

INSTRUÇÕES DE USO

XGEN MASTER COVID-19

KIT MASTER PARA DETECÇÃO DO CORONAVÍRUS SARS-COV-2

1. FINALIDADE E MODO DE USO

O kit XGEN MASTER COVID-19 é um teste de PCR em Tempo Real projetado para a identificação qualitativa de ácido nucleico em amostras respiratórias de pacientes com sinais e sintomas de infecção por SARS-CoV-2.

PRODUTO PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

1.1 INTRODUÇÃO

Os coronavírus são vírus de RNA envelopados pertencentes à família *Coronaviridae*. Sabe-se que seis tipos de coronavírus causam doenças em humanos: quatro vírus (229E, OC43, NL63 e HKU1) causam sintomas comuns de resfriados e os outros dois (SARS-CoV e MERS-CoV) são zoonóticos e podem gerar complicações mais graves.

Em dezembro de 2019, algumas pessoas que trabalhavam ou viviam no mercado de frutos do mar Huanan em Wuhan, Província de Hubei, China, apresentaram pneumonia de causa desconhecida. Após estudos de sequenciamento das amostras respiratórias, descobriu-se que se tratava de um novo coronavírus, que foi nomeado SARS-CoV-2.

A transmissão de pessoa para pessoa do SARS-CoV-2 foi confirmada, mesmo no período de incubação sem sintomas, e foi descoberto que o vírus causa doenças respiratórias graves como as produzidas pelo SARS-CoV. Embora a pneumonia seja a principal doença associada, alguns pacientes desenvolvem edema pulmonar, síndrome do desconforto respiratório agudo ou falência múltipla de órgãos e até morte. O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) acredita que os sintomas da SARS-CoV-2 podem aparecer entre 2 dias a 14 dias após a exposição, sendo os mais comuns febre, tosse, mialgia e dispneia, além de dor de garganta, dor de cabeça, diarreia e vômito.

A OMS recomenda a coleta de amostras respiratórias inferiores (escarro, aspirado endotraqueal ou lavagem bronco alveolar) para a identificação da SARS-CoV-2. No entanto, caso esta não seja possível, amostras do trato respiratório superior, como aspirado nasofaríngeo ou swabs combinados nasofaríngeo e orofaríngeo, devem ser coletados. Além disso, outras amostras clínicas como sangue, urina e fezes podem ser coletadas para monitorar a presença do vírus.

2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

Os componentes do kit devem ser transportados e armazenados na embalagem original à temperatura de 2°C a 40°C. O produto estocado corretamente é estável até a data de vencimento indicada no rótulo. Uma vez que o Controle Positivo e o Controle Interno tenham sido reconstituídos, devem ser armazenados a -20°C. Após reconstituído, a Mix CV19 deve ser armazenada a 2 a 8°C por até 4 horas, para longos períodos, armazenar a -20°C.

3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O kit XGEN MASTER COVID-19 foi projetado para o diagnóstico de SARS-CoV-2, em amostras respiratórias de pacientes com sinais e sintomas de infecção por este vírus. A detecção é feita

a partir da RT-qPCR onde a transcrição reversa e a subsequente amplificação da sequência alvo específica ocorrem no mesmo poço de reação.

O alvo de RNA isolado é retrotranscrito gerando o DNA complementar, e em seguida ocorre a amplificação de uma região conservada dos genes ORF1ab e N usando *primers* específicos e uma sonda marcada com fluorescência. A presença de uma sequência específica do patógeno na reação é detectada por um aumento na fluorescência observada a partir da sonda correspondente duplamente marcada, e é relatado como o valor limiar de ciclo (*Ct*) pelo termociclador em Tempo Real.

4. AMOSTRA

4.1 TIPOS

O kit XGEN MASTER COVID-19 foi validado com ácido nucleico extraído de amostras respiratórias a partir de *swab* orofaríngeo e nasofaríngeo para detecção de SARS-CoV-2.

