



KIT NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA Bio-Manguinhos

Teste para detecção de ácido nucléico de HIV (vírus da imunodeficiência adquirida), HBV (vírus da hepatite B), HCV (vírus da hepatite C) e do *Plasmodium spp*

(96 Reações)

Uso em diagnóstico *in vitro*



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia
em Imunobiológicos

Bio-Manguinhos

KIT NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA BIO-MANGUINHOS

Teste para detecção de ácido nucléico de HIV (vírus da imunodeficiência adquirida), HBV (vírus da hepatite B), HCV (vírus da hepatite C) e do *Plasmodium spp*

(96 REAÇÕES)

Uso em diagnóstico *in vitro*

1. NOME COMERCIAL

Kit NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA Bio-Manguinhos.

2. FINALIDADE E MODO DE USO DO PRODUTO

Teste para detecção de ácido nucléico de HIV (vírus da imunodeficiência adquirida), HBV (vírus da hepatite B), HCV (vírus da hepatite C), e do *Plasmodium spp*, no plasma humano de amostras de doador de sangue, doador de órgãos ou doador falecido em parada cardiorrespiratória, em serviços de hemoterapia, visando diminuir o risco transfusional causado por esses agentes.

Material fornecido para 96 reações de HIV/HBV e 96 reações de HCV/Malária.

Produto destinado exclusivamente para uso em diagnóstico *in vitro*.

3. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO, TRANSPORTE E MANUSEIO

3.1. Transporte do Produto

- Módulo de Controles e de amplificação: transportar em gelo seco de -80 °C a -20 °C;
- Módulo de Extração: transportar sem condições especiais de 15 °C a 44 °C.

3.2. Armazenamento do Produto

- Módulo de Controles: armazenar de -80 °C a -60 °C;
- Módulo de Extração: armazenar de 15 °C a 25 °C;
- Módulo de Amplificação: armazenar de -30 °C a -10 °C.

Em situações excepcionais no âmbito de ações num plano de contingência poderão ser usados tubos alternativos, desde que validados previamente, ao recomendado K2 EDTA com barreira de gel poliéster, sem alterar o desempenho do teste. Nesse caso, Bio-Manguinhos indica os tubos, já validados, soro e EDTA.K3 - sem barreira de gel.

A temperatura do espaço físico destinado ao teste deve ser monitorada e mantida entre 15 °C e 25 °C.

4. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TESTE

O teste NAT HIV, HBV e HCV foi desenvolvido para detecção de ácido nucléico viral no período que precede a produção sistêmica de anticorpos, chamada de janela imunológica. Com o teste NAT Bio-Manguinhos, a janela imunológica é reduzida para 10 a 12 dias.

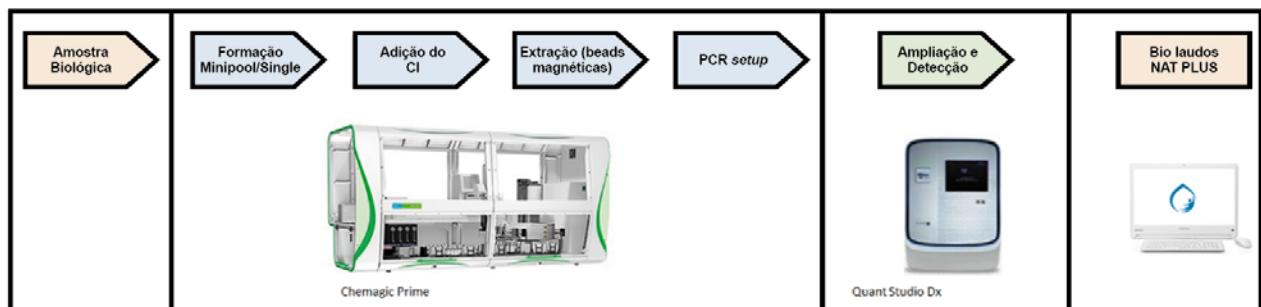
O teste NAT para detecção do ácido nucléico do *Plasmodium spp.*, parasita causador da doença malária, tem como finalidade reduzir o período de inaptidão para doadores de sangue, que estiveram em áreas consideradas endêmicas, de 12 meses para 1 mês. E, também, detectar o agente em portadores assintomáticos que, apesar da realização de triagem clínica/laboratorial, são considerados aptos à doação.

