

Manual do usuário

Check-Direct CPE for BD MAX™

Para detecção e diferenciação de genes codificadores de carbapenemases de colônias puras de *Enterobacteriaceae*

Versão 1.1

Data de lançamento: 10.03.2017

REF

18-0055



24

Para uso em pesquisa apenas (RUO)
Não recomendado para fins diagnósticos

Sumário

Introdução e princípio do método.....	2
Conteúdo do kit (para 24 reações)	2
Materiais necessários, mas não fornecidos com o kit	2
Armazenamento e estabilidade	2
Advertências e precauções.....	3
Instruções de uso	4
Procedimentos de preparação de amostra	4
Operação do BD MAX™	4
Interpretação dos resultados	5
Perguntas frequentes e solução de problemas	6
Limitações.....	7
Legenda para os símbolos usados	7
Assistência técnica	8
Apêndice 1: Criação do programa de corrida do Check-Direct CPE v.4.30B ou superior.....	9

Introdução e princípio do método

A emergência e disseminação global da resistência à carbapenêmicos entre *Enterobacteriaceae* é uma séria ameaça à saúde pública. Esses organismos são associados à altas taxas de mortalidade, e têm o potencial de se disseminarem amplamente. A causa mais comum de resistência à carbapenêmicos em *Enterobacteriaceae* é a expressão de genes codificadores de carbapenemases, *ou seja*, *Enterobacteriaceae* Produtoras de Carbapenemases, ou CPE. As CPE possuem resistência elevada ou total à carbapenêmicos e à maioria dos outros antibióticos β -lactâmicos. Atualmente, a grande maioria das CPE são associadas à presença de um dos seguintes carbapenêmicos codificados por plasmídeo: KPC (carbapenemase *Klebsiella pneumoniae*), VIM (Verona metallo- β -lactamase codificada por íntegron), NDM (New Delhi metallo- β -lactamase) ou OXA-48 (Oxacillinase-48). Além disso, as CPE frequentemente apresentam outros determinantes de resistência a não- β -lactâmicos resultando em isolados resistentes à multidrogas e pandrogas.

O Check-Direct CPE é um ensaio PCR em tempo real multiplexado para a detecção dos genes codificadores de carbapenemases KPC, OXA-48, NDM e VIM. O ensaio é baseado no reconhecimento e na amplificação específica de sequências-alvo por PCR, e a detecção simultânea da acumulação de produtos da amplificação da PCR por sondas de DNA fluorescentes. Para KPC, VIM, OXA-48 e NDM, existem diversas variantes de genes, e o Check-Direct CPE foi projetado para detectar com confiabilidade todas as variantes. O Check-Direct CPE for BD MAX™ emprega cinco sondas fluorescentes diferentes, e permite a detecção e a discriminação de 4 genes codificadores de carbapenemases e o SPC-alvo do controle, que monitora a extração de DNA e a amplificação por PCR.

Conteúdo do kit (para 24 reações)

Componentes (nº mat.)	Descrição
Tubos de reagentes de CPE (9-0062)	24 tubos vedados (lacre roxo)
Controle positivo de CPE (9-0060)	1 tubo (tampa roxa)
Manual do Usuário (9-0128)	Folheto – download do site da Web

Materiais necessários, mas não fornecidos com o kit

Suprimentos	Equipamento
<ul style="list-style-type: none"> BD MAX™ ExK DNA-1 Extraction Kit (Ref:442818) BD MAX™ DNA MMK Master Mix (Ref: 442848) BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519) Luvas descartáveis de laboratório (sem talco) Jaleco Pipetas e ponteiras com filtro descartáveis para volumes de 10 a 1000 μl Solução salina (150 mM NaCl ou 0,9% w/v NaCl) Água Milli-Q ou água bidestilada 	<ul style="list-style-type: none"> Instrumento de PCR em tempo real: BD MAX™ System, versão do software 4.30B ou posterior Densitômetro adequado para suspensões bacterianas Vórtex

Armazenamento e estabilidade

Os componentes do ensaio Check-Direct CPE for BD MAX™ são estáveis de 2 a 25 °C, até a data de vencimento estabelecida. Não use componentes vencidos.

Os tubos de reagentes do Check-Direct CPE for BD MAX™ e o controle positivo são fornecidos em uma embalagem lacrada. Para proteger os reagentes da umidade, lacre novamente a embalagem após abri-la. Os tubos de reagentes são estáveis por até 14 dias, de 2 a 25 °C após a abertura inicial da embalagem, se tampados adequadamente, conforme orientações descritas.

