

RTK015

CMV Q - PCR Alert Kit

Instruções de Uso

USO PRETENDIDO

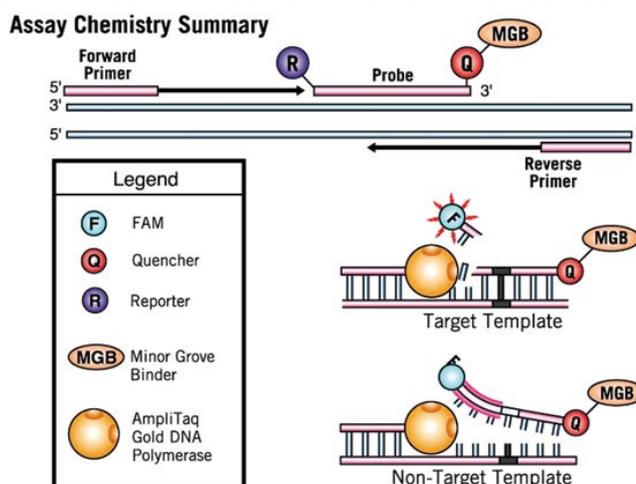
O kit pronto para uso **CMV Q - PCR Alert Kit** é um teste quantitativo de amplificação dos ácidos nucleicos para a pesquisa e dosagem do Citomegalovírus humano (CMV) em amostras de DNA extraídas do plasma colhido em EDTA, sangue total colhido em EDTA, suspensões de leucócitos (buffy coat) e suspensões de granulócitos.

Seu uso pretendido é, juntamente com dados clínicos e outros exames de laboratório, diagnosticar e monitorar a infecção de CMV.

PRINCÍPIO DE AÇÃO E REAÇÃO

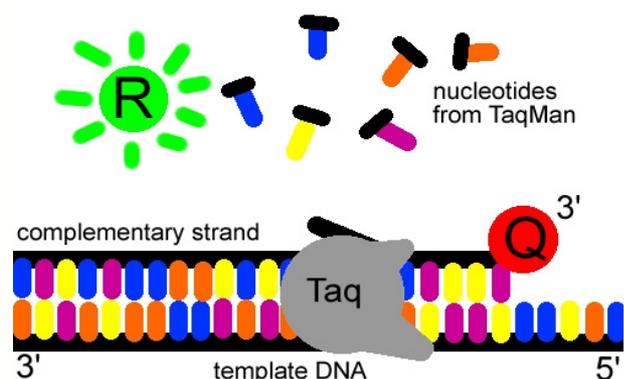
O procedimento consiste na reação de amplificação em tempo real em microplaca com uma variação e controle de temperatura programável e sistema ótico de detecção fluorescente simultânea à reação (Termociclador em Tempo Real).

Uma reação de amplificação específica para uma região do gene CMV MIEA e para uma região do gene da beta-globina humana (com controle de inibição interno adequado à amostra) é realizada em cada poço começando pelo DNA extraído das amostras. Uma probe específica para CMV marcada com fluoróforo FAM se torna ativada a partir do momento que é hibridizada com um produto específico da reação de amplificação do CMV. Outra probe marcada pelo fluoróforo VIC específica para o gene da beta-globina humana é ativada a partir do momento que é hibridizado com o produto da reação de amplificação do gene da beta-globina humana. A emissão de fluorescência aumenta com o aumento da reação de amplificação do produto específico e é medido e registrado pelo equipamento. A análise de dados torna possível determinar a presença e o título de DNA CMV na amostra inicial.



A partir do momento que a probe TaqMan® for ligada à parte específica do gabarito de DNA, depois da desnaturação (alta temperatura) e resfriamento da reação, os primers se anelam ao DNA. A TaqPolimerase, então, adiciona nucleotídeos e remove a probe TaqMan® do DNA gabarito. Isso separa o quencher do repórter, e permite ao repórter emitir sua energia. Isso é, então,

quantificado usando um computador. Quanto mais ocorrer a desnaturação e anelamento, mais oportunidades a TaqMan® terá de se ligar e, em contra partida, mais luz emitida será detectada.



O corante do repórter é liberado é liberado da dupla fita de DNA criada pela Taq Polimerase. Longe do corante quencher, a luz emitida do corante repórter dye em estado excitado pode, agora, ser observada.

A padronização do sistema foi realizada nos instrumentos da Applied Biosystems ABI PRISM série 7000.

COMPONENTES FORNECIDOS

Componente	Descrição	Quantidade	Composição
CMV Q-PCR Alert AmpliMIX	Mistura de primers de oligonucleotídeos	4 x 110 µL	Oligonucleotídeos, TRIS (base e cloridrato), Glicerol, Triton X-100
CMV Q-PCR Alert AmpliPROBE	Mistura de sondas fluorescentes marcadas com FAM / MGB-NFQ e com VIC / MGB-NFQ	4 x 110 µL	Oligonucleotídeos fluorescentes, TRIS (base e cloridrato), Glicerol, Triton X-100
CMV Q-PCR AmpliSTANDARD 10 ⁵	solução de plasmídeo em tubo com tampa VERMELHA	1 x 50 µL	Plasmídeo, TRIS (base e cloridrato), EDTA, RNA de levedura total
CMV Q-PCR AmpliSTANDARD 10 ⁴	solução de plasmídeo em tubo com tampa AZUL	1 x 50 µL	Plasmídeo, TRIS (base e cloridrato), EDTA, RNA de levedura total
CMV Q-PCR AmpliSTANDARD 10 ³	solução de plasmídeo em tubo com tampa VERDE	1 x 50 µL	Plasmídeo, TRIS (base e cloridrato), EDTA, RNA de levedura total
CMV Q-PCR AmpliSTANDARD 10 ²	solução de plasmídeo em tubo com tampa AMARELA	1 x 50 µL	Plasmídeo, TRIS (base e cloridrato), EDTA, RNA de levedura total
CPE-DNA	solução de plasmídeo para o controle interno de inibição	4 x 150 µL	Plasmídeos (gene beta-globina) diluídos em RNA de levedura
Q-PCR Alert AmpliMASTER - RTS000	Mistura de reagentes otimizados	4 x 340 µL	TRIS (base e cloridrato), Glicerol, MgCl ₂ , Desoriboxinucleotídeos trifosfatos, ROX, Uracil-N-glicosilase, Taq DNA polimerase hot start
	Microplaca com 96 pocinhos de 0,2 mL	3	Plástico PP
	Lâmina adesiva vedante	3	Plástico e cola

MATERIAIS NECESSÁRIOS E NÃO FORNECIDOS

Equipamentos:

- Câmara de fluxo laminar.
- Agitador tipo Vortex.
- Microcentrífuga de mesa (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas simples, volume variável.
- Real Time ABI PRISM 7000, completo com microcomputador.