A metodologia para detecção molecular dos vírus HIV, HBV e HCV e do parasita causador da Malária tem como base a plataforma de PCR (reação em cadeia de polimerase) em tempo real.

Abaixo, o fluxo metodológico:

- (a) **Preparo amostras** em *pool* de seis ou individual (*single*);
- (b) **Adição do Controle Interno (CI)**;
- (c) **Extração de ácido nucléico** da amostra biológica (plasma);
- (d) **Amplificação e detecção** do ácido nucléico por PCR em tempo real;
- (e) **Geração do Laudo**: o software BioLaudos tem como objetivo consolidar as informações das amostras processadas e gerar um laudo com os resultados obtidos

Esquema do Teste:



a. **Preparo amostras em *pool* de seis ou individual (*single*):** o equipamento *Chemagic Prime* engloba um pipetador automático (*Janus*) e um extrator (*Chemagic*) da *Perkin Elmer*. Na parte do *Janus*, acontece a etapa de preparação do *pool* com 6 amostras (167 μ L de cada). Utiliza-se tubos primários dedicados ao NAT de flebotomia a vácuo do tipo K2 EDTA com gel de poliéster para separação de plasma e fração celular do sangue total. A transferência das amostras é feita para uma placa de 2 mL (96 poços).

Quando ocorrer resultado positivo para o *pool*, todas as 6 amostras que o compõem serão, obrigatoriamente, re-testadas em *single* em uma próxima rotina.

b. **Adição do Controle Interno:** o CI tem o objetivo de controlar a condição da reação (intra-ensaio) validando o resultado das determinações (*pool* e *single*). O CI é adicionado a cada determinação *pool/single*.

c. **Extração de ácido nucléico das amostras biológicas (Plasma):** a extração é totalmente automatizada. No *Janus*, as amostras são lisadas com tampão de lise, poli(A) RNA e proteinase K sob condições desnaturantes. No extrator *Chemagic* é realizado o isolamento de ácidos nucléicos. A extração utiliza a tecnologia de *beads* (partículas) magnéticas e usa hastes magnetizadas para separar os ácidos nucléicos das soluções, fornecendo isolamento de alta qualidade, alto rendimento e diminuição do risco de contaminação das amostras. O produto final eluído é livre de albumina sérica, outras proteínas, nucleases, sais inorgânicos e orgânicos e outros possíveis interferentes.

d. **Amplificação e detecção do ácido nucléico por PCR em tempo real:** A PCR em tempo real associa a metodologia de PCR a um sistema de detecção de fluorescência produzida durante os ciclos de amplificação. O kit NAT Plus utiliza sondas específicas, em 2 determinações distintas e discriminatórias: HIV, HBV e CI, e outra de HCV, Malária e CI. O equipamento utilizado nesta etapa é o *Quant Studio Dx* (*Thermo Fisher Scientific*);

e. **Geração do laudo:** o software BioLaudos tem como objetivo consolidar as informações das amostras processadas e gerar um laudo com os resultados obtidos.

5. TIPOS DE AMOSTRAS, CONDIÇÕES PARA COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO

- A coleta das amostras de sangue periférico deve ser feita, preferencialmente, em tubo contendo anticoagulante K2 EDTA e gel de poliéster para separação de plasma e fração celular do sangue total. Coletar 5 mL de sangue total;
- Homogeneizar a amostra por inversão após a coleta;
- Centrifugar o tubo até seis horas após a coleta à 1100 RFC ou G (em uma centrífuga com 100 mm de raio, corresponde a 3134 rpm) por 10 minutos em temperatura ambiente;
- Recomenda-se que caso a rotina ocorra após 24h da centrifugação, o tubo deve ser centrifugado novamente. Observou-se que o gel do tubo K2 EDTA pode interferir na qualidade da extração da amostra;
- Caso o controle interno de alguma amostra fique fora da faixa (não ok), é recomendado centrifugar novamente o tubo antes de repetir o processamento da amostra em uma próxima rotina;
- Não utilizar tubos de coleta reciclados;
- Não congelar o tubo após a coleta, pois o gel pode se desprender e alterar a carga viral do paciente;
- Não utilizar tubos com anticoagulante heparina;
- Recomenda-se, após a centrifugação, conservar as amostras refrigeradas entre 2 °C e 8 °C;
- Se necessário, após a coleta seguida de centrifugação, as amostras podem ser armazenadas entre 2 °C e 25 °C por até 168h e sem centrifugação por até 144h, sem variação significativa nos resultados;
- Em situações excepcionais, no âmbito de ações num plano de contingência, poderão ser usados tubos alternativos ao recomendado (K2 EDTA com gel de poliéster), sem alterar o desempenho do teste;
- A temperatura do espaço físico destinado ao teste deve ser monitorada e mantida entre 15 °C e 25 °C.