Advertências e precauções

- O ensaio Check-Direct CPE for BD MAX™ é para uso em pesquisa apenas. Não se recomenda o uso para fins diagnósticos. Parâmetros para a performance clínica do teste não foram estabelecidos neste ensaio, e não foram avaliadas os efeitos de potenciais substâncias interferentes para esta finalidade.
- Este produto pode ser usado somente no BD MAX™ System.
- Não use o kit se a etiqueta que lacra a caixa externa estiver violada.
- Não use reagentes se as embalagens protetoras estiverem abertas ou violadas no recebimento.
- Feche as embalagens protetoras dos reagentes lacrando-as imediatamente após o uso. Remova todo o ar em excesso nas embalagens antes de lacrá-las.
- Examine as tiras de reagentes para verificar o preenchimento de líquido adequado (certifique-se de que os líquidos estejam no fundo dos tubos).
- Examine as tiras de reagentes para verificar se todas as ponteiros de pipetas estão presentes.
- Não remova o dissecante das embalagens dos reagentes.
- Não use reagentes se o dissecante não estiver presente ou se estiver quebrado dentro das embalagens dos reagentes.
- Não use os reagentes se as lâminas de lacre estiverem quebradas ou danificadas.
- Não misture reagentes de embalagens e/ou kits e/ou lotes diferentes.
- Não misture ou reutilize as tampas, pois pode haver contaminação que comprometa os resultados dos testes.
- Prossiga com cautela quando estiver usando soluções químicas como Master Mix e Tubos de Extração, pois a leitura do código de barras desses produtos pode ser danificada.
- Não use reagentes e/ou materiais vencidos.
- É essencial uma boa técnica laboratorial para o desempenho adequado do ensaio. Devido à alta sensibilidade analítica deste teste, deve ser tomado extremo cuidado para a preservação da pureza de todos os materiais e reagentes.
- Para evitar a contaminação por amplicons, não quebre o cartucho do BD MAX™ (BD MAX™ PCR Cartridges) após o uso. Os lacres dos cartuchos são projetados para evitar a contaminação.
- Os cartuchos podem ser usados para até duas corridas.
- A execução do ensaio Check-Direct CPE for BD MAX™ fora dos intervalos de tempo recomendados pode produzir resultados inválidos. Os ensaios não executados dentro dos intervalos de tempo especificados devem ser repetidos com um novo espécime.
- Controles adicionais podem ser testados de acordo com as diretrizes ou requisitos das regulamentações locais, estaduais ou federais, ou organizações de certificação.
- Em casos onde a cultura ou outros testes de PCR são conduzidos em laboratório, deve ser tomado cuidado para garantir que os componentes do ensaio Check-Direct CPE for BD MAX™, todos os reagentes adicionais necessários para o teste e o BD MAX™ System não sejam contaminados. Evite a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de reagentes em todo o tempo. As luvas devem ser trocadas antes da manipulação de reagentes e cartuchos.
- Sempre manipule os espécimes como se eles fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais seguros, como os descritos no Documento CLSI M2911 e no Biossegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos.
- Use vestes protetoras e luvas descartáveis ao manipular todos os reagentes.
- Lave as mãos cuidadosamente depois de executar o teste.
- Não fume, beba, masque ou coma em áreas onde espécimes ou reagentes de kits estiverem sendo manipulados.
- Descarte os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com as regulamentações locais, estaduais e/ou federais.
- Consulte o Manual do Usuário do BD MAX™ System à respeito de advertências, precauções e procedimentos adicionais.

Leia todo o protocolo antes de iniciar o teste

Instruções de uso

Procedimentos de preparação de amostra

Preparação do teste para cultura de bactérias

1. Inocule placas de ágar nutriente com as amostras clínicas ou cepas bacterianas a serem testadas, e incube-as por uma noite a 37 °C. Os meios de crescimento típicos incluem ágar sangue, ágar MacConkey e ágar Tryptic Soy.
2. Prepare uma suspensão celular bacteriana em solução salina de 0,5 – 1,0 McFarland ($\approx 1 - 2 \times 10^8$ CFU/mL) de uma ou mais colônias de cada placa, usando um ciclo de 1 ou 10 μ L.
3. Pipete 10 μ L da suspensão celular bacteriana ($\approx 1 - 2 \times 10^6$ CFU/mL) e 500 μ L de água Milli-Q ou água bidestilada no Tubo de Tampão de Amostra de DNA SB-1. (fornecido pela BD com o kit de extração de DNA, consulte *Materiais necessários, mas não fornecidos com o kit*).
4. Feche o Tubo de Tampão de Amostra com uma tampa de septo e homogenize usando um vórtex por 10 segundos em velocidade baixa.
5. Transfira os Tubos de Tampão de Amostra com as suspensões celulares bacterianas a serem analisadas para a sala de PCR.

