

## INSTRUÇÕES DE USO

### XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA

KIT MASTER PARA DETECÇÃO DE *HELICOBACTER PYLORI* E RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA

#### 1. FINALIDADE E MODO DE USO

O Kit MASTER para de Detecção de *Helicobacter pylori* e Resistência a Claritromicina é um teste de PCR em Tempo Real projetado para a identificação específica de *H. pylori* e detecção de resistência à Claritromicina em biópsias de tecido gástrico de pacientes com sinais e sintomas de infecção gastrointestinal. Este teste destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de *H. pylori* e resistência à Claritromicina em combinação com fatores de risco clínicos e epidemiológicos.

O DNA é extraído de biópsias de tecido gástrico, posteriormente amplificado em tempo real, sendo detectado por *primers* e sondas específicas para *H. pylori* e Claritromicina. O ensaio para detectar a resistência Claritromicina é baseado em detecção de mutações pontuais no gene 23S rRNA.

#### PRODUTO PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

##### 1. 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Helicobacter* pertence à família *Helicobacteriaceae*, da ordem *Campylobacterales*. *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) é uma bactéria gram-negativa microaerófila em forma de espiral, que é capaz de colonizar a camada mucosa do estômago humano e a parte superior do intestino delgado (duodeno).

Estima-se que mais da metade da população mundial esteja infectada com *H. pylori*, mas a maioria dos indivíduos pode viver assintomático. As novas infecções podem ocorrer devido à transmissão direta de pessoa para pessoa, seja por via oral-oral, via fecal-oral ou ambas. No entanto, o papel da forma cocóide de *H. pylori* como veículo de infecção por alimentos e fontes de água não deve ser descartado. *H. pylori* está envolvido na patogênese da gastrite atrófica, úlcera gastroduodenal, câncer gástrico e linfoma do tecido linfoide associado à mucosa gástrica (MALT).

Atualmente, vários ensaios diagnósticos para detecção de *H. pylori* estão disponíveis e agrupados como “invasivos” ou “não invasivos”, mas nenhum deles pode ser considerado padrão-ouro isoladamente. Os métodos invasivos incluem histologia, cultura e teste rápido da urease, que requerem amostras de biópsia gástrica obtidas por gastroduodenoscopia. Abordagens não invasivas incluem detecção de antígeno fecal, teste sorológico e teste respiratório de ureia entre outros.

A urease é um fator importante para a manutenção e virulência da bactéria na mucosa gástrica. É composta por duas subunidades estruturais codificadas por genes, *ureA* e *ureB*, que têm sido frequentemente empregados como genes-alvo para a detecção específica de *Helicobacter pylori*.

A Claritromicina é um antibiótico bacteriostático usado principalmente na infância para tratamento de infecções do trato respiratório superior e inferior, porém, sua aplicação no tratamento de *H. pylori* é a indicação mais utilizada. O principal modo de ação da Claritromicina como um dos antibióticos de amplo espectro usados na terapia de *H. pylori* é prevenir a tradução de proteínas. Após a primeira exposição à Claritromicina, mutações espontâneas (em ambos os operons 23S rRNA) conferem resistência ao genótipo e fenótipo *H.*

*pylori*. O impacto direto dessas mutações é o surgimento de cepas de *H. pylori* resistentes a Claritromicina. Até agora, duas cruciais mutações, A2142G e A2143G foram listadas como a principal causa de resistência a antibiótico em isolados clínicos.

Neste contexto, a PCR em tempo real pode auxiliar a adequada detecção e tratamento de *H.pylori* e resistência a Claritromicina, devido a sua alta sensibilidade e especificidade.

## 2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

Os componentes do kit devem ser transportados e armazenados na embalagem original à temperatura de 2°C a 40°C, até a data de validade indicada no rótulo. Após reconstituída, a MMix deve ser armazenada de 2°C a 8°C por até 4 horas ou para longos períodos, armazenar a -20°C. Uma vez reconstituído, o Controle Positivo deverá ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas o Controle Positivo e a MMix para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento. O Controle Positivo e a MMix são estáveis por até 6 ciclos de congelamento e descongelamento. Manter os componentes protegidos da exposição à luz. Uma vez ressuspenso, o Controle Interno (CI) deve ser armazenado a -20°C. A recomendação é separá-lo em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

## 3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA foi projetado para o diagnóstico de *H. pylori*, resistência à Claritromicina e sequência *wild-type* da Claritromicina no rRNA 23S em biópsias de tecido gástrico. Após o isolamento de DNA, a identificação de *H. pylori*, resistência à Claritromicina e/ou sequência *wild-type* da Claritromicina no 23S rRNA é realizada pela amplificação de uma região conservada dos genes *ureB* e 23S rRNA respectivamente, usando *primers* específicos e uma sonda marcada com fluorescência.

XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA é baseado na atividade da exonuclease 5' da DNA polimerase. Durante a amplificação do DNA, esta enzima cliva a sonda ligada a sequência de DNA complementar, separando o *quencher* do *reporter*. Essa reação gera um aumento no sinal fluorescente que é proporcional à quantidade de sequência alvo. Esta fluorescência pode ser medida em plataformas de PCR em tempo real.

## 4. AMOSTRA

### 4.1 TIPOS

O kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA foi validado com DNA extraído de amostras de biópsias de tecido gástrico.

### 4.2 CONDIÇÕES PARA COLETA

- As amostras devem ser claramente identificadas com códigos ou nomes, a fim de evitar resultados com erros de interpretação.
- As amostras clínicas devem ser coletadas e armazenadas em recipientes limpos com ou sem meio de transporte (dependendo do tipo de amostra) e processadas o mais rapidamente possível para garantir a qualidade do teste. É recomendada a utilização de amostras frescas.

### 4.3 MANUSEIO

Recomenda-se o uso de amostras frescas para o teste. Para longos períodos de armazenamento, recomenda-se que todas as amostras fiquem a  $-20^{\circ}\text{C}$  ou, idealmente, a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a extração.

### 4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO

A amostra deverá ser totalmente descongelada e levada à temperatura ambiente antes do teste. Homogeneizar bem a amostra antes da preparação. Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento devem ser evitados para impedir a degradação da amostra e dos ácidos nucleicos. Realizar a preparação da amostra de acordo com as recomendações descritas nas instruções de uso do kit de extração utilizado. Para extração de DNA a partir de amostras clínicas, pode ser utilizado qualquer kit de extração de DNA comercialmente disponível, tanto manuais quanto automatizados, seguindo as instruções do fabricante.

Adicionar 5  $\mu\text{L}$  do controle interno ao tampão de lise durante a extração em cada amostra. Fechar o tubo e homogeneizar em *vortex* por 10 segundos. Nunca adicionar o Controle Interno diretamente à amostra, ao menos que esteja diluída no tampão de lise.

Se o controle interno for usado apenas como controle de inibição da PCR, 1  $\mu\text{L}$  de controle interno deve ser adicionado à mistura de reação reconstituída.

**IMPORTANTE:** Adicionar o Controle Interno a cada uma das amostras é uma etapa muito importante para confirmar o sucesso do procedimento de extração de ácido nucleico e para verificar possível inibição da PCR.

## 5. DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E SOFTWARE

O formato padrão do kit contém reagentes para 24, 48 e 96 testes.

COMPONENTES	CONTEÚDO	QUANTIDADE		
		24 TESTES	48 TESTES	96 TESTES
<b>MMIX</b>	Mistura de enzima, sondas, primers, tampão e dNTPs liofilizada	1 tubo	2 tubos	4 tubos
<b>TR</b>	Tampão de Reidratação	1 x 1,8 mL	1 x 1,8 mL	1 x 1,8 mL
<b>CP</b>	Controle Positivo contendo cDNA sintético liofilizado	1 Tubo	1 Tubo	1 Tubo
<b>CI</b>	Controle Interno	1 Tubo	1 Tubo	1 Tubo
<b>CN</b>	Controle Negativo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	1 x 1 mL
<b>ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE</b>	Água Livre de DNase/RNase	1 x 1 mL	1 x 1 mL	1 x 1 mL

### 5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO DOS REAGENTES

#### 5.1.1 MMIX

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Reconstituir a mix na área pré-PCR do laboratório. Abrir o tubo da mix liofilizada com cuidado para evitar que o *pellet* se desfaça e adicionar 390  $\mu\text{L}$  do Tampão de Reidratação

fornecido no kit. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

**AVISO:** Após reconstituída, a MMIX pode ser mantida em 2°C a 30°C por até 4 horas, para longos períodos, armazenar a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento/descongelamento.