6. DESCRIÇÃO DO PRODUTO

6.1 Relação dos componentes fornecidos com o produto

MÓDULOS	COMPONENTES	VOLUMES
Controle	Controle Negativo	2 frascos com 1,2 mL cada
	Controle Positivo	2 frascos com 1,2 mL cada
	Controle Interno	2 frascos com 1,2 mL cada
Extração	Tampão de Lise 1	1 frasco com 92 mL
	Poli(A) RNA	1 frasco liofilizado
	Tampão poli(A) RNA	1 frasco com 1000 µL
	Partículas Magnéticas	1 frasco com 30 mL
	Tampão de Eluição 5	1 frasco com 15 mL
	Proteinase K	1 frasco liofilizado
	Água Livre de RNase	1 frasco com 3 mL
	Placas de reação (2mL)	4 unidades
	Placa de Eluição	1 unidade
	Placas para partículas magnéticas	2 unidades
	Ponteiras Chemagic	1 caixa
	Placa Óptica	1 unidade
	Selo Óptico	1 unidade
Amplificação	Mistura de PCR	2 frascos com 450 µL cada
	ROX	1 frasco com 20 µL
	MIX HIV/HBV	1 frasco com 160 µL
	MIX HCV/Malária	1 frasco com 160 µL

6.2 Relação dos materiais de reposição

- 600 tubos/rotina de Tubo K2 EDTA com gel de poliéster;
- 1 recipiente descartável (plástico) para Tampão de Lise 1 *Perkin Elmer*;
- 4 caixas de ponteiros de 900 µL *Perkin Elmer*;
- 10 caixas de ponteiros de 175 µL *Perkin Elmer*;
- 2 caixas de ponteiros de 25 µL *Perkin Elmer*;
- Tampões de extração 10x96 reações *Perkin Elmer*;

6.3 Relação dos materiais necessários não fornecidos

- Água destilada (para uso dos equipamentos);
- Luva descartável sem talco;
- Sacos de descarte de lixo biológico;
- Pipeta automática 1000 µL (calibrada);
- Ponteiros com filtro 1000 µL.

6.4 Relação dos materiais necessários para análise de amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória e não inclusos no Kit

- Diluente para amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória – “Diluente amostra doador falecido Bio-Manguinhos”;
- Tubo de 5 mL com tampa e estéril para diluição da amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória.

6.5 Versão do Software BioLaudos

Todas as versões a partir da versão 2.0.0.

7. ESTABILIDADE EM USO DO PRODUTO E CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- O Kit NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA Bio-Manguinhos deve ser utilizado dentro do prazo de validade determinado pelo fabricante. Todos os módulos deverão ser armazenados nas temperaturas indicadas nos rótulos externos desde o ato do recebimento até a utilização do produto;
- Os insumos armazenados fora da temperatura especificada não são de responsabilidade do fabricante;
- Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização do kit de acordo com os procedimentos de cada Laboratório;
- O Manual de Instrução e Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS devem ser seguidos, caso contrário, o fabricante não se responsabiliza pelos resultados obtidos;
- O Kit NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA Bio-Manguinhos somente pode ser processado na plataforma NAT de equipamentos por técnicos treinados e habilitados por Bio-Manguinhos.