4.2 CONDIÇÕES PARA COLETA

- As amostras devem ser claramente identificadas com códigos ou nomes, a fim de evitar resultados com erros de interpretação.
- As amostras clínicas devem ser coletadas e armazenadas em recipientes limpos com ou sem meio de transporte (dependendo do tipo de amostra) e processadas o mais rapidamente possível para garantir a qualidade do teste. É recomendada a utilização de amostras frescas.

4.3 MANUSEIO

Recomenda-se o uso de amostras frescas para o teste. Para longos períodos de armazenamento, recomenda-se que todas as amostras fiquem a -20°C ou, idealmente, a -80°C até a extração.

4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO

A amostra deverá ser totalmente descongelada e levada à temperatura ambiente antes do teste. Homogeneizar bem a amostra antes da preparação. Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento devem ser evitados para impedir a degradação da amostra e dos ácidos nucleicos. Realizar a preparação da amostra de acordo com as recomendações descritas nas instruções de uso do kit de extração utilizado. Pode ser utilizado qualquer kit de extração de DNA comercialmente disponível, tanto manuais quanto automatizados, seguindo as instruções do fabricante.

Adicionar 5 μL do controle interno ao tampão de lise durante a extração em cada amostra. Fechar o tubo e homogeneizar em *vortex* por 10 segundos. Nunca adicionar o Controle Interno diretamente à amostra, ao menos que esteja diluída no tampão de lise.

Se o Controle Interno for usado apenas como controle de inibição da PCR, 1 μL deste componente deve ser adicionado à mistura de reação reconstituída.

IMPORTANTE: Adicionar o Controle Interno a cada uma das amostras é uma etapa muito importante para confirmar o sucesso do procedimento de extração de ácido nucleico e para verificar possível inibição da PCR.

5. DESCRIÇÃO DO PRODUTO, ACESSÓRIOS E SOFTWARE

O formato padrão do kit contém reagentes para 96 testes.

| COMPONENTES | CONTEÚDO | QUANTIDADE 96 TESTES |
|--------------------|--|-------------------------|
| | | XG-CV19-MB-96 |
| MIX CV19 | Mistura de enzimas, sondas, <i>primers</i> , tampão e dNTPs em formato liofilizado para detecção do Coronavírus SARS-CoV-2 | 4 frascos |
| TR | Tampão de Reidratação | 1 frasco x 1,8 mL |
| CI | Controle Interno liofilizado | 1 frasco |
| CP CV19 | Controle Positivo contendo cDNA sintético liofilizado | 1 frasco |
| CN | Controle Negativo | 1 frasco x 1 mL |
| H2O | Água livre de RNase/DNase | 1 frasco x 1 mL |
| Guia Rápido | Guia Rápido | 1 unidade |

5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO DOS REAGENTES

5.1.1 MIX CV19

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Reconstituir a mix na área pré-PCR do laboratório. Abrir o tubo da mix liofilizada com cuidado para evitar que o *pellet* se desfaça e adicionar 390 µL do Tampão de Reidratação fornecido no kit. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

AVISO: Após reconstituída, a MIX CV19 pode ser mantida em 2°C a 30°C por até 4 horas, para longos períodos, armazenar a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento/descongelamento.

5.1.2 TR

Solução pronta para uso.

5.1.3 CP

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se que o CP seja manipulado em uma área de laboratório separada dos outros componentes do kit, preferencialmente no mesmo local onde as amostras são manipuladas, para evitar a contaminação dos demais componentes do kit. Reconstituir o CP liofilizado em 100 µL da água livre RNase/DNase fornecida no kit.

AVISO: Após reconstituído, o CP deve ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

5.1.4 CI

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se abrir e manipular o CI na área do laboratório de pré-PCR longe do controle positivo liofilizado. O CI deve ser reconstituído adicionando 500 µL de Água Livre de RNase/DNase fornecida. Homogeneizar gentilmente com a pipeta. Centrifugar brevemente (pulso) para remover bolhas geradas durante a homogeneização.

