

INSTRUÇÕES DE USO

XGEN MASTER CMV

KIT MASTER PARA QUANTIFICAÇÃO DE CITOMEGALOVÍRUS (CMV)

1. FINALIDADE E MODO DE USO

O kit XGEN MASTER CMV é destinado para a detecção quantitativa do DNA de Citomegalovírus (CMV) em amostra de plasma, sangue total humano ou fluido amniótico, com controle simultâneo de reação de extração/amplificação através do Controle Interno (CI).

O kit foi otimizado para uso em conjunto com aparelhos de PCR em Tempo Real.

PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*.

1. 1 INTRODUÇÃO

O Citomegalovírus (CMV), maior membro da família de Herpesvirus humano, é um patógeno com genoma linear de dupla fita, que apresenta ampla distribuição mundial.

Dados clínicos indicam que o CMV infecta vários tipos de células e, portanto, pode ser responsável por uma infinidade de complicações clínicas. Dependendo do tipo de tecido e do estado imunológico do hospedeiro, o CMV participa da infecção de três maneiras diferentes: infecção aguda com desenvolvimento altamente produtivo, infecção persistente com baixos níveis de replicação e infecção latente na qual a replicação viral está estagnada.

Estratégias antivirais profiláticas e preventivas têm sido desenvolvidas e tentam evitar o tratamento agressivo da doença do enxerto contra hospedeiro (DECH). A quantificação da carga viral do CMV define especificamente a progressão da doença. Os testes baseados na tecnologia de PCR em Tempo Real são capazes de quantificar o DNA viral com precisão sem necessidade de manipulação de amostra pós-PCR, proporcionando resultados rápidos e de baixo risco de contaminação cruzada para a amostra sob investigação.

2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

O kit XGEN MASTER CMV deve ser armazenado na embalagem original em temperatura controlada entre 2°C a 8°C e são estáveis até a data de vencimento indicada no rótulo. Uma vez reconstituídos, o componente PS CMV e o componente CI são estáveis durante 1 mês em temperatura controlada entre -25°C a -15°C. Uma vez dissolvido, o componente PADRÃO CMV é estável durante 2 semanas em temperatura controlada entre -25°C a -15°C.

3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Esse kit realiza a detecção pelo método de PCR em Tempo Real, através de sondas e primers específicos.

O DNA do Citomegalovírus é recuperado das amostras biológicas durante a etapa de extração e posteriormente amplificado. O produto da amplificação é detectado por meio de uma sonda específica marcada com corante fluorescente para uma única sequência genômica do CMV, e quantificado a partir da comparação com a curva padrão gerada, para a determinação da carga viral. O Controle Interno funciona como controle da extração/amplificação para cada amostra processada individualmente, para identificação da presença de possíveis inibidores.

4. AMOSTRA

4.1 TIPOS

O ensaio é para uso com ácido nucleico extraído de amostras de plasma, sangue total ou fluido amniótico de origem humana.

4.2 CONDIÇÕES PARA COLETA

- O sangue deve ser colhido assepticamente por punção venosa, e o plasma deve ser preparado usando técnicas padrões de preparação de amostras para laboratórios de análises clínicas.
- Nenhuma influência foi observada na preparação de amostras com citrato e EDTA.

ATENÇÃO: A heparina afeta as reações de PCR. Amostras que foram coletadas em tubos contendo heparina como anticoagulante não devem ser utilizadas. As amostras de pacientes heparinizados também não devem ser utilizadas.

- Evitar qualquer adição de conservantes nas amostras.
- As amostras devem ser claramente identificadas com códigos ou nomes, a fim de evitar resultados com erros de interpretação.
- Amostras hemolisadas e hiperlipêmicas têm de ser descartadas, pois podem gerar falsos resultados.
- Amostras contendo resíduos de fibrinas, partículas pesadas ou filamentos e corpos microbianos devem ser descartadas, pois podem gerar falsos resultados.
- As amostras de plasma para extração de DNA devem ser coletadas de acordo com os procedimentos laboratoriais comuns, transportados e armazenados entre 2 °C a 8 °C, por período máximo de 4 horas.

4.3 MANUSEIO

As amostras, se não utilizadas imediatamente devem ser armazenadas a -20 °C após a coleta e no máximo por 30 dias. Para armazenamento por longos períodos, mantê-las a -80 °C.