8. PROCEDIMENTOS DE ENSAIO

8.1. Etapa: Formação do pool/single e extração de ácido nucléico das amostras biológicas

- 1) Seguir o passo-a-passo do **Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS** para garantir a performance esperada do ensaio;
- 2) Utilizar o protocolo **Pooling_extracao NAT Plus**;
- 3) O protocolo somente seguirá se o lote do kit estiver dentro da validade;
- 4) Verificar se os tubos primários K2 EDTA (com gel de poliéster) contêm volume suficiente de plasma (mínimo de 2 mL) para a análise;
- 5) A amostra não deve ser processada se apresentar vestígio de coágulo;
- 6) Inserir, no protocolo, a quantidade de amostras que serão processadas em *pool* e em *single*;
- 7) Seguir o mapa de amostras para montagem dos tubos primários nas estantes em cada carregada;
- 8) Retirar as tampas e colocar todos os tubos primários que serão processados nas estantes do equipamento, de forma a deixar as etiquetas de códigos de barras voltadas para a janela de leitura;

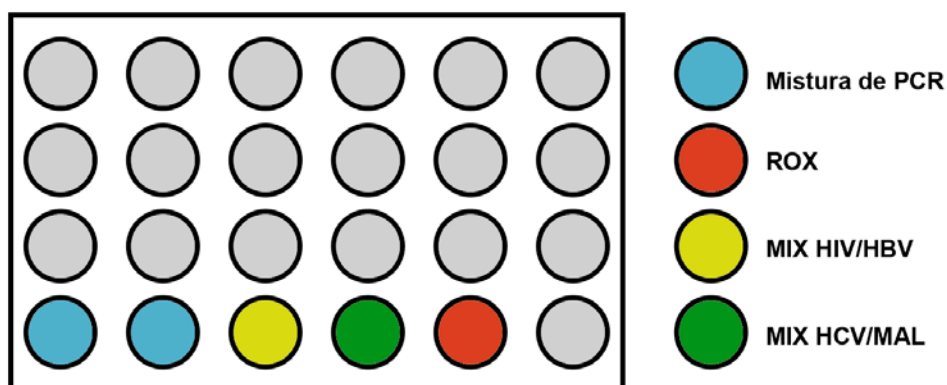
- 9) Encaixar corretamente os tubos primários nas estantes para evitar colisões com o braço robótico do equipamento;
- 10) Seguir as informações contidas nos frascos dos reagentes proteinase K e poli(A), para ressuspender adequadamente o material liofilizado;
- 11) No início da penúltima carregada de tubos primários, retirar do freezer -70 °C, os tubos de Controle Interno, Controle Positivo e Controle Negativo. Aguardar o descongelamento dos mesmos à temperatura ambiente;
- 12) Os insumos tampão de eluição, proteinase k, poli(A) RNA, partículas magnéticas, controles interno, positivo e negativo somente devem ser colocados no equipamento, no início da última carregada de tubos primários;
- 13) Após o término da extração, prosseguir para etapa de *PCR Setup* ou armazenar a placa de eluição no freezer -80 °C a -60 °C por até 48 horas;
- 14) Proceda a limpeza do equipamento conforme **Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS**.

Preparo de reagentes:

REAGENTE	PROCEDIMENTO
Proteinase K	Adicionar 2,5 mL de água livre de RNase ao frasco contendo a proteinase K liofilizada.
Poli(A) RNA	Reconstituir a Poli(A) RNA com 922 µL de tampão de Poli(A) RNA. Homogeneizar vagarosamente, com auxílio da pipeta 3 vezes, sem formar bolhas.
Partículas Magnéticas	Antes de posicionar o tubo contendo as partículas magnéticas no equipamento Janus, deve-se homogeneizar bem (vertendo) até que as partículas se soltem completamente do fundo do frasco.

8.2. Etapa: amplificação e detecção do ácido nucléico por PCR em tempo real

- 1) Para a realização do *PCR Setup* utilizar o equipamento *Chemagic Prime* parte do Janus;
- 2) Seguir o passo-a-passo do **Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS** para garantir a performance esperada do ensaio;
- 3) Utilizar o protocolo **PCR Setup NAT PLUS**;
- 4) O protocolo somente seguirá se o lote do kit estiver dentro da validade;
- 5) Ligar o *inheco* e esperar chegar a temperatura de 6 °C (± 2 °C);
- 6) Posicionar os tubos dos insumos do módulo de amplificação conforme desenho;