AVISO: Após reconstituído, o CI deve ser armazenado a -20°C. É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

5.1.5 CN

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

5.1.6. ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE

Solução pronta para uso. Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo.

6. ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- ✓ Micropipetas (0,5 µL < volume < 1.000 µL);

IMPORTANTE: Devem estar calibradas para distribuir o volume correto necessário para o teste e devem ser submetidas a regulares descontaminações das partes que podem acidentalmente entrar em contato com a amostra. Elas devem ser certificadas e devem estar com seus certificados válidos a fim de mostrar precisão de 1% e exatidão de ± 5%.

- ✓ Microcentrífuga;
- ✓ Agitador tipo *vortex* ou similar;
- ✓ Racks para Tubos;
- ✓ Ponteiras Estéreis com Filtro;
- ✓ Microtubos Livre de Nuclease;
- ✓ Luvas Descartáveis Sem Talco;
- ✓ Cabine de fluxo laminar.
- ✓ Termociclador para PCR em Tempo Real devidamente calibrado conforme orientação do fornecedor.

7. ESTABILIDADE EM USO

Quando em uso, o kit apresenta uma estabilidade de até 4 horas a temperatura ambiente e em condições de luz normal. É indicado minimizar a exposição dos componentes do kit à luz. Os componentes armazenados sob outras condições que não as especificadas no rótulo podem não proporcionar um desempenho correto, afetando negativamente os resultados dos testes. Caso sejam utilizados de forma intervalada, sugere-se que sejam realizadas alíquotas em tubos livres de DNase e RNase, de acordo com a necessidade.

É recomendado separar em alíquotas o Controle Positivo, a Mix CV19 e o Controle Interno para minimizar os ciclos de descongelamento e congelamento. O Controle Positivo, a Mix CV19 e o Controle Interno são estáveis por até 6 ciclos de descongelamento e congelamento. Manter os componentes protegidos da exposição a luz.

8. ORIENTAÇÕES GERAIS

- O produto destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório qualificado e treinado na manipulação de reagentes de biologia molecular e qualificados em protocolos de amplificação de PCR em Tempo Real.
- Todo o pessoal envolvido na execução do teste deve utilizar equipamentos de proteção individual. Além disso, todos devem ser treinados em procedimentos de biossegurança, como recomendado pela legislação em vigor.

- Os responsáveis pelo manuseio de amostras devem ser vacinados contra tétano, difteria, hepatite B e os estabelecidos no PCMSO, de acordo com a Norma Regulamentadora 32.
- Os resíduos gerados durante a utilização do kit devem ser descartados de acordo com as diretrizes e regras de descarte de resíduos químicos e substâncias biológicas do laboratório, conforme legislação em vigor.

9. RECOMENDAÇÕES PARA CONTROLE DE QUALIDADE

- Não utilizar reagentes ou materiais fora da data de validade.
- Verificar se os componentes líquidos não estão contaminados por partículas visíveis ou grumos. Observar se há ruptura na caixa de transporte e se não há derramamento de líquido dentro da caixa.
- Ligar o termociclador, verificar as configurações e conferir se o protocolo de ensaio está correto.
- Seguir estritamente o manual do equipamento fornecido pelo fabricante para a correta configuração do termociclador em Tempo Real.
- Não trocar os componentes entre diferentes lotes do produto. Recomenda-se que os componentes entre dois kits do mesmo lote também não sejam trocados.
- O ambiente do laboratório deve ser controlado, a fim de evitar contaminantes.
- Utilizar ponteiras descartáveis, trocando-as após a manipulação de cada reagente para evitar contaminações cruzadas. Da mesma forma, trocar as ponteiras após a manipulação de cada amostra.
- O fluxo de trabalho no laboratório deve proceder de maneira unidirecional, iniciando com o preparo dos reagentes (pré-PCR), passando para a extração de amostras (pré-PCR) e finalizando nas áreas de amplificação e de análises de dados (pós-PCR). Não compartilhar reagentes e equipamentos entre as diferentes áreas.

