

## INSTRUÇÕES DE USO

### XGEN MASTER VZV

KIT MASTER PARA QUANTIFICAÇÃO DO VÍRUS *VARICELLA ZOSTER* (VZV)

#### 1. FINALIDADE E MODO DE USO

O kit XGEN MASTER VZV é um teste quantitativo que permite a amplificação e quantificação do DNA da região C-ORF66 do genoma do vírus *Varicella Zoster* (VZV) em amostras de sangue total, plasma e swab vesicular.

O kit foi otimizado para uso nos aparelhos de PCR em Tempo Real: ABI 7500 e ABI 7500 Fast; Versant kPCR AD; Rotor-Gene Q e LightCycler 480.

**PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO DE USO *IN VITRO*.**

##### 1. 1 INTRODUÇÃO

O vírus *Varicella Zoster* (VZV) ou HHV-3, é um alfa herpesvírus neurotrópico, que contém uma grande cadeia dupla de DNA (dsDNA). A infecção por VZV pode resultar em duas formas clinicamente distintas de doença:

A infecção primária resulta na catapora (varicela) que é caracterizada por mal-estar, febre extensa erupção cutânea com lesões vesiculares em diferentes estágios de desenvolvimento na face, tronco e extremidades.

Como mesmo após a melhora dos sintomas clínicos, o VZV permanece dormente no sistema nervoso do hospedeiro. Em cerca de 10-20% dos casos, o VZV pode ser reativado mais tarde, produzindo uma doença conhecida como herpes zoster ou “cobreiro”.

As complicações graves da herpes zoster incluem neuralgia pós-herpética, mielite ou infecções oculares.

#### 2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

O kit XGEN MASTER VZV deve ser armazenado à temperatura controlada de -20°C e é estável até à data de vencimento indicada no rótulo (o produto intacto e bem armazenado tem uma estabilidade de 18 meses a partir da data de fabricação).

#### 3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O procedimento permite a detecção do alvo de DNA por meio de uma reação de amplificação genômica. A análise dos resultados é feita usando um analisador de PCR em tempo real (termociclador integrado com um sistema para detecção de fluorescência e um software dedicado).

Uma reação de amplificação específica para a região C-ORF66 do VZV e para a região do gene da beta globina humana (controle da inibição interna da adequação da amostra) é realizada em cada poço a partir do DNA extraído das amostras.

A sonda marcada com fluoróforo FAM, específica para VZV, é ativada em caso de hibridização com o produto específico da reação para o VZV. Assim como a sonda marcada com fluoróforo VIC, específica para o gene da beta globina humana, é ativada em caso de hibridização com o produto da reação de amplificação do gene da beta globina humana.

O instrumento de PCR em tempo real é responsável pela medição e registro de emissão de fluorescência à medida que o produto específico da reação de amplificação aumenta. A análise de dados permite determinar a presença e o título do DNA do VZV na amostra inicial.

## 4. AMOSTRA

### 4.1 TIPOS

O kit XGEN MASTER VZV pode ser utilizado com DNA extraído a partir de amostras de sangue total, plasma, e swab vesicular.

### 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

Amostras coletadas devem ser transportadas e armazenadas entre 2°C a 8°C. Armazenar as amostras a -20°C caso não sejam utilizadas no prazo de 3 dias.

### 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.

## 5. DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E SOFTWARE

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

COMPONENTES	CONTEÚDO	48 TESTES (XG-VZV-MB-48)	96 TESTES (XG-VZV-MB)
MM VZV	Solução de Enzima e dNTPS	3 x 220 µL	3 x 440 µL
PS VZV	Mistura de <i>Primers</i> e Sondas para VZV e Controle Interno	3 x 130 µL	3 x 260 µL
PADRÃO VZV 10 <sup>5</sup>	DNA clonado correspondente à região C-ORF66 na concentração de 10 <sup>5</sup> cópias/µl	3 x 35 µL	3 x 70 µL
PADRÃO VZV 10 <sup>4</sup>	DNA clonado correspondente à região C-	3 x 35 µL	3 x 70 µL