É recomendado, para melhor armazenamento das amostras, separá-las em várias alíquotas (volume mínimo de 300 µL) e armazená-las congeladas a -20 °C por um período máximo de 30 dias ou -80 °C por períodos maiores.

Quando utilizar amostras congeladas, só descongelar no momento da extração, a fim de evitar possíveis casos de degradação do ácido nucléico.

Amostras de sangue total devem ser coletadas em tubos de coleta com EDTA, de acordo com a orientação do laboratório, e armazenado entre 2 °C e 8 °C por no máximo três dias. Amostras congeladas podem sofrer lise celular e perda de carga viral.

4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO

Para a extração de DNA, 5 µL de Controle Interno poderá ser adicionado à mistura de tampão de lise e amostra, de acordo com a Instrução de Uso fornecida pelo fabricante do kit de extração.

IMPORTANTE: O Controle Interno (CI) que acompanha o kit de detecção pode ser usado no procedimento de extração como controle de extração. O valor de C_t do CI é usado para avaliar se o procedimento de extração foi realizado corretamente.

5. DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E SOFTWARE

O formato padrão do kit contém reagentes para 100 testes.

COMPONENTES	CONTEÚDO	QUANTIDADE 100 TESTES
MM CMV	Solução de Master Mix	2 tubos x 825 µL
PS CMV	Primers/ Sondas liofilizado	4 tubos*
PADRÃO CMV	Padrão Quantitativo liofilizado (6,0x10 ⁴ cópias/µL)	4 tubos*
CI	Controle Interno liofilizado	4 tubos*
CN	Controle Negativo	1 tubo x 1,5 mL
H ₂ O	Água livre de DNase/RNase	5 tubos x 1,5 mL
GUIA RÁPIDO	Guia Rápido	1 unidade

* Material liofilizado que deverá ser diluído com Água livre de DNase/RNase, conforme volume indicado na etiqueta do componente.

5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO

5.1.1 MM CMV

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

AVISO: A MM CMV é sensível à luz. Proteger de forte exposição à luz.

5.1.2 PS CMV

Centrifugar o frasco a 11.000 rpm por 2 minutos. Abrir cuidadosamente a tampa do frasco evitando dispersão de pó. Ressuspender homogeneamente o componente liofilizado com o volume da Água livre de DNase/RNase indicado no rótulo do frasco. Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso). Aguardar 10 minutos em temperatura ambiente (15°C < TA < 25°C). Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

AVISO: O PS CMV é sensível à luz. Proteger de forte exposição à luz.

5.1.3 PADRÃO CMV

Centrifugar o frasco a 11.000 rpm por 2 minutos. Abrir cuidadosamente a tampa do frasco evitando dispersão de pó. Ressuspender homogeneamente o componente liofilizado com o volume da Água livre de DNase/RNase indicado no rótulo do frasco. Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso). Aguardar 10 minutos em temperatura ambiente (15°C < TA < 25°C). Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

5.1.5.1 PREPARO DA CURVA PADRÃO

- Separar quatro tubos livres de nucleases para preparação da curva padrão.
- Estabelecer um padrão de diluição em série de 1:10 da solução original, para obter os pontos da curva padrão como descrito na tabela abaixo.

PREPARAÇÃO DA CURVA PADRÃO		
PADRÃO CMV	60.000 cópias/ μ L ou 60.000 UI/ μ L	Adicionar o volume da Água livre de DNase/RNase, conforme volume indicado na etiqueta do frasco.
Padrão 1	6.000 cópias/ μ L ou 6.000 UI/ μ L	10 μ L (Padrão CMV) + 90 μ L Água livre de DNase/RNase
Padrão 2	600 cópias/ μ L ou 600 UI/ μ L	10 μ L (Padrão 1) + 90 μ L Água livre de DNase/RNase
Padrão 3	60 cópias/ μ L ou 60 UI/ μ L	10 μ L (Padrão 2) + 90 μ L Água livre de DNase/RNase
Padrão 4	6,0 cópias/ μ L ou 6,0 UI/ μ L	10 μ L (Padrão 3) + 90 μ L Água livre de DNase/RNase

5.1.4 CI CMV

Centrifugar o frasco a 11000 rpm por 2 minutos. Abrir cuidadosamente a tampa do frasco evitando dispersão de pó. Ressuspender homogeneamente o componente liofilizado com o volume da Água livre de DNase/RNase indicado no rótulo do frasco. Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso). Aguardar 10 minutos em temperatura ambiente ($15^{\circ}\text{C} < \text{TA} < 25^{\circ}\text{C}$). Homogeneizar em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

5.1.5 CN

Solução pronta para uso.