Material de Consumo:

- EPI
- Ponteiras com filtro
- Água ultrapura
- Tubos de microcentrifugação (1,5 mL a 2,0 mL)

Amostras:

- DNA extraído por metodologia definida pelo usuário, seguindo as normas e padrões de amostras exigidos na descrição abaixo.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Componente	Código	Referência modelo	Estocagem
CMV Q-PCR Alert AmpliMIX	RTS015-M	4 x 110 µL	-20 °C
CMV Q-PCR Alert AmpliPROBE	RTK015-P	4 x 110 µL	-20 °C
CMV AmpliSTANDARD 10 ⁵	STD015	1 x 50 µL	-20 °C
CMV AmpliSTANDARD 10 ⁴		1 x 50 µL	-20 °C
CMV AmpliSTANDARD 10 ³		1 x 50 µL	-20 °C
CMV AmpliSTANDARD 10 ²		1 x 50 µL	-20 °C
Componente	Código	Referência modelo	Estocagem
CPE-DNA	CTREXTG	4 x 150 µL	-20 °C
Q-PCR Alert AmpliMASTER	RTS000	4 x 340 µL	+ 2° / +8 °C
Microplaca para amplificação		3	RT
Lâmina adesiva para amplificação		3	RT

PRECAUÇÕES

Este kit é reservado para uso exclusivo em diagnóstico *in vitro*.

Manuseio: manusear o kit e as amostras com EPI adequado ao tipo de laboratório onde os testes serão realizados, devido à natureza da amostra - material biológico humano. Não beber ou comer na área de trabalho.

A área de trabalho deve ser um ambiente limpo e com ventilação adequada. Trabalhar dentro de capela de exaustão / fluxo laminar.

Não manuseiar o kit sem luvas.

Advertências e precauções gerais

Manipular e eliminar todas as amostras biológicas, reagentes e materiais usados como se fossem agentes infecciosos. Evitar o contato direto com as amostras biológicas. Evitar a formação de aerossol durante o procedimento - evitar respingar material ao redor da área de trabalho ou fora dela. O material que está em contato com as amostras biológicas deve ser tratado com Hipoclorito de sódio a 3 % pelo menos por 30 minutos ou, ainda, tratado em autoclave a 121°C durante uma hora antes de ser eliminado. O material descartável, se combustível, deve ser incinerado. Os resíduos líquidos que contêm ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação.

Não pipetar nenhuma solução com a boca.

Lavar bem as mãos depois de haver manipulado as amostras e os reagentes.

Eliminar reagentes e resíduos conforme as normas vigentes.

Ler todas as instruções fornecidas no kit antes de realizar o teste.

Respeitar as instruções fornecidas no kit durante a execução do teste.

Respeitar a data de validade do kit.

Utilizar somente os reagentes presentes no kit e aqueles aconselhados pelo fabricante.

Não intercambiar reagentes procedentes de diferentes lotes.

Não utilizar reagentes procedentes de kits de outros fabricantes.

Advertências e precauções para a biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular, como a extração, a transcrição reversa, a amplificação e a detecção de ácidos nucleicos, requerem pessoal especializado para evitar o risco de resultados incorretos, em particular por causa da degradação dos ácidos nucleicos das amostras ou da contaminação das amostras por parte de produtos de amplificação.

É necessário dispor de uma área separada para a extração/preparação das reações de amplificação e para a amplificação/detecção dos produtos de amplificação (áreas de pré e pós PCR). Nunca introduzir um produto de amplificação na área de extração/preparação das reações de amplificação.

É necessário uso de EPI adequado a cada uma das áreas de trabalho em laboratório de biologia molecular.

As amostras devem ser destinadas exclusivamente a este tipo de análise. As amostras devem ser manipuladas em uma câmara de fluxo laminar. Os tubos que contêm amostras diferentes nunca devem ser abertos ao mesmo tempo. As pipetas utilizadas para manipular as amostras devem ser destinadas exclusivamente a este uso. As pipetas devem ser do tipo deslocamento positivo ou usar ponteiras com barreira / filtro. As ponteiras utilizadas devem ser estéreis, sem a presença de DNase e RNase, sem a presença de DNA e RNA.

Os reagentes devem ser manipulados em câmara de fluxo laminar. Os reagentes necessários para a amplificação devem ser preparados de modo a ser utilizados em uma única vez. As pipetas utilizadas para manipular os reagentes devem ser destinadas exclusivamente para aquela área de trabalho. As pipetas devem ser do tipo de deslocamento positivo, ou usar ponteiras com barreira / filtro. As ponteiras utilizadas devem ser estéreis, sem a presença de DNase e RNase, sem a presença de DNA e RNA.

Os produtos de amplificação devem ser manipulados de modo a limitar ao máximo a dispersão no ambiente para evitar a possibilidade de contaminações. As pipetas utilizadas para manipular os produtos de amplificação devem ser destinadas exclusivamente para sua área de trabalho.

Advertências e precauções específicas para os componentes

A AmpliMIX, AmpliPROBE, AmpliSTANDARD, CPE-DNA®, AmpliMASTER, apresentam as seguintes advertências (S):

S 23-25. Não respirar vapores/aerossol. Evitar o contato com os olhos.

Observações importantes:

- Os tubos que contêm o AmpliMIX e o AmpliPROBE são descartáveis e, portanto, devem ser utilizados uma única vez na preparação da mistura de reação.
- Os tubos que contêm o AmpliSTANDARD® não podem ser congelados e descongelados por mais de 8 vezes. Ciclos sucessivos de congelamento / descongelamento podem causar perda na titulação.
- Os tubos que contêm o CPE-DNA® não podem ser congelados e descongelados por mais de 10 vezes. Ciclos sucessivos de congelamento / descongelamento podem causar perda na titulação.
- Os tubos que contêm o AmpliMASTER não podem ser congelados e descongelados por mais de 1 vez. Ciclos sucessivos de congelamento / descongelamento podem causar uma perda na eficiência da amplificação.

CUIDADOS COM A AMOSTRA BIOLÓGICA

A amostra deve ser tratada como potencialmente infecciosa.

Amostras

Este produto deve ser utilizado com as seguintes amostras biológicas:

- plasma colhido em EDTA,
- sangue periférico colhido em EDTA,
- suspensões de leucócitos e
- suspensões de granulócitos.

