

artus[®] VZV LC PCR Kit

Manual de Instruções

 24 (Catálogo Nr. 4502063)

 96 (Catálogo Nr. 4502065)

Diagnóstico in vitro quantitativo

Para utilização com os equipamentos

LightCycler[®] 1.1/1.2/1.5 e LightCycler 2.0

Janeiro de 2015 – Versão 1



4502063,4502065



1046899PT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R3

MAT

1046899PT



artus VZV LC PCR Kit

Marcas registradas e indicações jurídicas

QIAGEN®, QIAamp®, *artus*®, BioRobot®, EZ1® (Grupo QIAGEN); *LightCycler*® (Roche Diagnostics).

Nomes registrados, marcas registradas, etc. usados neste documento não podem ser considerados como desprotegidos legalmente, mesmo que não estejam especificamente sinalizados como tal.

O *artus* VZV LC PCR Kit, o BioRobot® EZ1® DSP Workstation, e o EZ1 DSP Virus Kit e Card são instrumentos e kits de diagnóstico sinalizados com CE de acordo com as Diretrizes Europeias 98/79/CE sobre diagnóstico in vitro. Não estão disponíveis em todos os países.

Os kits QIAamp® são para o uso geral em laboratório. As indicações ou as representações do produto não foram elaboradas para fornecer informações sobre a diagnose, a prevenção ou a terapia de uma doença.

A aquisição de kits de PCR *artus* contém uma licença limitada para o uso dos mesmos na execução do processo de reacção em cadeia da polimerase (PCR) em diagnósticos in vitro humanos e veterinários em conjugação com um ciclador térmico, cujo uso na execução automática do processo de PCR é coberto pela taxa de licença inicial, ou por pagamento à Applied Biosystems ou por aquisição de um ciclador térmico autorizado. O processo de PCR é protegido pelos respectivos direitos nacionais de protecção de patentes dos E.U.A. número: 5.219.727 e 5.322.770 e 5.210.015 e 5.176.995 e 6.040.166 e 6.197.563 e 5.994.056 e 6.171.785 e 5.487.972 e 5.804.375 e 5.407.800 e 5.310.652 e 5.994.056; Propriedade da Firma Hoffmann-La Roche Ltda.

© 2007-2014 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Índice

1. Conteúdo	5
2. Conservação.....	5
3. Materiais e aparelhos necessários adicionalmente.....	6
4. Medidas gerais de segurança.....	6
5. Informações acerca do agente patogénico	7
6. Princípio da PCR em Tempo Real (Real-Time PCR).....	7
7. Descrição do produto	7
8. Protocolo	8
8.1 Isolamento de ADN.....	8
8.2 Controlo interno	11
8.3 Quantificação.....	12
8.4 Preparação da PCR.....	14
8.5 Programação dos equipamentos <i>LightCycler</i>	18
9. Análise dos dados.....	24
9.1 Análise dos dados da PCR do equipamento.....	24
LightCycler 1.1/1.2/1.5.....	24
9.2 Análise dos dados da PCR do equipamento.....	27
LightCycler 2.0.....	27
10. Resolução de problemas	31
11. Especificações	33
11.1 Sensibilidade analítica	33
11.2 Especificidade	34
11.3 Precisão	35
11.4 Robustez	36

11.5 Reprodutibilidade.....	37
11.6 Avaliação diagnóstica.....	37
12. Indicações especiais sobre a utilização do produto.....	37
13. Informações de segurança	38
14. Controlo de qualidade.....	38
15. Referência bibliográfica.....	38
16. Descrição dos símbolos	39

artus VZV LC PCR Kit

Para utilização com o equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* ou *LightCycler 2.0*.

1. Conteúdo

	Legenda e Conteúdo	Nº Art. 4502063 24 Reacções	Nº Art. 4502065 96 Reacções
Azul	VZV LC Master	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Vermelho	VZV LC/TM QS 1 st 1 x 10 ⁴ cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Vermelho	VZV LC/TM QS 2 nd 1 x 10 ³ cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Vermelho	VZV LC/TM QS 3 rd 1 x 10 ² cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Vermelho	VZV LC/TM QS 4 th 1 x 10 ¹ cop/µl	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Verde	VZV LC IC st	1 x 1.000 µl	2 x 1.000 µl
Branco	Water (PCR grade)	1 x 1.000 µl	1 x 1.000 µl

st QS = Padrão de quantificação
IC = Controlo interno

2. Conservação

Os componentes do *artus VZV LC PCR Kit* são conservados entre -30 e -15 °C e devem ser utilizados antes do fim da data de validade indicada no rótulo. A repetida descongelação e congelação (> 2 x) deve ser evitada, porque, devido a isto, a sensibilidade poderá ser reduzida. No caso de utilização irregular, os reagentes devem, por isso, ser divididos em alíquotas. Se houver a necessidade de conservar os componentes a +4°C, não se deve ultrapassar um período de cinco horas.

3. Materiais e aparelhos necessários adicionalmente

- Luvas de laboratório isentas de pó
- Kit de isolamento de ADN (ver capítulo 8.1 Isolamento de ADN)
- Pipetas (reguláveis)
- Pontas de pipetas estéreis com filtros
- Misturador vórtex
- Centrífuga de bancada com rotor para tubos de reacção de 2 ml
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, Cat. N°: 2 158 850) para a criação de um arquivo *Crosstalk Color Compensation* para o equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* ou *LightCycler 2.0*
- *LightCycler Multicolor Demo Set* (Cat. N°: 03 624 854 001) para o equipamento *LightCycler 2.0*
- Capilares *LightCycler* (20 µl)
- *LightCycler Cooling Block*
- Equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* (versão 3.5 do software) ou *LightCycler 2.0* (versão 4.0 do software)
- *LightCycler Capping Tool*

4. Medidas gerais de segurança

O utilizador deve ter sempre em atenção o seguinte:

- Utilizar pontas de pipetas estéreis com filtros.
- Armazenar, purificar e acrescentar à reacção materiais positivos (amostras, controlos, produtos de amplificação) separados fisicamente dos restantes reagentes.
- Antes de iniciar o teste, descongelar totalmente todos os componentes à temperatura ambiente.
- Em seguida, misturar completamente e centrifugar brevemente os componentes.
- Trabalhar rapidamente em gelo ou no *LightCycler Cooling Block*.

5. Informações acerca do agente patogénico

O vírus Varicela-Zoster (VZV) é transmitido de pessoa para pessoa por gotículas ou por meio de contacto directo. A infecção por VZV provoca febre ligeira e mal-estar. Característico desta doença é o exantema polimórfico com pápulas, bolhas e crostas juntamente com forte prurido (varicela). Evoluções graves da infecção VZV são observadas frequentemente em pacientes com sistema imunológico fragilizado, resultando em complicações graves, como a pneumonia e encefalite. Após a infecção aguda, os agentes patogénicos persistem nos gânglios espinhais sensoriais e nos gânglios dos nervos cranianos. No caso de supressão da imunidade, podem provocar exacerbações (p. ex. herpes labiais, zona).

6. Princípio da PCR em Tempo Real (Real-Time PCR)

No diagnóstico por meio de reacção de polimerização em cadeia (PCR), são amplificadas regiões específicas do genoma do agente patogénico. A detecção do material amplificado efectua-se com a ajuda de corantes fluorescentes na PCR em Tempo Real. Estes estão acoplados geralmente a sondas oligonucleotídicas, que se ligam especificamente ao material amplificado pela PCR. A detecção das intensidades de fluorescência no decorrer da PCR em Tempo Real possibilita a detecção e a quantificação dos produtos, sem ter que se voltar a abrir os tubos das amostras depois de concluída a PCR (Mackay, 2004).

7. Descrição do produto

O *artus* VZV LC PCR Kit é um sistema pronto a utilizar para a detecção de ADN do VZV através da reacção de polimerização em cadeia (PCR) no Equipamento *LightCycler*. A *VZV LC Master* contém os reagentes e enzimas para a amplificação específica de uma região de 82 pb do genoma do VZV, assim como para a detecção directa do material amplificado com o equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* ou *LightCycler 2.0*. Ao mesmo tempo,

o *artus* VZV LC PCR Kit contém um segundo sistema heterólogo de amplificação para a comprovação de uma possível inibição da PCR.

Produto da PCR	Opção do canal de fluorescência	
	Equipamento <i>LightCycler</i> 1.1/1.2/1.5	Equipamento <i>LightCycler</i> 2.0 [®]
VZV	F1/F2	530/640
VZV LC IC	F3/Back-F1	705/Back 530

A amplificação e detecção destes *Controlos internos (IC)* não reduz o limite de detecção da PCR analítica do VZV (ver capítulo 11.1 **Sensibilidade analítica**). São fornecidos controlos positivos externos (*VZV LC/TM QS 1 - 4*), que permitem a determinação da carga de agente patogénico (ver capítulo 8.3 **Quantificação**).

Atenção: O perfil de temperatura para a detecção do ADN do vírus VZV com ajuda do *artus* VZV LC PCR Kit corresponde aos do *artus* HSV-1/2 LC CR Kit, do *artus* EBV LC PCR Kit e do *artus* CMV LC PCR Kit. Por esta razão, as reacções de PCR para esses sistemas *artus* podem ser realizadas e analisadas em um só ensaio. Tenha em atenção as instruções especiais para a análise nos capítulos 8.3 **Quantificação** e 9. **Análise dos Dados**.

8. Protocolo

8.1 Isolamento de ADN

Os kits de isolamento de ADN podem ser fornecidos por diversos fabricantes. Em função do protocolo do fabricante seleccionado, recolha a quantidade de amostra indicada para a purificação e efectue o isolamento de ADN conforme as instruções do fabricante. Os seguintes kits de isolamento são recomendados:

Material de Amostra	Kit de Purificação	Número de Catálogo	Fabricante	Carrier-ARN
Soro, plasma, LCR (líquido céfalo-raquidiano), raspagem	QIAamp UltraSens Virus Kit (50)	53 704	QIAGEN	contém
	QIAamp DNA Mini Kit (50)	51 304	QIAGEN	não contém
LCR (líquido cefaloraquidiano)	EZ1 DSP Virus Kit (48)*	62 724	QIAGEN	contém

*Para ser usado em combinação com o BioRobot EZ1 DSP Workstation (Cat. No. 9001360) e com o EZ1 DSP Virus Card (Cat. No. 9017707).