5.1.6 ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE

Solução pronta para uso.

6. ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

✓ Micropipetas ($0,5 \mu\text{L} < \text{volume} < 1.000 \mu\text{L}$);

IMPORTANTE: Devem estar calibradas para distribuir o volume correto necessário para o teste e devem ser submetidas a regulares descontaminações das partes que podem acidentalmente entrar em contato com a amostra. Elas devem ser certificadas e devem estar com seus certificados válidos a fim de mostrar precisão de 1% e exatidão de $\pm 5\%$.

- ✓ Microcentrífuga;
- ✓ Agitador tipo *vortex* ou similar;
- ✓ Racks para tubos;
- ✓ Ponteiras estéreis com filtro;
- ✓ Microtubos livre de nuclease;
- ✓ Luvas descartáveis sem talco;
- ✓ Cabine de fluxo laminar;
- ✓ Microplacas para qPCR;
- ✓ Filmes seladores para microplacas;
- ✓ Termociclador para PCR em Tempo Real devidamente calibrado conforme orientação do fornecedor.

7. ESTABILIDADE EM USO

Recomenda-se realizar somente um ciclo de congelamento/descongelamento após a ressuspensão dos reagentes. Caso sejam utilizados de forma intervalada, sugere-se que sejam realizadas alíquotas em tubos livres de RNase e DNase, de acordo com a necessidade. As diluições do componente PADRÃO CMV para a realização da curva devem ser descartadas logo após a finalização do ensaio.

8. ORIENTAÇÕES GERAIS

- O produto destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório qualificado e treinado na manipulação de reagentes de biologia molecular e qualificados em protocolos de amplificação de PCR em Tempo Real.
- Todo o pessoal envolvido na execução do teste deve utilizar equipamentos de proteção individual. Além disso, todos devem ser treinados em procedimentos de biossegurança, como recomendado pela legislação em vigor.
- Os responsáveis pelo manuseio de amostras devem ser vacinados contra tétano, difteria, hepatite B e os estabelecidos no PCMSO, de acordo com a Norma Regulamentadora 32.
- Tratar todas as amostras como potencialmente infectantes. Todas as amostras de soro humano, sangue e plasma devem ser manuseadas em Nível de Biossegurança 2, como recomendado pela legislação em vigor.
- Os resíduos gerados durante a utilização do kit devem ser descartados de acordo com as diretrizes e regras de descarte de resíduos químicos e substâncias biológicas do laboratório, conforme legislação em vigor.

9. RECOMENDAÇÕES PARA CONTROLE DE QUALIDADE

- Não utilizar reagentes ou materiais fora da data de validade.
- Verificar se os componentes líquidos não estão contaminados por partículas visíveis ou grumos. Observar se há ruptura na caixa de transporte e se não há derramamento de líquido dentro da caixa.
- Ligar o termociclador e verificar as configurações e conferir se o protocolo de ensaio correto.
- Seguir estritamente o manual do equipamento fornecido pelo fabricante para a correta configuração do termociclador em Tempo Real.
- Não trocar os componentes entre diferentes lotes do produto. Recomenda-se que os componentes entre dois kits do mesmo lote também não sejam trocados.
- O ambiente do laboratório deve ser controlado, a fim de evitar contaminantes.
- Utilizar ponteiras descartáveis, trocando-as após a manipulação de cada reagente para evitar contaminações cruzadas. Da mesma forma, trocar as ponteiras após a manipulação de cada amostra.
- O fluxo de trabalho no laboratório deve proceder de maneira unidirecional, iniciando com o preparo dos reagentes (pré-PCR), passando para a extração de amostras (pré-PCR) e finalizando com as de amplificação e de análises de dados (pós-PCR). Não compartilhar reagentes e equipamentos entre as diferentes áreas.

