

Desenvolvimento de um Novo Sistema Automatizado para Triagem Neonatal da Fibrose Cística

Sampaio Filho, C.A. Veturiano, R. Luques, A.H. Frias, F. Silva, V. Gil, G.P., Galo, B., Pires, J.S.C



Introdução :

INTERCIENTIFICA, indústria nacional, única no Brasil a se dedicar exclusivamente à pesquisa, desenvolvimento, produção e comercialização de produtos para Triagem Neonatal e Pré-natal, recentemente desenvolveu um Novo e Revolucionário Sistema Automatizado para Triagem Neonatal da Fibrose Cística. O Sistema Automatizado Multiplex esta integrado ao produto NedMAP 4plex, o qual realiza a quantificação da Tripsina Imuno Reativa (IRT) e mais 3 outros marcadores (TSH/T4 e 17-OH) utilizados no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). Diferentemente dos produtos importados oferecidos no mercado, a INTERCIENTIFICA tem como foco principal o atendimento das necessidades específicas da Triagem Neonatal Brasileira, ou seja, diferencia seus produtos com soluções desenvolvidas para os laboratórios públicos e privados voltados a atender o PNTN. Parte do resultado desse desenvolvimento inovador é descrito nesse estudo onde o performance é apresentado, junto a um comparativo com o Automação e Produto importados disponibilizados no mercado para quantificação da IRT exclusivamente por placa através de método fluorimétrico com opção de acesso randômico. Os produtos da INTERCIENTIFICA, equipamento automatizado para Triagem Neonatal e o produto NedMAP 4plex estão registrados na ANVISA.

Objetivo :

Avaliar a performance do Novo Sistema Automatizado Multiplex para quantificação da Tripsina Imuno Reativa (IRT), em conjunto com o produto NedMAP 4plex para Triagem Neonatal da Fibrose Cística (FC) e realização de comparativo com outra opção disponível no mercado.

Materiais e Métodos :

NedMAP 4plex utiliza da metodologia fluorimétrica multiplex (múltiplas análises simultâneas), onde a base dos ensaios está estabelecida sobre microesferas codificadas por cor. No caso da quantificação da IRT, um ensaio no formato sanduíche é utilizado com anticorpos para captura e detecção da IRT-1 em amostras de sangue coletadas em papel filtro.

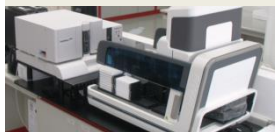


Fig. 1 Sistema Automatizado Multiplex configurado para uso do Kit NedMAP 4plex, que realiza análise de IRT/17-OH/TSH/T4.

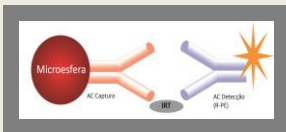


Fig. 2 Ensaio NedMAP 4plex em formato sanduíche que utiliza anticorpos para captura e detecção da IRT-1.

O ensaio ocorre simultaneamente no mesmo orifício para outros 3 parâmetros (TSH/T4/17-OH) . O resultado obtido representa a média de 100 replicatas de cada parâmetro, precisão que não poderá ser replicada e comparada, uma vez que a leitura dos métodos tradicionais é realizada no orifício de forma individual. Para automação do sistema, a INTERCIENTIFICA desenvolveu uma solução própria, baseada na plataforma da empresa Hamilton Corp, MICROLAB – NIMBUS, onde pesos, configurações, softwares e protocolos de trabalho foram integrados na forma de um Sistema complementado Automatizado e Multiplex para Triagem Neonatal da Fibrose Cística e mais outras 2 doenças incluídas no PNTN. O novo sistema é completamente configurável de forma a atender diferentes volumes e necessidades específicas de cada um dos laboratórios que realizam triagem para Fibrose Cística, Hipotireoidismo Congênito, Hiperplasia Adrenal Congênita e outras doenças.

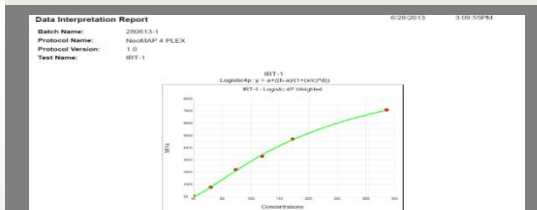


Fig. 3 Exemplo da Curva Padrão obtida de um relatório de Resultados. A Curva Padrão de IRT é gerada simultaneamente nos mesmos orifícios com TSH/T4/17-OH, o que reduz tempo, posições nas microplacas e consumo de reagentes.

Análise Geral Comparativa :

O Sistema Automatizado Multiplex baseado ao produto NedMAP 4plex foi desenvolvido para minimizar passos operacionais, aumentar a produtividade com menor carga de trabalho e também minimizar o uso da amostra e tempo, já que um único picote da amostra é suficiente para realizar 4 análises simultaneamente. Os reagentes contidos no Kit NedMAP 4plex estão todos prontos para uso e têm encaixe preciso e único no deck do equipamento. As microplacas com os picotes são posicionadas em local específico na preparação do equipamento para rotina e são automaticamente verificadas pelo sistema de código de barras que associa automaticamente a identificação dos amostras pelo sistema de interfaceamento. O processo completo de processamento para 8 microplacas completas leva um tempo médio variável entre 11 e 12 horas para entrega de resultados para IRT/TSH/T4/17-OH.

