

Teste PCR em Tempo Real Influenza A/B & VSR (Perfil High/Low)

USO PRETENDIDO

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR foi projetado para detecção e diferenciação específica e qualitativa de Influenza A, Influenza B e Vírus Sincicial Respiratório (VSR) em amostras clínicas respiratórias para auxiliar no diagnóstico de influenza A, infecção por influenza B e VSR, juntamente com todos os dados clínicos e epidemiológicos disponíveis, histórico de pacientes e outros resultados de testes laboratoriais. O produto destina-se a ser utilizado por profissionais especificamente treinados em técnicas de amplificação de ácidos nucleicos e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

Influenza A, Influenza B e VSR causam infecções agudas do trato respiratório em seres humanos e são responsáveis por morbidade e mortalidade significativa em todo o mundo. Influenza A/B são vírus de RNA de cadeia simples pertencentes à família *Orthomyxoviridae* que infectam principalmente o trato respiratório superior e produzem sintomas como início súbito, febre, mialgia, dor de cabeça, mal-estar, tosse, dor de garganta e corrimento nasal¹. A gripe A/B é altamente contagiosa, propagada por gotículas respiratórias de indivíduos infectados e causa até 35 milhões de infecções, 710.000 hospitalizações e 56.000 mortes por ano nos Estados Unidos². Ao contrário da influenza B, os vírus da gripe A apresentam variação antigênica que dão origem a novos subtipos, como a gripe H1N1 que pode levar a pandemias³.

As infecções por VSR produzem sintomas clínicos agudos semelhantes à influenza, mas também podem levar a infecções do trato respiratório nas baixas e doenças respiratórias mais graves, como bronquite e pneumonia, particularmente em lactentes, crianças pequenas e adultos idosos⁴. As infecções por VSR resultam em mais de 2 milhões de visitas ambulatoriais e 50.000 hospitalizações entre crianças de 5 anos ou menos e mais de 170.000 hospitalizações e 14.000 óbitos em adultos idosos nos Estados Unidos a cada ano⁵. Assim, a detecção e diferenciação de vírus da gripe e VSR é fundamental para informar as decisões de manejo de pacientes, como escolha de tratamento antiviral e medidas de contenção hospitalar, bem como vigilância epidemiológica de surtos e pandemias.

O diagnóstico de influenza A/B e VSR é realizado por detecção de antígenos virais em secreções respiratórias usando ELISA ou testes rápidos, ou RNA viral usando testes moleculares, como PCR em tempo real, geralmente nos primeiros 5 dias após o início da doença⁶. No entanto, a detecção rápida de influenza e antígeno de VSR é dificultada por baixa sensibilidade (aproximadamente 50-80%)^{7,8,9} e pode levar a resultados falsos negativos. A sensibilidade da detecção de antígenos de VSR é ainda limitada em adultos, que possuem níveis mais baixos de vírus por menos tempo⁵. Assim, o teste molecular é considerado o padrão ouro para o diagnóstico devido à sua maior sensibilidade em comparação com os testes de antígenos.

O teste de PCR em tempo real da *Aridia* Influenza A/B & VSR é projetado para a detecção específica de influenza A/B e VSR em amostras respiratórias clínicas e utiliza um formato estabilizado conveniente, com todos os componentes necessários para executar o teste de PCR em tempo real estabilizado dentro de cada poço de reação.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR baseia-se na amplificação em tempo real de porções específicas do gene *M1* Influenza A/B e gene *N* de VSR em etapa única. Após a extração do RNA viral a partir de amostras clínicas, o RNA é transcrito em DNA complementar (cDNA) por transcrição reversa, seguido imediatamente pela reação em cadeia da polimerase (PCR) no mesmo poço.

O ensaio é baseado na química de nucleases 5' que utiliza iniciadores específicos de Influenza A, Influenza B e VSR e uma sonda fluorogênica hidrolisável (marcação dupla com um *reporter* e *quencher*) para detectar o acúmulo da sequência alvo amplificada durante a reação de PCR. Após a extensão dos iniciadores por DNA polimerase, a sonda fluorogênica é hidrolisada pela atividade da exonuclease 5' a 3' da polimerase, causando a separação espacial do *reporter* e do *quencher*. O aumento resultante no sinal de fluorescência da Influenza A, Influenza B e VSR é medido pelo termociclador de PCR em tempo real e é proporcional à quantidade de produto amplificado (e, portanto, modelo de alvo na amostra).