	ORF66 na concentração de 10 <sup>4</sup> cópias/μL		
<b>PADRÃO VZV 10<sup>3</sup></b>	DNA clonado correspondente à região C-ORF66 na concentração de 10 <sup>3</sup> cópias/μL	3 x 35 μL	3 x 70 μL
<b>PADRÃO VZV 10<sup>2</sup></b>	DNA clonado correspondente à região C-ORF66 na concentração de 10 <sup>2</sup> cópias/μL	3 x 35 μL	3 x 70 μL
<b>CI VZV</b>	Controle Interno	3 x 100 μL	3 x 200 μL
<b>CN</b>	Controle Negativo	1 x 30 μL	1 x 60 μL
<b>Guia Rápido</b>	Guia Rápido	1 unidade	1 unidade

## 5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO DOS REAGENTES

### 5.1.1 MM VZV

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

### 5.1.2 PS VZV

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

### 5.1.3 PADRÃO SP 10<sup>5</sup>/10<sup>4</sup>/10<sup>3</sup>/10<sup>2</sup>

Solução pronta para uso para ser utilizada como amostra na etapa de amplificação.

Não extrair os padrões, uma vez que a solução é constituída por plasmídeos e a reação pode ser inibida.

### 5.1.4 CN

Descongelar o Controle Negativo. Antes de utilizar, homogeneizar em agitador *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).

### 5.1.5 CI VZV

Descongelar o Controle Interno. Antes de utilizar, homogeneizar em agitador *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).

**IMPORTANTE:** Para a extração de amostras de sangue total, plasma, e swab vesicular, o Controle Interno deve ser adicionado à mistura de tampão de lise e amostra, de acordo com a Instrução de Uso fornecida pelo fabricante do kit de extração.

Na extração, para volume de eluição de 50 μL, recomenda-se adicionar 5 μL do Controle Interno ao tampão de lise em cada extração. Caso seja utilizado volume de eluição diferente do descrito acima, adicionar o volume de Controle Interno proporcional.

ELUIÇÃO	CI
50 μL a 99 μL	5 μL
>100 μL	10 μL

**NOTA:** 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.

## 6. ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- ✓ Kit de extração de DNA;
- ✓ 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 (12.000 - 14.000 rpm);
- ✓ Agitador tipo *vortex* ou similar;
- ✓ Racks para Tubos;
- ✓ Ponteiras Estéreis com Filtro;
- ✓ Microtubos Livre de Nuclease;
- ✓ Filme selador;
  
- ✓ Luvas Descartáveis Sem Talco;
- ✓ Cabine de fluxo laminar;
- ✓ Termociclador para PCR em Tempo Real devidamente calibrado conforme orientação do fornecedor.

## 7. ESTABILIDADE EM USO

O produto é fornecido em embalagens com gelo seco que devem garantir a temperatura de transporte. Os componentes do kit devem ser congelados. Deve ser evitado o congelamento e o descongelamento repetido (mais de duas vezes) dos reagentes, pois pode reduzir a sensibilidade do ensaio. Recomenda-se realizar alíquotas dos reagentes de acordo com a necessidade do uso intermitente.

## 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 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 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. EQUIPAMENTOS E FERRAMENTAS USADOS EM COMBINAÇÃO COM O KIT

### 10.1 MICROPIPETAS

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

### 10.2 CONTROLE DE AMPLIFICAÇÃO

O Kit MASTER VZV é direcionado para uso em combinação com os Termocicladores: ABI 7500 e ABI 7500 Fast; Versant kPCR AD; Rotor-Gene Q e LightCycler 480.

Os usuários finais devem seguir estritamente a instrução de uso fornecida pelo fabricante.

Para utilização do kit em outros equipamentos deverá ser realizada a validação para confirmar que os requisitos necessários para a finalidade pretendida são atendidos.

## 11. PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS, INTERPRETAÇÃO

### 11.1 CONTROLE DE AMPLIFICAÇÃO

É obrigatório validar cada sessão de amplificação com reações de Controle Negativo e Controle Positivo.

