

USO PRETENDIDO

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue foi projetado para detecção qualitativa específica e diferenciação dos sorotipos 1-4 do vírus Dengue (DENV) em amostras clínicas, para auxiliar no diagnóstico de infecção aguda por DENV juntamente com 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

DENV é um arbovírus que é transmitido aos seres humanos através dos vetores de mosquito *Aedes aegypti* e *A. albopictus*¹. DENV é um membro da família *Flaviviridae* e está relacionado com os vírus Zika, febre do Oeste do Nilo e febre amarela, vírus que também podem infectar humanos. Estima-se que 3,9 bilhões de pessoas correm o risco de infecção por dengue em 128 países, incluindo partes da Ásia tropical, subtropical, da África e das Américas². Os resultados da doença por dengue variam de infecções assintomáticas, a dengue leve e doenças mais graves, como a febre hemorrágica da dengue (DHF) e a síndrome do choque da dengue (DSS), que pode levar à morte se não for administrada corretamente³.

DENV são compostos por quatro sorotipos relacionados, DEN1, DEN2, DEN3 e DEN4 que compartilham 65% de seus genomas e produzem o mesmo intervalo de sintomas clínicos durante a infecção⁴. Os anticorpos de uma infecção primária conferem imunidade ao longo da vida contra o sorotipo infectante, mas são apenas parciais ou transitórios contra os sorotipos restantes. Além disso, as infecções secundárias heterotípicas (com um sorotipo DENV diferente) foram associadas a um aumento de resultados severos da doença DENV, como DHF e DSS. Assim, a sorotipagem das infecções por DENV é crucial para decisões de manejo de pacientes e vigilância epidemiológica que moldam as políticas de saúde pública.

A sorotipagem de DENV pode ser realizada usando testes moleculares, como PCR em tempo real com iniciadores específicos dos sorotipos, para detectar RNA DENV durante a fase virêmica (nos primeiros 5 dias após o início dos sintomas)⁵. Um teste molecular positivo confirma a infecção com um sorotipo particular de DENV, embora os resultados negativos não excluam a infecção. Após este período de tempo, testes sorológicos como ELISA podem ser usados para detectar anticorpos IgM específicos dos sorotipos (que se desenvolvem dentro de 4-6 dias após a febre e persistem na circulação por 2-3 meses⁶) ou anticorpos IgG (que podem ser detectados às 10 -15 dias após o início dos sintomas⁷). No entanto, estes ensaios são prejudicados pela reatividade cruzada entre os sorotipos DENV, bem como os flavivírus relacionados⁸.

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue foi projetado para a detecção e diferenciação específica de sorotipos de DENV 1-4 em amostras clínicas e utiliza um formato estabilizado conveniente, com todos os componentes necessários para executar o ensaio de PCR em tempo real estabilizado em cada reação poço de reação.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue baseia-se na amplificação em tempo real de uma região específica do gene *NS5* de DEN1, gene do envelope DEN2, gene *prM* de DEN3, e gene *NS2A* de DEN4 em etapa única. A sorotipagem é realizada em dois tipos de poços de reação, um que detecta DEN1 e/ou DEN4 (tira de teste DEN1 e DEN4) e outro que detecta DEN2 e/ou DEN3 (tira de teste DEN2 e DEN3). 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 DENV 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 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* Sorotipagem de Dengue vírus 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 DEN1 é detectada através do canal FAM e DEN4 através do canal ROX (tira de teste DEN1 e DEN4). A amplificação da sequência alvo DEN2 é detectada através do canal FAM e DEN3 através do canal ROX (tira de teste DEN2 e DEN3). 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 DEN1 & DEN4 (Perfil High / Perfil Low)	8 poços x 6	PS0061AH/ PS0061AL
2.	Tiras de Teste DEN2 & DEN3 (Perfil High / Perfil Low)	8 poços x 6	PS0061BH/ PS0061BL
3.	Controle Positivo	1 frasco	PC0061
4.	Controle Negativo	1 mL	PNC001
5.	Água classificada para PCR (Ultra Pura)	1 mL	PGW001
6.	Solução de Ressuspensão (para Reconstituição da Mistura de Reação Estabilizada)	1.8 mL	PRS001
7.	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 centrifuga de 1.5 mL
4. Centrifuga para tubos 1.5 mL
5. Vortex
6. Micropipetas (2-20 µL, 20-200 µL)
7. Ponteiras com filtro para micropipetas

AVISOS E PRECAUÇÕES

Para uso de profissionais especificamente treinados em técnicas de amplificação de ácidos nucleicos e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

1. Não use o teste após a data de validade.
2. 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.
3. O fluxo de trabalho do teste deve ser direcionado 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.
4. Recomenda-se a descontaminação regular de equipamentos comumente usados, especialmente micropipetas e superfícies de trabalho.