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR está pronto para uso. Todos os componentes de PCR em tempo real, incluindo DNA polimerase, transcriptase reversa, primers, sondas e dNTPs, são estabilizados dentro de cada poço da reação. Além disso, um Controle Interno (CI) está incluído em cada poço para monitorar a inibição da reação de PCR. A amplificação da sequência alvo de Influenza A é detectada através do canal FAM, Influenza B através do canal ROX, e a sequência alvo VSR através do canal Cy5, o controle interno de cada reação é detectado através dos canais HEX, VIC ou JOE (dependendo do termociclador de PCR em tempo real utilizado). Para obter mais informações sobre os canais de detecção, consulte a seção "CANAIS DE DETECÇÃO PARA TERMOCICLADORES DE PCR EM TEMPO REAL".

MATERIAIS E REAGENTES INCLUIDOS

Item	Reagente	Quantidade	No. Catalogo
1.	Tiras de Teste PCR em Tempo Real <i>Aridia</i> Influenza A/B & VSR (Perfil High / Perfil Low)	8 poços x 12	PS0187H / PS0187L
2.	Controle Positivo	1 frasco	PC0187
3.	Controle Negativo	1 mL	PNC001
4.	Água classificada para PCR (Ultra Pura)	1 mL	PGW001
5.	Solução de Ressuspensão (para Reconstituição da Mistura de Reação Estabilizada)	1.8 mL	PRS001
6.	Tampas ópticas	8 poços x 12	POC001

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO INCLUIDOS

1. Termociclador PCR em Tempo-Real (conferir seção "COMPATIBILIDADE DE TERMOCICLADORES PCR EM TEMPO-REAL")
2. Kit extração RNA
3. Tubos de centrífuga de 1.5 mL
4. Centrífuga para tubos 1.5 mL
5. Vortex
6. Micropipetas (0.5-20 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL)
7. Ponteiras com filtro para micropipetas

AVISOS E PRECAUÇÕES

1. Para uso de profissionais especificamente treinados em técnicas de amplificação de ácidos nucleicos e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.
2. Não use o teste após a data de validade.
3. Siga as Boas Práticas do Laboratório: use vestuário de proteção apropriado, use luvas descartáveis e óculos de proteção. Não comer, beber ou fumar nas áreas de trabalho designadas. Lave bem as mãos depois de manusear as amostras e reagentes do kit.
4. O fluxo de trabalho do teste deve ser direto para minimizar o risco de contaminação (alocar áreas segregadas para cada etapa): deve começar na Área de Extração, passar para a Área de Configuração da Reação, seguida da Área de Amplificação e Detecção. Não coloque amostras, equipamentos e reagentes na área em que o passo anterior foi realizado e sempre mude as luvas entre as áreas.
5. Recomenda-se a descontaminação regular de equipamentos comumente usados, especialmente micropipetas e superfícies de trabalho.
6. As amostras devem ser tratadas como potencialmente infecciosas, bem como todos os reagentes e materiais que foram expostos às amostras e manipulados da mesma forma que um agente infeccioso. Tome as devidas precauções durante a coleta, armazenamento, manuseio e disposição de amostras, de acordo com as normas locais e nacionais.
7. Para garantir o melhor desempenho do teste, siga sempre os procedimentos apropriados para a coleta, transporte, armazenamento e processamento de amostras. Procedimentos inadequados podem levar a resultados falsos negativos.
8. Não use o teste diretamente com amostras que não foram extraídas. Os ácidos nucleicos devem primeiro ser extraídos das amostras usando um kit de extração.
9. Precauções adequadas devem ser exercidas para monitorar a contaminação e preservar a pureza dos componentes e reações do kit. Evite a contaminação microbiana e de nucleases (RNase/DNase) de amostras e componentes do kit. Evite a propagação de aerossóis ao abrir tubos com amostras.

INSTRUÇÕES DE TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO

1. O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR pode ser enviado e armazenado entre 2-40°C até a data de validade indicada no rótulo.
2. Mantenha todos os reagentes afastados da luz solar direta.
3. Uma vez que o Controle Positivo tenha sido reidratado, guarde-o a -20°C. Recomendamos armazenar o controle positivo reidratado em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento-descongelamento.

