

GeneFinder™ MPXV RealAmp Kit

REF IFMR-82.07B100 Σ 100 testes / Kit



Armazenar em -15°C ~ -25°C
O prazo de validade é de 12 meses após a fabricação.

Uso profissional.

Somente para uso em diagnóstico in vitro

Para Applied Biosystems 7500 PCR em tempo real

Applied Biosystems FAST 7500 PCR em tempo real

QuantStudio5 PCR em tempo real

Bio-Rad CFX96 PCR em tempo real

USO PREVISTO

A varíola dos macacos é uma infecção que causa febre e uma erupção cutânea dolorosa. Por muitos anos, a varíola dos macacos era incomum. Mas em 2022, houve um surto de novos casos. Qualquer pessoa pode contrair varíola símia se tiver contato próximo com alguém infectado. O kit GeneFinder™ MPXV RealAmp é usado para detectar o vírus Monkeypox (MPXV) e o ortopoxvírus (OPXV) em DNA extraído de lesões cutâneas. O produto pode detectar qualitativamente MPXV, OPXV e RnaseP usando qPCR (reação em cadeia da polimerase em tempo real). Este kit é para uso profissional e deve ser utilizado em laboratórios.

PRINCÍPIO DO TESTE

O método de detecção e amplificação de alvos OPXV e MPXV é baseado no método PCR em tempo real.

COMPONENTES DO KIT

GeneFinder MPXV RealAmp Kit	100 testes / Kit
Mistura de Reação MPXV ¹⁾	1.000 µL
Mistura de Sonda MPXV ²⁾	500 µL
Controle Positivo MPXV ³⁾	50 µL
Controle Negativo MPXV ⁴⁾	50 µL

1) Mistura de Reação MPXV: Contendo Tris-Cl, MgCl₂, dNTPs e Taq polimerase etc.

2) Mistura de Sonda: Pares de primers e Sondas para amplificação e detecção de cada alvo

3) Controle Positivo MPXV: Controle positivo para alvos

4) Controle Negativo MPXV: Água de qualidade ultrapura, grau PCR

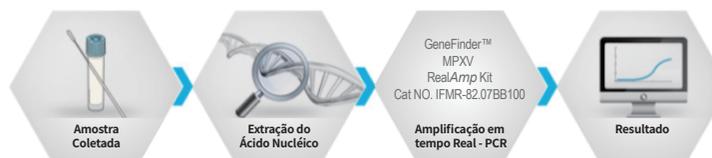
PREREQUISITE

- Applied Biosystems 7500, Applied Biosystems 7500 Fast, QuantStudio5, CFX96 Sistema de PCR em tempo real
- Tubo de 1.5 ml e tubo de PCR
- Pipetas e pontas de pipetas esterilizadas com barreira contra aerossóis
- Misturador Vortex e Microcentrífuga
- Luvas descartáveis sem pó

AVISO E PRECAUÇÃO

- Este produto foi desenvolvido para diagnóstico in vitro (IVD).**
- Este produto é apenas para uso profissional e deve ser usado em laboratórios.
- O teste deve ser realizado por pessoal bem treinado e qualificado.
- Elimine os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, estaduais e locais.
- Congelamentos e descongelamentos repetidos desnecessários resultarão em resultados imprecisos.
- Não misture reagentes de lotes diferentes do kit.
- Não modifique o volume de reagente/amostra usado no teste ou use de forma errada, o que não é recomendado.

FLUXO DE TRABALHO



PROTOCOLO

A. Amostra

O kit GeneFinder™ MPXV RealAmp deve ser usado com amostras de DNA extraídas de amostras derivadas de humanos, como lesões de pele. A extração de DNA é recomendada da amostra o mais rápido possível para experimentos precisos

B. Extração DNA

Recomenda-se o uso de kits de extração comercializados, como QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), sistema MagNa Pure (Roche). As amostras de DNA extraídas são frágeis, por isso é recomendável evitar congelamentos e descongelamentos repetidos e armazená-las a -20 °C ou menos.

C. Preparação do reagente

Antes de configurar a mistura de PCR, todos os componentes precisam ser descongelados, misturados suavemente e centrifugados brevemente para coletar a solução no fundo.