Plasma colhido em EDTA

As amostras de plasma destinadas à extração do DNA devem ser colhidas em EDTA segundo as indicações do laboratório, transportadas a +2°C/+8°C e conservadas a +2°C/+8°C por um máximo de quatro horas, em caso contrário devem ser congeladas e conservadas a -20°C por um máximo de trinta dias ou, ainda, a -70°C por um tempo maior.

Para uma ótima conservação das amostras aconselha-se subdividi-las (volume mínimo 300 µL) e conservá-las congeladas a -20°C por um período máximo de 30 dias ou ainda a -70°C por um período maior. Evitar submeter as amostras a ciclos de congelamento / descongelamento repetidos.

Quando se utilizam amostras congeladas, proceder ao descongelamento imediato, antes do início da extração para evitar fenômenos de degradação dos ácidos nucleicos.

Acrescentar 10 µL de CPE-DNA® às amostras de plasma para o controle interno antes de extrair o DNA conforme descrito no *Manual de Instruções* do kit «EXTRAGEN®».

Sangue total periférico colhido em EDTA

As amostras de sangue total periférico destinados à extração de DNA devem ser colhidas em EDTA segundo as indicações do laboratório, transportadas a +2°C/+8°C e conservadas a +2°C/+8°C por um máximo de três dias.

Não congelar as amostras de sangue total periférico para evitar a lise das células e a perda da titulação viral.

As amostras de sangue total periférico devem ser pré-tratadas e o DNA deve ser extraído como referido nas Instruções de Uso do kit «EXTRAcell®».

Suspensões de leucócitos e suspensões de granulócitos

As amostras de leucócitos e as amostras de granulócitos destinadas à extração do DNA devem ser preparadas segundo as indicações do laboratório, suspendidas em Solução fisiológica estéril ou PBS estéril, contadas e conservadas a +2°C/+8°C por um máximo de quatro horas.

Não congelar as suspensões de leucócitos e as suspensões de granulócitos para evitar a lise das células e a perda da titulação viral.

O DNA deve ser extraído das suspensões de leucócitos e das suspensões de granulócitos como referido no *Manual de Instruções* do kit «EXTRAcell®».

Substâncias interferentes

As amostras de plasma e de sangue total periférico não devem conter heparina. A heparina é um potente inibidor de Taq polimerase.

As amostras de plasma, as suspensões de leucócitos e as suspensões de granulócitos não devem conter Ficoll®, dextrana ou Hemoglobina. Estas substâncias podem causar a inibição da Taq polimerase.

Não há dados pertinentes a eventuais fenômenos de inibição por parte dos medicamentos antivirais, como Ganciclovir o Foscarnet, quimioterápicos ou imunossupressores.

Controles de amplificação

É necessário validar cada sessão de amplificação, preparando uma reação de controle negativo e uma reação de controle positivo.

Como controle negativo, usar uma amostra negativa que já foi testada ou água estéril bi-destilada.

Como controle positivo, usar uma amostra de plasma com 1000 CMV equivalente genômico/mL (gEq/mL) preparado de material de referência DNA CMV positivo calibrado (ex. PeliSpy CMV-DNA Monitor 10000, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). É fornecido com o kit, controle positivo, já preparado e dentro destes padrões: controle positivo 5 µL de AmpliSTANDARD.

PROCESSO DE MEDIÇÃO

a) Preparo da etapa de amplificação real time - área de pós PCR:

Antes de iniciar, é necessário:

- conforme manual do equipamento, ligar o termociclador Real Time e seu computador, iniciar o software apropriado e abrir uma sessão “absolute quantitation”;
- conforme manual do equipamento, programar o “detector” para a sonda CMV com o “reporter” = “FAM” e o “quencher” = “none” (NFQ é um extintor de fluorescência = dark quencher);
- conforme manual do equipamento, programar o “detector” para a sonda da beta-globina com o “reporter” = “VIC” e o “quencher” = “none” (NFQ é um extintor de fluorescência = dark quencher);
- conforme manual do equipamento, para qualquer poço da microplaca, programar o “detector” (tipo de fluorescência para medir), o “passive reference” = “ROX”

(normalização da fluorescência medida) e o tipo de reação (amostra, controle de amplificação negativo ou padrão com quantidade relativa reconhecida). Complete a planilha que se encontra no final destas Instruções de Uso, escrevendo manualmente estas informações, ou imprima a montagem da placa com as respectivas disposições dos controles e localizações das amostras. A planilha deve ser seguida criteriosamente durante a aplicação da amostra e seus reagentes.

OBS.: para a determinação da quantidade de DNA alvo na amostra inicial, será necessário preparar uma série de reações usando **DNA padrões com quantidades conhecidas** (cópias nas quantidades 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2) para que se possa obter a curva padrão.

Ilustra-se logo abaixo, a título de exemplo, como pode ser organizada a análise de 11 amostras.

S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
NC	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵							

Significado: S1 - S11: Amostras para analisar; NC: Controle negativo de amplificação; 10²: Padrão 10² cópias; 10³: Padrão 10³ cópias; 10⁴: Padrão 10⁴ cópias; 10⁵: Padrão 10⁵ cópias.

- Consultando o Manual do equipamento, programar no termociclador os parâmetros do ciclo térmico e um volume de reação de 25 µL. Para equipamentos Applied Biosystems ABI PRISM™ da série 7000 escolher a opção "9600 emulation".

Ciclo térmico para amplificação		
Fase	Temperaturas	Tempos
Descontaminação	50° C	2 min.
Desnaturação inicial	95° C	10 min.
45 ciclos	95° C	15 seg.
	60° C	1 min.

b) Preparação da amplificação:

Antes de iniciar, é necessário:

- retirar e descongelar os tubos com as amostras para analisar. Centrifugar os tubos para que o material, após descongelamento, desça para o fundo do tubo, e mantê-lo em gelo;
- retirar e descongelar os tubos de AmpliMIX necessários para o processo lembrando que o conteúdo de cada tubo é suficiente para preparar 24 reações. Centrifugar os

tubos por 5 segundos (pulso) para que os reagentes que estejam na parede, após o descongelamento, desçam para o fundo do tubo, e mantê-lo em gelo;

- retirar e descongelar um número de tubos de AmpliPROBE iguais aos dos tubos de AmpliMIX. Repetir o pulso nesses tubos para que seu conteúdo desça para o fundo do tubo. Mantê-los em gelo.

- retirar tantos tubos de AmpliMASTER quantos os tubos de AmpliMIX. Escrever “CMV” e a data no tubo com caneta com tinta permanente. Dar um pulso nos tubos para que os reagentes após descongelados, desçam para o fundo do tubo. Mantê-los em gelo.