REF P0061H/P0061L


5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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 Sorotipagem de Dengue 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 desidratado, guarde-o a -20°C. Recomendamos armazenar o controle positivo desidratado em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento-descongelamento.

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. QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)

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 números de cópias elevadas de modelos de DNA de DEN1-4. 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. O controle positivo reidratado pode ser usado para até 10 testes de sorotipagem de Dengue (para DEN1, DEN2, DEN3 e DEN4).

2. 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 reação de Controle Positivo e Negativo devem ser incluídas para cada tipo de tira de teste. Assim, deve haver um conjunto de poços de Controle Positivo e Negativo para as tiras de teste DEN1 e DEN4 e um conjunto separado para os testes DEN2 e DEN3. Programe seu termociclador nas seguintes condições 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 do canal FAM (DEN1 ou DEN3), canal ROX (DEN2 ou DEN4) e canais HEX, JOE ou VIC (Controle Interno). Ao usar o Sistema de PCR em tempo real rápido Applied Biosystems 7500, sistema de PCR em tempo real Applied Biosystems StepOne™, 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 nas tiras de teste de DEN1 e DEN4 e de DEN2 e DEN3. Retire o vedante de alumínio protetor somente dos poços para ser usado 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 corrida 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* Sorotipagem de Dengue 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:

Tabela 1. Tiras de Teste DEN1 & DEN4.

DEN1	DEN4	Controle Interno	Controle Neg.	Controle Pos.	Interpretação
POS	POS	POS ou NEG	NEG	POS	DEN1 e DEN4 Positivo
NEG	NEG	POS	NEG	POS	DEN1 e DEN4 Negativo
POS	NEG	POS ou NEG	NEG	POS	DEN1 Positivo e DEN4 Negativo
NEG	POS	POS ou NEG	NEG	POS	DEN4 Positivo e DEN1 Negativo
POS	POS	POS	POS	POS	Experimento Inválido
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	Experimento Inválido

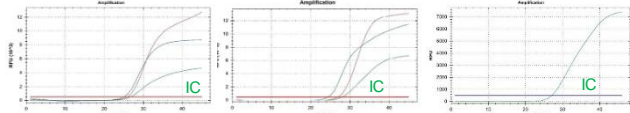
Tabela 2. Tiras de Teste DEN2 & DEN3.

DEN2	DEN3	Controle Interno	Controle Neg.	Controle Pos.	Interpretação
POS	POS	POS ou NEG	NEG	POS	DEN2 e DEN3 Positivo
NEG	NEG	POS	NEG	POS	DEN2 e DEN3 Negativo
POS	NEG	POS ou NEG	NEG	POS	DEN2 Positivo e DEN3 Negativo
NEG	POS	POS ou NEG	NEG	POS	DEN3 Positivo e DEN2 Negativo
POS	POS	POS	POS	POS	Experimento Inválido
NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	Experimento Inválido

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

- Controle Positivo**
O controle positivo incluído em cada execução deve mostrar uma curva de amplificação para DEN1 (canal FAM) e DEN4 (ROX) com a tira de teste DEN1/DEN4 e DEN2 (ROX) e DEN3 (FAM) com a tira de teste de DEN2/DEN3, que valida a execução.
- Controle Negativo**
O controle negativo incluído em cada execução deve mostrar a ausência de sinal para os canais FAM e ROX em ambas as tiras de teste, o que valida a execução.
- 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 porque um número alto de cópias do alvo na amostra pode causar amplificação preferencial do modelo de destino sobre o modelo de Controle Interno.
- Amostra Positiva**
Uma amostra é atribuída como positiva para o alvo se o valor de Ct for inferior a 40 e o Controle Interno também tiver um sinal de amplificação. Uma amostra com um sinal de amplificação do sorotipo DENV positivo (canal FAM e/ou ROX), juntamente com a falta de um sinal de Controle Interno, ainda é considerada um teste positivo, uma vez que uma cópia elevada do RNA alvo pode causar amplificação preferencial do alvo (veja acima, 3).
- 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.

- 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 do sinal de amplificação do 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 da PCR.