IMPORTANTE: A circulação de pessoas e equipamentos provenientes da área de amplificação para a área de preparo de reagentes deve ser evitada fortemente, para evitar a contaminação das áreas pré-PCR com material amplificado.

- Recomenda-se a descontaminação regular de equipamentos comumente utilizados, especialmente micropipetas e superfícies de trabalho.

10. PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS, INTERPRETAÇÃO

10.1 CONTROLES DE AMPLIFICAÇÃO

É obrigatório validar cada sessão de amplificação com reações de Controle Negativo (CN) e Curva Padrão.

10.2 PREPARAÇÃO DA MIX DE AMPLIFICAÇÃO

10.2.1 CI COMO CONTROLE DE AMPLIFICAÇÃO

Se o Controle Interno foi adicionado no procedimento de amplificação do DNA, prepare a reação seguindo o quadro abaixo.

COMPONENTE	NÚMERO DE REAÇÕES			
	x 1	x 25	x 50	x 100
MM CMV	15 µL	375 µL	750 µL	1.500 µL
PS CMV	2 µL	50 µL	100 µL	200 µL
CI CMV	0,5 µL	12,5 µL	25 µL	50 µL
ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE	2,5 µL	62,5 µL	125 µL	250 µL
VOLUME TOTAL	20 µL	500 µL	1.000 µL	2.000 µL

- Separar um microtubo de 1,5 mL para preparar a mistura de amplificação.
- Homogeneizar os reagentes MM CMV e água livre de DNase/RNase em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).
- Homogeneizar os reagentes PS CMV e CI CMV já reconstituídos em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).
- Pipetar a quantidade requerida dentro do microtubo, de acordo com a relação da quantidade dos outros reagentes. Trocar as ponteiras após cada passo de pipetagem.

10.2.2 CI COMO CONTROLE DE EXTRAÇÃO/AMPLIFICAÇÃO

Se o Controle Interno foi adicionado no procedimento de extração do DNA, prepare a reação seguindo o quadro abaixo.

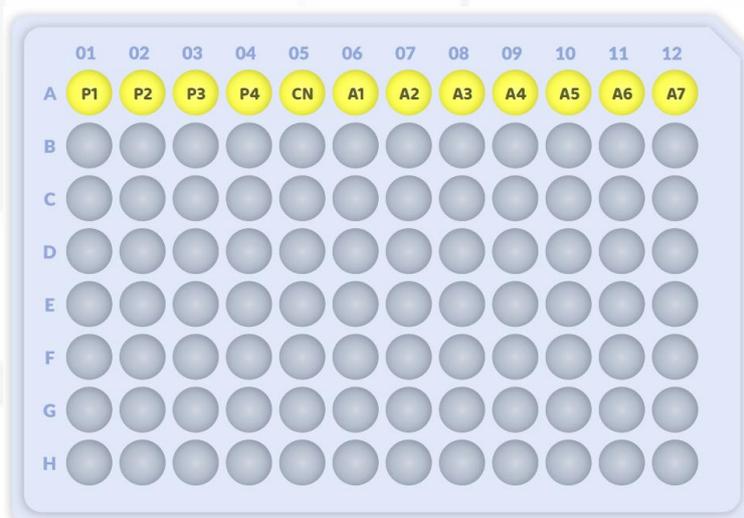
COMPONENTE	NÚMERO DE REAÇÕES			
	x 1	x 25	x 50	x 100
MM CMV	15 µL	375 µL	750 µL	1.500 µL
PS CMV	2 µL	50 µL	100 µL	200 µL
ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE	3 µL	75 µL	150 µL	300 µL
VOLUME TOTAL	20 µL	500 µL	1.000 µL	2.000 µL

- Separar um microtubo de 1,5 mL para preparar a mistura de amplificação.
- Homogeneizar os reagentes MM CMV e água livre de DNase/RNase em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).
- Homogeneizar o reagente PS CMV já reconstituído em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).
- Pipetar a quantidade requerida dentro do microtubo, de acordo com a relação da quantidade dos outros reagentes. Trocar as ponteiras após cada passo de pipetagem.