- retirar e descongelar os tubos de AmpliSTANDARD necessários. Dar um pulso nos tubos para que os reagentes após descongelados, desçam para o fundo do tubo. Mantê-los em gelo.

- se necessário, cortar a placa de amplificação para separar a parte que será utilizada no ensaio tomando o devido cuidado de manipulá-la com luvas sem pó e de não causar danos aos poços durante o corte/separação.

1. Transferir 100 µL de AmpliMIX no tubo de AmpliMASTER. Misturar bem pipetando por três vezes o volume de 100 µL na mistura.
2. Transferir 100 µL de AmpliPROBE no tubo de AmpliMASTER. Misturar bem pipetando por três vezes o volume de 100 µL na mistura.
3. Misturar por 5 segundos em Vortex a baixa velocidade, evitando produção de espuma.
4. Centrifugar os tubos por 5 segundos (pulso) para que todo líquido escorra para o fundo do tubo.
5. Transferir 20 µL da mistura de reação obtida para o fundo de cada poço na placa de reação de amplificação, conforme pré-elaborado na planilha.

OBS.: Caso não seja utilizada toda a mistura de reagentes elaborada, este tubo identificado como “CMV” poderá ser armazenado no escuro a -20°C por no máximo um mês, contanto que esta mistura seja congelada e descongelada somente uma vez.

6. Transferir, depositando-os cuidadosamente no fundo de seu respectivo poço, 5 µL de DNA extraído, conforme posição definida na planilha elaborada.
7. Transferir, depositando cuidadosamente no fundo do poço de controle negativo, 5 µL de água ultrapura.
8. Transferir, depositando-os cuidadosamente no fundo de seu respectivo poço, 5 µL AmpliSTANDARD 10^2 cópias, conforme posição definida na planilha elaborada na mistura de reação. Proceder de igual modo, tomando-se o cuidado de dispensar cada qual em seu poço, 5 µL de AmpliSTANDARD com 10^3 , 10^4 , 10^5 cópias.
9. Fechar a Microplaca de amplificação com a Lâmina adesiva de amplificação, precavendo-se de que a placa fique bem selada, fazendo uso de acessório adequado para tal procedimento.
10. Transferir a placa de amplificação para o termociclador Real Time, que deve estar em área específica e destinada para produtos amplificados (pós PCR).

CALIBRAÇÃO DO PROCESSO DE MEDIÇÃO

Para este tipo de ensaio e metodologia não existe procedimento de calibração para o processo de medição.

CÁLCULOS E OBTENÇÃO DOS RESULTADOS

Análise qualitativa dos resultados

Os valores registrados de fluorescência emitidos pela sonda específica para CMV (fluorescência FAM) e pela sonda específica do Controle Interno (fluorescência VIC) nas reações de amplificação devem ser analisados por software apropriado.

Antes de iniciar a análise é necessário:

- conforme descrito no manual do equipamento, programar manualmente a faixa de cálculo do “Baseline” (o nível de fluorescência de background) do ciclo 6 ao ciclo 15*;

***OBS.:** No caso de uma amostra positiva com alto título de CMV, o aumento da fluorescência FAM da sonda específica CMV pode começar antes do 15º. Ciclo. Neste caso, a faixa de cálculo de “Baseline” precisa ser adaptada do ciclo 6 ao ciclo no qual a fluorescência FAM da amostra começa aumentar, por exemplo, ciclo 10.

- Conforme descrito no manual do equipamento, programar manualmente o Limiar (Threshold) para a fluorescência FAM a 0,2;
- Conforme descrito no manual do equipamento, programar manualmente o Limiar (Threshold) para a fluorescência VIC a 0,1;

Os valores de fluorescência emitidos pelas sondas específicas para CMV na reação de amplificação e o valor Threshold permite determinar o cT (ciclo Threshold), o ciclo em que a fluorescência atinge o valor Threshold.

Os valores de cT das sondas específicas para CMV nas reações de amplificação dos quatro Standards permitem calcular a Curva Standard da sessão de amplificação, bem como validar a amplificação e detecção, como descrito nas tabelas a seguir:

cT do Standard 10 ⁵ CMV (FAM)	Resultado do teste	Amplificação / Detecção
cT ≤ 25	POSITIVO	CORRETO

Curva Standard CMV (FAM)	Faixa Aceitável	Amplificação / Detecção
Coeficiente de Correlação (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRETO

Se o resultado da reação de amplificação Standard 10⁵ é cT>25 ou indeterminado ou se o valor do Coeficiente de correlação não está dentro dos limites aceitáveis, a presença do DNA alvo não foi corretamente detectada. Isto significa que problemas podem ter ocorrido durante amplificação ou detecção, que podem ter levado a resultados incorretos. A sessão não é válida e precisa ser repetida desde o passo de amplificação.

Os valores de fluorescência emitidos pela sonda específica CMV nas reações de amplificação do Controle negativo são utilizados para confirmar a amplificação e a detecção como descrito na tabela seguinte:

Ciclo limiar do Controle negativo CMV (FAM)	Resultado do teste	Amplificação / Detecção
Não determinado	NEGATIVO	CORRETO

Se o resultado da reação de amplificação do Controle negativo é diferente do Indeterminado (Undetermined), a presença do DNA alvo foi detectado na reação de

amplificação. Isso significa que ocorreram problemas durante a etapa de amplificação (contaminação), que podem ter levado a resultados incorretos e falsos positivos. A sessão não é válida e precisa ser repetida a partir da etapa de amplificação.

Na reação de amplificação de cada amostra, o valor de cT da probe específica para o Controle Interno é usado para validar as etapas de extração, amplificação e detecção.

Verificar no software do instrumento que o cT foi determinado por um rápido e regular crescimento dos valores de fluorescência e não por picos ou incremento de sinal background.

Este kit está em condições de detectar uma quantidade mínima de aproximadamente 10 cópias de DNA do gene MIEA de CMV por reação de amplificação, correspondentes aos genomas Equivalentes por reação.

Os resultados das reações de amplificação de cada amostra são usados para a detecção de CMV, conforme tabela a seguir:

cT da amostra		Adequação da amostra	Resultado do teste	DNA CMV
CMV (FAM)	Controle Interno (VIC)			
Indeterminado	cT > 35 ou Indeterminado	não adequada	não válido	-
	cT ≤ 35	adequada	válido, negativo	NÃO DETECTADO
Determinado	cT > 35 ou Indeterminado	adequada *	válido, positivo	DETECTADO
	cT ≤ 35	adequada	válido, positivo	DETECTADO

Se o resultado da reação de amplificação de uma amostra é cT Indeterminado para o DNA do gene MIEA de CMV e cT > 35 ou Indeterminado para a probe específica do controle interno, não foi possível detectar de modo eficiente o DNA do controle interno. Neste caso, problemas ocorreram na fase de amplificação (amplificação não eficiente ou nula) ou na fase de extração (ausência de DNA ou presença de inibidores) que podem ter levado a resultados incorretos e falsos negativos. A amostra não é adequada, o teste não é válido e deve ser repetido a partir da extração de uma nova amostra.