Controle Positivo DEN1 & DEN4 Controle Positivo DEN2 & DEN3 Controle Negativo

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- Desempenho Clínico**
Os painéis de AEQ constituídos por material clínico e/ou cultivado de sorotipos DENV conhecidos ou amostras clínicas confirmadas de RNA-DENV foram testadas com o teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue. Um resumo para todos os resultados é mostrado na tabela a seguir:

Número e fonte do modelo	Resumo do Resultado
painel QCMD 2014 12 amostras (Programa DENV AEQ)	100% Sorotipo
painel QCMD 2016 10 amostras (Programa DENV AEQ)	100% Sorotipo
10 amostras clínicas (RNA positivo DENV)	90% Sorotipo

97% das amostras positivas de RNA de DENV foram sorotipadas utilizando o teste de PCR em tempo real de *Aridia* Sorotipagem de Dengue, intervalo de confiança de 95% (IC) [83%, >99%].

- Sensibilidade Analítica**
Este ensaio tem um limite de detecção de ≥ 50 DEN1, ≥ 10 DEN2, ≥ 50 DEN3 e ≥ 100 cópias DEN4 de RNA por reação (Fig. 1-4). As reações de PCR contendo ≥ 50 cópias DEN1 são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo e as reações contendo ≥ 10 cópias DEN1 são detectadas como positivas $\geq 65\%$ do tempo. As reações de PCR contendo ≥ 10 cópias DEN2 são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo. As reações de PCR contendo ≥ 50 cópias DEN3 são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo e as reações contendo ≥ 10 cópias DEN1 são detectadas como positivas $\geq 60\%$ do tempo. As reações de PCR contendo ≥ 100 cópias DEN4 são detectadas como positivas $\geq 95\%$ do tempo e as reações contendo ≥ 10 cópias DEN1 são detectadas como positivas $\geq 65\%$ do tempo.

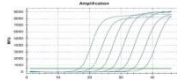


Figura 1. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo DEN1 variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal FAM, teste DEN1 e DEN4).

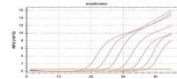


Figura 2. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo DEN4 variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal ROX, teste DEN1 e DEN4).

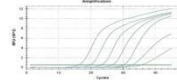


Figura 3. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo DEN2 variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal ROX, teste DEN2 e DEN3).

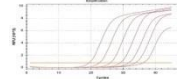


Figura 4. Gráfico de amplificação para séries de diluição 10 vezes do modelo DEN3 variando de 10^7 a 10^1 cópias por reação (canal FAM, teste DEN2 e DEN3).

- Especificidade Analítica**
A especificidade analítica para DENV1-4 foi testada usando um painel dos seguintes microrganismos, incluindo os arbovírus mais comuns, e não foi detectada reatividade cruzada.

cepa vírus Chikungunya S27 Petersburg	cepa do vírus Oeste do Nilo Heja
cepa vírus Zika MR 766	cepa do vírus Oeste do Nilo Ug37
cepa do vírus encefalite St Louis 17D	cepa do vírus Febre Amarela 17D
cepa do vírus Oeste do Nilo H160/99	

- Reatividade Analítica**
A reatividade do teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue foi confirmada por amplificação em tempo real com a cepa do vírus da dengue 1 do Hawaii, a cepa do vírus da

dengue 2 de Nova Guiné C, a cepa H87 do vírus da dengue 3 e a cepa H241 do vírus da dengue 4 como modelos.

COMPATIBILIDADE DOS TERMOCICLADORES DE PCR EM TEMPO REAL

O teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue está disponível nos formatos de perfil High (REF P0061H) ou perfil Low (REF P0061L) para compatibilidade 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™ 3 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	StepOne Plus™ Real-Time PCR System
Applied Biosystems	StepOne™ Real-Time PCR System [†]
Applied Biosystems	ViiA™ 7 Fast Real-Time PCR System
Bio-Rad	CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System [†]
Bio-Rad	Mini Opticon™ 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	DTlite Real-Time PCR System
DNA-Technology	DTprime Real-time Detection Thermal Cycler [†]
Qiagen	Rotor-Gene®Q ^{†‡}
Cepheid	SmartCycler® ^{†‡}