Nota importante para o uso do QIAamp UltraSens Virus Kit e do QIAamp DNA Mini Kit:

- A adição de **Carrier-ARN** é de grande importância para a eficiência e com isso para o rendimento do ADN/ARN. Caso o kit de isolamento utilizado não contenha Carrier-ARN, recomenda-se, imprescindivelmente, a adição de Carrier-ARN (RNA-Homopolymer Poly(A), Amersham Biosciences, Cat. No. 27-4110-01) para a extracção dos ácidos nucleicos de líquidos biológicos sem células ou de materiais com pequena quantidade de ADN/ARN (p. ex. líquido céfalo-raquidiano). Por favor, siga as seguintes instruções:
 - a) Para isso, ressuspenda o Carrier-ARN liofilizado em tampão de eluição (não em tampão de lise) do kit de isolamento (p. ex. tampão AE do QIAamp DNA Mini Kit) e crie uma diluição com uma concentração de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. De acordo com a quantidade exigida, divida a solução de Carrier-ARN em alíquotas que devem ser armazenadas a -20°C . Evite a repetida descongelação ($> 2 \times$) de uma alíquota de Carrier-ARN.
 - b) Por purificação, deve ser adicionado 1 μg de Carrier-ARN por 100 μl de tampão de lise. Se o protocolo de extracção prevê, por exemplo, 200 μl de tampão de lise por amostra purificada, então adicione 2 μl do Carrier-ARN (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) directamente ao tampão de lise. Antes de iniciar qualquer purificação, deve ser feita uma mistura nova de tampão de lise e Carrier-ARN (e se for o caso *Controlo interno*, ver

capítulo **8.2 Controlo interno**) de acordo com o seguinte esquema de pipetagem.

Número de amostras	1	12
Tampão de lise	p. ex. 200 μ l	p. ex. 2.400 μ l
Carrier-ARN (1 μ g/ μ l)	2 μ l	24 μ l
Volume Total	202 μl	2.424 μl
Volume para a purificação	200 μl	cada 200 μl

- c) Utilize a mistura de tampão de lise e Carrier-ARN para a purificação logo após a preparação. Não é possível conservar a mistura
- A adição de **Carrier-ARN** é de grande importância para a eficiência e, com isso, para o rendimento do ADN/ARN. Para obter uma estabilidade maior do Carrier-ARN QIAamp UltraSens Virus Kit fornecido, recomendamos o procedimento a seguir, diferente do indicado nas instruções do kit de isolamento:
 - a. Antes da primeira utilização do kit de isolamento, ressuspenda o Carrier-ARN liofilizado em 310 μ l de tampão AE ou AVE (tampão de eluição, concentração final 1 μ g/ μ l, não utilizar tampão de lise) e, de acordo com a quantidade exigida, divida esta solução de Carrier-ARN em alíquotas que devem ser armazenadas a -20°C. Evite a repetida descongelação (> 2 x) de uma alíquota de Carrier-ARN.
 - b. Antes de iniciar qualquer purificação, deve ser feita uma mistura nova de tampão de lise e Carrier-ARN (e, se for o caso Controlo interno, ver capítulo **8.2 Controlo interno**) de acordo com o seguinte esquema de pipetagem.

Número de amostras	1	12
Tampão de lise AC	800 μ l	9.600 μ l
Carrier-ARN (1 μ g/ μ l)	5,6 μ l	67,2 μ l
Volume Total	805,6 μl	9.667,2 μl
Volume para a purificação	800 μl	cada 800 μl

- c. Utilize a mistura de tampão de lise e Carrier-ARN para a purificação logo após a preparação. Não é possível conservar a mistura

- Através da utilização do **QIAamp UltraSens Virus Kit**, pode-se obter uma concentração da amostra. Se a amostra não se tratar de um soro ou de plasma, então adicione no mínimo 50 % (v/v) de plasma humano negativo à mesma.
- Nas purificações com tampões de lavagem que contêm **etanol**, efectuar sempre, antes da eluição, uma centrifugação adicional (três minutos, 13.000 rpm) para a eliminação dos resíduos de etanol. Isto evita possíveis inibições da PCR.
- O *artus* VZV LC PCR Kit não deverá ser utilizado em conjunto com procedimentos de purificação que utilizam **fenol** como base.

Nota importante para o uso do EZ1 DSP Virus Kit:

- O uso de **Carrier-ARN** é crítico para a extração eficiente e, conseqüentemente, para o rendimento AND/ARN. Por favor adicione a quantia apropriada de Carrier-ARN para cada extração de acordo com as instruções no manual *EZ1 DSP Virus Kit Handbook*.

Importante: O *Controlo interno* do *artus* VZV LC PCR Kit pode ser adicionado directamente na fase de purificação (ver capítulo **8.2 Controlo interno**).

8.2 Controlo interno

É fornecido um *Controlo interno* (VZV LC IC) com o qual se tem a possibilidade de controlar **não só a purificação do ADN como também uma possível inibição da PCR** (ver Fig. 1) Usando o **EZ1 DSP Virus Kit** para extração, o *Controlo interno* deve ser adicionado de acordo com as instruções no manual *EZ1 DSP Virus Kit Handbook*. Usando o **QIAamp UltraSens Virus Kit** ou o **QIAamp DNA Mini Kit**, adicione o *Controlo interno* numa relação de 0,1 µl por 1 µl do volume de eluição na purificação. Se utilizar, por exemplo, o **QIAamp DNA Mini Kit** e eluir o ADN em 200 µl de tampão AE, então adicionar 20 µl de *Controlo interno*. Se, p. ex., eluir em 100 µl, então adicionar respectivamente 10 µl. A quantidade de *Controlo interno* acrescentada depende **apenas** do volume de eluição. O *Controlo interno* e eventualmente o

Carrier-ARN (ver capítulo **8.1 Isolamento de ADN**) podem ser acrescentados apenas a

- uma mistura de tampão de lise e amostra ou
- directamente ao tampão de lise

O *Controlo interno* não pode ser adicionado directamente à amostra. Ter em atenção que a mistura do *Controlo interno* com o tampão de lise/Carrier-ARN deverá ser utilizada logo após ser preparada. A conservação da mistura à temperatura ambiente ou no frigorífico pode em poucas horas inactivar o *Controlo interno* e diminuir a eficiência da purificação. **Não** pipetar o *Controlo interno* e o Carrier-ARN directamente na amostra.

O *Controlo interno* pode ser utilizado, opcionalmente, **exclusivamente para o controlo de uma possível inibição da PCR** (ver Fig. 2). Para isso adicione, para cada preparação, 0,5 µl de *Controlo interno* directamente a 15 µl de VZV LC Master. Utilize para cada reacção de PCR 15 µl da Master Mix* desta forma produzida e adicione, em seguida, 5 µl de amostra purificada. Se tiver que preparar um ensaio com várias amostras, então aumente as quantidades necessárias de VZV LC Master e de *Controlo interno* proporcionalmente ao número de amostras (ver capítulo **8.4 Preparação da PCR**).

O *artus HSV-1/2 LC PCR Kit* e o *artus VZV LC PCR Kit* possuem um *Controle Interno (IC)* idêntico. O *artus EBV LC PCR Kit* e o *artus CMV LC PCR Kit* também possuem um *Controle Interno* idêntico.

8.3 Quantificação

Os Padrões de quantificação fornecidos (VZV LC/TM QS 1 - 4) são tratados como uma amostra purificada e utilizados com o mesmo volume (5 µl). Para criar uma curva padrão no *LightCycler Instrument*, utilize todos os quatro *Padrões de quantificação* fornecidos da seguinte forma:

* O aumento de volume causado através da adição do *Controlo interno* é desprezável na preparação da reacção de PCR. A sensibilidade do sistema de detecção não é afectada.

Equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5*

Defina os VZV LC/TM QS 1 - 4 no *Sample Loading Screen* como padrões e introduza as concentrações indicadas (ver *LightCycler Operator's Manual*, Versão 3.5, Chapter B, 2.4. Sample Data Entry).

Equipamento *LightCycler 2.0*

Para a definição dos padrões, active a função *Analysis Type* na janela *Samples* do menu e seleccione o ítem *Absolute Quantification*. Agora os VZV LC/TM QS 1 - 4 podem ser definidos como padrões e as concentrações correspondentes adicionadas (ver *LightCycler Operator's Manual*, Versão 4.0, Chapter 2.2 Entering Sample Information). Ter em atenção que a função *Enable Controls* **não** deverá ser activada, pois isto leva a limitações na selecção das opções da análise de dados (ver capítulo **9.2 Análise dos dados da PCR do equipamento *LightCycler 2.0***).

Esta curva padrão pode ser utilizada também para as próximas quantificações se, durante o ensaio actual, for introduzido no mínimo um padrão de **uma** concentração definida. Para isso, é necessário importar a curva padrão previamente criada (ver *LightCycler Operator's Manual*, Versão 3.5, Chapter B, 4.2.5. Quantification with an External Standard Curve ou Versão 4.0, Chapter 4.2.2 Saving a Standard Curve). Porém, nesta forma de quantificação, tem que ser levado em consideração que, devido à variabilidade entre os ensaios de PCR, podem ocorrer desvios nos resultados.

Caso tenha sido integrado mais do que um sistema Herpes-artus no seu ensaio de PCR, então certifique-se de que cada um seja analisado com o respectivo Padrão de quantificação separadamente.