Se o resultado da reação de amplificação de uma amostra é cT Indeterminado para a probe específica do CMV e cT ≤ 35 para a probe específica do controle interno, o DNA de CMV não foi detectado no DNA extraído da amostra, mas não é possível descartar que o DNA de CMV esteja presente a uma titulação inferior ao limite de detecção do produto. Neste caso o resultado será um falso negativo.

Os resultados obtidos com este teste devem ser interpretados considerando todos os dados clínicos e os outros exames de laboratório relativos ao paciente.

***OBS.:** Quando na reação de amplificação relativa a uma amostra foi detectada a presença de DNA de CMV, a amplificação do controle interno pode ter um cT > 35 ou Indeterminado. De fato, a baixa eficiência na reação de amplificação para o Controle Interno pode ser deslocada pela competição com a alta eficiência da reação para o CMV. Neste caso a amostra é, contudo, adequada e o resultado positivo do teste é válido.

Análise quantitativa dos resultados

Depois de realizar o procedimento para análise qualitativa dos resultados, é possível realizar a análise quantitativa dos resultados de amostras positiva.

Os valores de cT para sondas específicas CMV nas reações de amplificação de cada amostra e a curva padrão para a sessão de amplificação são usados para calcular a quantidade

(Quantity) do DNA alvo presente nas reações de amplificação das amostras.

Este kit está apto para quantificar entre 1.000.000 a aproximadamente 20 cópias de DNA do gene MIEA de CMV por reação de amplificação, correspondentes aos genomas equivalentes por reação, como descrito na tabela seguinte:

Resultado da amostra CMV (FAM)	Genomas Equivalentes de CMV por reação
Quantity > 1×10^6	SUPERIORES A 1.000.000
$2 \times 10^1 \leq \text{Quantity} \leq 1 \times 10^6$	= Quantity
Quantity < 2×10^1	INFERIORES A 20

Os resultados (Quantity) de cada amostra são usados para calcular o genoma Equivalente de CMV presente na amostra extraída (Nc) de acordo com a fórmula:

$$Nc = \frac{Ve \times \text{Quantity}}{Vc \times Va \times Ee}$$

Onde:

- **Vc:** é a quantidade de amostra usada na extração
- **Ee:** é a eficiência da extração, expressa em décimos
- **Ve:** é o volume total do produto da extração, expresso em μL
- **Va:** é o volume do produto da extração usado na reação de amplificação, expresso em μL
- **Quantity:** é o resultado da reação de amplificação da amostra, expresso em gEq por reação

Quando o kit Extragen é usado e o resultado é requerido em gEq / mL, a fórmula fica:

Vc= 0,3mL Ee= 0,8 (significa eficiência de 80%) Ve= 15 μL Va= 5 μL	$Nc \text{ (gEq / mL)} = \frac{15 \times \text{Quantity}}{0,3 \times 5 \times 0,8}$
	$Nc \text{ (gEq / mL)} = 12,5 \times \text{Quantity}$

Quando o kit Extracell é usado, o DNA extraído de 500,000 células de acordo com as instruções de uso e resultado é requerido em gEq / 100,000 células, a fórmula fica:

Vc= 5 (500,000 células são equivalentes a 5 unidades de medição de 100,000 células) Ee= 1.0 (significa eficiência de 100%) Ve= 100 μL Va= 5 μL	$Nc \text{ (gEq / 100,000 células)} = \frac{100 \times \text{Quantity}}{5 \times 5 \times 1,0}$
	$Nc \text{ (gEq / 100,000 células)} = 4 \times \text{Quantity}$

Quando o kit Extracell é usado, e o resultado é requerido em gEq/extração, omitindo o

termo Vc, a fórmula fica:

<p>Vc= omitido Ee= 1,0 (significa eficiência de 100%) Ve= 100 µL Va= 5 µL</p>	$Nc \text{ (gEq /extração)} = \frac{100 \times \text{Quantity}}{5 \times 1,0}$
$Nc \text{ (gEq /extração)} = 20 \times \text{Quantity}$	

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Utilizar com este produto somente o DNA extraído das seguintes amostras humanas: plasma colhido em EDTA, sangue total periférico colhido em EDTA, suspensões de leucócitos e suspensões de granulócitos.

Não utilizar com este produto o DNA extraído das amostras heparinizadas: A heparina inibe a reação de amplificação dos ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Não utilizar com este produto DNA extraído contaminado com Ficoll® dextrana e hemoglobina. Estas substâncias inibem a reação de amplificação dos ácidos nucleicos podendo causar resultados inválidos.

Não estão disponíveis dados pertinentes a eventuais fenômenos de inibição por parte dos medicamentos antivirais, como o Ganciclovir ou o Foscarnet, quimioterápicos ou imunossuppressores.

Os resultados obtidos com este produto dependem da correta coleta, transporte, conservação e preparação das amostras; para evitar resultados incorretos, é necessário portanto, ter particular atenção durante estas fases e seguir atentamente as instruções fornecidas com os produtos para a extração dos ácidos nucleicos.

O método de amplificação Real Time dos ácidos nucleicos utilizados neste produto, por causa da sua elevada sensibilidade analítica, está sujeito a contaminação por parte das amostras clínicas positivas para o DNA de CMV, dos controles positivos e dos mesmos produtos da reação de amplificação. As contaminações levam a resultados falsos positivos. A modalidade de realização do produto pode limitar as contaminações; mas estes fenômenos podem ser evitados somente com uma boa prática das técnicas de laboratório e seguindo atentamente as instruções fornecidas nestas Instruções de Uso.

Este produto requer pessoal instruído para as manipulações de amostras biológicas que podem transmitir agentes infecciosos e de reagentes classificados como perigosos para evitar incidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador ou outras pessoas.

Este produto requer roupa de trabalho (EPI) e área de trabalho adequadas à manipulação de amostras biológicas que podem transmitir agentes infecciosos e de reagentes classificados como perigosos para evitar incidentes com consequências potencialmente graves para o usuário ou outras pessoas.

Este produto requer pessoal instruído para o procedimento de biologia molecular, como a extração, a amplificação e a detecção de ácidos nucleicos para evitar resultados incorrectos.