Preparação de reações de controle

Para validar a execução, execute reações de controle positivo e negativo para cada reação de PCR de Check-Direct CPE. O controle positivo é fornecido com o kit.

- **Controle positivo:**

Pipete 10 μ L do controle positivo e 500 μ L de água Milli-Q ou água bidestilada em um Tubo de Tampão de Amostra. Vortexe por 10 segundos.

- **Controle negativo:**

Pipete 500 μ L de água Milli-Q ou água bidestilada em um Tubo de Tampão de Amostra. Vortexe por 10 segundos.

Operação do BD MAX™

1. Configuração de PCR em tempo real multiplexado

A Tabela 1 apresenta a configuração de PCR em tempo real multiplexado, com os alvos detectados em cada canal detector do BD MAX™ System.

Tabela 1: Configuração qPCR multiplexado

Detector	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Canal	1	2	3	4	5
Alvo	KPC	VIM	OXA-48	NDM	SPC*

*SPC: Controle de processamento de amostras (Sample Processing Control)

Quando o teste for executado pela primeira vez, crie o programa de teste de PCR “Check-Direct CPE”, conforme descrito no Apêndice 1.

2. Configuração do BD MAX™ Rack

2.1. Carregue os racks do BD MAX™ System com o número de Tiras de Reagentes Unificados de DNA para o número de amostras a serem testadas. Bata gentilmente em cada tira para se certificar de que todos os líquidos estejam no fundo de seus recipientes.

2.2. Prepare as Tiras de Reagentes Unificados:

2.2.a. Encaixe um tubo de reagente BD Exk-1 de extração de DNA (lacre branco) na posição 1 da Tira de DNA, consulte a Figura 1.

2.2.b. Encaixe um tubo de Master Mix DNA MMK (lacre verde/amarelo) na posição 2 da Tira de DNA, consulte a Figura 1.

2.2.c. Encaixe um tubo de reagente de CPE (lacre azul/roxo) na posição 3 da Tira de DNA, consulte a Figura 1.