Atenção: Os Padrões de quantificação são definidos em cópias/ μ l. Para a conversão dos valores apurados com base na curva padrão em cópias/ml de amostra, deve-se utilizar a seguinte fórmula:

$$\text{Resultado (cópias/ml)} = \frac{\text{Resultado (cópias/\mu l)} \times \text{Volume de eluição (\mu l)}}{\text{Volume de amostra (ml)}}$$

Ter em atenção que sempre deverá ser introduzido na fórmula o volume inicial. Isto deve ser considerado quando o volume da amostra for alterado antes da purificação dos ácidos nucleicos (p. ex.: redução através da centrifugação ou aumento através do complemento do volume recomendado para a purificação).

Importante: Para a simplificação da avaliação quantitativa de sistemas *artus* no equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* ou *LightCycler 2.0* existe em www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX um guia (Technical Note for quantitation on the *LightCycler 1.1/1.2/1.5* or *LightCycler 2.0* Instrument).

8.4 Preparação da PCR

Certifique-se de que o Cooling Block com o adaptador nele contido (acessório do *LightCycler* Instrument) tenha sido pré-refrigerado a aproximadamente +4°C. Coloque para as reacções planeadas a quantidade necessária de capilares *LightCycler* no adaptador do Cooling Block. Certifique-se de que sejam introduzidos, por ensaio de PCR, no mínimo um *Padrão de quantificação*, assim como um controlo negativo (*Water, PCR grade*). Para a criação de uma curva padrão, por favor utilizar, por ensaio de PCR, todos os Padrões de quantificação fornecidos (*VZV LC/TM QS 1 - 4*). Todos os reagentes devem ser totalmente descongelados à temperatura ambiente, bem misturados (pipetando para cima e para baixo várias vezes ou misturando brevemente no vórtex) e em seguida centrifugados antes do início do teste.

Se desejar controlar, com o *Controlo interno*, **não só a purificação do ADN como também uma possível inibição da PCR**, o *Controlo interno* já deverá ter sido introduzido previamente na fase de purificação (ver capítulo

8.2 Controlo interno). Neste caso, utilize o seguinte esquema de pipetagem (ver também o esquema reproduzido na Fig. 1):

	Quantidade de Amostras	1	12
1. Preparação da Master Mix	VZV LC Master	15 μ l	180 μ l
	VZV LC IC	0 μ l	0 μ l
	Volume Total	15 μl	180 μl
2. Preparação da Reacção de PCR	Master Mix	15 μ l	cada 15 μ l
	Amostra	5 μ l	cada 5 μ l
	Volume Total	20 μl	cada 20 μl

Se desejar utilizar o *Controlo interno exclusivamente para o controlo de uma inibição da PCR*, então adicione-o directamente ao VZV LC Master. Neste caso, utilize o seguinte esquema de pipetagem (ver também o esquema reproduzido na Fig. 2):

	Quantidade de Amostras	1	12
1. Preparação da Master Mix	VZV LC Master	15 μ l	180 μ l
	VZV LC IC	0,5 μ l	6 μ l
	Volume Total	15,5 μl*	186 μl*
2. Preparação da Reacção de PCR	Master Mix	15 μ l*	cada 15 μ l*
	Amostra	5 μ l	cada 5 μ l
	Volume Total	20 μl	cada 20 μl

Pipete para o reservatório de plástico de cada capilar 15 μ l do Master Mix. Em seguida, adicione 5 μ l de eluído do isolamento de ADN. De forma correspondente, devem ser colocados, como controlo positivo, 5 μ l de pelo menos um dos Padrões de quantificação (VZV LC/TM QS 1 - 4) e, como controlo negativo, 5 μ l de água (*Water, PCR grade*). Tape os capilares. Para deslocar o volume preparado do reservatório de plástico para dentro dos capilares, centrifugue os adaptadores e os capilares nele contidos numa centrífuga de bancada durante dez segundos, no máximo a 400 x g (2.000 rpm).

* O aumento de volume causado através da adição de *Controlo interno* é desprezável na preparação da reacção de PCR. A sensibilidade do sistema de detecção não é afectada.

Adição do Controlo interno para a purificação

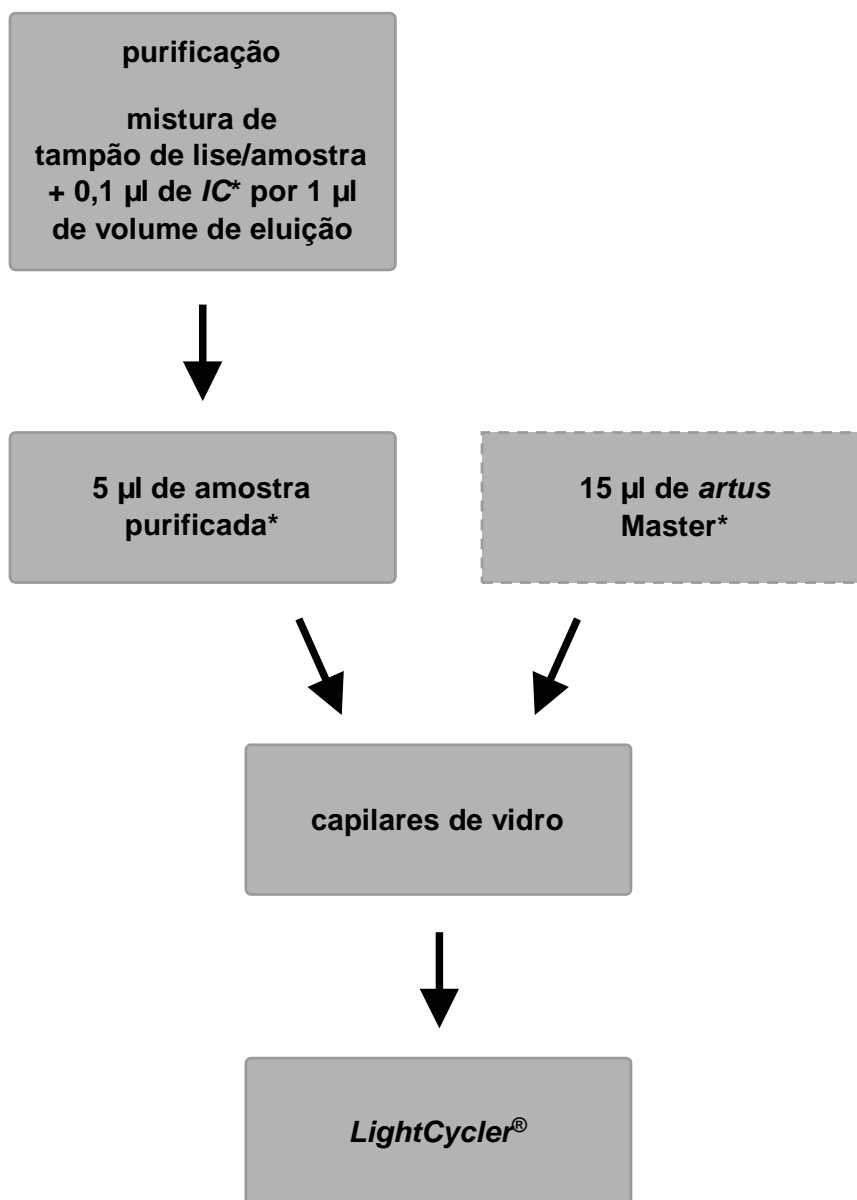


Fig. 1: Fluxo esquemático da operação para o controlo da purificação e da inibição da PCR.

*

Em cada passo de pipetagem, certifique-se, sempre, de que as soluções a serem utilizadas tenham sido totalmente descongeladas, bem misturadas e brevemente centrifugadas.