Este produto requer uma área separada para a extração/preparação das reações de amplificação e para a amplificação/detecção dos produtos de amplificação para evitar resultados falsos positivos- áreas de pré e pós PCR.

Este produto requer o uso de roupas de trabalho (EPI) e instrumentos destinados à

extração/preparação das reações de amplificação e para a amplificação / detecção dos produtos de amplificação para evitar resultados falsos positivos.

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o DNA de CMV não está detectado no DNA extraído da amostra mas não é possível descartar que o DNA de CMV esteja presente a uma titulação inferior ao limite de detecção do produto, neste caso o resultado será um falso negativo.

Como para qualquer outro dispositivo diagnóstico, os resultados obtidos com este produto devem ser interpretados considerando todos os dados clínicos e os outros exames de laboratório relativos ao paciente.

Como para qualquer outro dispositivo diagnóstico, existe um risco latente de obter resultados não válidos, falsos positivos e falsos negativos com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou reduzido posteriormente. Este risco residual em situações particulares, como os diagnósticos de urgência, pode contribuir a decisões incorrectas com consequências graves para o paciente.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

É aconselhável confirmar o completo procedimento de análises de cada sessão, extração e amplificação, utilizando uma amostra negativa e uma amostra positiva.

Como amostra negativa, utilizar uma amostra negativa já testada ou ainda da água bidestilada estéril.

Como amostra positiva, utilizar uma amostra de plasma positiva para CMV com uma titulação de 1.000 genomas Equivalentes/mL (gEq / mL) preparado por material de referência calibrado (por exemplo PeliSpy CMV-DNA Monitor 10000, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands).

VALORES DE REFERÊNCIA OBTIDOS EM POPULAÇÕES SADIAS OU VALORES DEMOGRÁFICOS, EPIDEMIOLÓGICOS, ESTATÍSTICOS, DESEJÁVEIS, TERAPÊUTICOS OU TÓXICOS

Não existe este tipo de dado para a metodologia em questão.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade Analítica: Limite de Detecção

A sensibilidade analítica deste teste permite determinar uma titulação de 1.000.000 a 20 moléculas de DNA branco nos 5 µL de DNA extraído e acrescentado à reação de amplificação.

O ensaio de sensibilidade analítica, como limite de detecção, foi determinado pelo uso de dois painéis de CMV (cepa AD169) com diluições dentro de concentrações limites. Cada amostra de painel foi empregada 29 ou 14 replicatas para executar o completo procedimento de análise, extração e amplificação (referir-se ao item 9.a = kits acessórios). A análise estatística do dado obtido foi acompanhado pela regressão Probit. Os limites de detecção foram calculados pelas concentrações na qual a probabilidade de se obter resultados positivos é 95% e 50%.

Para amostras celulares, o limite de detecção foi determinado pelo usando como material de referência calibrado um painel de plasma (PeliCheck CMV-DNA-99, AcroMetrix Europe B.V., The Netherlands) que foi inoculado em células negativas com DNA CMV (testado

em sistema COBAS AMPLICOR, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA) para que fosse obtido uma carga viral de 10.000gEq/extração a 1gEq/extração. Os resultados são reportados conforme tabela a seguir:

Limite de Detecção para amostras celulares (gEq / extração)			
		95% intervalo de confiança	
		Limite menor	Limite maior
95% positividade	169 gEq / extr.	105 gEq / extr.	349 gEq / extr.
50% positividade	25 gEq / extr.	18 gEq / extr.	35 gEq / extr.

Limite de Detecção para amostra celular (gEq / reação)			
		95% intervalo de confiança	
		Limite menor	Limite maior
95% positividade	8.5 gEq / reac.	5.3 gEq / reac.	17.5 gEq / reac.
50% positividade	1.3 gEq / reac.	0.9 gEq / reac.	1.8 gEq / reac.

Para amostras não celulares, o limite de detecção foi determinado usando como material de referência calibrado um painel de células (PeliCheck CMV-DNA-99, AcroMetrix Europe B.V., The Netherlands) tendo uma concentração de 1000.000gEq/mL a 1gEq/mL. Os resultados são relatados na tabela seguinte:

Limite de Detecção para amostras não celulares (gEq / mL)			
		95% intervalo de confiança	
		Limite menor	Limite maior
95% positividade	164 gEq / mL	105 gEq / mL	348 gEq / mL
50% positividade	32 gEq / mL	24 gEq / mL	44 gEq / mL

Limite de Detecção para amostras não celulares (gEq / reação)			
		95% intervalo de confiança	
		Limite menor	Limite maior
95% positividade	13.1 gEq / reac.	8.4 gEq / reac.	27.8 gEq / reac.
50% positividade	2.6 gEq / reac.	1.9 gEq / reac.	3.5 gEq / reac.

Sensibilidade Analítica: Faixa de medição linear

A sensibilidade analítica deste teste permite determinar uma titulação de 1.000.000 a 20 moléculas de DNA branco nos 5 µL de DNA extraído e acrescentado à reação de amplificação.

A sensibilidade analítica do teste, como intervalo linear de medida, foi determinada utilizando um painel de diluições (1 log¹⁰ entre uma diluição e a sucessiva) de DNA plasmídico que contém o produto de amplificação cuja concentração inicial foi medida espectrofotometricamente. Os pontos do painel para 10⁷ moléculas para reações de 10¹ moléculas para reação foram empregadas em 9 repetições para realizar a amplificação. A análise dos dados obtidos, realizada com a regressão linear, demonstrou que o teste apresenta uma resposta linear para todos os pontos do painel (coeficiente de correlação linear superior a 0,99).

A sensibilidade analítica do teste, como intervalo linear de medida, foi verificada utilizando dois painéis de diluições (0,5 log¹⁰ entre uma diluição e a sucessiva) de CMV. Cada

amostra dos painéis foi empregada em 29 ou em 14 replicatas para realizar o completo procedimento de análise, extração e amplificação. A análise dos dados obtidos foi realizada com a regressão linear limitando a curva aos pontos que apresentam 100% de positividade e que originam um coeficiente de correlação linear superior a 0,99.

Para as amostras celulares o intervalo linear de medida foi verificado como material de referência calibrado um painel de plasmas (PeliCheck CMV-DNA-99, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands) que foi acrescentado à célula negativa para o DNA de CMV (testadas com COBAS AMPLICOR system, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA) no sentido de obter uma carga viral para 10.000 gEq/ extração a 1gEq / extração. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Intervalo linear de medida com amostras celulares		
	Limite inferior	Limite superior
gEq / extração	316	20.000.000**
gEq / reação	15,8	1.000.000*

Para as amostras não celulares o intervalo linear de medida foi verificado utilizando como material de referência calibrado um painel de plasmas (PeliCheck CMV-DNA-99, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands) com uma concentração para 100.000 gEq/ mL a 1 gEq/ mL. Os resultados são referidos na tabela seguinte.