- Misture 10 µL de MPXV Reaction Mixture, 5 µL de MPXV Probe Mixture para preparar a mistura principal para cada reação (consulte abaixo). Prepare um volume suficiente de mistura principal para todas as reações mais extra para evitar erros de pipetagem.
- After mixing well, place 15 µL of master mixture into 96-well plate or PCR tube.
- Adicione 5 µL da amostra de DNA extraída em uma placa ou tubo de 96 poços e, em seguida, misture todos os componentes por pipetagem. Proceda da mesma forma com outras amostras de DNA, Controle Positivo e Controle Negativo.
- Feche com precisão o tubo com a tampa ou vede a placa de 96 poços.
- Transfira os tubos ou a placa de 96 poços para teste para a PCR em tempo real e inicie a amplificação.

Componente	Por teste
Mistura de reação MPXV	10 µL
Mistura de sonda MPXV	5 µL
Amostra de DNA ou CP ¹⁾ ou CN ²⁾	5 µL
Volume total	20 µL

1) CP : Controle Positivo 2) CN : Controle Negativo

D. Configuração e análise de PCR em tempo real

Este produto é validado no sistema de instrumentos de PCR em tempo real ABI7500/7500 Fast, QuantStudio5 e CFX96. Os valores de fluorescência emitidos pelas sondas específicas nas reações de amplificação devem ser analisados pelo software do instrumento.

- Consultar o manual do instrumento, configurar no software dedicado os parâmetros do ciclo térmico.
- Configure as condições de PCR e a configuração de fluorescência da seguinte forma e, em seguida, clique no botão “Start Run”

Condições de PCR		
Ciclo	Temp.	Tempo
1 ciclo	95 °C	3 min
45 ciclos	95 °C	10 seg
	55 °C*	30 seg

* Selecione “Coletar dados” ou “Ler placa”

Nota Defina a velocidade da rampa como $\sqrt{\quad}$ Fast ao usar ABI7500Fast e QuantStudio5.

Configuração de fluorescência		
Alvo	Reporter	Extintor
MPXV	FAM	Nenhum
OPXV	JOE (or VIC*)	Nenhum
IC**	CY5	Nenhum

Corante de referência passiva: ROX***

* Definido como VIC para QuantStudio5 e CFX96

** Cl : controle interno

*** É definido em ABI7500, ABI7500Fast, QuantStudio5, mas não em CFX96

4. Clique em Modo de análise após a conclusão e escolha a configuração de análise em Gráfico de amplificação.

5. Clique em "Editar configurações padrão" para definir os valores de linha de base e limite conforme mostrado abaixo.

Fluoróforo (Alvo)	Limite		Linha de base	
	ABI7500/ABI7500Fast /QuantStudio5	CFX96	Início	Fim
FAM (MPXV)	0.1	300	Auto	
JOE (OPXV)	0.1	500	Auto	
CY5 (IC)	0.05	100	Auto	

E. Interpretação do resultado

#	MPXV	OPXV	CI	Resultado do Ensaio
	FAM	JOE	CY5	
1	≤42	≤42	≤35	Positivo MPXV
2	≤42	U.D ou N/A	≤35	Positivo MPXV
3	U.D ou N/A	≤42	≤35	Positivo OPXV* / Repetir a amostra**
4	≤42	≤42	U.D ou N/A	Positivo MPXV
5	≤42	U.D ou N/A	U.D ou N/A	Positivo MPXV
6	U.D ou N/A	≤42	U.D ou N/A	Positivo OPXV* / Repetir a amostra**
7	U.D ou N/A	U.D ou N/A	≤35	Negativo
8	U.D ou N/A	U.D ou N/A	U.D ou N/A	Invalid (Reteste)

Observação: Quando o DNA alvo é detectado em uma reação de amplificação de amostra, o Controle interno (CI) pode dar o resultado como Ct Não aplicável (N/A) ou Indeterminado (U.D). Nesse caso, ele deve ser determinado como positivo.

* Quando o alvo OPXV apresentar o resultado "Positivo" e o alvo MPXV apresentar resultado "Negativo", pode ser que a amostra seja positiva para um vírus do gênero Orthopox, mas não da espécie Monkeypox;

**Em caso de repetição do ensaio, se o resultado se mantiver, a amostra deverá ser encaminhada, para análise, ao Laboratório de Referência.