IMPORTANTE: A circulação de pessoas e equipamentos provenientes da área de amplificação para a área de preparo de reagentes deve ser evitada fortemente, para que não haja a contaminação das áreas pré-PCR com material amplificado.

- Recomenda-se a descontaminação regular de equipamentos comumente utilizados, especialmente micropipetas e superfícies de trabalho.

10. PROCEDIMENTO DE ENSAIO, CÁLCULOS, INTERPRETAÇÃO

10.1 CONTROLE DE AMPLIFICAÇÃO

O kit XGEN MASTER COVID-19 contém controles positivo e negativo que devem ser incluídos em cada execução para interpretar corretamente os resultados. Além disso, o Controle Interno (CI) adicionado em cada amostra testada confirma o desempenho correto da técnica.

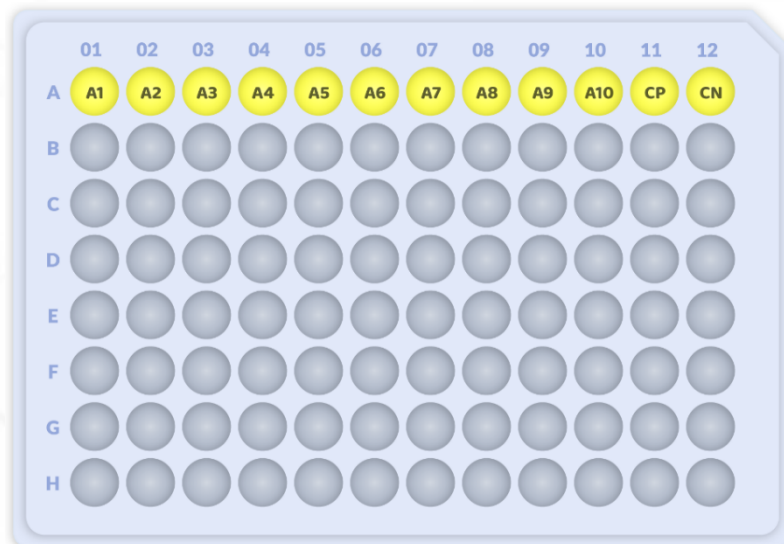
10.2 PROCEDIMENTO DE AMPLIFICAÇÃO

- Adicionar 15 µL da MIX CV19 em cada poço de acordo com o número de reações necessárias, incluindo amostras e controles.
- Adicionar 5 µL de DNA extraído de cada amostra, CP e CN em seus respectivos poços e fechar a placa/microtubos.

OBSERVAÇÃO: Se o CI for usado apenas como controle de amplificação e não tiver sido adicionado à amostra durante a extração, adicione 1 µL do CI ao poço de cada amostra, CN e CP.

- Centrifugar brevemente a placa/microtubos.

- Colocar a placa/microtubos no termociclador de PCR em Tempo Real.
- Após configurar a programação como descrito no subitem 10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR E 10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES, iniciar a corrida no termociclador.



Exemplo de gabarito para posicionamento das amostras e reagentes na placa de PCR

LEGENDA:

- A1 - A10: Amostras
- CP: Controle Positivo
- CN: Controle Negativo
- FUNDO AMARELO: Mistura de Amplificação (MIX)

10.3 PROGRAMAÇÃO DA PCR

A programação deve ser feita conforme descrito abaixo. Configurar o equipamento com a correta programação da PCR seguindo as instruções fornecidas pelo fabricante.

| ETAPA | TEMPERATURA | TEMPO | NÚMERO DE CICLOS |
|---------------------------------|-------------|--------|------------------|
| <i>Hold</i> | 45°C | 15 min | 1 |
| <i>Hold</i> | 95°C | 2 min | 1 |
| Ciclo PCR (*Coleta de Dados) | 95°C | 10 s | 45 |
| | 60°C (*) | 50 s | |