REF P0187H/P0187L



COLETA DA AMOSTRA, MANUSEIO, E EXTRAÇÃO DE ÁCIDO NUCLEICO

Para o pré-tratamento de amostras e o isolamento de ácidos nucleicos, recomenda-se o uso do sistema manual ou automático existente, otimizado em seu laboratório. Alternativamente, qualquer kit de extração de RNA comercialmente disponível pode ser usado, mas sempre faça a preparação da amostra (coleta de amostras, transporte, armazenamento, etc.) e extração de acordo com as recomendações do fabricante fornecidas nas instruções de uso do kit.

O teste foi validado com os seguintes kits de extração:

1. Kit de purificação de ácido nucleico total Maxwell® 16, usando o instrumento Maxwell® 16 (Promega)
2. Kit Isolamento Total Ácido Nucleico, usando o COBAS® AmpliPrep (Roche)
3. Xtract RIDA (r-Biopharm)

Após a extração da amostra, recomenda-se proceder diretamente à amplificação por PCR. Evite congelar o RNA extraído antes da amplificação, pois ciclos de congelamento-descongelamento podem degradar o RNA e levar a resultados falso-negativos, em particular em amostras com baixa viremia.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

1. **PREPARAÇÃO DO CONTROLE POSITIVO**
O Controle Positivo contém número de cópias elevadas de modelos de DNA de Influenza A, Influenza B e VSR. A contaminação do ambiente de PCR, do equipamento e/ou dos componentes do kit com o Controle Positivo pode levar a resultados falsos positivos. Assim, ele deve ser aberto e manipulado em uma área de laboratório separada, longe da área de amplificação de PCR e outros componentes do kit.

Reidrate o Controle Positivo liofilizado (tubo com tampa vermelha) em 100 µL de água classificada para PCR (ultra pura) fornecida (tubo com tampa branca). Para garantir a reidratação completa, agite o tubo cuidadosamente e centrifugue brevemente. Após o uso inicial, dispensar o Controle Positivo reidratado em alíquotas para minimizar múltiplos ciclos de congelamento-descongelamento. Armazene alíquotas a -20°C.

PROTOCOLO PCR

2.1 Programe seu termociclador de PCR em tempo real

Calcule o número de reações necessárias, incluindo amostras e controles (pelo menos uma Positiva e uma reação de Controle Negativo devem ser incluídas em cada corrida). Programa abaixo:

Ciclos	Passo	Tempo	Temperatura
1	Transcrição Reversa	15 minutos	45°C
1	Desnaturação Inicial	2 minutos	95°C
	Desnaturação	10 segundos	95°C
45	Anelamento/Extensão (Dados coletados*)	50 segundos	60°C

Defina a coleta de dados de fluorescência durante a etapa de extensão (*) através dos canais FAM (Influenza A), ROX (Influenza B), Cy5 (VSR) e HEX, JOE ou VIC (Controle Interno). Ao usar o Sistema de PCR em tempo real rápido Applied Biosystems 7500 ou o sistema de PCR em tempo real Stratagene Mx3005P™, garanta que a opção de referência passiva ROX esteja definida como "none" (nenhum).

2.2 Reconstitua os poços de reação a serem usados na corrida

Separe o número de poços de reação necessários, incluindo todas as amostras e controles. Certifique-se de que um controle positivo e um controle negativo sejam incluídos em cada execução. Retire o vedante de alumínio protetor somente dos poços que vão ser utilizados na corrida. Pipetar 15 µL de Solução de Ressuspensão (tubo com tampa azul) em cada poço a ser usado.

2.3 Adicionar amostras e controles aos poços de reação reconstituídos

Pipetar 5 µL de Controle Negativo (tubo com tampa laranja) em cada poço de controle negativo. Pipetar 5 µL de amostra de RNA extraído em cada poço de amostra. Pipetar 5 µL de controle positivo reidratado (tubo com tampa vermelha) em cada poço de controle positivo. Cubra cada poço com as tampas ópticas fornecidas. Centrifugar brevemente.