Adição do Controlo interno para o artus Master

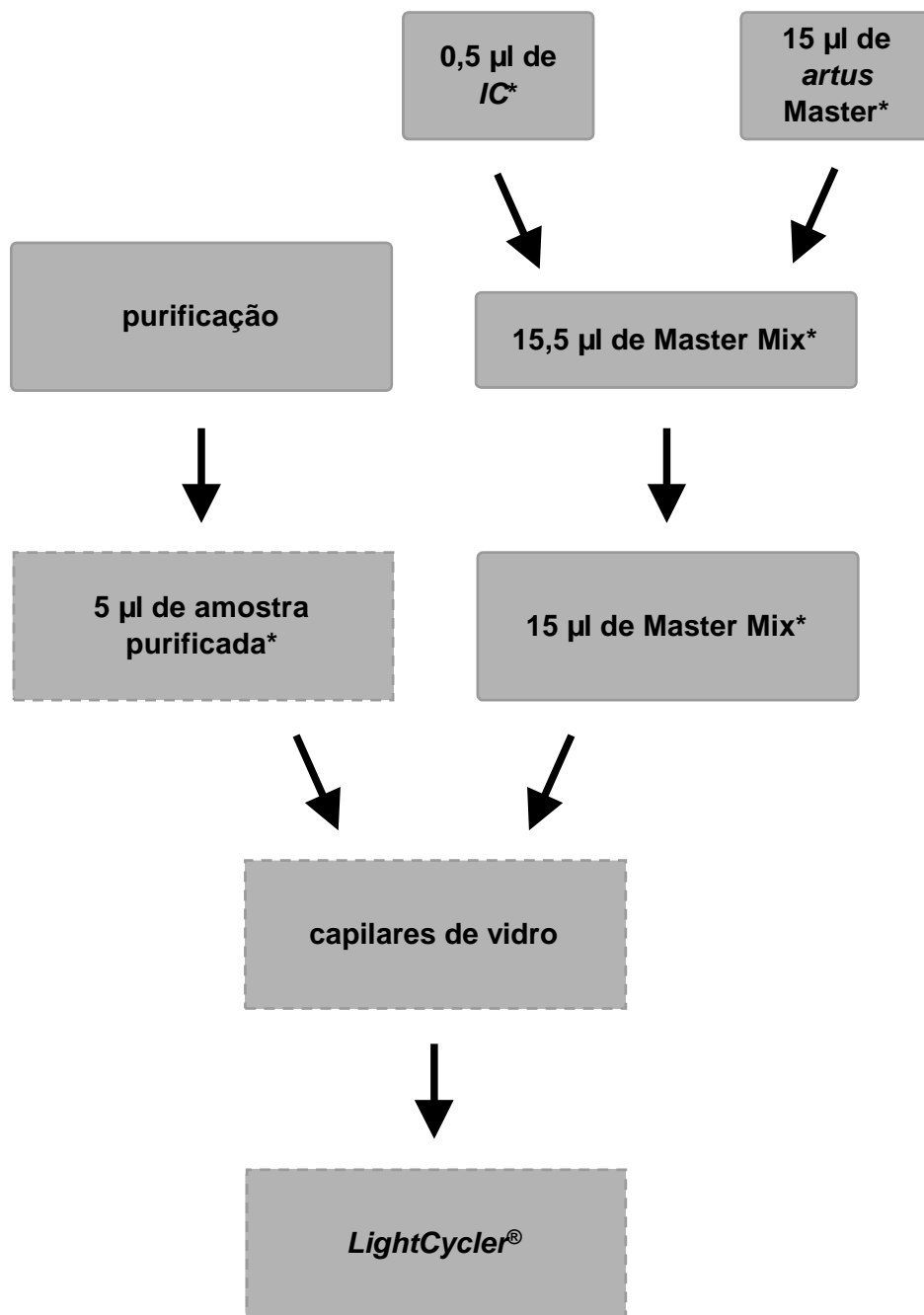


Fig. 2: Fluxo esquemático da operação para o controlo da inibição da PCR.

* Em cada passo de pipetagem, certifique-se, sempre, de que as soluções a serem utilizadas tenham sido totalmente descongeladas, bem misturadas e brevemente centrifugadas.

8.5 Programação dos equipamentos *LightCycler*

8.5.1 Programação do equipamento *LightCycler* 1.1/1.2/1.5

Para a detecção de ADN do VZV, crie no seu equipamento *LightCycler* 1.1/1.2/1.5 um perfil de temperatura com os seguintes cinco passos (conforme as Fig. 3 a 7).

- | | | |
|----|--|--------|
| A. | Activação inicial da enzima Hot Start | Fig. 3 |
| B. | Passo TouchDown | Fig. 4 |
| C. | Amplificação do ADN | Fig. 5 |
| D. | Curva de dissociação (opcional) | Fig. 6 |
| E. | Refrigeração | Fig. 7 |

Tenha especial atenção às configurações *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* e *Temperature Targets*. Estas configurações estão destacadas nas figuras com caixa a negro. As indicações sobre a programação do equipamento *LightCycler*® 1.1/1.2/1.5 encontram-se no *LightCycler Operator's Manual*. A criação do passo D. Curva de dissociação é **opcional**. Ela só é necessária para a diferenciação entre VHS-1 e VHS-2 na utilização simultânea com o *artus* HSV-1/2 LC PCR Kit.

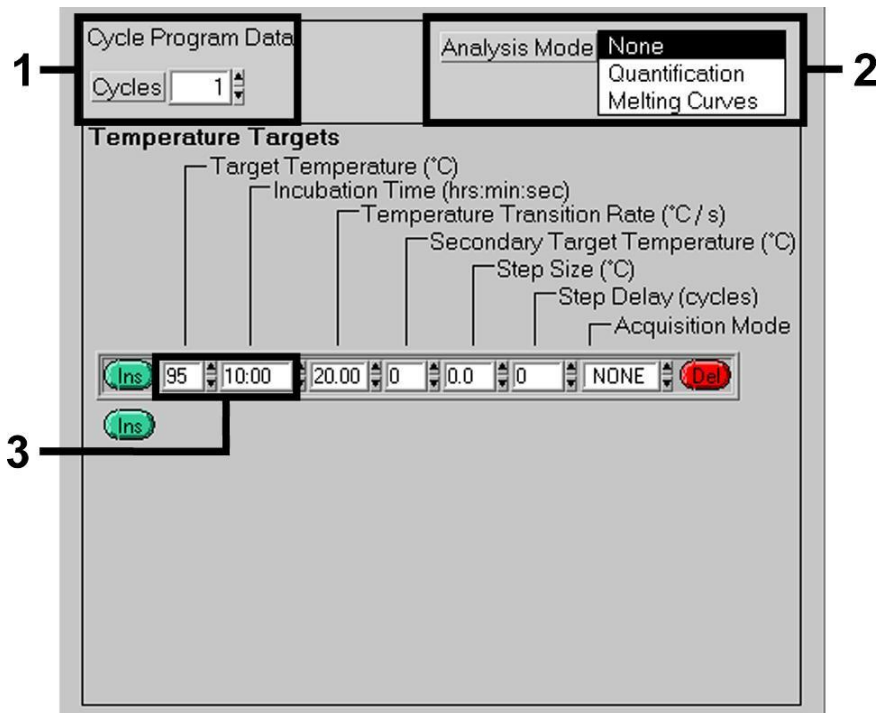


Fig. 3: Activação inicial da enzima Hot Start.

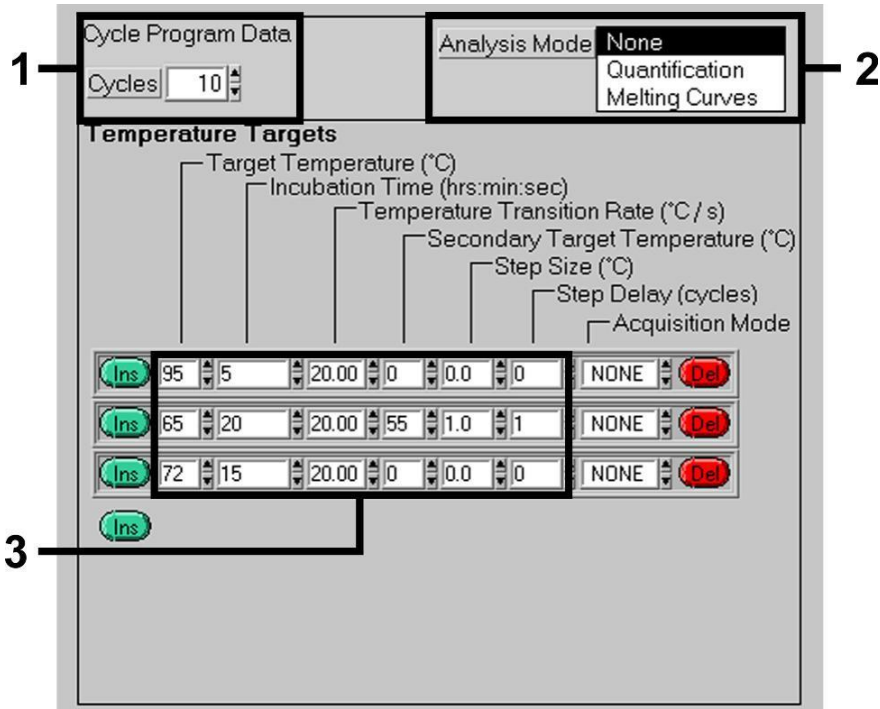


Fig. 4: Passo Touch Down.

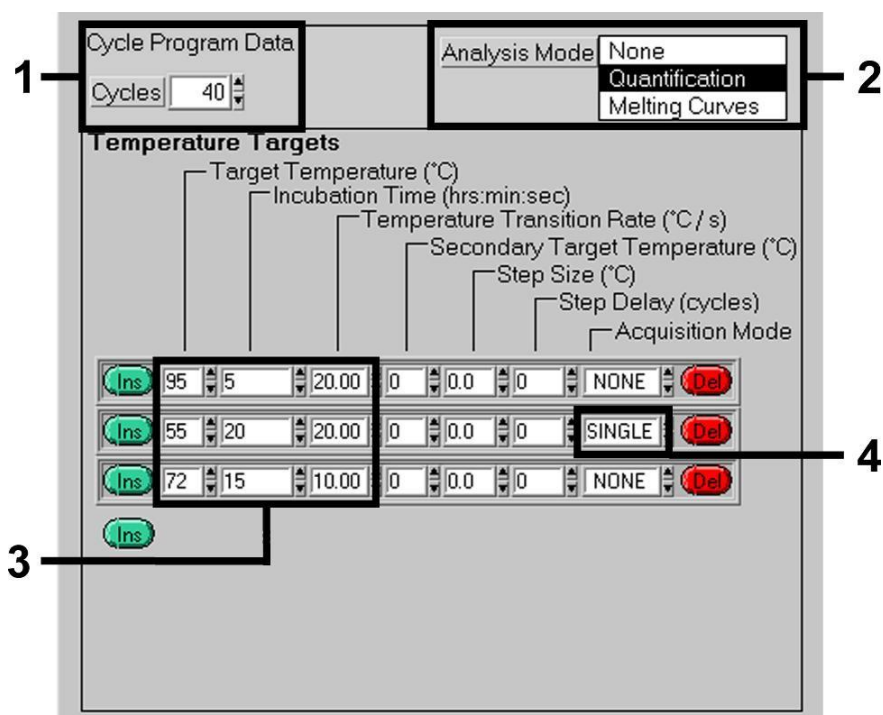


Fig. 5: Amplificação do ADN.