Os ensaios (IRT/TSH/T4/17-OH) ocorrem simultaneamente e no mesmo orifício, minimizando o volume de amostras necessário, picotagem de placas, esgotamento de amostra, carga de trabalho do usuário e acelerando de forma substancial o processo de liberação de resultados. Os resultados para cada um dos parâmetros analisados são obtidos utilizando a tecnologia xMAP™, composta basicamente por um leitor configurado com 2 lasers (532/635nm), sistema de fluxo contínuo e processadores de alto performance aliados ao software de cálculos. Não existe interferência do usuário durante todo o processo, sendo este responsável apenas pela preparação do equipamento e a sua manutenção preventiva.

O método fluorimétrico importado e sua respectiva automação, utilizados no comparativo, realizam um ensaio por microplaca, no caso a IRT. Se considerados os análises de TSH e 17-OH em conjunto, sem o T4, seriam necessários pelo menos 18 horas para realização dos mesmos 8 microplacas completas, já considerando o uso do novo equipamento com acesso randômico. Importante ressaltar a necessidade de tempo adicional para a picotagem das microplacas para cada um dos parâmetros, assim como da opção de equipamento utilizado, pois existem limitações quanto ao ensaio realizado, um parâmetro por rotina, nesse caso com limitação de 12 microplacas.

Para avaliação comparativa foram utilizados 2 diferentes laboratórios que realizam a triagem neonatal de em média 8-9000 amostras/mês. Um Laboratório Privado selecionou 347 amostras e um Laboratório Público 754 amostras da rotina para realização de comparativo direto dos resultados obtidos entre o Novo Sistema Automatizado Multiplex com o produto NedMAP 4plex e o Produto e Equipamento para análise individual da IRT que utiliza o método fluorimétrico importado.

Resultados

Para verificação da performance analítica foram utilizadas amostras com valores predeterminados, próximos a uma faixa sugestiva de corte. Foram utilizados 3 lotes diferentes do produto NedMAP 4plex e diferentes equipamentos. No total, foram realizados 8 ensaios em um período aproximado de 30 dias não subsequentes.

Marcador	Unidade	CV%	LoD
IRT	ng/mL	4,1	1,00
17OH	ng/mL	7,1	2,50
TSH	µIU/mL	3,8	0,90
T4	µg/dL	2,2	1,6

Fig. 3 Kit NedMAP 4plex, análise quantitativa IRT/17-OH/TSH/T4.

Para avaliação comparativa foram utilizados 101 amostras de rotina, as quais foram avaliadas no Sistema Automatizado Multiplex com o Kit NedMAP 4plex, comparando-se com os resultados obtidos pelo produto fluorimétrico importado.

Na análise realizada pelo Laboratório Privado (3 rotinas diferentes) a média total das amostras para NedMAP 4plex foi de 32,10 ng/ml e 39,10 ng/ml utilizando o produto fluorimétrico importado. Na análise realizada pelo Laboratório Público, a média total das amostras para NedMAP 4plex foi de 27,15 ng/ml e 26,50 ng/ml utilizando o produto fluorimétrico importado.

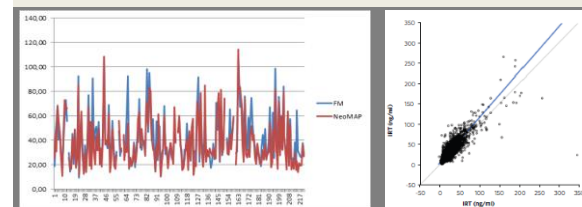


Fig. 4 (a) Análise quantitativa da IRT em amostras retrospectivas utilizando NedMAP 4plex e paralelamente método Fluorimétrico Importado (FM). (b) Análise sugestiva de correlação populacional: 5 amostras foram removidas da análise por não reproduzir resultado em ambos os métodos (degradação ou ressecamento da amostra).

Discussão

Os resultados apresentados são suficientes para evidenciar a performance do Sistema Automatizado para Triagem Neonatal da Fibrose Cística, complementado com comparativo sobre a quantificação da IRT nas amostras de sangue seco provenientes de laboratórios públicos e privados. Apesar das variabilidades na estabilidade da IRT decorrentes de condições de armazenagem e transporte, o estudo comparativo direto demonstrou médias similares entre o Kit NedMAP 4plex e o Produto Fluorimétrico importado, com boa reprodução entre os resultados independentemente dos laboratórios. Não foram utilizadas amostras positivas desses laboratórios, pois a reprodução dos resultados retrospectivos e uma nova análise no mesmo método fluorimétrico importado não resultaram em valores de recuperação suficientes para estabelecer uma referência segura.

Conclusão

Os resultados do estudo demonstram a excelente performance do Kit NedMAP 4plex e o Sistema Automatizado Multiplex para a quantificação da IRT associado com a análise simultânea de 17-OH/TSH/T4, desenvolvido pela INTERCIENTIFICA.

O estudo comparativo direto demonstrou que os resultados entre os métodos de análise são similares.

O Sistema Automatizado Multiplex integrado ao uso do produto NedMAP 4plex desenvolvidos pela INTERCIENTIFICA oferecem a solução ideal para os laboratórios de Triagem Neonatal no Brasil e podem ser facilmente adaptados a qualquer laboratório que realiza triagem populacional para Fibrose Cística, Hipotireoidismo Congênito e Hiperplasia Adrenal Congênita no mundo.

Referências

- Mei, J. Method Performance for Measuring Immunoreactive Trypsinogen (IRT) in Dried Blood Spot.
- Livia Li, Yingtao Zhou, Carol J Bell, Marie C Earley, W Harry Hannon and Jeanne V Mei Development and characterization of dried blood spot materials for the measurement of immunoreactive trypsinogen 2006