Intervalo linear de medida com amostras não celulares		
	Limite inferior	Limite superior
gEq / mL	316	12.500.000**
gEq / reação	25,3	1.000.000*

* O limite superior do intervalo linear de medida como gEq/reação foi fixado a 10^6 moléculas/reação, dentro de um logaritmo do valor do standard de amplificação **AmpliSTANDARD** de concentração mais alta, (10^5 moléculas/reação).

** O limite superior do intervalo linear de medida como gEq/extração e gEq/mL foi calculado do limite superior do intervalo linear de medida como gEq/reação conforme mostrado anteriormente.

Sensibilidade analítica: precisão

O estudo da precisão do teste, entendida como variabilidade dos resultados obtidos com diferentes repetições de uma mesma amostra e analisados em uma mesma sessão, permitiu determinar um Coeficiente de Variação percentual (%CV) médio de 24,3.

Para as amostras celulares a precisão no interior da sessão foi determinada utilizando alguns dados obtidos pelo estudo do intervalo linear de medida. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Coeficiente de variação com amostras celulares					
valor teórico gEq/extração	Nº repetições	valor teórico gEq/reação	Média dos resultados gEq/reação	Desvio padrão	%CV
316	29	16	15,48	6,28	40,54
1.000	29	50	47,54	12,81	26,95
3.160	29	158	182,57	26,07	14,28
10.000	29	500	584,44	55,83	9,55

O valor de %CV médio para as amostras celulares é de 22,8.

Para as amostras não celulares a precisão no interior da sessão foi determinada utilizando alguns dados obtidos pelo estudo do intervalo linear de medida. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Coeficiente de variação com amostras não celulares					
valor teórico gEq/mL	Nº repetições	valor teórico gEq/reação	Média dos resultados gEq/reação	Desvio padrão	%CV
316	29	25	26,23	11,20	42,71
1.000	29	80	102,33	25,76	25,17
3.160	29	253	232,83	51,86	22,27
10.000	14	800	1099,67	173,68	15,79
31.600	14	2.528	2799,57	618,19	22,08
100.000	14	8.000	7377,90	1721,51	23,33
316.000	14	25.280	31297,15	8769,95	28,02
1.000.000	14	80.000	101309,94	26197,48	25,86

O %CV médio para as amostras não celulares é de 25,7.

Sensibilidade analítica: exatidão

O estudo da exatidão do teste, entendido como diferença entre o valor teórico da concentração de uma amostra e a média dos resultados obtidos com diferentes repetições desta amostra analisados em uma mesma sessão, permitiu determinar uma Inexatidão percentual média de 14,3.

Para as amostras celulares a inexactidão no interior da sessão foi determinada utilizando alguns dados obtidos pelo estudo do intervalo linear de medida. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Inexatidão com amostras celulares				
valor teórico gEq/extração	Nº repetições	valor teórico gEq/reação	Média dos resultados gEq/reação	% Inexatidão
316	29	16	15,48	2,03
1.000	29	50	47,54	4,92
3.160	29	158	182,57	15,55
10.000	29	500	584,44	16,89

A % Inexatidão média para as amostras celulares é de 9,9.

Para as amostras não celulares a inexactidão no interior da sessão foi determinada utilizando alguns dados obtidos pelo estudo do intervalo linear de medida. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Inexatidão com amostras não celulares				
valor teórico gEq/mL	Nº repetições	valor teórico gEq/reação	Média dos resultados gEq/reação	% Inexatidão
316	29	25	26,23	3,76
1.000	29	80	102,33	27,91
3.160	29	253	232,83	7,90
10.000	14	800	1099,67	37,46
31.600	14	2.528	2799,57	10,74
100.000	14	8.000	7377,90	7,78
316.000	14	25.280	31297,15	23,80
1.000.000	14	80.000	101309,94	26,64

A % inexatidão média para as amostras não celulares é de 18,9.

Sensibilidade diagnóstica: eficiência de detecção e quantificação nos diferentes genótipos/subtipos

A sensibilidade diagnóstica do teste, como eficiência de detecção e quantificação nos diversos genótipos /subtipos, está avaliada pela comparação de sequências com banco de dados de nucleotídicos.

O exame do alinhamento das regiões selecionadas para a hibridação dos oligonucleotídeos de primers AmpliMIX e da sonda fluorescente AmpliPROBE com as sequências disponibilizadas no banco de dados do gene MIEA de CMV, incluindo aqueles para os grupos AD169 e Towne, demonstram sua conservação e a ausência de mutações significativas.

Sensibilidade diagnóstica: amostras positivas de baixa carga viral

A sensibilidade diagnóstica do teste, como confirmação das amostras clínicas positivas, foi verificada interpretando as análises de um painel de amostras celulares positivas para o DNA de CMV com baixa carga viral e com resultado igual a 88,3%.

Cada amostra do painel foi empregada para realizar o completo procedimento das análises, extração, e amplificação.

A sensibilidade diagnóstica foi verificada utilizando um painel de amostras de células positivas para o DNA de CMV (testadas com COBAS AMPLICOR system, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA) com um intervalo de cargas virais para 120 gEq/ milhão de células para 4.410gEq / milhão de células. Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Painel de células positivas para o DNA de CMV	60	53	7

As discordâncias entre os resultados obtidos com este produto e os resultados obtidos com o COBAS AMPLICOR System podem ser entendidos com a heterogeneidade das amostras celulares positivas com baixa carga viral: As poucas células positivas se distribuem casualmente nas diversas divisões que podem ainda resultar com uma titulação superior ou inferior ao limite de detecção do teste.

Especificidade diagnóstica: amostras negativas

A especificidade diagnóstica do teste, como confirmação das amostras clínicas negativas, foi verificada interpretando as análises de dois painéis de amostras negativas para

o DNA de CMV e com resultado igual a 90% para as amostras celulares e maior ou iguais a 98,3% para as amostras não celulares.

Cada amostra dos dois painéis foi empregada para realizar o completo procedimento de análises, extração e amplificação.

Para as amostras celulares a especificidade diagnóstica foi avaliada utilizando um painel de amostras de células negativas para o DNA de CMV (testadas com COBAS AMPLICOR System, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA). Os resultados são referidos na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Painel de células negativas para o DNA de CMV	60	6	54

As seis amostras celulares que resultam positivas com este produto são provenientes de pacientes em fase inicial ou terminal de infecção de CMV e ainda podendo ser consideradas amostras positivas para o DNA de CMV com baixa carga viral.