10.4 SELEÇÃO DOS DETECTORES

Selecionar os detectores informados na tabela abaixo, conforme o manual de instrução do equipamento a ser utilizado. Alterar as configurações para selecionar o canal ROX como detector (por padrão o ROX é configurado como referência passiva).

| ALVO | REPÓRTER |
|--------------------|----------|
| <i>Gene ORF1ab</i> | FAM |
| <i>Gene N</i> | ROX |
| Controle Interno | VIC |

10.5 CONFIGURAÇÕES PRÉ-ANÁLISE

É necessária a realização de ajuste de configuração para avaliação dos parâmetros de validação da corrida. Recomenda-se definir os valores de limite (*threshold*) para cada canal (alvo) independentemente. Use a curva de amplificação do controle positivo como ponto de partida durante a validação da execução (antes da interpretação de resultados amostrais do paciente), a fim de garantir que os limites estão dentro da fase exponencial das curvas de fluorescência e acima de qualquer sinal de fundo (*background*). O valor do limite (*threshold*) para diferentes instrumentos pode variar devido a diferentes intensidades de sinal.

10.6 VALIDAÇÃO DA CORRIDA

Uma verificação nos controles é realizada sempre que o kit é utilizado a fim de verificar se os valores de *Ct* são os esperados e informados na tabela abaixo.

| CRITÉRIO | ALVO | CONTROLE INTERNO | RESULTADO DO ENSAIO |
|-------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------|
| CONTROLE NEGATIVO | >40 ou nenhum sinal | ≤40 | Válido |
| | >40 ou nenhum sinal | >40 ou nenhum sinal ^{3/5} | Inválido |
| | ≤40 ¹ | ≤40 | Inválido |
| CONTROLE POSITIVO | ≤40 ^{2/4} | >40 ou nenhum sinal | Válido |
| | >40 ou nenhum sinal ^{2/4} | >40 ou nenhum sinal | Inválido |
| | >40 ou nenhum sinal ^{2/4} | ≤40 | Inválido |

¹ Se existir potencial contaminação (aparecimento de curva de amplificação ou conjunto de curvas em amostras com *Ct* < 40) no Controle Negativo, os resultados obtidos não são interpretáveis e toda a corrida (incluindo extração) deve ser repetida.

² O Controle Positivo e qualquer amostra positiva irão mostrar um traçado de fluorescência exponencial. Qualquer amostra exibindo um traço exponencial para os dois alvos virais é considerada como positiva.

³ Caso o Controle Interno tenha sido adicionado a mix (ver item 4. AMOSTRA, subitem 4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO) e não tenha sido detectado ou o *Ct* de amplificação seja superior à 40, os resultados obtidos não são interpretáveis e toda a corrida deve ser repetida

⁴ As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos apresentam aspectos diferentes.

⁵ Se o Controle Interno foi adicionado às amostras apenas no momento da extração e não foi adicionado ao Controle Positivo no momento da amplificação, não haverá amplificação do CI no Controle Positivo.

Se todos os controles estiverem dentro dos intervalos especificados, validando a corrida, verificar as amostras clínicas.

10.7 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

O usuário deve realizar uma análise cuidadosa no gráfico de amplificação para cada amostra e para todos os alvos após os parâmetros serem configurados, para confirmar a presença ou ausência do traço exponencial.