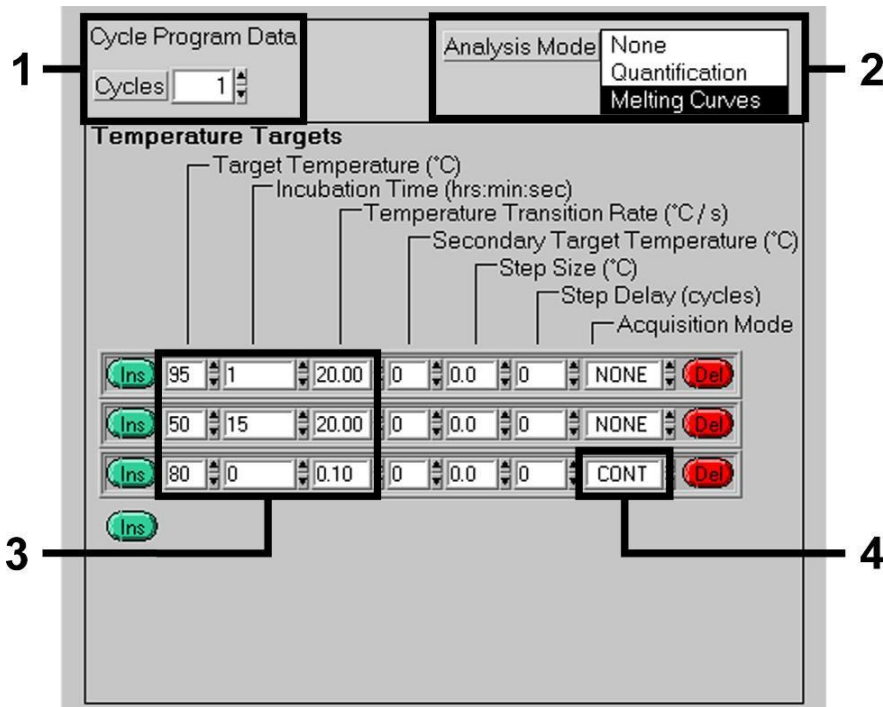


Fig. 6: Curva de dissociação.

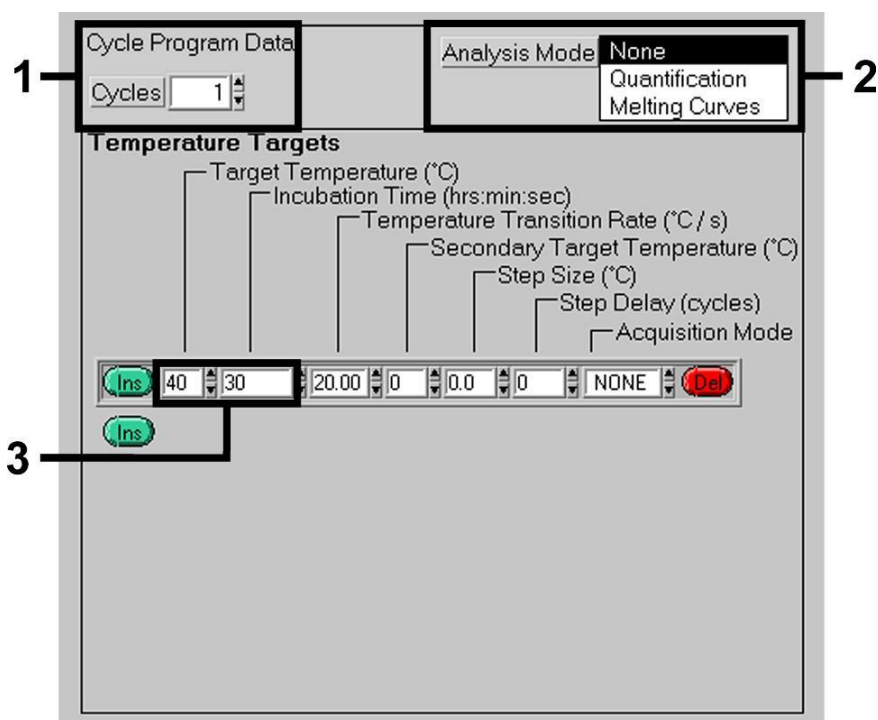


Fig. 7: Refrigeração.

8.5.2 Programação do equipamento *LightCycler 2.0*

Para a programação do ensaio de PCR com o equipamento *LightCycler 2.0*, activar a opção *New* do menu e seleccionar então o item *LightCycler Experiment*.

Logo a seguir, para a detecção de ADN do VVZ, crie no seu equipamento *LightCycler 2.0* um perfil de temperatura com os seguintes cinco passos (conforme a Tabela 1).

- A. Activação inicial da enzima Hot Start
- B. Passo Touch Down
- C. Amplificação do ADN
- D. Curva de dissociação (**opcional**)
- E. Refrigeração

A criação do passo D curva de dissociação é **opcional**. Ela só é necessária para a diferenciação entre VHS-1 e VHS-2 na utilização simultânea com o *artus HSV 1/2 LC PCR Kit*.

Certifique-se que antes seja introduzido o número de capilares preparados para este ensaio de PCR (Max. Seek Pos., ver Fig. 8).

Tabela 1: Criação do perfil de temperatura.

Program	Target [°C]	Hold [hh:mm:ss]	Ramp Rate [°C/s]	Sec Target	Step Size [°C]	Step Delay [cycles]	Acq. Mode	Cycles	Analysis Mode
Activação	95	00:10:00	20	0	0	0	None	1	None
Touch Down	95	00:00:05	20	0	0	0	None	10	None
	65	00:00:20	20	55	1	1	None		
	72	00:00:15	20	0	0	0	None		
Amplificação do ADN	95	00:00:05	20	0	0	0	None	40	Quantification
	55	00:00:20	20	0	0	0	Single		
	72	00:00:15	20	0	0	0	None		
Curva de dissociação	95	00:00:01	20	0	0	0	None	1	Melting Curve
	50	00:00:15	20	0	0	0	None		
	80	00:00:00	0,1	0	0	0	Cont.		
Refrigeração	40	00:00:30	20	0	0	0	None	1	None

Para introduzir as especificações das amostras activar o ítem *Samples*.

- Primeiro introduza na janela *Capillary View* o número total de reacções de PCR planeadas para o ensaio de PCR (*Sample Count*).
- Logo a seguir, coordene os nomes das amostras no *Sample Name*.
- Além disto, seleccione através do *Selected Channels* o canal de fluorescência 530 para a detecção da PCR analítica do VVZ e 705 para a detecção da PCR do *Controlo interno*.
- Para a definição dos padrões e para a coordenação das concentrações respectivas, seleccione na *Analysis Type* a opção *Absolute Quantification* (ver capítulo **8.3 Quantificação**).
- Ter em atenção que a função *Enable Controls* **não** deverá ser activada, pois isto leva a limitações na selecção das opções da análise de dados (senão o modo *Fit Points* não estará à disposição, ver **9.2 Análise dos dados da PCR do equipamento LightCycler 2.0**). Sob o ítem *Target Name*, podem ser coordenados os canais de fluorescência 530 e 705 seleccionados às sequências a detectar (VVZ ou *Controlo interno*). O preenchimento do campo *Target Name* pode ser facilitado através da

função *Auto Copy*... . A definição do *Target Name* serve para a obtenção de uma visualização melhor, mas não é obrigatoriamente necessária para a análise dos dados.

- Para a criação de uma curva padrão na análise dos dados, é necessário que os Padrões de quantificação sejam definidos com as respectivas concentrações. Para isto, seleccione sob o ítem *Sample Type* o ítem *Standard* e introduza a concentração correspondente sob *Concentration*.
- O perfil de temperatura programado pode ser salvo no disco rígido do computador para ser utilizado novamente em outros ensaios. Para isto, activar a função *Save As...* do menu *File*. Na janela aberta em seguida, seleccione o subítem *Run Templates* do *Templates and Macros* e salve nesta pasta os dados com um nome apropriado.
- Para iniciar o ensaio de PCR, mude para o ítem *Run* e active a função *Start Run* (ver Fig. 8). O programa da PCR é iniciado após a introdução do local destinado para salvar os dados.

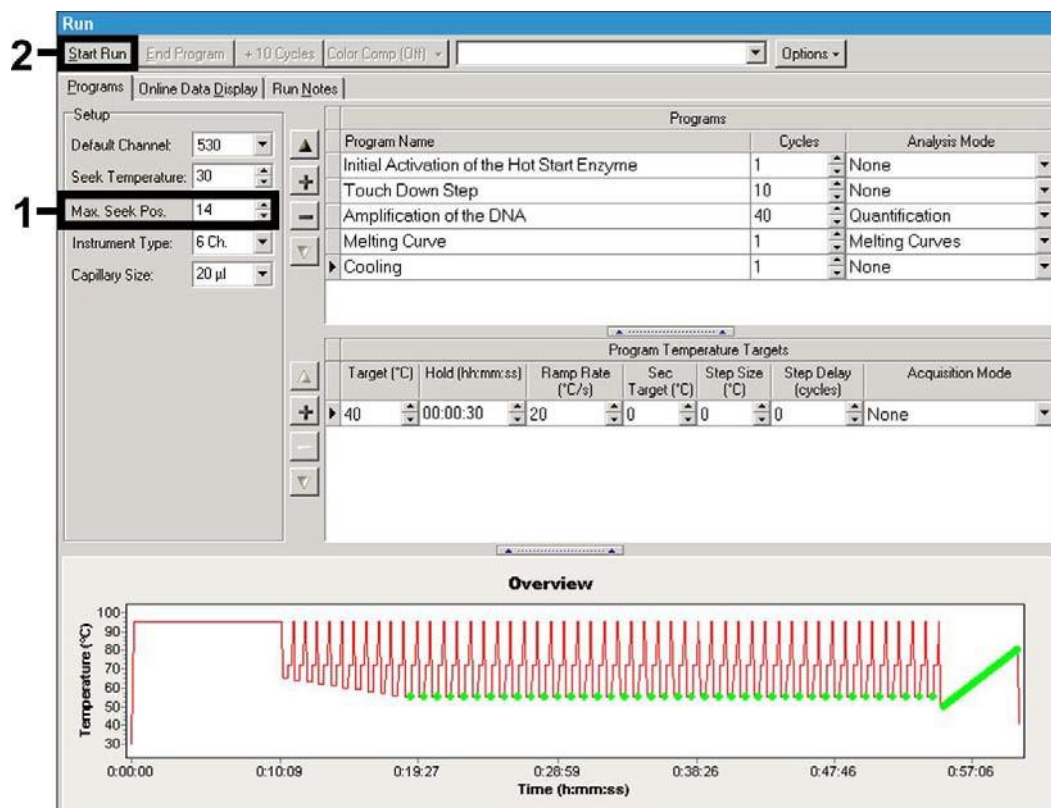


Fig. 8: Início do ensaio da PCR.