10.3 PROCEDIMENTO DE AMPLIFICAÇÃO

- Dispensar 20 µL da mistura de amplificação em cada poço da microplaca conforme gabarito de teste.
- Adicionar 10 µL de cada AMOSTRA extraída, CN e diluições do PADRÃO CMV conforme gabarito de teste.
- Selar a microplaca.
- Centrifugar brevemente a microplaca a 2000 rpm.
- Não deixar a microplaca preparada em temperatura ambiente por mais de 30 minutos e exposta à luz.
- Colocar a microplaca no termociclador de PCR em Tempo Real.
- Após configurar as operações descritas no subitem 10.4 - PROGRAMAÇÃO DA PCR e 10.5 - SELEÇÃO DE DETECTORES, iniciar a corrida no termociclador.

IMPORTANTE: Após a ressuspensão dos componentes liofilizados, eles não são estáveis por mais de 3 horas, se mantidos entre 2°C a 8°C. Após a rotina, descartar adequadamente o material. Os tubos com as diluições seriadas do PADRÃO CMV deverão ser descartados ao fim da rotina.



Exemplo de gabarito para posicionamento das amostras e reagentes na placa de PCR

LEGENDA:

- P1: Padrão 6.000 (6×10^3) cópias/µL
- P2: Padrão 600 (6×10^2) cópias/µL
- P3: Padrão 60 (6×10^1) cópias/µL
- P4: Padrão 6 cópias/µL
- CN: Controle Negativo
- A1 - A7: Amostras
- FUNDO AMARELO: Mistura de Amplificação (MM 1 + PS CMV + Água livre de DNase/RNase)

10.4 PROGRAMAÇÃO DA PCR

A programação deve ser feita conforme descrito abaixo.

ETAPA	TEMPERATURA	TEMPO	NÚMERO DE CICLOS
<i>Hold</i>	50°C	2 min.	1

Hold	95 °C	10 min.	1
Ciclo PCR (*Coleta de Dados)	95 °C	15 seg.	50
	60 °C (*)	1 min.	

Configurar o equipamento com a correta programação da PCR seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

10.5 SELEÇÃO DE DETECTORES

Selecionar os detectores informados na tabela abaixo, conforme o manual de instrução do equipamento a ser utilizado.

DETECÇÃO	REPORTER	QUENCHER
CMV	FAM	Não Fluorescente
CI	JOE/VIC	Não Fluorescente

IMPORTANTE: Configurar ROX como referência passiva.

10.6 CONFIGURAÇÕES PRÉ-ANÁLISE

É necessária a realização de ajuste de configuração para avaliação dos parâmetros de validação da corrida. Recomenda-se definir os valores de limite (*threshold*) para cada canal (alvo) independentemente. Use a curva de amplificação do controle positivo como ponto de partida durante a validação da execução (antes da interpretação de resultados amostrais do paciente), a fim de garantir que os limites estão dentro da fase exponencial das curvas de fluorescência e acima de qualquer sinal de fundo (*background*). O valor do limite (*threshold*) para diferentes instrumentos pode variar devido a diferentes intensidades de sinal.

10.7 VALIDAÇÃO DA CORRIDA

Uma verificação é realizada nos Padrões sempre que o kit é utilizado a fim de verificar se os valores de *Ct* são os esperados e informados na tabela abaixo.

CMV (FAM)	FAIXA DE ACEITE
Padrão 1	$22 < Ct < 24,5$
Padrão 2	$25,5 \leq Ct < 28,5$
Padrão 3	$29 \leq Ct < 32$
Padrão 4	$32 < Ct \leq 35,5$

Os valores de *SLOPE* e *R2* da corrida, devem ser verificados, a fim de garantir a qualidade da execução, e devem estar de acordo com a tabela abaixo.

CRITÉRIO	FAIXA DE ACEITE
<i>SLOPE</i>	$-3,1 < SLOPE < -3,9$
<i>R2</i>	$> 0,98$

Para cada amostra, os valores obtidos em FAM e JOE/VIC devem ser verificados a fim de validar a detecção de DNA de CMV como descrito na tabela abaixo.