- 7) Caso a placa de eluição tenha sido congelada, certifica-se que está completamente descongelada antes de começar o protocolo;
- 8) Após o término do protocolo de *PCR Setup*, vedar a placa óptica com o selo óptico;
- 9) Agitar em *vortex* (**4 minutos a 1600 - 2000rpm**) a placa óptica selada e centrifugá-la;
- 10) Ligar o equipamento *Quant Studio Dx* no início do protocolo de *PCR Setup*;
- 11) Utilizar o *template NAT PLUS*;
- 12) Salvar, no campo *Experiment Name*, o código de barras da placa óptica correspondente a rotina;

13) Salvar a corrida na pasta **NAT PLUS**;

14) Posicionar a placa, corretamente, no equipamento *Quant Studio Dx*. A posição A1 da placa se localiza no canto superior esquerdo do equipamento;

15) Após o término da corrida, exportar o arquivo *.txt para a pasta **NATPLUS_resultados**;

16) Proceda a limpeza do equipamento conforme **Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS**;

17) Não retirar o selo óptico da placa óptica para evitar contaminação por *amplicon*;

8.3. Etapa: Processamento de dados e Resultados

1) Para a consolidação dos dados da rotina utilizar o software **BioLaudos** instalado no computador do equipamento *Chemagic Prime*;

2) Seguir o passo-a-passo do **Manual de Instruções da Plataforma NAT PLUS** para garantir a geração correta do laudo;

3) Para gerar o laudo é necessário que tenha sido utilizado um Kit NAT Plus na validade.

9. ESPECIFICIDADES PARA AMOSTRA SANGUÍNEA DE DOADOR FALECIDO EM PARADA CARDIORRESPIRATÓRIA

9.1 Informações para coleta, manuseio, preservação, e período pós morte durante o qual se pode efetuar coleta de amostras de sangue

- O cálculo de hemodiluição deve ser realizado quando o doador tiver recebido transfusão de sangue, componentes e/ou infusão de coloides dentro de 48 (quarenta e oito) horas e/ou cristaloides dentro de 1 (uma) hora antes da parada cardiorrespiratória, ou da coleta da amostra de sangue, o que ocorrer primeiro;

- A amostra sanguínea do doador deverá ser coletada em até 6 horas (se o corpo do doador não for mantido sob refrigeração) ou em até 12 horas (se o corpo do doador tiver sido mantido em refrigeração de 2 °C a 8 °C);

- A amostra sanguínea do doador deve ser acondicionada e mantida em temperatura adequada de forma a preservar a sua integridade e estabilidade;

- Após a coleta, homogeneizar a amostra por inversão;

- Pode ser utilizada amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória provenientes, preferencialmente, de tubo contendo anticoagulante K2 EDTA e gel de poliéster para separação de plasma e fração celular do sangue total, tubo de anticoagulante EDTA e tubo de soro;

- Não utilizar tubos de coleta reciclados;

- Não congelar o tubo após a coleta devido a possibilidade do gel se desprender e alterar a carga viral da amostra;

- Não utilizar tubos com anticoagulante heparina;

- Recomenda-se, após a centrifugação, conservar as amostras refrigeradas entre 2 °C e 8 °C;

- A temperatura do espaço físico destinado ao teste deve ser monitorada e mantida entre 15 °C e 25 °C; e

- O sangue total coletado em locais diferentes daqueles em que será processado, deverá ser transportado à temperatura de 1 °C a 10 °C.

9.2 Preparação e Diluição da amostra sanguínea de doador falecido em parada cardiorrespiratória

1) Centrifugar o tubo de coleta contendo amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória à 1100 RFC ou G (em uma centrífuga com 100 mm de raio, corresponde a 3134 rpm) por 10 minutos em temperatura ambiente (mesmo que já tenha sido centrifugado);

2) Os itens necessários para diluição da amostra sanguínea de doador falecido em parada cardiorrespiratória são fornecidos por Bio-Manguinhos;

3) Antes da realização da etapa 8.1, a amostra deve ser diluída 1:3, manualmente, para isso:

a. Pipetar, no tubo de 5 mL devidamente rotulado, o volume de 1500 µL do diluente para amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória;

b. Após, adicionar 750 µL de amostra de doador falecido em parada cardiorrespiratória no tubo de 5 mL contendo o diluente;

c. Homogeneizar o conteúdo pipetando (~500 µL) para cima e para baixo por pelo menos 6 vezes, evitando formação de bolhas;

4) A amostra sanguínea de doador falecido em parada cardiorrespiratória deve ser processada em *single* na rotina.