### 5.1.2 TAMPÃO DE REIDRATAÇÃO

Solução pronta para uso.

### 5.1.3 CP

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se que o CP seja manipulado em uma área de laboratório separada dos outros componentes do kit, preferencialmente no mesmo local onde as amostras são manipuladas, para evitar a contaminação dos demais componentes do kit. Reconstituir o CP liofilizado em 100 µL da água livre RNase/DNase fornecida no kit.

**AVISO:** Após reconstituído, o CP deve ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

### 5.1.4 CI

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se abrir e manipular o Controle Interno (CI) na área do laboratório de pré-PCR longe de o controle positivo liofilizado. O CI deve ser reconstituído adicionando 500 µL de Água Livre de RNase/DNase fornecida. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

**AVISO:** Após reconstituído, o CI deve ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

### 5.1.5 CN

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

### 5.1.6. ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

## 6. ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

✓ Micropipetas (0,5 µL < volume < 1.000 µL);

**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 ± 5%.

✓ Microcentrífuga;

✓ Agitador tipo *vortex* ou similar;

✓ Racks para Tubos;

✓ Ponteiros Estéreis com Filtro;

- ✓ Microtubos Livre de Nuclease;
- ✓ Luvas Descartáveis Sem Talco;
- ✓ Cabine de fluxo laminar.
- ✓ Termociclador para PCR em Tempo Real devidamente calibrado conforme orientação do fornecedor.

## 7. ESTABILIDADE EM USO

Quando em uso, o kit apresenta uma estabilidade de até 4 horas a temperatura ambiente e em condições de luz normal. É indicado minimizar a exposição dos componentes do kit à luz. Os componentes armazenados sob outras condições que não as especificadas no rótulo podem não proporcionar um desempenho correto, afetando negativamente os resultados dos testes. Caso sejam utilizados de forma intervalada, sugere-se que sejam realizadas alíquotas em tubos livres de DNase e RNase, de acordo com a necessidade.

## 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.
- 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, verificar as configurações e conferir se o protocolo de ensaio está 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 ponteiros descartáveis, trocando-as após a manipulação de cada reagente para evitar contaminações cruzadas. Da mesma forma, trocar as ponteiros 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 nas áreas 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 que não haja 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 CONTROLE DE AMPLIFICAÇÃO

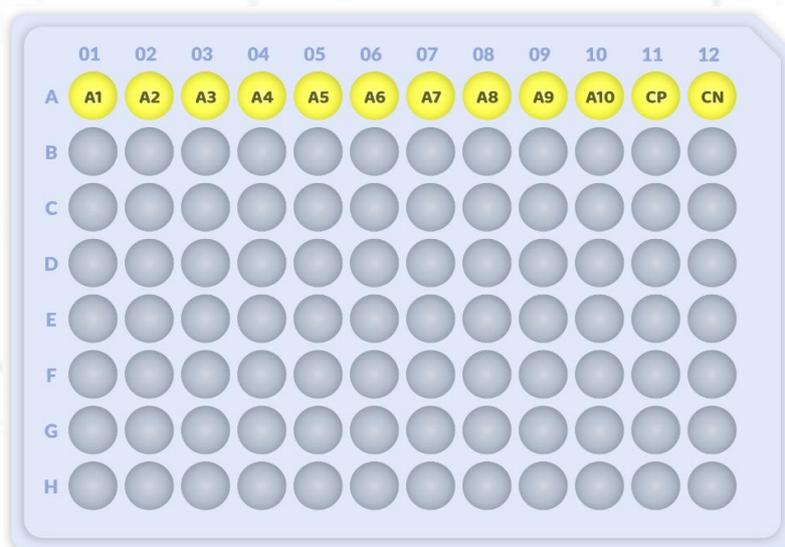
O kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA contém controles positivo e negativo que devem ser incluídos em cada execução para interpretar corretamente os resultados. Além disso, o controle interno (CI) adicionado em cada amostra testada confirma o desempenho correto da técnica.