CMV (FAM)	CI (JOE/VIC)	RESULTADO DO ENSAIO
Ct DETERMINADO	20 < Ct < 40	VÁLIDO
	Ct > 40 ou INDETERMINADO	VÁLIDO*
Ct INDETERMINADO	20 < Ct < 40	VÁLIDO
	Ct > 40 ou INDETERMINADO	INVÁLIDO**

* A alta concentração inicial de DNA de CMV (sinal em FAM positivo) pode levar a um sinal REDUZIDO ou AUSENTE do Controle Interno devido à competição durante a reação de PCR.

** Problemas durante a etapa de amplificação (ineficiência ou ausência de amplificação) ou durante a etapa de extração (presença de inibidores ou amostras iniciais contendo número insuficiente de células), pode levar a resultados incorretos e falsos negativos. O procedimento deve ser repetido iniciando a partir da etapa de extração usando amostra fresca.

10.8 QUANTIFICAÇÃO

Os padrões de quantificação são tratados como amostras de pacientes e, o mesmo volume, 10 µL, deve ser utilizado durante a etapa de amplificação.

A concentração dos padrões de quantificação é expressa em cópias/µL.

A concentração do genoma viral por mL para cada amostra de paciente é calculada aplicando a fórmula a seguir.

$$\text{Fator de conversão (Fc)} = \frac{\text{Volume de eluição de amostra (}\mu\text{L)}}{\text{Volume inicial de amostra na extração (mL)}}$$

Para cada amostra positiva detectada com o produto, a correta quantificação da carga viral de CMV poderá ser aplicada, de acordo com a tabela abaixo.

DADO ANALÍTICO	DADO DIAGNÓSTICO
Dado Corrida CMV (cópias/µL)	Carga Viral CMV (cópias/mL)
Quantidade > 200.000 (2x10 ⁵)	Carga viral acima do LOQ = 200.000 (2x10 ⁵) x Fc
1 ≤ Quantidade ≤ 200.000 (2x10 ⁵)	QUANTIFICAÇÃO*
Quantidade < 1	Carga Viral abaixo do LOQ = 1 x Fc

Cálculo para quantificação:

$$\text{*Carga viral (cópias/mL)} = \text{Dado da corrida (cópias/}\mu\text{L)} \times \text{FC}$$

Para converter a carga viral da amostra expressa em cópias/mL para UI/mL, o fator de conversão é 1*.

RESULTADO: 1,0 cópia/mL = 1,0 UI/mL

*O kit XGEN MASTER CMV foi validado para utilização em combinação com o kit de extração QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN) e Mini Spin Plus (BIOPUR). O fator de conversão da concentração das amostras de cópias/mL para Unidades Internacionais (UI/mL) foi determinado de acordo com a 1ª WHO International Standard for HCMV (NBISC Code 09/162), e é aplicável para os kits de extração indicados acima em conjunto com os instrumentos recomendados na Instrução de Uso.

11. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES E LIMITAÇÕES

Para o usuário deste kit recomenda-se a leitura cuidadosa e a compreensão da instrução de uso. A adesão estrita ao protocolo é necessária para a obtenção de resultados confiáveis.

Em particular, a veracidade da amostra, a pipetagem de reagentes, a aplicação do fluxo de trabalho correto, juntamente com a etapa da programação cuidadosa do termociclador, é essencial para resultados precisos e reprodutíveis. A determinação positiva em amostra do paciente tem implicações médicas, sociais, psicológicas e econômicas.

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER CMV devem ser interpretados pelos responsáveis do laboratório levando em consideração os sintomas clínicos dos pacientes e outros parâmetros de laboratório relacionados às condições do paciente.

É recomendado que a confidencialidade, aconselhamento apropriado e avaliação médica sejam considerados aspectos essenciais na sequência de testes.

12. DESEMPENHO

12.1 SENSIBILIDADE

A sensibilidade analítica é a capacidade de um método analítico obter resultados positivos frente a resultados positivos obtidos pelo método de referência, até a menor quantidade do analito que pode ser mensurada. O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade de cópias do alvo que pode ser detectada pelo sistema de ensaio com uma probabilidade de 95%. O limite de quantificação (LOQ) foi determinado por meio da medição da linearidade (*SLOPE*), a faixa dinâmica e a reprodutibilidade.