Termocicladores de Bloco com Perfil High	
Fabricante	Modelo
Applied Biosystems	7300 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	7500 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	7900 HT Real-Time PCR System
Applied Biosystems	ABI PRISM 7000
Applied Biosystems	ABI PRISM 7700
Applied Biosystems	QuantStudio™ 12K Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 6 Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 7 Flex 96-well
Applied Biosystems	QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
Applied Biosystems	ViiA™ 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
Bio-Rad	MyiQ™ Real-Time PCR Detection System
Bio-Rad	MyiQ™ 2 Real-Time PCR Detection System
Eppendorf	Mastercycler™ ep realplex
Stratagene / Agilent Technologies	Mx3000P™ Real-Time PCR System
Stratagene / Agilent Technologies	Mx3005P™ Real-Time PCR System
Analytik Jena Biometra	TOptical
Analytik Jena Biometra	qTOWER 2.0
Abbott	Abbott m2000 RealTime System
BIONEER	Excicycler™ 96
DNA-Technology	DTlite 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* Sorotipagem de Dengue foi validado neste equipamento.
[‡] A mistura de reação deve ser reconstituída (ver Protocolo de PCR) e transferida para tubos Rotor-Gene®Q 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 DE TEMPO REAL

Os canais de detecção de fluorescência utilizados pelo Teste de PCR em tempo real *Aridia* Sorotipagem de Dengue e seus correspondentes canais de detecção em termocicladores de *PCIR* em tempo real comumente usados estão listados abaixo.

TERMOCICLADOR DE PCR EM TEMPO REAL	CANAL <i>Aridia</i>	CANAL DETECÇÃO	Nota
Bio-Rad CFX96™	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
Applied Biosystems ABI 7500	FAM	FAM	A opção de referência passiva ROX está definida como "none" (nenhum)
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
Roche Lightcycler®480II	FAM	465/610	É necessária compensação de cores
	HEX	533/580	
	ROX	533/610	
Cepheid Smartcycler®	FAM	Canal 1	
	HEX	Canal 2	
	ROX	Canal 3	
Abbott m2000t	FAM	FAM	
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
Stratagene Mx3000P™ Mx 3005P™	FAM	FAM	A opção de referência passiva ROX está definida como "none" (nenhum)
	HEX	VIC	
	ROX	ROX	
Agilent AriaMx	FAM	FAM	
	HEX	HEX	
	ROX	ROX	
Qiagen Rotor-Gene®Q	FAM	Verde	
	HEX	Amarelo	
	ROX	Laranja	

LIMITAÇÕES DO TESTE

- Este teste fornece um diagnóstico presuntivo de infecção por DEN1-4. Os resultados dos testes negativos não impedem a infecção por DEN1-4 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 soro. 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 do 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 DEN1-4, amostras contendo cópias elevadas de RNA de DEN1-4, ou produtos de amplificação de reações anteriores podem produzir resultados falsos positivos. Precauções adequadas devem ser tomadas para monitorar a contaminação e preservar a pureza dos componentes/reações do kit.

RISCO RESIDUAL

1. 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.
2. 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.
3. Os resultados devem ser avaliados em função de uma avaliação clínica global pelo médico.
4. O dispositivo de teste e seus reagentes não são fabricados a partir de agentes infecciosos ou expostos antes de sua utilização.
5. 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 sorotipagem de Dengue (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.

REFERÊNCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/dengue/resources/30jan2012/comparisonofdenguevectors.pdf>
2. Brady O, Gething P, Bhatt S et al. PLoS Negl Trop Dis 2012; 6: e1760.
3. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/dengue/clinicalab/clinical.html>
4. Guzman M, Halstead S, Artsob, H et al. Nat Rev Microbiol 2010;8(12 0): S7-16.
5. Kassim F, Izati, M, TgRogayah, T et al. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2011; 42(3): 562-569
6. Peeling R, Artsob H, Pelegriño, J et al. Nature Rev Microbiol 2010; 8: S30-S37
7. Whitehead S, Blaney J, Durbin A et al. Nat Rev Microbiol 2007; 5: 518-528.
8. Center for Disease Control and Prevention. (2016). <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikk-testing-algorithm.pdf>

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:

Importado e Distribuído 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-P0061H-P0061L-BIO Rev A
Data de lançamento: 22-01-2018
Versão Língua Portuguesa

 **MDSS GmbH**
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

Apenas para exportação, Revenda proibida nos EUA


Bio Advance
Diagnósticos

Bio Advance Diagnósticos Ltda - EPP
CNPJ 09.593.438/0001-03
Rua: Anísio de Abreu, 236 - Parque Cispar
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 - 80524900068

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