### 10.2 PROCEDIMENTO DE AMPLIFICAÇÃO

- Adicionar 15  $\mu$ L da MMIX em cada poço de acordo com o número de reações necessárias, incluindo amostras e controles.
- Adicionar 5  $\mu$ L de DNA extraído de cada amostra, CP e CN em seus respectivos poços e fechar a placa/microtubos.

**OBSERVAÇÃO:** Se o CI for usado apenas como controle de amplificação e não tiver sido adicionado à amostra durante a extração, adicione 1  $\mu$ l do CI ao poço de cada amostra, CN e CP.

- Centrifugar brevemente a placa/microtubos.
- Colocar a placa/microtubos no termociclador de PCR em Tempo Real.
- Após configurar a programação como descrito no subitem 10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR E 10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES, iniciar a corrida no termociclador.



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

#### LEGENDA:

- A1 - A10 = Amostras
- CP = Controle Positivo
- CN = Controle Negativo

- **FUNDO AMARELO:** Mistura de Amplificação (MMIX)

### 10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR

A programação deve ser feita conforme descrito abaixo. Configurar o equipamento com a correta programação da PCR seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

ETAPA	TEMPERATURA	TEMPO	NÚMERO DE CICLOS
<i>Hold</i>	95°C	2 min	1
Ciclo PCR (*Coleta de Dados)	95°C	10 s	45
	63°C (*)	50 s	

### 10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES

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

ALVO	REPÓRTER
Resistência a Claritromicina	FAM
<i>H.pylori</i>	ROX
Clarithromicina <i>wild-type</i>	JOE/VIC/HEX
Controle Interno	Cy5

### 10.5 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.

### 10.6 VALIDAÇÃO DA CORRIDA

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

CRITÉRIO	ALVO	CONTROLE INTERNO	RESULTADO DO ENSAIO
Controle Negativo	>40 ou nenhum sinal	≤40	Válido
	≤40*	≤40	Inválido
Controle Positivo	≤40**	≤40***	Válido

\* Se existir potencial contaminação (aparecimento de curva de amplificação ou conjunto de curvas em amostras com Ct < 40) no Controle Negativo, os resultados obtidos não são interpretáveis e toda a corrida (incluindo extração) deve ser repetida.

\*\* As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos apresentam aspectos diferentes.

\*\*\* Se o controle interno foi adicionado às amostras apenas no momento da extração e não foi adicionado ao controle positivo no momento da amplificação, não haverá amplificação do CI no controle positivo.

Se todos os controles estiverem dentro dos intervalos especificados, validando a corrida, verificar as amostras clínicas.

## 10.7 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Qualquer amostra exibindo um traço exponencial é considerada positiva.

ALVOS	CI (Cy5)	RESULTADO DO ENSAIO
Ct < 40	Determinado	Positivo Válido
	Indeterminado	Positivo Válido*
Ct ≥ 40 ou Indeterminado/Não detectado	< 40	Negativo Válido
	Ct ≥ 40 ou indeterminado	Inválido**

\* A concentração de DNA dos alvos (sinal FAM, ROX e/ou VIC positivos) pode levar a um sinal REDUZIDO ou AUSENTE do Controle Interno devido à competição entre os reagentes.

\*\* Nestes casos podem ocorrer 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), o qual pode levar a resultados incorretos e falsos negativos. O procedimento deve ser repetido iniciando a partir da etapa de extração usando amostra fresca vinda do paciente.

## 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 *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA 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%. A sensibilidade do kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA para cada um dos alvos está na tabela abaixo.

CRITÉRIO	RESULTADO
Sensibilidade (LOD) <i>H.pylori</i>	10 cópias por reação
Sensibilidade (LOD) Resistência a Claritromicina	10 cópias por reação
Sensibilidade (LOD) Claritromicina <i>wild-type</i>	10 cópias por reação