10. OBTENÇÃO DOS RESULTADOS

10.1 Interpretação dos Controles do Kit

- **Controle negativo:** para a rotina ser considerada válida, pelo menos um dos dois controles negativo da reação HIV/HBV deve ser válido. E, também, pelo menos um dos dois controles negativo da reação HCV/MAL deve ser válido. O resultado é considerado válido (OK) quando nenhum dos alvos HIV, HBV, HCV e MAL é detectado. Se o resultado for inválido (não OK) para pelo menos uma das reações, deve-se repetir a rotina;

- **Controle positivo:** para a rotina ser considerada válida, pelos menos um dos dois controles positivo HIV/HBV da reação HIV/HBV deve ser válido (OK). E, também, pelos menos um dos dois controles positivo HCV/MAL da reação HCV/MAL deve ser válido. Se o resultado for inválido (não OK) para pelo menos uma das reações, deve-se repetir a rotina;

- **Controle interno:** quando o resultado da(s) amostra(s) for negativo para os alvos HIV, HBV, HCV e MAL, analisa-se se o valor do CI está dentro da faixa esperada. Se o CI for inválido (não OK), a(s) amostra(s) deve(m) ser repetida(s) em uma próxima rotina.

10.2 Interpretação dos Resultados

PARÂMETRO DE AVALIAÇÃO	PROCEDIMENTOS
Volume OK	As amostras seguirão o fluxo de análise para liberação dos resultados da(s) amostra(s).
Volume não OK	Repetir amostra(s). Se confirmar o resultado, acionar a assistência técnica de BM relatando o fato.
Amostra Não Detectável/Controle Interno OK	Liberar amostra(s).
Amostra Não Detectável/Controle Interno não OK	Repetir amostra(s) em <i>pool</i> ou <i>single</i> na próxima rotina. Se confirmar o resultado, acionar a assistência técnica de BM relatando o fato.
Amostra Detectável/ CI não é avaliado	Se em <i>pool</i> , repetir amostras em <i>single</i> na próxima rotina. Se em <i>single</i> , descartar amostra.

11. USUÁRIO PRETENDIDO

Profissional técnico capacitado para o processamento de amostras clínicas, utilização de insumos/kit e equipamentos necessários para o diagnóstico molecular, com base na tecnologia de PCR em Tempo Real.

É importante que somente a equipe técnica capacitada para processar o Kit NAT PLUS HIV/ HBV/HCV/MALÁRIA Bio-Manguinhos e outros colaboradores autorizados pela chefia do laboratório tenham acesso à sala de testes, evitando, assim, possíveis riscos de contaminação de amostra/rotina e a manipulação equivocada dos equipamentos.

12. LIMITAÇÕES DO ENSAIO

Não foram observadas interferências no resultado do teste na presença de amostras contendo EDTA, bilirrubina, lipídeos. Amostras hemolisadas, poderão impactar na qualidade da extração do ácido nucléico.

Não utilizar amostras coletadas em tubo contendo heparina devido a inibição da reação de PCR.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

13.1 Especificidade analítica e clínica

Não houve reação cruzada quando analisadas amostras verdadeiras positivas para doença de Chagas, Sífilis, HTLV, Zika vírus, Chikungunya e Dengue.

O kit NAT PLUS HIV/HBV/HCV/MALÁRIA apresentou especificidade analítica de 100% e especificidade clínica de 99,9%.

A detecção de genótipos virais de HIV, HBV e HCV foi determinada através de testes utilizando painéis internacionais: para HIV-1 foram detectados os genótipos do Grupo M (A, B, C, D, EA, F, G e AA-GH), Grupo N e o Grupo O utilizando o painel 12/224 (NIBSC); para HBV, utilizando o painel 5086/08 (Paul-Ehrlich-Institut/WHO), foram detectados os genótipos de A a G e para HCV foram detectados os genótipos de 1 a 6 utilizando painel PHW202 (Seracare).