2.4 Iniciando a execução de PCR em tempo real

Coloque as tiras/placa no termociclador de PCR em tempo real. Certifique-se de que a configuração/ordem das amostras e dos poços de controle coincida com a configuração de placa experimental de PCR em tempo real no software. Comece a corrida.

CONTROLE QUALIDADE

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR contém um Controle Positivo e Negativo que deve ser incluído em cada execução para interpretação correta dos resultados. Além disso, o Controle Interno (CI) incluído em cada poço confirma a execução correta do teste.

INTERPRETAÇÃO E RESULTADO DO ENSAIO

A análise de dados fluoroscópicos das amostras e dos controles é realizada pelo software do termociclador de PCR em tempo real, de acordo com as instruções do fabricante.

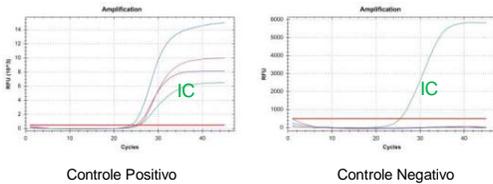
A interpretação dos resultados está resumida na tabela a seguir:

Influenza A	Influenza B	VSR	Controle Interno	Controle Neg	Controle Pos	Interpretação
POS	POS	POS	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza A, Influenza B, e VSR Positivo
NEG	NEG	NEG	POS	NEG	POS	Influenza A, Influenza B, e VSR Negativo
POS	NEG	NEG	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza A Positivo, Influenza B e VSR Negativo
NEG	POS	NEG	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza B Positivo, Influenza A e VSR Negativo
NEG	NEG	POS	POS ou NEG	NEG	POS	VSR Positivo, Influenza A e Influenza B Negativo
POS	POS	NEG	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza A e Influenza B Positivo, VSR Negativo
NEG	POS	POS	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza B e VSR Positivo, Influenza A Negativo
POS	NEG	POS	POS ou NEG	NEG	POS	Influenza A e VSR Positivo, Influenza B Negativo
POS	POS	POS	POS	POS	POS	Experimento Inválido
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	Experimento Inválido

POS: sinal de amplificação, NEG: sem sinal de amplificação

1. **Controle Positivo:** O controle positivo incluído em cada execução deve mostrar uma curva de amplificação para influenza A (canal FAM), Influenza B (ROX), e VSR (Cy5) validando a corrida.
2. **Controle Negativo:** O controle incluído em cada execução deve mostrar a ausência de sinal para os canais Influenza A (FAM), Influenza B (ROX), e VSR (Cy5), validando a corrida.
3. **Controle Interno:** Os controles internos devem mostrar curvas de amplificação para cada reação (canais HEX, JOE ou VIC), que verifica o desempenho adequado da mistura de reação no poço. Em algumas amostras positivas (ver abaixo, 4), o controle interno não é amplificado devido ao alto número de cópias do alvo (Influenza A, Influenza B, e VSR) na amostra que pode causar amplificação preferencial do modelo de destino sobre o modelo de Controle Interno.
4. **Amostra Positiva:** Uma amostra é atribuída como positiva para o alvo se o valor Ct for inferior a 40 e o Controle Interno também tiver um sinal de amplificação. Uma amostra com um sinal positivo de amplificação Influenza A, Influenza B, e/ou VSR acoplado com a falta de um sinal de Controle Interno ainda é considerado um teste positivo, uma vez que uma cópia elevada do RNA alvo pode causar amplificação preferencial do alvo (ver acima, 3).
5. **Amostra Negativa:** Uma amostra é atribuída como negativa para o alvo se não houver evidência de sinal de amplificação no sistema de detecção, mas o Controle Interno é amplificado.
6. **Corrida Inválida:** A corrida é considerada inválida se houver ausência de sinal no poço de Controle Positivo ou há um sinal de amplificação no poço de Controle Negativo.

Em cada caso, o ensaio deve ser repetido. Se houver ausência de sinal de amplificação de Controle Interno em amostras negativas ou Controle Negativo (ver acima, 2 e 5), recomendamos repetir o ensaio e diluir a amostra extraída 1:10 (ou repetir a extração) para verificar a possível inibição de PCR.