## 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.

A especificidade kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA foi confirmada por um painel de testes composto por diferentes microrganismos que representam os patógenos ou flora entéricos e geniturinários mais comuns presentes no trato gastrointestinal ou sistema urogenital. Nenhuma reação cruzada foi detectada entre qualquer um dos seguintes microrganismos testados: *Helicobacter felis*\*, *Campylobacter upsaliensis*, *Candida albicans*, *Helicobacter hepaticus*\*, *Campylobacter hyointestinalis*\*, *Arcobacter butzleri*, *Helicobacter cinaedi*\*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter heilmannii*\*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella flexneri*, *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus*, *Yersinia enterocolitica* O:3\*, *Shigella dysenteriae*, *Serratia liquefaciens*, *Yersinia enterocolitica* O:9, *Salmonella typhi*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Bacteroides fragilis*, *Salmonella paratyphi* A, *Clostridium difficile*, *Adenovirus serotypes 40/41* - *Salmonella paratyphi* B - *Clostridium difficile* 027\* - *Adenovirus serotypes 1-5* - *Salmonella typhimurium* - *Clostridium perfringens* - *Adenovirus serotype 8/15/31*, *Salmonella bongori*, *Enterotoxigenic Escherichia coli*, *Rotavirus A*, *Salmonella enteritidis*, *Enterohemorrhagic Escherichia coli*, *Norovirus Genotypes I and II*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, *Enteroinvasive Escherichia coli*, *Astrovirus Genotype I-VIII*, *Salmonella pullorum*, *Enteropathogenic Escherichia coli*, *Sapovirus*, *Salmonella gallinarum*, *Klebsiella oxytoca*, *Entamoeba histolytica*, *Campylobacter lari*\*, *Listeria monocytogenes*, *Entamoeba* díspar, *Campylobacter fetus*\*, *Aeromonas caviae*, *Cryptosporidium parvum/hominis*, *Campylobacter coli*\*, *Aeromonas hydrophila* subsp. *Hydrophila*\*, *Giardia intestinalis*\*, *Campylobacter jejuni* subsp. *Jejuni*, *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis*.

\*Esses microrganismos apresentaram sinal de amplificação em sequências de Claritromicina *wild-type* no canal 23S rRNA.

## 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 resultados foram estabelecidos conforme tabela abaixo.

CRITÉRIO	RESULTADO
Repetibilidade	CV% < 5%
Reprodutibilidade	CV % < 5%

### 13. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

### 14. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

### 15. REQUISITOS

Usuário profissional com conhecimentos em biologia molecular.

### 16. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA 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.

Se um ou mais dos problemas descritos na tabela abaixo forem recorrentes, deve-se realizar uma investigação e para que se tomem ações a fim de evitá-los.

PROBLEMA	CAUSA	SOLUÇÃO
CONTROLE POSITIVO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO	Configuração incorreta da temperatura na programação da PCR no equipamento.	Verificar se a configuração está de acordo com a instrução de uso.
	Aplicação incorreta do CP.	Verificar as etapas de trabalho por meio do esquema de pipetagem e repetir o procedimento, se necessário.
	Homogeneização inadequada ou descongelamento em temperatura diferente da ambiente.	Conferir a calibração das micropipetas.
	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.	Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (verificar na etiqueta do produto) dos reagentes e repetir o procedimento, se necessário.
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.
	Possibilidade de inibição, erro no procedimento ou mau funcionamento do equipamento.	Verificar se nenhum potencial inibidor de PCR contaminou os tubos.

		<p>Sinal positivo muito forte de um alvo pode, por vezes, inibir a fluorescência do Controle Interno.</p> <p>Verificar se as análises foram realizadas com a configuração correta do equipamento.</p>
	Problemas durante a extração.	Verificar se o método de extração utilizado é compatível com o kit e se o procedimento foi executado corretamente.
<b>CONTROLE NEGATIVO COM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	Contaminação durante a extração ou durante a preparação da PCR.	Repetir a PCR com novo reagentes em replicatas.
		É recomendado realizar a pipetagem do Controle Positivo após todos os outros reagentes.
		Certificar-se de que o local de trabalho e os instrumentos são descontaminados em intervalos regulares.

**IMPORTANTE:** A interpretação dos resultados deve ser feita sob a supervisão do responsável do laboratório 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 *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA 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 E IMPORTADOR

FABRICANTE:

Instrução de Uso - XGEN MASTER *HELICOBACTER PYLORI* + RESISTÊNCIA A CLARITROMICINA - Rev. 00 - nov/2022



CERTEST BIOTEC

Endereço: Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza, Espanha.

IMPORTADO POR:

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 | 0800-7101850

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

CNPJ: 04.645.160/0001-49

## 20. REGISTRO ANVISA

80502070103