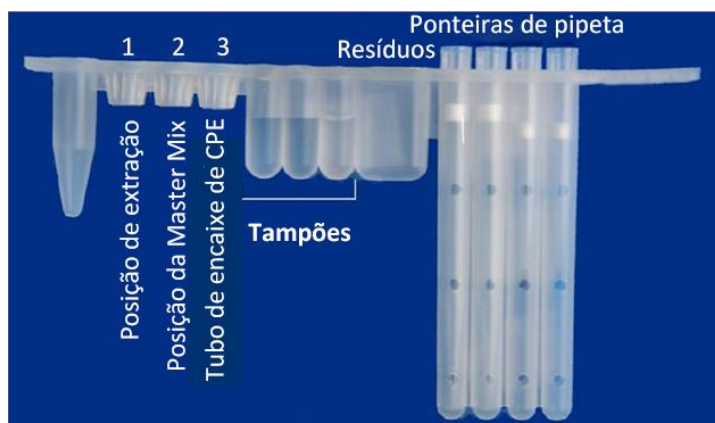


Figura 1: Configuração da Tira de Reagentes Unificado de DNA

3. Configuração de instrumentos do BD MAX™

- 3.1 Abra a guia **Run** (Executar) do software BD MAX™ System **v4.30B** ou superior e preencha a **Worklist** (Lista de trabalho).
- 3.2 Selecione o **Test** (Teste) “*Check-Direct CPE*”. Consulte o Apêndice 1 para criar o teste “*Check-Direct CPE*” se ele ainda não estiver no menu Test (Teste).
- 3.3 Leia o código de barras do **Sample Buffer Tube** (Tubo de Tampão de Amostra) usando o leitor de código de barras (você também pode inseri-lo manualmente). Inicie pela posição 1 do rack A. Coloque cada um dos Tubos de Tampão de Amostra em sua posição correspondente nos racks do BD MAX™ (com tampas de septo).
- 3.4 Insira a identificação da amostra no campo **Accession** (Acesso). Verifique se cada informação da amostra corresponde a seus Tubos de Tampão de Amostra específicos no rack.
- 3.5 Carregue o(s) rack(s) no BD MAX™ System. (O rack A está posicionado no lado esquerdo do instrumento, e o rack B está no lado direito.)
- 3.6 Carregue o(s) cartucho(s) de PCR do BD MAX™.
- 3.7 Feche a porta do instrumento e selecione **Start Run** (Iniciar corrida).

Interpretação dos resultados

Pontos importantes antes de iniciar: Para obter uma descrição detalhada sobre como analisar os dados, consulte o *Manual do Usuário do BD MAX™ System*.

Sempre inspecione visualmente o gráfico de amplificação de cada amostra testada em relação aos valores de C_T obtidos com o software.

1. Resultados relatados

O software do BD MAX™ relata valores de C_T e curvas de amplificação para cada canal detector de cada espécime testado da seguinte forma:

- Um valor de C_T de **0** indica que não houve valor de C_T calculado pelo software com o limite especificado (consulte o Apêndice 1). Uma curva de amplificação da amostra exibindo um valor “0” de C_T deve ser verificada manualmente.
- Um valor de C_T de **-1** indica que não ocorreu nenhum processo válido de amplificação. Veja que não há nenhuma curva de amplificação para a amostra com valor de C_T de -1 nos resultados gráficos.
- Qualquer outro valor de C_T deve ser interpretado em correlação com a curva de amplificação, e de acordo com o método de interpretação indicado nas Tabelas 2 e 3.

2. Interpretação

2.1 Execute a validação

Verifique se a corrida de PCR em tempo real é válida antes de fazer a interpretação dos dados dos resultados. Verifique se não há relatório de falha do BD MAX™ System. Se aplicável, verifique as curvas de amplificação dos controles positivo e negativo. A Tabela 2 mostra critérios para uma execução em tempo real do Check-Direct CPE no BD MAX™ System. Se os valores de C_T dos controles não forem os esperados, consulte a seção Perguntas Frequentes e Solução de Problemas “3”.

Tabela 2: Critérios para uma execução válida do teste Check-Direct CPE. (N.R. = não relevante)

Tipo de Amostra*	C _T 475/520 KPC	C _T 530/565 VIM	C _T 585/630 OXA-48	C _T 630/665 NDM	C _T 680/715 SPC
Controles positivos	32 ±3	30 ±3	29 ±3	31 ±3	N.R.
Amostra negativa	-1	-1	-1	-1	29 ±3

2.2 Interpretação dos resultados

Se a corrida for validada, interprete os resultados como positivo, negativo ou não resolvido, a partir dos valores de C_T obtidos para as amostras, seguindo as diretrizes resumidas na Tabela 3. Corridas cujo resultado é “não resolvido” devem ser testadas novamente.

Os valores de C_T obtidos com células bacterianas geralmente estarão em uma janela específica de C_T para cada alvo, devido à quantidade bem definida de células usada como material de entrada do teste. Observe, contudo, que os valores de C_T podem diferir significativamente entre as cepas individuais. A Tabela 3 especifica o limite superior dessa janela de C_T, um valor de C_T mais alto sugere contaminação da amostra ou uma cepa impura. Portanto, isso será considerado como um resultado “Não resolvido”.

Tabela 3: Diretrizes de interpretação de dados para células bacterianas (N.R. = não relevante)

C _T 475/520 KPC	C _T 530/565 VIM	C _T 585/630 OXA-48	C _T 630/665 NDM	C _T 680/715 SPC	Interpretação
≤33	≤27	≤26	≤32	N.R.	Positivo
-1	-1	-1	-1	29 ±3	Negativo
> 33	>27	>26	>32	N.R.	Não resolvido
-1	-1	-1	-1	-1	Não resolvido

NOTAS IMPORTANTES:

- Se o BD MAX™ System fornecer resultados Indeterminados ou Incompletos (IND ou INC) devido a falha do BD MAX™ System, entre em contato com seu representante local da BD.