**IMPORTANTE:** Um exemplo de gabarito para dispensação dos reagentes é informado no item Gabarito do Teste. Favor consultar o item antes de iniciar o procedimento prático.

**ATENÇÃO:** Utilizar somente microplacas recomendadas pelo fabricante do termociclador em Tempo Real.

### 11.2 PREPARAÇÃO DA MISTURA DE AMPLIFICAÇÃO

Para preparo da mistura de amplificação é necessário calcular o volume de acordo com o número de amostras a serem analisadas, utilizando como base a tabela a seguir:

COMPONENTE	NÚMERO DE REAÇÕES			
	X 1	X 16	X 32	X 96
MM	13,75 µL	220 µL	440 µL	1320 µL
PS	8,1 µL	129,6 µL	259,2 µL	776,6 µL
<b>VOLUME TOTAL</b>	<b>21,85 µL</b>	<b>349,6 µL</b>	<b>699,2 µL</b>	<b>2096,6 µL</b>

- Separar um microtubo de 1,5 mL (não fornecido) para preparar cada mistura de amplificação.
- Descongelar o reagente MM VZV, homogeneizar cuidadosamente em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar todo o conteúdo no fundo do tubo.
- Descongelar o reagente PS VZV, homogeneizar cuidadosamente em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso) para concentrar todo o conteúdo no fundo do tubo.
- Preparar a mistura de amplificação, de acordo com o número de amostras a serem analisadas .
- Homogeneizar a mistura de amplificação em agitador tipo *vortex* e centrifugar brevemente (pulso).
- Certificar-se de congelar os volumes restantes dos reagentes não utilizados logo após a utilização.

### 11.3 PROCEDIMENTO DE AMPLIFICAÇÃO

- Dispensar 20 µL da mistura de amplificação em cada poço da microplaca.
- Homogeneizar e adicionar 5 µL de cada amostra extraída, CN extraído e PADRÕES VZV conforme gabarito de teste.
- Fechar a placa com filme adesivo óptico, homogeneizar em *vortex* e centrifugar brevemente.

**NOTA:** Em caso de termociclador Rotor-Gene Q, selar cada tubo com a tampa apropriada.

- Colocar a placa no equipamento.
- Após configurar as operações descritas no subitem “Programação da PCR”, iniciar a corrida no termociclador.

### 11.4 PROGRAMAÇÃO DA PCR

A programação deve ser feita conforme descrito a seguir.

