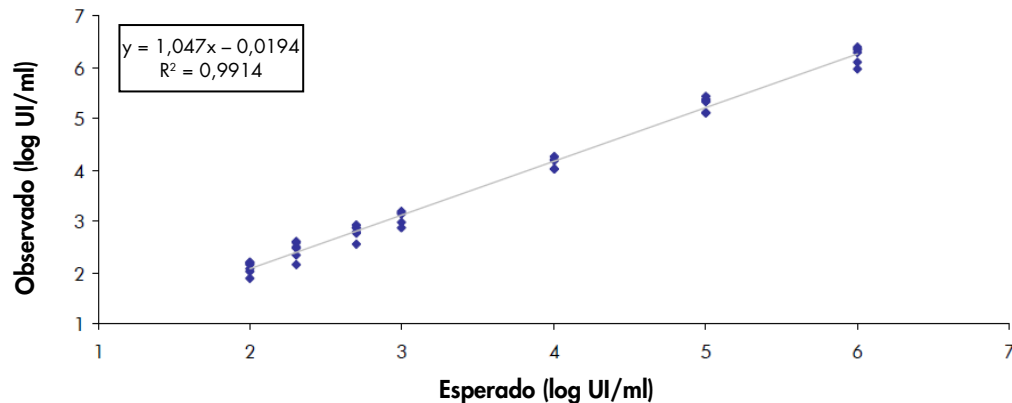


Figura 1. Rendimentos observados usando o protocolo Virus Cellfree 1000 com séries de diluição virais e um ensaio RT-PCR feito internamente para o RNA do vírus HIV-1.

Precisão

Os desvios padrão e os coeficientes de variação (coeficients of variations, CVs) foram determinados para séries de diluição de HIV-1 no intervalo linear dos ensaios posteriores apropriados. Para a análise de precisão, foram usados os mesmos ensaios posteriores que na determinação do desempenho básico (Figura 1). Os dados de precisão entre ensaios são exibidos na Tabela 1. Para cada membro do painel, foram extraídas 5 ou 6 réplicas no QIAAsymphony SP.

Tabela 1. Precisão entre ensaios do protocolo Virus Cellfree 1000 usando um ensaio RT-PCR feito internamente para o RNA do vírus HIV-1

Membro do painel	n	UI/ml	CV (%)	log UI/ml	DP (log UI/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 DNA de *Chlamydia trachomatis* foi purificado no QIAAsymphony SP a partir de 200, 400 e 800 µl de urina e eluído em 110 µl. Para cada protocolo (Complex200_V5_DSP, Complex400_V3_DSP e Complex800_V5_DSP), um operador realizou 3 execuções individuais no mesmo instrumento, em 3 dias diferentes, sendo que cada execução consistiu em 4 lotes de 22 amostras.

Tabela 2. Repetibilidade do protocolo Complex 200 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

Execução	Lote	n	Média de C _T	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 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

	Lote a lote na mesma execução (S _{PWA})	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 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

Execução	Lote	n	Média de C_T	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 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

	Lote a lote na mesma execução (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 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

Execução	Lote	n	Média de C_T	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 usando um ensaio de *C. trachomatis* feito internamente

	Lote a lote na mesma execução (S_{PWR})	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 depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

A estabilidade do eluato para o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit foi avaliada usando ácido nucleico extraído da urina fortificada com material padrão de HIV e de CMV. A estabilidade do ácido nucleico foi determinada com ensaio de real-time PCR feito internamente para HIV e CMV. A estabilidade do eluato a 2–8 °C não foi afetada pela duração do período de armazenamento de até um mês. Contudo, para tempos de armazenamento de mais de 24 horas, recomendamos o armazenamento de ácidos nucleicos purificados a -20 °C.

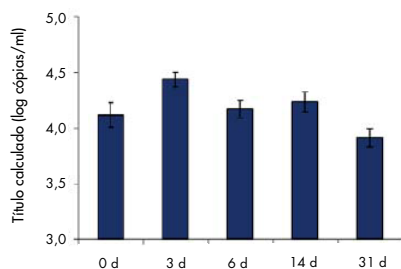


Figura 2. Estabilidade do RNA do HIV em eluatos. O material padrão de HIV, fortalecido em urina, foi purificado no QIASymphony SP usando o protocolo Complex 200. Os eluatos foram incubados por 31 dias a 2–8 °C. Um ensaio de real-time PCR feito internamente para HIV foi usado para detecção em momentos regulares. Os eluatos foram analisados em réplicas de 8.