Controle Positivo Controle Negativo

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

1. Desempenho Clínico

As amostras clínicas respiratórias foram testadas quanto à Influenza A, Influenza B e VSR, respectivamente, tanto pelo teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR quanto em um ensaio molecular comercial com marca CE. A comparação para todos os assuntos é mostrada na tabela a seguir:

Tabela 1. Detecção de influenza A

Referência	Teste PCR em Tempo Real <i>Aridia</i> Influenza A/B & VSR		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	105	2	107
Negativo	0	149	149
Total	105	151	256

Sensibilidade Relativa: 98%, Especificidade Relativa: 100%, Concordância geral: 99%
*Quantidade de RNA viral em amostras abaixo do limite de detecção do ensaio

Tabela 2. Detecção de influenza B

Referência	Teste PCR em Tempo Real <i>Aridia</i> Influenza A/B & VSR		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	51	1	52
Negativo	0	204	204
Total	51	205	256

Sensibilidade Relativa: 98%, Especificidade Relativa: 100%, Concordância geral: >99%
*Quantidade de RNA viral em amostras abaixo do limite de detecção do ensaio

Tabela 3. Detecção de VSR

Referência	Teste PCR em Tempo Real <i>Aridia</i> Influenza A/B & VSR		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	41	0	41
Negativo	0	215	215
Total	41	215	256

Sensibilidade Relativa: 100%, Especificidade Relativa: 100%, Concordância geral: 100%

2. Sensibilidade Analítica

Este ensaio tem um limite de detecção de ≥ 50 de influenza A, ≥ 10 de influenza B e ≥ 10 VSR cópias de RNA por reação (Fig. 1-3). Reações de PCR contendo ≥ 50 cópias de influenza A são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo e as reações contendo ≥ 10 cópias de influenza A são detectadas como positivas $\geq 90\%$ do tempo. Reações de PCR contendo ≥ 10 cópias de influenza B são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo. As reações de PCR contendo ≥ 10 cópias de VSR são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo.

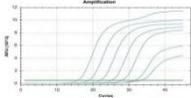


Figura 1. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo de Influenza A variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal FAM).

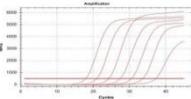


Figura 2. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo de influenza B variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal ROX).

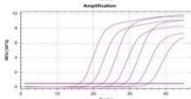


Figura 3. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo de VSR variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal Cy5).

3. Especificidade Analítica

A especificidade analítica para Influenza A, Influenza B, e VSR foi testada usando o painel a seguir com os patógenos respiratórios mais comuns e nenhuma reação-cruzada foi detectada.

Não foi detectada reatividade cruzada à Influenza A (canal FAM) para os seguintes microrganismos:

Influenza B/Brisbane/60/2008	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Influenza B/Florida/04/06	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Influenza B/Phuket/3073/2013	<i>Bordetella pertussis</i>
Parainfluenza humana 1, 2, 3 e 4	<i>Legionella bozemanii</i>
Vírus Sincicial Respiratório (VSR)	<i>Legionella micdadei</i>
Metapneumovírus humano A e B	<i>Legionella dumoffii</i>
Coronavírus humano 229E	<i>Legionella longbeachae</i>
Coronavírus MERS	<i>Legionella pneumophila</i>
Rinovírus humano	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
Adenovírus humano	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Metilicina
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>

Não foi detectada reatividade cruzada à Influenza B (canal ROX) para os seguintes microrganismos:

Influenza A/Califórnia/7/2009(H1N1)	<i>Haemophilus influenzae</i>
Influenza A/Perth/16/2009(H3N2)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Influenza A/Nova Caledônia/20/99(H1N1)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Influenza A/Suíça/9715293/2013	<i>Bordetella pertussis</i>
Influenza A/Turquia/Alemanha R2485+86/2014	<i>Legionella bozemanii</i>
Parainfluenza humana 1, 2, 3 e 4	<i>Legionella micdadei</i>
Vírus Sincicial Respiratório (VSR)	<i>Legionella dumoffii</i>
Metapneumovírus humano A e B	<i>Legionella longbeachae</i>
Coronavírus humano 229E	<i>Legionella pneumophila</i>
Coronavírus MERS	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
Rinovírus humano	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Metilicina
Adenovírus Humano	<i>Moraxella catarrhalis</i>

Não foi detectada reatividade cruzada à VSR (canal Cy5) para os seguintes microrganismos:

Influenza A/Califórnia/7/2009(H1N1)	Adenovírus Humano
Influenza A/Perth/16/2009(H3N2)	<i>Haemophilus influenzae</i>
Influenza A/Nova Caledônia/20/99(H1N1)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Influenza A/Suíça/9715293/2013	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Influenza A/Turquia/Alemanha R2485+86/2014	<i>Bordetella pertussis</i>
Influenza B/Brisbane/60/2008	<i>Legionella bozemanii</i>
Influenza B/Florida/04/06	<i>Legionella micdadei</i>
Influenza B/Phuket/3073/2013	<i>Legionella dumoffii</i>
Parainfluenza Humana 1, 2, 3 e 4	<i>Legionella longbeachae</i>
Metapneumovírus humano A e B	<i>Legionella pneumophila</i>
Coronavírus humano 229E	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
Coronavírus MERS	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Metilicina
Rinovírus humano	<i>Moraxella catarrhalis</i>

4. Reatividade Analítica

A reatividade do teste de PCR em tempo real *Aridia* de Influenza A/B & VSR para influenza A foi confirmada por amplificação em tempo real com vírus influenza A/Califórnia/7/2009 (H1N1), vírus influenza A/Perth/16/2009 (H3N2), vírus da gripe A/Nova Caledônia /20/99 (H1N1), vírus Influenza A/Suíça/9715293/2013 e vírus Influenza A/Turquia/Alemanha R2485 + 86/2014 como modelos.

A reatividade do teste de PCR em tempo real *Aridia* da Influenza A/B & VSR para a gripe B foi confirmada por amplificação em tempo real com vírus da gripe B/Brisbane/60/2008, vírus da gripe B/Florida/04/06 e vírus influenza B/Phuket/3073/2013 como modelos.

A reatividade do teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR para VSR foi confirmada por amplificação em tempo real com vírus sincicial respiratório como modelos.

COMPATIBILIDADE DOS TERMOCICLADORES DE PCR EM TEMPO REAL

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR é compatível com os termocicladores nas tabelas a seguir. Se você não encontrar o seu termociclador na lista abaixo, entre em contato com seu fornecedor.

Termocicladores de Bloco com Perfil Low

Fabricante	Modelo
Applied Biosystems	7500 Fast Real-Time PCR System ^{†*}
Applied Biosystems	7500 Fast Dx Real-Time PCR System*
Applied Biosystems	QuantStudio™ 12K Flex 96-well Fast
Applied Biosystems	QuantStudio™ 6 Flex 96-well Fast
Applied Biosystems	QuantStudio™ 7 Flex 96-well Fast
Applied Biosystems	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	VIA™ 7 Fast Real-Time PCR System
Bio-Rad	CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System [†]
Roche	LightCycler® 480 Real-Time PCR System
Roche	LightCycler® 96 Real-Time PCR System
Agilent Technologies	AriaMx Real-Time PCR System [†]
DNA-Technology	DTPrime Real-time Detection Thermal Cycler [†]
DNA-Technology	DTPrime Real-time Detection Thermal Cycler [†]
Qiagen	Rotor-Gene® Q [†]
Cepheid	SmartCycler® [†]

Termocicladores de Bloco com Perfil High

Fabricante	Modelo
Applied Biosystems	7500 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	QuantStudio™ 12K Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 6 Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 7 Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	VIA™ 7 Real-Time PCR System
Bio-Rad	CFX96 Touch™ Deep Well Real-Time PCR Detection System
Bio-Rad	iCycler iQ™ Real-Time PCR Detection System
Bio-Rad	iCycler iQ™ 5 Real-Time PCR Detection System
Eppendorf	MastercyclerTmep realplex
Stratagene / Agilent Technologies	Mx3000P™ Real-Time PCR System
Stratagene / Agilent Technologies	Mx3005P™ Real-Time PCR System
Analytik Jena Biometra	qTOWER 2.0
Analytik Jena Biometra	qTOWER 2.0
Abbott	Abbott m2000 RealTime System
BIONEER	Excicycler™ 96
DNA-Technology	DTPrime Real-Time PCR System
DNA-Technology	DTPrime Real-time Detection Thermal Cycler [†]
Qiagen	Rotor-Gene® Q [†]
Cepheid	SmartCycler® [†]

[†]Teste de PCR em Tempo Real *Aridia* Influenza A/B & VSR foi validado neste equipamento