FASE	TEMPERATURA	TEMPO	NÚMERO DE CICLOS
Hold	50°C	2 min	1

Hold	95°C	10 min	1
Ciclo PCR (*Coleta de Dados)	95°C	15 seg	45
	60°C	1 min	

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

### 11.5 SELEÇÃO DE DETECTORES

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

#### ABI 7500 e ABI 7500 Fast

DETECÇÃO	REPORTER	QUENCHER
VZV	FAM	NFQ-MGB
CONTROLE INTERNO ( $\beta$ -globina)	VIC	TAMRA

**IMPORTANTE:** Configurar ROX como referência passiva.

#### Versant kPCR AD

DETECÇÃO	REPORTER
VZV	FAM
CONTROLE INTERNO ( $\beta$ -globina)	HEX

**IMPORTANTE:** Configurar ROX como referência passiva.

DETECÇÃO	GANHO
FAM	4
HEX	4
ROX	1

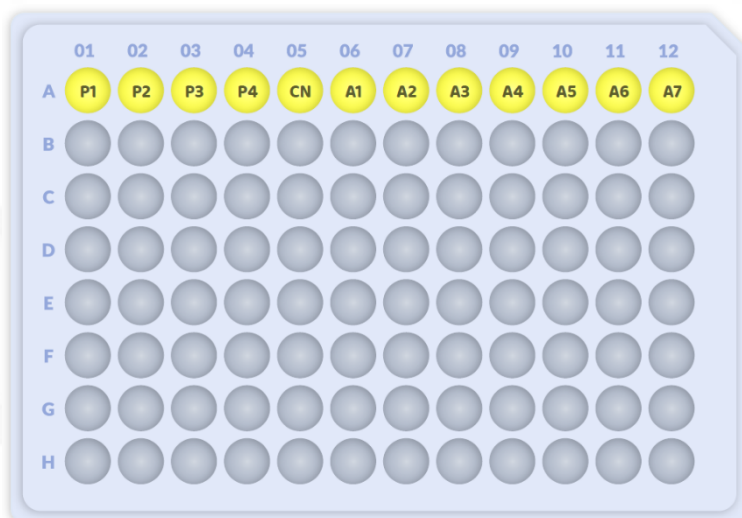
#### Rotor-Gene Q

DETECÇÃO	REPORTER
Verde	5
Amarelo	5

#### Rotor-Gene Q

Selecionar formato de detecção: sonda de hidrólise de cor dupla.

### 11.6 GABARITO DE TESTE



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

**LEGENDA:**

- P1: Padrão  $10^5$  cópias/ $\mu$ L
- P2: Padrão  $10^4$  cópias/ $\mu$ L
- P3: Padrão  $10^3$  cópias/ $\mu$ L
- P4: Padrão  $10^2$  cópias/ $\mu$ L
- CN: Controle Negativo
- A1 - A7: Amostras
- FUNDO AMARELO: Mistura de Amplificação (MM VZV + PS VZV)

**11.7 VALIDAÇÃO DA CORRIDA**

Uma verificação dos padrões é realizada sempre que o kit é utilizado a fim de verificar se os valores de  $Ct$ ,  $SLOPE$  e  $R^2$  atendem os requisitos da tabela abaixo, a fim de garantir a qualidade da execução.

CRITÉRIO	FAIXA DE ACEITE
Padrão $10^5$ / $\mu$ L (FAM)	$Ct \leq 25$
$R^2$	$0,990 \leq R^2 \leq 1$
$SLOPE$	$-3,6 \leq SLOPE \leq -3,2$
EFICIÊNCIA DA PCR	$90\% \leq \text{Eficiência} \leq 100\%$

**IMPORTANTE:** Se a reação de amplificação do PADRÃO  $10^5$  produzir um  $Ct > 25$  ou indeterminado, a sessão não poderá ser considerada válida e deverá ser repetida.

Para cada amostra, os valores obtidos em JOE/VIC e CY5 devem ser verificados a fim de validar a detecção de DNA de VZV como descrito na tabela a seguir:

VZV-FAM	CONTROLE INTERNO VIC/HEX	RESULTADO DO ENSAIO	RESULTADO DA AMOSTRA
$Ct$ INDETERMINADO	$Ct > 28$ ou INDETERMINADO	INVÁLIDO	REPETIR
	$Ct < 28$	VÁLIDO	NEGATIVO



Ct DETERMINADO	Ct < 28	VÁLIDO	POSITIVO
	Ct > 28 ou INDETERMINADO	VÁLIDO	ALTO POSITIVO

**NOTA:**

- Os valores de Ct para a sonda específica de controle interno (β-globina) são usados para validar a sessão de análise, do processo de extração até a etapa de detecção. Um bom desempenho de extração apresenta um Ct entre 22 e 25.
- Caso uma amostra apresente VZV com resultado indeterminado e Controle Interno com Ct > 28, pode significar problemas nas etapas de extração e/ou amplificação. Portanto, a amostra deve ser repetida.
- Pode-se considerar válidas as amostras com Ct > 28 para o controle interno e alta concentração de DNA de VZV. Neste caso, a natureza competitiva da reação de PCR pode esconder ou prejudicar a amplificação do controle interno.
- Se existir potencial contaminação na amostra Controle Negativo, os resultados obtidos não são interpretáveis e toda a corrida (incluindo extração) deve ser repetida.

### 11.8 QUANTIFICAÇÃO

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 kit XGEN MASTER VZV, a correta quantificação da carga viral de VZV poderá ser aplicada, de acordo com a tabela abaixo.