Perguntas frequentes e solução de problemas

Consulte a seção de “solução de problemas” do Manual do Usuário do BD MAX™ System para obter informações adicionais

- Os resultados em tempo real não mostram valores de C_T, ou a interpretação indica que a amostra não foi resolvida.** Causas possíveis e solução do problema:
 - A reação de PCR foi inibida por substâncias exógenas ou endógenas. Repita os testes da amostra. Enquanto ainda houver inibição, usar uma menor quantidade de amostra pode melhorar os resultados.
 - A extração de DNA falhou pois o SPC não foi detectado.
 - O BD DNA MMK pode estar vencido.
 - Ocorreu um erro no manuseio de líquidos: verifique as tiras de reagentes unificados e o cartucho de PCR para determinar onde ocorreu o problema de manuseio de líquido (exemplo: bolhas de ar no cartucho) e faça nova corrida. Se o problema persistir, entre em contato com o representante local da BD.
- Solução de problemas para resultados não resolvidos.**
Para resultados Não resolvidos: Repita o teste com o espécime original preparando um novo Tubo de Tampão de Amostra. Alternativamente, teste um espécime recém-colhido ou use uma quantidade menor de amostra.
- Os resultados em tempo real não mostram valores de C_T para o controle positivo, ou a interpretação indica que a amostra não foi resolvida**
Causas possíveis e solução do problema:
 - O controle positivo não foi adicionado.
 - O BD DNA MMK pode estar vencido.
 - Ocorreram bolhas de ar na câmara de reação de PCR do controle positivo.
- Os resultados em tempo real mostram sinais fluorescentes muito fracos em todas as amostras e canais do detector, incluindo o sinal de SPC.**
Causas possíveis e solução do problema:
 - Os tubos de reagentes de CPE contendo as sondas fluorescentes e os primers podem ter degradado. Verifique a data de validade e certifique-se de que os tubos de CPE tenham sido armazenados corretamente.
 - O BD MAX™ System pode ser responsável por esses resultados. Consulte o Manual do Usuário do BD MAX™ System, ou entre em contato com seu representante local da BD.

5. O BD MAX™ System indica haver um erro ou falha.

Consulte o manual do usuário do instrumento do BD MAX™, ou entre em contato com seu representante local da BD.

6. Amostras duplicadas testadas com o teste Check-Direct CPE não fornecem resultados idênticos.

Os valores de C_T de amostras idênticas podem variar entre reações individuais. Grandes variações, valores de $C_T > 2$, sugerem erros de pipetagem ou outras diferenças entre as amostras duplicadas.










Limitações

O Check-Direct CPE usa uma gama de marcadores de DNA específicos para detectar a presença dos genes codificadores de carbapenemases KPC, NDM, OXA-48 e VIM, que representam, atualmente, as carbapenemases mais relevantes clinicamente. O teste detecta todas as variantes hoje conhecidas de KPC, NDM, OXA-48 e VIM, exceto o VIM-7, uma variante rara encontrada somente na *Pseudomonas aeruginosa*. Deve ser observado que outras famílias raras de genes codificadores de carbapenemases não são detectadas. O teste é destinado ao uso de células bacterianas puras como material de entrada.

A qualidade do DNA é um fator importante para a obtenção de resultados confiáveis com o Check-Direct CPE. Para suspensões celulares, as densidades celulares corretas são um fator importante na obtenção de resultados confiáveis, e o procedimento descrito neste manual deve ser estritamente seguido. O ensaio foi extensivamente testado com DNA purificado de bactérias gram-negativas, como *Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Pseudomonas*, com excelentes resultados. Contudo, não podemos nunca excluir a possibilidade de outras bactérias gram-negativas, ou certas cepas das espécies acima mencionadas fornecerem resultados ruins. O Check-Direct CPE não pode e não faz nenhuma representação ou garantia de ser capaz de detectar corretamente os genes codificadores de carbapenemases em todas as espécies, subespécies ou tipos gram-negativos, ou em todas as amostras clínicas. Os resultados precisam ser confirmados por métodos adicionais em casos específicos (por exemplo, para amostras regulatórias). Devido à alta variabilidade dos genomas das bactérias, é possível que certos subtipos não sejam detectados. O teste reflete o estado do conhecimento da Check-Points Health B.V.

A presença de várias espécies de bactérias em uma amostra pode dificultar a interpretação do teste.