^{*}A mistura de reação deve ser reconstituída (ver Protocolo de PCR) e transferida para tubos Rotor-Gene® e SmartCycler® específicos antes da adição de amostras/controles

[†]Use um suporte de placa com tiras de 8 poços para evitar o esmagamento de tubos neste instrumento

CANAIS DE DETECÇÃO PARA TERMOCICLADORES DE PCR EM TEMPO REAL

Os canais de detecção de fluorescência utilizados pelo Teste de PCR em tempo real *Aridia* Influenza A/B & VSR e seus correspondentes canais de detecção em termocicladores de PCR em tempo real comumente usados estão listados abaixo.

TERMOCICLADOR DE PCR EM TEMPO REAL	CANAL <i>Aridia</i>	CANAL DETECÇÃO	Notas
Bio-Rad CFX96™	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
	Cy5	Cy5	
Applied Biosystems ABI 7500	FAM	FAM	A opção de referência passiva ROX está definida como "none" (nenhum)
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Roche Lightcycler® 480II	FAM	465/510	É necessária compensação de cores
	HEX	533/580	
	ROX	533/610	
	Cy5	618/660	
	Cy5	618/660	
Cepheid Smartcycler®	FAM	Canal 1	
	HEX	Canal 2	
	ROX	Canal 3	
	Cy5	Canal 4	
	Cy5	Canal 4	
Abbott m2000rt	FAM	FAM	
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
	Cy5	Cy5	
Stratagene Mx3000P™ Mx 3005P™	FAM	FAM	A opção de referência passiva ROX está definida como "none" (nenhum)
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
Agilent AriaMx	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
	Cy5	Cy5	
	Cy5	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene® Q	FAM	Verde	
	HEX	Amarelo	
	ROX	Laranja	
	Cy5	Vermelho	

LIMITAÇÕES DO TESTE

- Este teste fornece um diagnóstico presuntivo de infecção por Influenza A, Influenza B, e/ou infecção por VSR. Os resultados dos testes negativos não impedem a infecção por Influenza A, Influenza B, e/ou VSR e não devem ser usados como única base para decisões de diagnóstico dos pacientes. Todos os resultados do teste devem ser avaliados por um profissional de saúde no contexto de sintomas clínicos, informações epidemiológicas, histórico do paciente e outros resultados de testes diagnósticos.
- Se os resultados do teste forem negativos, mas os sintomas clínicos persistirem, acompanhe com testes de diagnóstico sorológico adicionais.
- O Procedimento de Ensaio e a Interpretação dos Resultados do Ensaio devem ser seguidos de acordo com esse folheto durante todo o teste. O não cumprimento do procedimento pode levar a resultados imprecisos.
- Este teste deve ser usado apenas com amostras de swab de garganta. O uso de outros tipos de amostras não foi validado.
- A qualidade do teste depende da qualidade da amostra; O RNA de amostras clínicas deve ser devidamente extraído. A coleta, armazenamento e/ou transporte inadequados de amostras podem produzir resultados falsos negativos.
- Em algumas amostras, níveis extremamente baixos de alvo (abaixo do limite de detecção) podem produzir um sinal de amplificação, mas os resultados podem não ser reproduzíveis.
- A contaminação cruzada por partículas de Influenza A, Influenza B e/ou VSR, amostras contendo cópias altas de influenza A, influenza B e/ou RNA VSR, ou produtos de amplificação de reações anteriores podem produzir resultados falso-positivos. Precauções adequadas devem ser tomadas para monitorar a contaminação e preservar a pureza dos componentes/reações do kit.

RISCO RESIDUAL

- O profissional de saúde ou usuário adequadamente treinado é responsável por executar ou supervisionar todos os aspectos do processo do teste, desde a coleta de amostra até sua interpretação.

- O profissional de saúde ou usuário treinado deve obter consentimento do paciente ao testar a amostra e o mesmo deve fornecer informações sobre as limitações do teste, o risco de resultados falso positivos e falso negativos, especialmente quanto ao teste é feito logo após a possível exposição ao vírus.
- Os resultados devem ser avaliados em função de uma avaliação clínica global pelo médico.
- O dispositivo de teste e seus reagentes não são fabricados a partir de agentes infecciosos ou expostos antes de sua utilização.
- Existe um risco mínimo de contaminação devido ao manuseio incorreto de resíduos com risco biológico que é a natureza intrínseca de manipulação de amostra de sangue em laboratório.