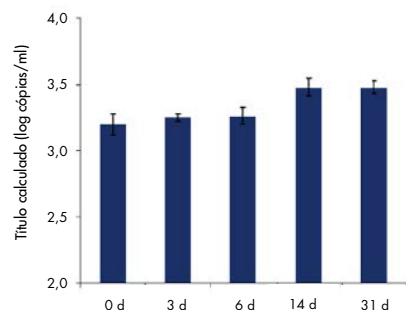


Figura 3. Estabilidade do CMV em eluatos. O material padrão de CMV, fortalecido em urina, foi purificado no QIASymphony SP usando o protocolo Complex 200. Os eluatos foram incubados por 31 dias a 2–8 °C. Um ensaio de real-time PCR feito internamente para CMV foi usado para detecção em momentos regulares. Os eluatos foram analisados em réplicas de 8.

Substâncias interferentes

Diferentes interferentes potencialmente endógenos e exógenos foram fortificados em plasma com EDTA, CSF, urina e meio para transporte (eNAT) com materiais com vírus para testar seu impacto em ensaios posteriores após o preparo de amostras com o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit. Os interferentes potencialmente relevantes comuns e seus respectivos materiais de amostra testados estão listados abaixo na Tabela 8. Não foi observado nenhum impacto negativo significativo para os interferentes listados e para os mais de 80 interferentes potencialmente adicionais.

Tabela 8. Substâncias potencialmente interferentes testadas com diferentes materiais de amostra

Substâncias interferentes	Plasma	LCR	Urina	eNAT
Albumina (sérica humana)	√		√	
Bilirrubina	√		√	
Eritrócitos		√	√	
Gamaglobulina	√			
gDNA	√	√	√	
Hemoglobina	√			
RNA total de fígado humano	√			
Triglicerídeo (intralipídeo)	√			
EDTA	√			
Heparina	√			
Solução de amônio	√			
Glicose			√	
Muco			√	√
Sangue			√	√
Leucócito			√	√
pH 4, pH 9			√	

Nota: "√" indica quais materiais de amostra foram testados para a respectiva substância potencialmente interferente.

Quaisquer substâncias potencialmente interferentes (por ex., medicamentos) e a concentração correspondente são muito específicas à aplicação a jusante e a possíveis tratamentos médicos anteriores de um paciente e precisam ser investigadas durante a verificação de tal aplicação a jusante usando os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Nota: Os testes foram realizados usando aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. Contudo, as diferentes aplicações a jusante podem ter requisitos diferentes em relação à pureza (ou seja, a ausência ou concentração de substâncias potencialmente interferentes), assim, a identificação e o teste de substâncias relevantes e respectivas concentrações também precisam ser estabelecidos como parte do desenvolvimento de aplicações a jusante para qualquer fluxo de trabalho envolvendo os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Nota: De acordo com a ISO 20186-2:2019(E), a heparina dos tubos de coleta de sangue pode afetar a pureza dos ácidos nucleicos isolados e um possível carryover nos eluatos pode causar inibições em algumas aplicações a jusante. Portanto, recomendamos o uso de amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante para a preparação do plasma.

Contaminação cruzada





O risco de contaminação cruzada dos QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits foi analisado realizando três execuções de 96 amostras no instrumento QIAasymphony SP com lotes quadriculados alternados (amostras positivas e negativas alternadas). Foram usados plasma humano com EDTA e urina fortificada com material de HIV ($2,93E+07$ e $> 1,00E+07$ IU/ml, respectivamente) como um sistema modelo. O preparo de amostras foi realizado usando todos os protocolos disponíveis (para aplicações Virus Cellfree e de complexo patógeno). Uma possível contaminação das amostras de plasma negativo e de urina durante as execuções de extração foi avaliada pela análise subsequente dos eluatos usando um ensaio RT-PCR feito internamente para o vírus HIV. Não foi detectada nenhuma contaminação cruzada para carryover de amostra a amostra, lote a lote ou execução a execução.

Intervalo de entrada de amostra/saída de eluato

É possível selecionar diferentes entradas de amostra e volumes de eluição para o preparo de amostras usando os QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Para obter mais detalhes, consulte as fichas de protocolo disponíveis na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com. Foram realizados estudos de correlação exemplares para plasma com EDTA fortificado com material de vírus HBV e HIV usando os protocolos Cellfree 200 e Cellfree 1000 para analisar a influência dos três volumes de eluição diferentes. Os resultados não mostram diferenças significativas na quantificação de um vírus de RNA ou DNA usando o protocolo Cellfree 200 ou Cellfree 1000 em conjunto com um dos três volumes de eluição diferentes (60, 85 e 110 μ l)

Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem neste documento. Para obter uma lista completa dos símbolos usados nestas instruções de uso ou na embalagem e etiqueta, consulte o manual.

Símbolo	Definição do símbolo
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de 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 o IVDR• Transferência da seção Intervalo linear para a seção Desempenho básico e compatibilidade para diferentes aplicações a jusante• Extensão da seção Estabilidade do eluato• Adição da seção Substâncias interferentes• Adição da seção Contaminação cruzada• Adição da seção Intervalo de entrada de amostra/saída de eluato• Adição da seção Símbolos

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte o manual do usuário ou o manual do kit QIAGEN respectivo. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Os nomes registrados, as marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

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