Legenda para os símbolos usados

Símbolo	Definição
	Controle de CPE
	Para uso em pesquisa apenas (RUO) Não recomendado para fins diagnósticos
	Número de catálogo
	Código do lote
	Use antes de AAAA-MM
	Consulte as instruções de uso
	Fabricante
	Limitação de temperatura
	Contém o suficiente para < n > testes

Assistência técnica

support@check-points.com

+31 317 453 908

Apesar dos maiores cuidados no desenvolvimento e na preparação do protocolo, a Check-Points não pode assumir nenhuma responsabilidade por erros, omissões e/ou acusações futuras sobre este documento.

Citação na literatura: Na descrição de um procedimento para publicação usando este produto, refira-se a ele como *Check-Direct CPE*.

Aviso ao comprador:

Este produto é vendido sob licença da PHRI Properties, e pode ser usado sob direitos de patente da PHRI Properties somente para uso em pesquisa.

Marcas comerciais

BD, BD MAX™ são marcas comerciais da Becton Dickinson GmbH

Check-Points Health BV
Binnenhaven 5
6709 PD Wageningen
Países Baixos

Tel.: +31 317 453 908
Fax: +31 317 210 147
info@check-points.com
www.check-points.com



Apêndice 1: Criação do programa de corrida do Check-Direct CPE v.4.30B ou superior

Pontos importantes antes de iniciar: Consulte o Manual do Usuário do BD MAX™ System para obter instruções detalhadas sobre como operar o BD MAX™ System e o software versão **4.30B ou superior**.

Para criar um novo Test (Teste), na guia **Test Editor** (Editor de testes), selecione **Create** (Criar) e siga as instruções a seguir:

- Na guia **Basic Information** (Informações básicas), insira os parâmetros a seguir:
 - Test Name** (Nome do teste): *Check-Direct CPE*.
 - Extraction Type** (Tipo de extração): Selecione *Exk DNA-1 (Plasma/Serum)*.
 - Master Mix Format** (Formato da Master Mix): selecione *Type 1: BD MMK or MMK(SPC) and Dried Primers & Probes* (Tipo 1: BD MMK ou MMK (SPC) e primers e sondas liofilizados).
 - Sample Extraction Parameters** (Parâmetros de extração de amostras): selecione *Default settings* (Configurações padrão), consulte a Tabela A.
 - C_T Calculation** (Cálculo de Ct): selecione *Call C_T at inflection point* (Chamar Ct em ponto de inflexão).

Salve os parâmetros

- Na guia **PCR Settings** (Configurações da PCR), insira os parâmetros a seguir:
 - Alias** (Apelido), **PCR Gain** (Ganho de PCR) e **Threshold** (Limite): para cada detector do canal, insira os parâmetros corretos especificados na Tabela B.
 - Color compensation** (Compensação de cores): insira os parâmetros corretos especificados na Tabela C.

Salve os parâmetros

- Em **Test Steps** (Etapas do teste), insira as etapas de PCR conforme especificado na Tabela D.

Salve os parâmetros

Tabela A: Parâmetros de extração de amostras.

Parâmetros	Valor
Lysis Heat Time (Tempo de aquecimento de lise)	10
Lysis Temperature (Temperatura de lise)	37
Sample Tip Height (Altura da ponteira da amostra)	1600
Sample Volume (Volume da amostra)	937.5
Wash Volume (Volume de lavagem)	500
Neutralization Volume (Volume de neutralização)	12.5
DNase Heat Time (Tempo de aquecimento da DNase)	----

Tabela B: Parâmetros de ganho.

Detector	Alias (Apelido)	Gain (Ganho)	Threshold (Limite)
475/520	KPC	40	100
530/565	VIM	80	150
585/630	OXA-48	30	150
630/665	NDM	80	150
680/715	SPC	40	150

Tabela C: Parâmetros de interferência espectral.

	False Receiving Channel (Canal de recepção falso)					
	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715	
Excitation Channel (Canal de excitação)	475/520		0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	0,0		0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0		7,4	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0		0,0
	680/715	0,0	0,0	0,0	4,4	

Tabela D: Parâmetros das etapas de teste da PCR.

Step Name (Nome da etapa)	Profile Type (Tipo de perfil)	Cycles (Ciclos)	Time(s) (Tempo(s))	Temp (°C)	Detect (Detectar)
Denaturation (Desnaturação)	Hold (Retenção)	1	600	98	NO (Não)
Amplification & Detection (Amplificação e detecção)	2 - temperature (temperatura)	50	15	98	NO (Não)
			62	60	YES (Sim)