CONTROLE DE QUALIDADE

• PC and NC Ct range should be as below:

#	FAM (MPXV)	JOE (OPXV)	CY5 (IC)
CP	≤35	≤35	≤35
CN	U.D ou N/A	U.D ou N/A	U.D ou N/A

U.D: Undetermined (or Not applicable (N/A))

PERFORMANCE

Critério	Resultado
Desempenho Clínico	Sensibilidade clínica de 100.00% (95%CI: 96.38%~100.00%) Especificidade clínica de 100.00% (95% CI: 94.04%~100.00%)
Sensibilidade Analítica	Diluições seriadas (1, 0,5, 0,2, 0,1 cópias/μL) de DNA de MPXV ou OXPV (3 lotes, 24 vezes de repetição do teste cada) foram testadas. * Sensibilidade Analítica MPXV: 0,2 cópias/μL, OPXV: 0,2 cópias/μL
Inclusividade	De acordo com o resultado da análise foi confirmado que o kit GeneFinder™ MPXV RealAmp não é afetado por novas cepas mutantes, incluindo clade I, II. Avaliações realizadas "in silico"

No.	Lineage	GeneBank	
		Accession No.	
1	Clade I (Congo Basin)	NCBI (NC 003310.1)	
2	Clade I (Congo Basin)	Clade Ia	GISAID (EPI_ISL_19427702)
3		Clade Ib	GISAID (EPI_ISL_19348512)
4	Clade II (West Africa)	NCBI (NC 063383.1)	
5	Clade II (West Africa)	Clade IIa	GISAID (EPI_ISL_13056556)
6		Clade IIb	GISAID (EPI_ISL_19347731)

Repetibilidade
A repetibilidade foi confirmada com substâncias padrão idênticas em diferentes condições; LOTE diferente, local, hora e testadores por 3 testes em lote. O critério de repetibilidade foi CV <5% do valor Ct.

Segurança de congelamento/descongelamento
A repetibilidade foi confirmada com substâncias padrão idênticas em diferentes condições; LOTE diferente, local, hora e testadores por 3 testes em lote. O critério de repetibilidade foi CV <5% do valor Ct.

Interferência
Concentrações nas quais 100% de sensibilidade foi confirmada para cada substância:

Potential Inhibition materials	Concentration	
	DNA	NP Swab
Human Bloodd	≤ 1%	≤ 5%
Mucin	≤ 0.05mg/ml	≤ 0.1mg/ml
Dezamethasone	≤ 50pg/ml	≤ 100pg/ml
Tobramycin	≤ 1ug/ml	≤ 5ug/ml
Muporocin	≤ 5mg/ml	ALL
Oseltamivir	≤ 5mg/ml	ALL
Lidocaine	≤ 50umol/L	≤ 80umol/L
Ethanol	≤ 1%	≤ 8%

SOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Problema	Possível causa	Recomendação
Nenhum sinal em todas as amostras, incluindo o controle positivo	Erro na preparação da mistura Master	Verifique o volume de distribuição durante a preparação da mistura principal
	Inibidores adicionados	Repita a etapa de extração com uma nova amostra
	Degradação da sonda	Use um novo reagente de sonda
	Degradação do Controle Positivo	Use um novo controle positivo
	Componentes Omitidos	Verifique cada componente, repita a preparação da mistura de PCR
Intensidade diversa de sinais fluorescentes	Erro de configuração do instrumento	Verifique a configuração de posição para o controle positivo nos instrumentos. Verifique as configurações do ciclo térmico no instrumento de amostra
	Erro de pipetagem	Certifique-se de que o mesmo volume de reagentes seja adicionado em cada tubo ou placa
Sinal fluorescente fraco ou inexistente apenas em amostras	Contaminação Na superfície externa dos tubos ou placas de PCR	Use luvas durante o experimento
	DNA de baixa qualidade	Use o kit recomendado para extração de DNA e armazene o DNA extraído a -20 °C
	Volume insuficiente de DNA	Repita a reação de PCR com o volume correto de DNA

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Termos e Condições de Garantia: A empresa garante o desempenho deste produto, dentro das especificações, até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Serviço de Atendimento ao Consumidor. 0800 743 0800

E-mail: sac@unamedic.com.br.

Regularizado por: Una Medic I. E. Ltda

Av. 136 n. 797 - Sala 801 A - Goiânia - GO - CEP: 74.093-250.
CNPJ n. 32.247.380/0001-50.

Responsável Técnico:

Fernanda Ramos de Vasconcelos – CRF/GO n.4919

Registro Anvisa N° : 81914040030

FABRICANTE: OSANG Healthcare Co., Ltd.

132, Anyangcheondong-ro, Dongan-gu, Anyang-si, Gyeonggi-do, 14040, Republic of Korea.

Tel. +82-80-300-8114 / Fax. +82-31-460-9933

E-mail : ohc_cs@osanghc.com

Web : http://www.osanghc.com/en

ISC04470 Rev.2024-09 (05)