9. Análise dos dados

9.1 Análise dos dados da PCR do equipamento LightCycler 1.1/1.2/1.5

Recomendamos a utilização da versão 3.5 do Software *LightCycler* para a análise dos dados da PCR obtidos com o equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5*.

Nas análises multi-canal, ocorrem interferências entre os canais de fluorescência. O software do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* contém um arquivo indicado como *Color Compensation File* que compensa estas interferências. Abra este arquivo antes, durante o ensaio de PCR ou logo a seguir, através da activação do botão *Choose CCC File* ou *Select CC Data*. Se não estiver instalado nenhum *Color Compensation File*, crie o arquivo levando em consideração as instruções do *LightCycler Operator's Manual*. Após activação do *Color Compensation File*, aparecem nos canais de fluorescência F1, F2 e F3 sinais separados. Para a análise dos resultados da PCR que foram obtidos com o *artus VZV LC PCR Kit*, seleccione as funções de perspectiva F1/F2 para a PCR analítica do VVZ ou, respectivamente, F3/Back-F1 para a PCR do *Controlo interno*. Para a análise de ensaios quantitativos, tenha impreterivelmente em atenção o capítulo 0 **Quantificação**, assim como a **Technical Note for quantitation on the *LightCycler 1.1/1.2/1.5* or *LightCycler 2.0* Instrument** em www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX.

Caso tenha sido integrado mais do que um sistema *Herpes-artus* no seu ensaio de PCR, então certifique-se de que as amostras de VVZ sejam analisadas separadamente. Para isso, escolha as respectivas posições do rotor para a avaliação.

Os seguintes resultados podem ser obtidos:

1. É detectado um sinal no canal de fluorescência F1/F2.

O resultado da análise é positivo: A amostra contém ADN do VVZ.

Neste caso, a detecção de um sinal no canal F3/Back-F1 é secundária, pois elevadas concentrações iniciais de ADN do VVZ (sinal positivo no canal F1/F2) podem conduzir a uma redução ou até mesmo à ausência do sinal de fluorescência do *Controlo interno* no canal F3/Back-F1 (competição).

2. Não é detectado nenhum sinal no canal de fluorescência F1/F2, e é detectado um sinal no canal F3/Back-F1 (sinal do *Controlo interno*).

Na amostra, não é detectável nenhum ADN do VVZ, por isso ela pode ser considerada negativa.

No caso de PCR negativa do VVZ, o sinal de *Controlo interno* detectado exclui a possibilidade de uma inibição da PCR.

3. Nenhum sinal é detectado, nem no canal F1/F2 e nem no canal F3/Back-F1.

Não é possível fazer uma avaliação diagnóstica.

Indicações sobre fontes de erros e suas eliminações estão especificadas no capítulo **10. Resolução de Problemas**.

Exemplos de reacções de PCR positivas e negativas estão reproduzidos nas Fig. 9 e Fig. 10.

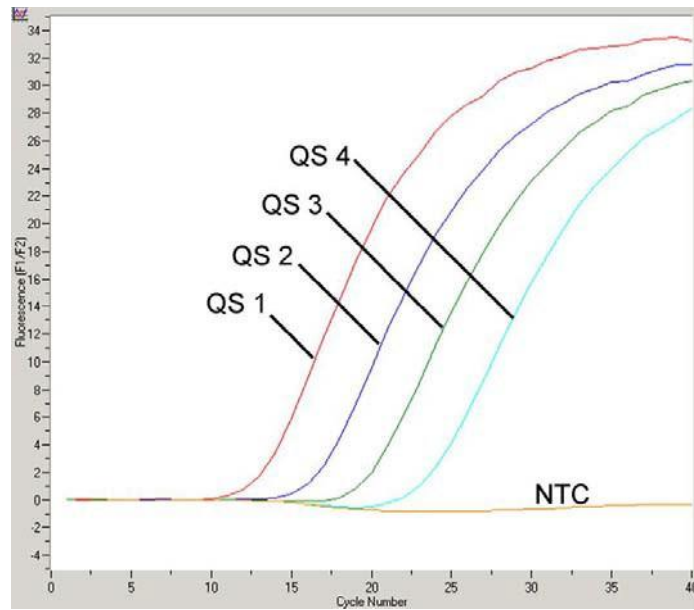


Fig. 9: Detecção dos Padrões de quantificação (VZV LC/TM QS 1 – 4) no canal de fluorescência F1/F2 do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5*. NTC: non-template control (controlo negativo).

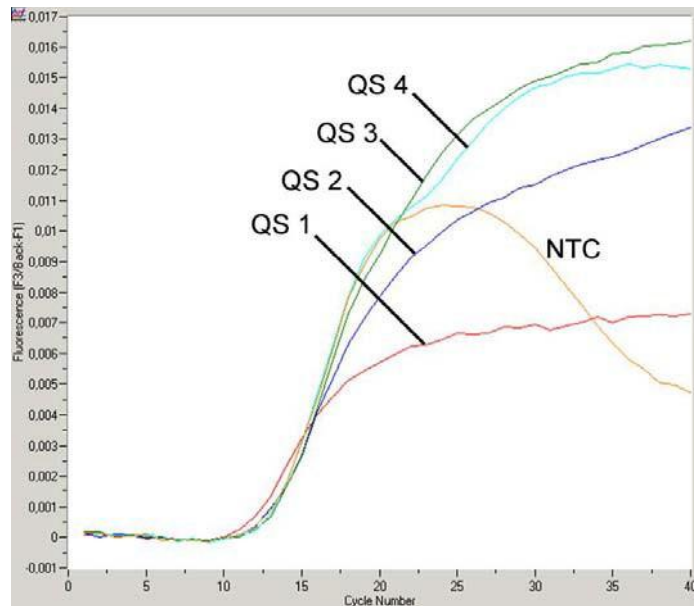


Fig. 10: Detecção do Controlo interno (IC) no canal de fluorescência F1/Back-F3 do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* no caso de amplificação simultânea dos Padrões de quantificação (VZV LC/TM QS 1 – 4) NTC: non-template control (controlo interno). Causadas por uma compensação limitada das interferências de fluorescência, aparecem sobreposições de sinais positivos do F1 nos sinais Controlo interno em F3. Por esta razão não é possível fazer uma avaliação do sinal Controlo interno (F3) para amostras e controlos fortemente positivos.

9.2 Análise dos dados da PCR do equipamento LightCycler 2.0

Utilize a versão 4.0 do Software *LightCycler* para a análise dos dados da PCR obtidos com o equipamento *LightCycler 2.0*. Considerar também as indicações contidas no *LightCycler 2.0 Instrument Operator's Manual Version 4.0*.

Siga o esquema seguinte para a análise dos dados da PCR (ver Fig. 11):

- Active a função *Analysis* no menu e selecione a opção *Absolute Quantification*, com a qual todos os dados de amplificação gerados com o *artus LC PCR Kit* deverão ser analisados.
- A versão 4.0 do software *LightCycler* contém um arquivo indicado como *Color Compensation File* que compensa as interferências dos sinais entre os canais de fluorescência. Abra este arquivo durante o ensaio de PCR ou logo a seguir através da activação do botão *Color Comp (On/Off)* e depois do *Select Color Compensation* (ver Fig. 11). Se não estiver instalado nenhum *Color Compensation File*, crie o arquivo levando em consideração as instruções do *LightCycler Operator's Manual*.
- Após activação do *Color Compensation File*, aparecem sinais separados em cada um dos canais de fluorescência. Para a análise dos resultados da PCR que foram obtidos com o *artus VZV LC PCR Kit*, selecione as funções de perspectiva 530/640 para a PCR analítica do VZV ou, respectivamente, 705/Back 530 para a PCR do *Controlo interno*.

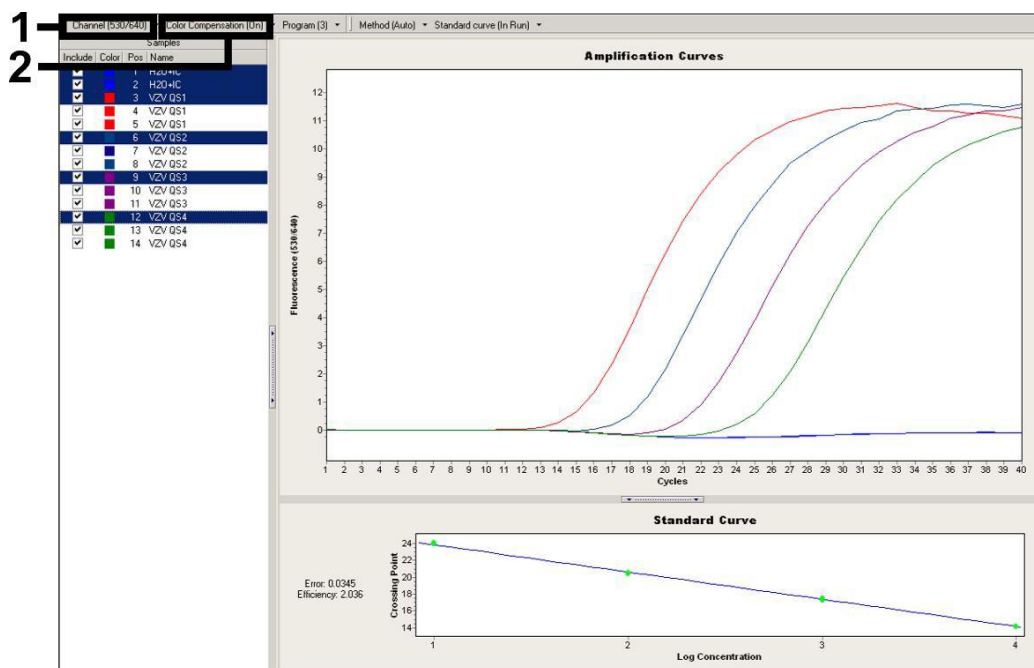


Fig. 11: Ativação do *Color Compensation File* e escolha do canal de fluorescência.