Apesar das limitações do teste, tem sido aceito que os benefícios a serem obtidos a partir do uso deste dispositivo de triagem de Influenza A/B e VSR (ou seja, o aumento das taxas de teste) com sensibilidades e especificidades abaixo de 100% superam quaisquer efeitos indesejáveis decorrentes de sua utilização.

GARANTIA DA QUALIDADE

A Bio Advance obedece ao disposto na Lei 8.078/90 - Código de Defesa do Consumidor. Para que o produto apresente seu melhor desempenho, é necessário:

- que o usuário conheça e siga rigorosamente o presente procedimento técnico;
- que os materiais estejam sendo armazenados nas condições indicadas e em sua embalagem original;
- que o transporte seja realizado em condições adequadas;
- que o produto seja utilizado somente até a data de validade expressa na embalagem;
- que os equipamentos e demais acessórios necessários estejam em boas condições de uso, manutenção e limpeza.

Antes de ser liberado para venda, cada lote do produto é submetido a testes específicos, que são repetidos periodicamente até a data de vencimento expressa em rótulo. Os certificados de análise de cada lote podem ser solicitados junto ao SAC - Serviço de Assessoria ao Cliente, bem como em caso de dúvidas ou quaisquer problemas de origem técnica, através do telefone (11) 3445-5418 / 2621-7171. Quaisquer problemas que inviabilizem uma boa resposta do produto, que tenham ocorrido comprovadamente por falha de fabricação serão resolvidos sem ônus ao cliente, conforme o disposto em lei.

DESCARTE DE PRODUTOS

O descarte de resíduos deve ser realizado pelos geradores de Resíduos de Serviços de Saúde (RSS) em conformidade com os requisitos estabelecidos pelos Órgãos estaduais, municipais e ambientais vigentes, além da Vigilância Sanitária.

REFERENCIAS

- Mohsen M. A Narrative Review of Influenza: Iran J Med Sci 2017; 42(1): 2-13
- Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/about/disease/burden.htm>
- Dawson-Caswell M and Muncie, H. Am Fam Physician 2011; 83(2): 141-146
- Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/VSR/research/us-surveillance.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/labrolesprocedures.htm>
- Falsey A and Walsh E. Clin Microbiol Rev 2000; 13(3): 371-384
- Bruning A, Leeflang M, Vos J et al. Clin Infect Dis 2017; cix461

Glossário de Símbolos

	Consulte Instruções de uso		Validade		Controle Positivo
	Catálogo		Testes por kit		Controle Negativo
	Armazenar entre 2- 40°C		Não reutilizar		Solução de Ressuspensão
	Uso somente para diagnóstico <i>in vitro</i>		Representante Autorizado		Água classificada para PCR
	Número do Lote		Data de Fabricação		Tampas Ópticas
	Fabricação		Tiras PCR		

Fabricado por:


CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive,
 Poway, CA 92064, USA
 Tel: 858-457-8698 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

Instalações do Fabricante:
 Beijing Genesee Biotech Inc.,
 #36 Yanqi Donger Road, Huairou Yanqi
 Industrial Development Zone, Beijing,
 China, 101407

PI-P0060H-P0060L-BIO Rev A
 Data de lançamento: 20-01-2017
 Versão Língua Portuguesa

 **MDSS GmbH**
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany
 Apenas para exportação, Revenda proibida nos EUA

Importado e Distribuído por:


Bio Advance
 Diagnósticos

Bio Advance Diagnósticos Ltda - EPP
 CNPJ 09.593.438/0001-03
 Rua: Anísio de Abreu, 236 - Parque Cisper
 CEP: 03817-020 – São Paulo/SP

POTENCIALMENTE INFECTANTE
CONSERVAR A TEMPERATURA 2°C A 40°C

[SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CLIENTE]
TELEFONE: 55 11 – 3445-5418 / 2621-7171
www.bioadvancediag.com.br
contato@bioadvancediag.com.br

Registro Anvisa: MS - 80524900065

Resp. Técn. Dr. Arnaldo Casé de Castro
CRF/SP: 34.453