DADO ANALÍTICO	DADO DIAGNÓSTICO
Corrida VZV (cópias/μL)	Carga Viral VZV (cópias/mL)
Quantidade > 1,583	QUANTIFICAÇÃO*
Quantidade < 1,583	Carga Viral abaixo do LOQ

Cálculo para quantificação:

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

### 12. 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 que a detecção do ácido nucleico do VZV seja precisa e reprodutível.

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER VZV 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.

## 13. DESEMPENHO

### 13.1 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 de 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 MASTER VZV está na tabela abaixo.

ALVO	SENSIBILIDADE
Limite de detecção	0,814 cópias/ $\mu$ L
Limite mínimo de Quantificação	1,583 cópias/ $\mu$ L

### 13.2 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%

### 13.3 EXATIDÃO

Não aplicável.

### 13.4 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%

## 14. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

## 15. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

## 16. REQUISITOS

Profissional com conhecimentos em biologia molecular.

## 17. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER VZV 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
<b>CONTROLE POSITIVO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	Configuração incorreta da temperatura na programação da PCR no equipamento.	Comparar se a configuração está de acordo com a instrução de uso.
	Configuração incorreta da reação de PCR.	Verificar as etapas de trabalho por meio do esquema de pipetagem e repetir o procedimento, se necessário.
		Checar a calibração das micropipetas.
	Manuseio incorreto dos controles positivos.	Homogeneização inadequada ou descongelamento em temperatura diferente da ambiente.
<b>CONTROLE INTERNO COM SINAL FRACO OU SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	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.
	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.
<b>CURVA PADRÃO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	Sinal positivo forte do alvo VZV (FAM).	Sinal positivo muito forte de um alvo pode, por vezes, inibir a fluorescência do Controle Interno.
	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.
<b>CONTROLE NEGATIVO COM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	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.

## 18. ALERTAS E PRECAUÇÕES

1. O kit deve ser utilizado somente por pessoal técnico qualificado e devidamente treinado.
2. Após a reconstituição, a mistura principal de amplificação deve ser utilizada de uma só vez. O descongelamento e congelamento repetido dos reagentes (mais de duas vezes) deve ser evitado, pois isso pode afetar o desempenho do ensaio. Os reagentes devem ser congelados em alíquotas, se forem usados intermitentemente.
3. Siga sempre as diretrizes de Boas Práticas de Laboratório (BPL).
4. Utilizar roupas de proteção, como jalecos de laboratório e luvas descartáveis, enquanto manipula amostras.
5. Evitar qualquer contato entre as mãos e os olhos ou nariz durante a coleta e o teste das amostras.
6. Manusear e descartar todos os materiais usados em recipientes apropriados para resíduos perigosos. Descartar de acordo com a legislação local.
7. Mantenha separados os ambientes de extração e de preparação dos reagentes.
8. Nunca pipetar soluções por via oral.
9. Evitar bolhas de ar durante a distribuição da mistura principal. Eliminar antes de iniciar a amplificação.
10. Lavar as mãos cuidadosamente após manusear as amostras e reagentes.
11. Não misturar reagentes de lotes diferentes.
12. Não infeccioso e perigoso para a saúde (consultar a Ficha com dados de segurança - FDS).
13. Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras e os reagentes do kit são manuseados.

14. Ler atentamente as instruções antes de utilizar o teste.
15. Não utilizar o kit além da data de validade que aparece no rótulo da embalagem.
16. Não utilizar caso o invólucro de proteção esteja danificado.

## 19. GARANTIA

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

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

### 19.1 EXCEÇÕES NA GARANTIA

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

### 19.2 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.

## 20. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE LEGAL

Fabricante:

Clonit Srl

Via B. Quaranta 57

20139 Milão - Itália

Distribuído 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@mobiuslife.com.br | Website: www.mobiuslife.com.br

CNPJ: 04.645.160/0001-49

## 21. REGISTRO ANVISA

80502070077