Para a análise de ensaios quantitativos, ter em atenção o capítulo **0 Quantificação**, assim como a **Technical Note for quantitation on the LightCycler 1.1/1.2/1.5 or LightCycler 2.0 Instrument** em www.qiagen.com/Products/ByLabFocus/MDX.

Depois de finalizadas as definições das opções de análise, podem ser obtidos os seguintes resultados:

1. É detectado um sinal no canal de fluorescência 530/640.

O resultado da análise é positivo: A amostra contém ADN do VZV.

Neste caso, a detecção de um sinal no canal 705/Back 530 é secundária, pois elevadas concentrações iniciais de ADN do VZV (sinal positivo no canal 530/640) podem conduzir a uma redução ou até mesmo à ausência do sinal de fluorescência do *Controlo interno* no canal 705/Back 530 (competição).

2. Não é detectado nenhum sinal no canal de fluorescência 530/640, e é detectado um sinal no canal 705/Back 530 (sinal do *Controlo interno*).

Na amostra, não é detectável nenhum ADN do VZV, por isso ela pode ser considerada negativa.

No caso de PCR negativa do VVZ, o sinal do *Controlo interno* detectado exclui a possibilidade de uma inibição da PCR.

3. Nenhum sinal é detectado, nem no canal 530/640 e nem no canal 705/Back 530.

Não é possível fazer uma avaliação diagnóstica.

Indicações sobre fontes de erros e suas eliminações estão especificadas no capítulo

10. Resolução de Problemas.

Exemplos de reacções de PCR positivas e negativas estão reproduzidos nas Fig. 12 e Fig. 13.

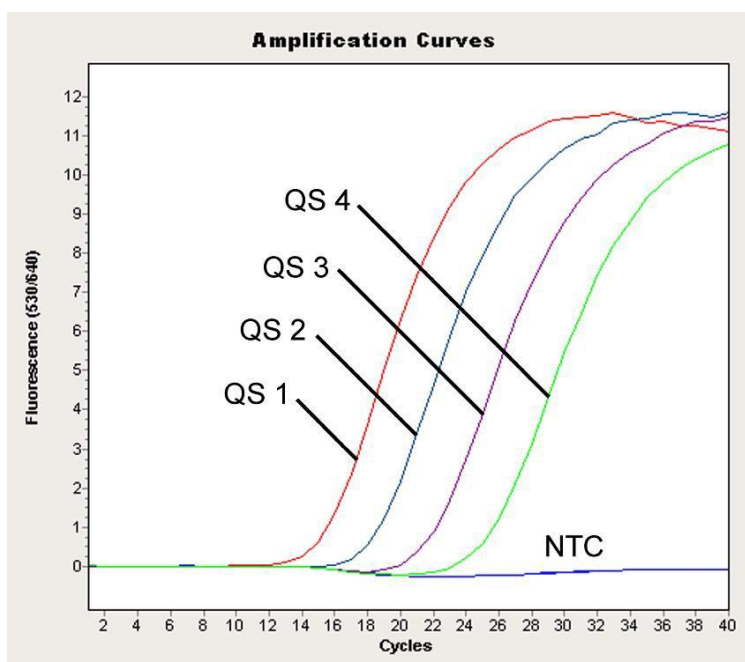


Fig. 12: Detecção dos Padrões de quantificação (VZV LC/TM QS 1 - 4) no canal de fluorescência 530/640 do equipamento *LightCycler 2.0*. NTC: non-template control (controle negativo).

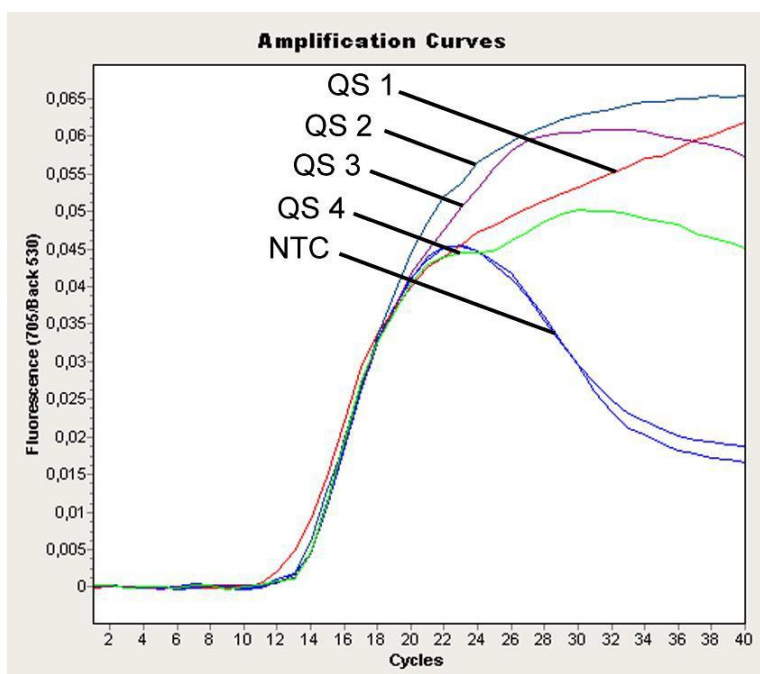


Fig. 13: Detecção do *Controlo interno (IC)* no canal de fluorescência 705/Back 530 do equipamento *LightCycler 2.0* no caso de amplificação simultânea dos Padrões de quantificação (VZV LC/TM QS 1 - 4). NTC: non-template control (controle negativo).

10. Resolução de problemas

Ausência de sinal no canal de fluorescência F1/F2 ou 530/640 nos controlos positivos (VZV LC/TM QS 1 - 4)

- A selecção do canal de fluorescência na análise dos dados da PCR não corresponde à indicação do protocolo
 - ◆ Seleccione para a análise dos dados o canal de fluorescência F1/F2 ou 530/640 para a PCR analítica do VZV e o canal de fluorescência F3/Back-F1 ou 705/Back 530 para a PCR do *Controlo interno*.
- A programação do perfil de temperatura do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* ou *LightCycler 2.0* estava incorrecta.
 - ◆ Compare o perfil de temperatura com as indicações do protocolo (ver capítulo **8.5 Programação dos equipamentos *LightCycler***).
- Composição incorrecta da reacção de PCR.
 - ◆ **8.4 Preparação da PCR**) e, se for o caso, repita a PCR.
- As condições de conservação para um ou mais componentes do kit não corresponderam às instruções do *artus VZV LC PCR Kit* indicadas no capítulo **2. Conservação** ou a data de validade foi excedida.
 - ◆ Por favor, reveja tanto as condições de conservação como também a data de validade (ver etiqueta no kit) dos reagentes e, se for o caso, utilize um novokit.

Sinal do *Controlo interno* enfraquecido ou até mesmo a ausência do mesmo no canal de fluorescência F3/Back-F1 ou 705/Back 530, em caso de ausência simultânea de um sinal no canal F1/F2 ou 530/640:

- As condições da PCR não correspondem ao protocolo.
 - ◆ Reveja as condições da PCR (ver acima) e, se for o caso, repita a PCR com as configurações corrigidas.
- A PCR foi inibida.
 - ◆ Certifique-se de que seja utilizado um dos nossos procedimentos de purificação recomendados (ver capítulo **8.1 Isolamento de ADN**) e, seja fiel às instruções do fabricante.

- ◆ Certifique-se que seja efectuado o passo recomendado da centrifugação adicional para completa eliminação de resíduos de etanol antes da eluição na purificação do ADN (ver capítulo **8.1 Isolamento de ADN**).
- Ocorreram perdas de ADN por causa da purificação.
 - ◆ Se o *Controlo interno* foi adicionado à purificação, a ausência do sinal do *Controlo interno* pode significar que ocorreram perdas de ADN por causa da purificação. Certifique-se de que seja utilizado um dos nossos procedimentos de purificação recomendados (ver capítulo **8.1 Isolamento de ADN**) e seja fiel às instruções do fabricante.
- As condições de conservação para um ou mais componentes do kit não corresponderam às instruções do *artus VZV LC PCR Kit* indicadas no capítulo **2. Conservação** ou a data de validade foi excedida.
 - ◆ Por favor, reveja tanto as condições de conservação como também a data de validade (ver etiqueta no kit) dos reagentes e, se for o caso, utilize um novokit.

Sinais nos controlos negativos no canal de fluorescência F1/F2 ou 530/640 da PCR analítica.

- Ocorreu uma contaminação durante a preparação da PCR.
 - ◆
 - ◆ Tape cada tubo de PCR, se possível logo após a adição da amostra a ser analisada.
 - ◆
 - ◆ Certifique-se que a superfície de trabalho e os aparelhos sejam desinfectados frequentemente.
- Ocorreu uma contaminação por causa da purificação.
 - ◆ Repita a purificação e a PCR da amostra a ser analisada com reagentes ainda não utilizados.
 - ◆ Certifique-se que a superfície de trabalho e os aparelhos sejam desinfectados frequentemente.

Se houver dúvidas ou problemas, por favor contacte o nosso suporte técnico.

11. Especificações

11.1 Sensibilidade analítica

Para determinar a sensibilidade analítica do *artus* VZV LC PCR Kit sob utilização do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5*, foi criada uma série de diluições padrão de 60 a aproximadamente 0,019 equivalentes de cópias do VVZ*/ μl e esta foi analisada com o *artus* VZV LC PCR Kit. As análises foram efectuadas em três dias diferentes, contendo cada uma delas oito determinações. O resultado foi apurado com a ajuda de uma análise de probit. A sua avaliação gráfica está representada na Fig. 14. O limite de detecção ($p = 0,05$) do *artus* VZV LC PCR Kit utilizado em combinação com o equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* está, desta forma, estabelecido em 0,8 cópias/ μl . Isto significa que existe uma probabilidade de 95 % de serem detectadas 0,8 cópias/ μl .