As discordâncias entre os resultados obtidos com este produto e os resultados obtidos com o COBAS AMPLICOR System podem ser entendidos com a heterogeneidade das amostras celulares positivas com baixa carga viral: as poucas células positivas se distribuem casualmente nas diversas divisões que podem ainda resultar com uma titulação superior ou inferior ao limite de detecção do teste.

Para as amostras não celulares a especificidade diagnóstica foi avaliada utilizando um painel de amostras de plasma normais de doadores (Painel Normal Humano Plasma, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). Todas as amostras são resultados negativos para o DNA de CMV como ilustrado na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Painel de plasmas normais de doadores	58	0	58

Especificidade analítica: marcadores potencialmente com reatividade cruzada

A sensibilidade analítica do teste, como marcadores potenciais de reação cruzada que podem interferir, foi estimado pela comparação de sequência com bancos de dados de nucleotídeos.

O exame de alinhamento das regiões selecionadas para a hibridação dos oligonucleotídeos de primers do AmpliMIX e da sonda fluorescente AmpliPROBE com as sequências disponibilizadas no banco de dados dos diversos organismos da CMV, entre aqueles do genoma completo de HHV6, o vírus da herpes humana mais similar ao CMV, demonstrou a sua especificidade e a ausência de homologias significativas.

A especificidade analítica do teste, como marcadores potenciais de reação cruzada, foi verificada utilizando uma amostra testada positiva para o DNA de HHV6.

Esta amostra foi empregada em 15 replicatas para realizar o completo procedimento de análises, extração e amplificação.

Para as amostras celulares a especificidade analítica foi verificada utilizando um sobrenadante de cultura positivo para o DNA de HHV6 testado que é agregado a células negativas para o DNA de CMV (testadas com COBAS AMPLICOR system, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA).

Todas as repetições são resultados negativos para CMV como ilustrado na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivos	Negativos
Sobrenadante de cultura positiva para o DNA de HHV6 + Células negativas para o DNA de CMV	15	0	15

Para as amostras não celulares a especificidade analítica é verificada utilizando um sobrenadante de cultura positiva para o DNA de HHV6 testado diluído em uma amostra de plasma normal (Normal Human Plasma, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). Todas as repetições são resultados negativos para o DNA de CMV como ilustrado na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivos	Negativos
Sobrenadante de cultura positivo para o DNA de HHV6 + Plasma normal	15	0	15

Resistência: Contaminação cruzada

A resistência do teste, como ausência de contaminação cruzada, foi verificada analisando os resultados das seis sessões em que amostras negativas para o DNA de CMV são alternadas a amostras fortemente positivas para o DNA de CMV.

Seis séries de amostras, alternando três amostras positivas com duas amostras negativas, foram empregadas para realizar o completo procedimento de análises, extração e amplificação.

Para as amostras celulares a ausência de contaminação cruzada foi verificada utilizando algumas amostras de células positivas para o DNA de CMV e elevada titulação (testadas com COBAS AMPLICOR System, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA) e uma amostra de células negativas para o DNA de CMV (testado com COBAS AMPLICOR system, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA). Nenhuma amostra negativa para o DNA de CMV resultou positiva para contaminação como ilustrado na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Células positivas para o DNA de CMV	18	18	0
Células negativas para o DNA de CMV	12	0	12

Para as amostras não celulares a ausência de contaminação cruzada foi verificada utilizando como material de referência calibrado um plasma positivo para o DNA de CMV de alta titulação (PeliSpy CMV-DNA Monitor 10000, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands) e uma amostra de plasma normal (Normal Human Plasma, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). Nenhuma amostra negativa para o DNA de CMV resultou positiva para contaminação como ilustrado na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Plasma positivo para o DNA de CMV	18	18	0
Plasma normal	12	0	12

Resistência: taxa global de erros do sistema

A resistência do teste, como taxa global de erro do sistema que leva a resultados falsos negativos, foi verificada interpretando as análises de dois painéis de amostras positivas para o DNA de CMV com baixo título e com resultado menor a 1,7%.

Cada amostra do painel foi empregada para realizar o completo procedimento das análises, extração e amplificação.

Para as amostras celulares a taxa global de erro foi controlada utilizando um painel de amostras de células negativas para o DNA de CMV (testadas com COBAS AMPLICOR system, Roche Molecular Systems, Branchburg, N.J., USA) levadas a 1200 gEq / extração com um plasma de referência calibrado (PeliCheck CMV-DNA-99, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). Todas as amostras são resultados positivos para o DNA de CMV como ilustrado na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Células positivizadas para o DNA de CMV	57	57	0

Para as amostras não celulares a taxa global de erro foi controlada utilizando um painel de amostras de plasma normal de doadores (Painel Normal Human Plasma, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands) levadas a 1600 gEq / mL com um plasma de referência calibrado (PeliSpy CMV-DNA Monitor 10000, AcroMetrix Europe B.V., the Netherlands). Todas as amostras são resultados positivos para o DNA de CMV como ilustrado na tabela seguinte:

Amostras	N	Positivos	Negativos
Plasma positivizado para o DNA de CMV	57	57	0

Nota: Os dados e os resultados completos dos testes realizados para a avaliação das características de desempenho do produto estão registrados na Secção 7 do Fascículo Técnico do Produto "Q-CMV AmpliMIX" e "Q-CMV AmpliPROBE", FTP RTS015.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FENNER T. E., et al. (1991) *J Clin Microbiology* 29: 2621 - 2622

IDENTIFICAÇÃO DO DISTRIBUIDOR

Biometrix Diagnóstica Ltda.
Estrada da Graciosa, 1081 - Curitiba - PR
CEP: 82840-360
Tel.: (41) 2108-5250
Fax: (41) 2108-5252
DDG: 0800-7260504
E-mail: biometrix@biometrix.com.br
WWW.biometrix.com.br
CNPJ: 06.145.976/0001-39

INFORMAÇÕES DO FABRICANTE

Nanogen Advanced Diagnostics S.P.A.
C.so Torino, 89/d - 10090 Buttigliera Alta (TO) - Itália

REGISTRO ANVISA

80298490047

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Edna Cristina Kurokawa Guimarães Ferreira
CRQ/PR: 09302336

Aprovação:

20/12/2013

X 

Maurício Cichon
Laboratório

Assinado por: Maurício Cichon

WORKSHEET

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

ATTACHMENT