CRITÉRIO	RESULTADO
Limite de detecção	0,57 cópias/ μ L
Limite máximo de quantificação	200.000 cópias/ μ L (2×10^5 cópias/ μ L)
Limite mínimo de quantificação	1 cópia/ μ L

12.2 ESPECIFICIDADE

Já a especificidade analítica é a capacidade de um método analítico de determinar somente o analito frente a outras substâncias presentes na amostra.

CRITÉRIO	RESULTADO
Especificidade	100%

12.3 EXATIDÃO

Não aplicável.

12.4 PRECISÃO

O ensaio de precisão foi realizado através do resultado de um mesmo analito medido diversas vezes sob mesmas condições operacionais (repetibilidade) e sob condições operacionais distintas (reprodutibilidade). O resultado pode ser visualizado através do coeficiente de variação (CV%). Assim, os limites da faixa dinâmica são os limites mínimo e máximo da quantificação e foram estabelecidos conforme tabela abaixo:

CRITÉRIO	RESULTADO
Repetibilidade	CV% < 10%

Reprodutibilidade	CV% < 10%
-------------------	-----------

13. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

14. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

15. REQUISITOS

Profissional com conhecimentos em biologia molecular.

16. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER CMV devem ser interpretados pelos responsáveis do laboratório levando em consideração os sintomas clínicos dos pacientes e outros parâmetros de laboratório relacionados às condições do paciente.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUÇÃO
CONTROLE INTERNO COM SINAL FRACO OU SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	As condições da PCR não cumprem o protocolo.	Verificar as condições da PCR e repetir o procedimento de acordo com a instrução de uso, se necessário.
	A PCR foi inibida, não houve adição ou o volume de Controle Interno adicionado na etapa de extração não foi suficiente.	Verificar se o método de extração utilizado é compatível com o kit.
	Sinal positivo forte do alvo CMV (FAM).	Sinal positivo muito forte de um alvo pode, por vezes, inibir a fluorescência do Controle Interno.
CURVA PADRÃO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	Configuração incorreta da temperatura na programação da PCR no equipamento.	Comparar se a configuração está de acordo com a instrução de uso.
	Erros de pipetagem.	Checar a calibração das micropipetas.
		Verificar se os reagentes estão sendo manuseados corretamente.
		Homogeneização inadequada.
Condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não estão de acordo com a instrução de uso ou a data de validade do kit expirou.	Checar as condições de armazenamento e a data de validade (verificar na etiqueta do produto) dos reagentes e repetir o procedimento, se necessário.	

CONTROLE NEGATIVO COM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	Contaminação durante a extração ou durante a preparação da PCR.	Repetir a PCR com novos reagentes em replicatas.
		É recomendado realizar a pipetagem da Curva Padrão após todos os outros reagentes.
		Certificar-se de que o local de trabalho e os instrumentos são descontaminados em intervalos regulares.

IMPORTANTE: Interpretação dos resultados deve ser feita por profissionais devidamente treinados e habilitados para reduzir o risco de erros e resultados mal interpretados. Quando os resultados do laboratório são transmitidos do laboratório para o centro de informática, deve-se prestar muita atenção para evitar erro na transferência de dados.

17. ALERTAS E PRECAUÇÕES

Não aplicável.

18. GARANTIA

A Mobius Life Science fornece garantia de todos os produtos por ela revendidos.

O produto XGEN MASTER CMV é garantido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

18.1 EXCEÇÕES NA GARANTIA

- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.

18.2 EXTINÇÃO DA GARANTIA

- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.
- A Mobius não se responsabiliza por resultados/diagnósticos que sejam obtidos através da utilização de equipamentos e amostras não previstas na instrução de uso.

19. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE LEGAL

Mobius Life Science Indústria e Comércio de Produtos para Laboratórios Ltda.

Rua Jandaia do Sul 441 - Pinhais - PR - CEP: 83.324-440

Telefone: (41) 3401-1850

E-mail: suporte@mobiustlife.com.br | Website: www.mobiustlife.com.br

CNPJ: 04.645.160/0002-20

Rua Paraíso do Norte, 866 - Pinhais - PR - CEP: 83.324-221

Telefone: (41) 3401-1850 | 0800-7101850

E-mail: suporte@mobiustlife.com.br | Website: www.mobiustlife.com.br

CNPJ: 04.645.160/0001-49

20. REGISTRO ANVISA

80502070015