Análise de probit: Vírus Varizella-Zoster (*LightCycler*1.1/1.2/1.5)

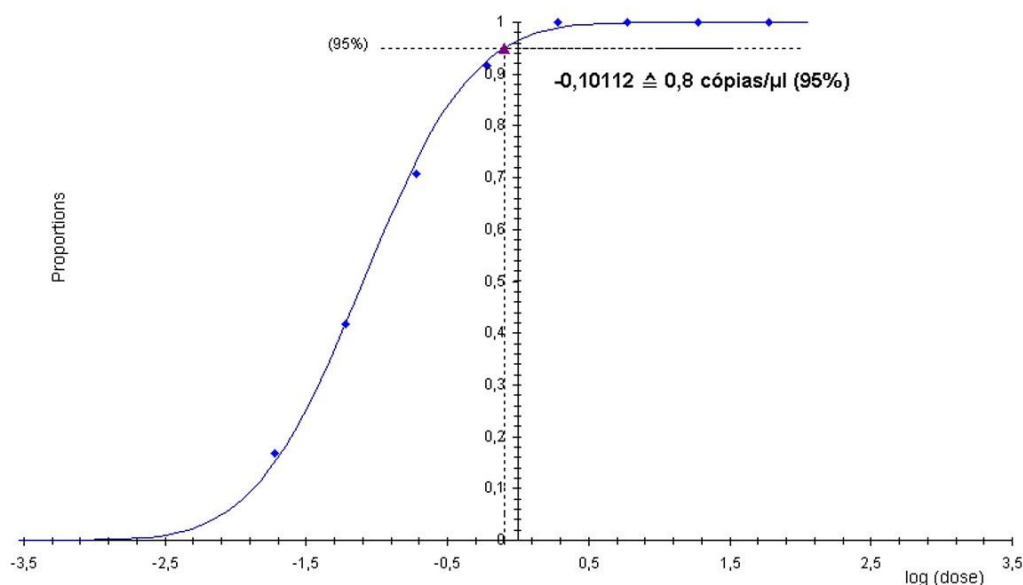


Fig. 14: Sensibilidade analítica do *artus* VZV LC PCR Kit sob a utilização do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5*.

* O padrão aqui utilizado é um produto de PCR clonado, cuja concentração foi determinada por espectrofotometria e espectrofluorimetria.

11.2 Especificidade

A especificidade do *artus* VZV LC PCR Kit é, em primeiro lugar, garantida através da selecção dos iniciadores (primers) e das sondas, assim como da selecção de condições de reacção optimizadas. Os iniciadores (primers) e as sondas foram verificados mediante uma análise de comparação de sequência quanto a eventuais homologias com todas as sequências publicadas em bancos de genes. Desta forma, foram controlados a detecção de todos os tipos de herpes relevantes.

Adicionalmente, a validação da especificidade ocorreu em 30 diferentes amostras de líquido céfalo-raquidiano (LCR) negativas para o VVZ, que não geraram sinal com os iniciadores (primers) e sondas específicas para o VVZ contidos na *VZV LC Master*.

Para a determinação da especificidade do *artus* VZV LC PCR Kit, foi examinado o grupo de controlo citado na Tabela 2 em relação à existência de reacções cruzadas. Nenhum dos agentes patogénicos testados era reactivo.

Tabela 2: Teste da especificidade dos kits com possíveis agentes patogénicos inter-reactivos.

Grupo de controlo	VZV (F1/F2 ou 530/640)	Controlo interno (F3-Back-F1 ou 705/Back 530)
Vírus do herpes humano 1 (vírus Herpes-simplex 1)	-	+
Vírus do herpes humano 2 (vírus Herpes-simplex 2)	-	+
Vírus do herpes humano 4 (vírus Epstein-Barr)	-	+
Vírus do herpes humano 5 (Citomegalovírus)	-	+
Vírus do herpes humano 6A	-	+
Vírus do herpes humano 6B	-	+
Vírus do herpes humano 7	-	+
Vírus do herpes humano 8 (vírus herpes associado ao sarcoma de Kaposi)	-	+

11.3 Precisão

Os dados de precisão para o *artus* VZV LC PCR Kit foram levantados sob a utilização do equipamento *LightCycler 1.1/1.2/1.5* e possibilitam a averiguação da variância total do sistema de teste. Esta variância total compõe-se da **Variabilidade Intra-Ensaio** (variabilidade de amostras com a mesma concentração em um ensaio), da **Variabilidade Inter-Ensaio** (variabilidade devida à utilização de diversos aparelhos do mesmo tipo, por pessoas diferentes do mesmo laboratório) e da **Variabilidade Inter-Lote** (variabilidade devida à utilização de diferentes lotes). Para este fim, apuram-se o desvio padrão, a variância e o coeficiente de variação tanto para a PCR específica do agente patogénico como também para a de *Controlo interno*.

Estes dados foram apurados para o *artus* VZV LC PCR Kit com base no Padrão de quantificação com a menor concentração (QS 4; 10 cópias/ μ l). As análises foram efectuadas contendo oito determinações. Os resultados do teste de precisão estão representados nos valores do Ct da curva de amplificação (Ct: *threshold cycle*, ver Tabela 3) e nos valores quantitativos em cópias/ μ l (ver Tabela 4). De acordo com estes resultados, a flutuação estatística de uma amostra qualquer com a concentração determinada é de 0,88 % (Ct), ou seja, 11,40 % (concentração) e para a detecção do *Controlo interno* é de 1,26 % (Ct). Estes valores baseiam-se na totalidade de cada um dos valores apurados nas variabilidades.

Tabela 3: Dados de precisão com base no valor Ct.

	Desvio Padrão	Variância	Coefficiente de variação [%]
Variabilidade Intra-Ensaio: VZV LC/TM QS 4	0,21	0,04	0,89
Variabilidade Intra-Ensaio: <i>Controlo interno</i>	0,04	0,00	0,33
Variabilidade Inter-Ensaio: VZV LC/TM QS 4	0,17	0,03	0,75
Variabilidade Inter-Ensaio: <i>Controlo interno</i>	0,09	0,01	0,69
Variabilidade Inter-Lote: VZV LC/TM QS 4	0,21	0,04	0,89
Variabilidade Inter-Lote: <i>Controlo interno</i>	0,15	0,02	1,16
Variância Total: VZV LC/TM QS 4	0,21	0,04	0,88
Variância Total: <i>Controlo interno</i>	0,16	0,03	1,26

Tabela 4: Dados de precisão com base nos valores quantitativos (em cópias/ μ l).

	Desvio Padrão	Variância	Coefficiente de variação [%]
Variabilidade Intra-Ensaio: VZV LC/TM QS 4	1,33	1,77	13,19
Variabilidade Inter-Ensaio: VZV LC/TM QS 4	0,97	0,94	9,66
Variabilidade Inter-Lote: VZV LC/TM QS 4	1,29	1,67	12,83
Variância Total: VZV LC/TM QS 4	1,15	1,32	11,40

11.4 Robustez

A verificação da robustez serve para apurar a taxa total de erro do *artus* VZV LC PCR Kit. Para isso foram misturadas 30 amostras de líquido céfalo-raquidiano (LCR) negativas para o VVZ, com 2,1 cópias/ μ l por volume de eluição de ADN de controlo de VVZ (três vezes a concentração dos limites de

sensibilidade analíticos). As amostras foram purificadas com o QIAamp DNA Mini Kit e analisadas com o *artus* VZV LC PCR Kit (ver

8.1 Isolamento de ADN). A taxa de erro para o VZV foi de 0 % para a totalidade das amostras. A robustez do *Controlo interno* foi verificada adicionalmente através da purificação e da análise de 30 amostras de líquido céfalo-raquidiano (LCR) negativas para o VZV. A taxa total de erro foi de 0 %. Não foram observadas inibições. Deste modo, a robustez do *artus* VZV LC PCR Kit é ≥ 99 %.

11.5 Reprodutibilidade

Os dados da reprodutibilidade permitem avaliar regularmente o desempenho do *artus* VZV LC PCR Kit, assim como para compará-lo com o desempenho de outros produtos, através da participação em ensaios colaborativos de controlo externo de qualidade.

11.6 Avaliação diagnóstica

O *artus* VZV LC PCR Kit está a ser avaliado em vários estudos.

12. Indicações especiais sobre a utilização do produto

- Todos os reagentes devem ser utilizados exclusivamente para o diagnóstico *in vitro*.
- A utilização deve ser efectuada por funcionários que tenham sido especialmente formados e instruídos nos processos de diagnóstico *in vitro* (EN375).
- A observância exata do protocolo é impreterivelmente necessária para se otimizar o resultado da PCR
- Ter em atenção a data de validade indicada na embalagem e nas etiquetas de cada componente. Não utilizar reagentes com prazo de validade expirado.

13. Informações de segurança

As informações de segurança do *artus* VZV LC PCR Kit podem ser obtidas nas Páginas de Segurança (safety data sheets, SDS). Elas podem ser obtidas de na forma de informações PDF compactas e fáceis de utilizar em www.qiagen.com/safety.









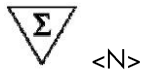

14. Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Administração de Qualidade certificado pelos ISO 9001 e ISO 13485 da QIAGEN, cada lote dos *artus* VZV LC PCR Kits foi testado de acordo com as especificações anteriormente apresentadas a fim de garantir a qualidade do produto.

15. Referência bibliográfica

Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 2004; 10 (3): 190 - 212.

16. Descrição dos símbolos

	Utilizzare entro
	Codice del lotto
	Fabbricante
	Numero di catalogo
	Numero die materiale
	Manuale
	Dispositivo medico per diagnostica in vitro
	Global Trade Item Number
	Contenuto sufficiente per <N> test
	Limiti di temperatura
QS	<i>Standard di quantificazione</i>
IC	<i>Controllo interno</i>

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

USA ■ techservice-us@qiagen.com