A região genômica utilizada para detecção do *Plasmodium spp.* apresenta um alto grau de conservação, sendo possível detectar as cinco espécies do gênero: *P.falciparum*, *P.vivax*, *P.ovale*, *P.malariae* e *P. knowlesi*.

Doadores de sangue/hemoderivados vivos

13.2 Sensibilidade clínica e analítica

O teste é capaz de detectar, na reação, 50 cópias/mL para HIV; 40 UI/mL para HBV; 50 UI/mL para HCV e 200 cópias/mL para *Plasmodium spp.*

A análise PROBIT (IBM SPSS Statistics Subscription) considerando taxa de 95% de positividade e intervalo de confiança (IC) de 95%, apresentou sensibilidade estimada em 36,43 cópias/mL para HIV, 14,81 UI/mL para HBV, 20,19 UI/mL para HCV quando avaliadas amostras clínicas e 39,77 cópias/mL* para *Plasmodium spp.* quando avaliada amostra de cultura.

A análise PROBIT (IBM SPSS Statistics Subscription), considerando taxa de 95% de positividade e IC 95%, apresentou sensibilidade estimada em 22,81 cópias/mL para HIV (97/650), 18,50 UI/mL para HBV (10/266) e 26,21 UI/mL para HCV (14/150) quando avaliados painéis Internacionais NIBSC.

*A quantificação da amostra foi realizada através da técnica de PCR digital. Sendo, os resultados obtidos aplicáveis somente a este kit e os números de cópias definidos por outros métodos não são necessariamente equivalentes.

13.3 Precisão

Para cálculo e avaliação da precisão do teste, foram obtidos os valores do coeficiente de variação (CV) de 2 diluições para cada um dos alvos HIV, HBV, HCV e Malária.

Mix HIV/HBV				Mix HCV/MAL			
	HIV (cópias/mL)		HBV (UI/mL)		HCV (UI/mL)		MAL (cópias/mL)
	1,01E+02	5,05E+01	4,13E+01	2,07E+01	9,70E+01	4,85E+01	2,50E+02
CV (%)	1,15	1,16	2,08	1,30	2,41	2,28	3,01

13.4 Exatidão

Para o cálculo e avaliação da exatidão do teste, foram obtidos os valores de Erro Padrão Relativo (ERP %) de -2,94 para HIV, -3,56 para HBV, 0,14 para HCV e -2,78 para MALÁRIA.

Doadores falecidos em parada cardiorrespiratória

13.5 Sensibilidade clínica e analítica

O teste é capaz de detectar, na reação, 500 cópias/mL para HIV; 500 UI/mL para HBV; 500 UI/mL para HCV e 600 cópias/mL para *Plasmodium spp.*

A análise PROBIT (IBM SPSS Statistics Subscription) considerando taxa de 95% de positividade e intervalo de confiança (IC) de 95%, apresentou sensibilidade estimada em

113,79 cópias/mL para HIV, 150,85 UI/mL para HBV, 218,59 UI/mL para HCV e 249,07 cópias/mL para *Plasmodium spp.* quando avaliadas amostra **de doador falecido em parada cardiorrespiratória** verdadeiramente negativas e contaminadas (*spike*) com amostras clínicas para os alvos.

13.6 Precisão

Para cálculo e avaliação da precisão do teste, foram obtidos os valores de CV (%) de 2 diluições para cada um dos alvos HIV, HBV, HCV e Malária.

Mix HIV/HBV					Mix HCV/MAL			
	HIV (cópias/mL)		HBV (UI/mL)		HCV (UI/mL)		MAL (cópias/mL)	
	2,00E+02	1,00E+02	5,36E+01	2,68E+01	2,00E+02	1,00E+02	1,25E+02	6,25E+01
CV (%)	1,28	2,96	2,40	5,15	2,22	0,58	2,01	3,76

13.7 Exatidão

Para o cálculo e avaliação da exatidão do teste, foram obtidos os valores de ERP (%) de 0,29 para o mix HIV/HBV e 0,29 para o mix HCV/MAL.

14. RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

O controle interno e os controles negativo e positivo são biosseguros, pois não possuem capacidade replicativa *in vivo* (não infecciosos).

Ao manusear qualquer um dos reagentes observe as precauções necessárias. A qualidade dos resultados obtidos depende do cumprimento às boas práticas de laboratório tais como:

- O teste deve ser usado somente para monitoramento *in vitro* e USO PROFISSIONAL, de acordo com as instruções fornecidas no kit;
- Os reagentes contêm agentes irritantes e devem ser manipulados com cuidado.

Observar as recomendações em relação às medidas de segurança dos reagentes:

- Utilizar equipamento de proteção individual (EPI), tais como: luvas descartáveis (sem talco) e jaleco em todas as etapas do teste;
- É imprescindível que a sala onde o teste é realizado esteja completamente livre de caixas, sacos plásticos e qualquer outro material que possa acumular poeira e sujeira;
- Recomenda-se que não sejam colados papéis nas paredes e bancadas. Neste sentido, deve-se manter o menor volume possível de papéis no interior do laboratório;
- Os materiais como insumos ou acessórios devem ser guardados no interior de armários, quando possível, ou estocados fora do laboratório;
- A limpeza de superfícies, bancadas e equipamentos deve ser realizada antes e depois de cada rotina de processamento de amostras;
- O lixo deve ser recolhido diariamente.
- Após o uso, desprezar ponteiras, tubos, placas, reagentes, insumos/produtos no descarte de risco biológico;
- Os tubos com amostras deverão ser colocados em saco vermelho duplo (descarte de risco biológico) e encaminhados para um local apropriado para resíduos;
- Desprezar a placa óptica, após a amplificação e detecção em descarte não reciclável;
- Todas as sobras de reagentes deverão ser descartadas após a utilização de cada módulo do kit, de acordo com os procedimentos de cada laboratório;
- Não usar reagentes com a validade vencida;
- Nunca misturar componentes de lotes diferentes;
- O Manual de Instrução deve ser seguido, caso contrário, o fabricante não se responsabiliza pelos resultados obtidos;
- Os reagentes contêm agentes irritantes e devem ser manipulados com cuidado e não devem ser ingeridos;

- O tampão de ligação 2 contém etanol, ácido acético e perclorato de sódio que são inflamáveis;
- O tampão 3 contém perclorato de sódio e etanol que são inflamáveis;
- O tampão de lavagem 4 contém etanol que é inflamável;
- O tampão de lise 1 e tampão Poli(A) RNA contém tiocianato de guanidina que é nocivo em contato com a pele e por inalação;
- A proteinase K contém a enzima serino-protease isolada do fungo *Tritirachium album* que pode causar irritação na pele, nos olhos e nas vias respiratórias.

15. DESCARTE DO PRODUTO

Os resíduos gerados pelos equipamentos devem ser descartados de acordo com as normas de biossegurança de cada serviço de hemoterapia integrante da rede NAT.

16. TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Este produto foi desenvolvido por meio de procedimentos registrados e instalações em acordo com normas internas de Biossegurança e Boas Práticas de Laboratório. O fabricante garante a qualidade do kit mediante seu uso adequado, descrito nestas instruções de uso, bem como orientações dadas durante o treinamento fornecido ao usuário.

17. RAZÃO SOCIAL DO FABRICANTE E SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Registro MS **80142170056**

Responsável técnico: Edimilson Domingos da Silva, CRBio-2 RJ/ES nº: 21433-02

Fabricante Legal:

Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz

Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ

CNPJ 33.781.055/0001-35 – Indústria Brasileira

• Módulo de Extração

Unidade Fabril:

PerkinElmer chemagen Technologie GmbH

Arnold-Sommerfeld-Ring 2 | 52499 Baesweiler, Alemanha

VAT No. 01 DE813 352 295

• Módulo de Controle e Módulo de Amplificação

Unidade Fabril:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos

Av. Brasil, 4365 – Manguinhos – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro- RJ

CNPJ: 33.781.055/0015-30 – Indústria Brasileira

Orientações técnicas adicionais a respeito deste produto poderão ser obtidas junto a:

Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio- Manguinhos/ FIOCRUZ

CNPJ 33.781.055/0001-35

Av. Brasil, 4365 – CEP: 21040-900 – Rio de Janeiro – RJ

SAC: 08000.210.310 ou nat@bio.fiocruz.br

Para versão impressa deste manual, entre em contato com o SAC.

VENDA PROIBIDA AO COMÉRCIO