Analisar os resultados das amostras como descrito na seguinte tabela:

| ALVOS | | | RESULTADO DO ENSAIO | |
|----------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|---|
| ORF1ab | Gene N | Ct | | |
| ≤40 | ≤40 | ≤40 ou não detectado ¹ | Válido | SARS-Cov-2 Detectado |
| ≤40 | ≥40 ou não detectado | ≤40 ou não detectado ¹ | Inconclusivo ³ | Caso apenas um alvo de SARS-CoV-2 amplificar, o teste deve ser repetido a partir do material disponível. Após a repetição, caso continue com a amplificação de <u>apenas um dos alvos</u> de SARS-CoV-2, a amostra deve ser considerada <u>positiva</u> (detectado). |
| ≥40 ou não detectado | ≤40 | ≤40 ou não detectado ² | Inconclusivo ³ | |
| ≥40 ou não detectado | ≥40 ou não detectado | ≤40 ² | Válido | SARS-Cov-2 Não detectado ² |
| ≥40 ou não detectado | ≥40 ou não detectado | ≥40 ou não detectado ² | Inválido | Falha no teste - repetir ² |

¹ A amplificação de um único gene pode ocorrer devido a algumas amostras terem um número de cópias de RNA próximo ou abaixo do limite de detecção, uma diferença no desempenho de amplificação das regiões alvo, presença de mutações nas sequências dos genes alvo ou outros fatores.

² Todos os Controles Internos devem apresentar traço positivo (exponencial) de amplificação. Caso não haja amplificação do Controle Interno ou o Ct de amplificação seja superior à 40, pode haver problemas de purificação ou amostra fortemente positiva. É recomendado repetir o ensaio diluindo a amostra 1:10 ou repetir a extração para checar por possíveis problemas de inibição. Amostras fortemente positivas podem ser consideradas válidas mesmo sem a amplificação do controle interno. A ausência de amplificação do Controle Interno em amostras negativas invalida o resultado destas.

³ No caso de obter um resultado detectado inferior ao Ct de 40 para apenas gene N ou ORF1ab, o resultado deverá ser interpretado como inconclusivo para SARS-CoV-2. Para esses casos, é indicado, idealmente, a repetição a partir de uma nova coleta. Caso uma nova coleta não seja possível, a repetição do teste deverá ser feita a partir de uma nova extração do material biológico disponível.

AVISO: As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos podem apresentar aspectos diferentes.

IMPORTANTE:

- O resultado negativo pode ser devido à ausência do alvo na amostra ou a presença de uma quantidade de cópias abaixo do limite de detecção do kit.
- Existe a possibilidade de resultados falsos positivos devido à contaminação cruzada pelo SARS-CoV-2, amostras contendo altas concentrações de RNA alvo ou contaminação devido a produtos de PCR de reações anteriores.
- Existe a possibilidade de resultados falsos positivos devido à contaminação cruzada entre o Controle Interno e o Controle Positivo SARS-CoV-2, que contém uma quantidade alta de cópias do alvo, durante sua reconstituição pela adição de Água livre de RNase/DNase. Cada procedimento deve ocorrer em ordem estabelecida e em áreas de laboratório separadas.
- A PCR em tempo real do SARS-CoV-2, projetada para a detecção específica do SARS-CoV-2, na maioria das vezes não apresentou homologias combinadas significativas com

o genoma humano, outros coronavírus ou microflora humana que previssem possíveis resultados de RT-qPCR falso positivos. Mesmo assim, um alinhamento realizado com o iniciador oligonucleotídico e as sequências da sonda do gene N mostrou homologia de sequência com alguns genomas de coronavírus de morcego e pangolim.

- A detecção de SARS-CoV-2 pode ser afetada por vários fatores e suas combinações, que podem levar a resultados falsos negativos, incluindo:
 - ✓ Amostragem, transporte, armazenamento e manuseio inadequados de amostras;
 - ✓ Erros de procedimento (incluindo isolamento de RNA);
 - ✓ Degradação do RNA durante o transporte, armazenamento e/ou preparação das amostras;
 - ✓ Possíveis mutações nas regiões alvo do genoma de SARS-CoV-2 cobertas por este teste que podem resultar no RNA sendo indetectável quando a carga de patógenos está abaixo do limite de detecção para o ensaio;
 - ✓ Presença de inibidores da retrotranscrição e/ou amplificação em tempo real ou outros tipos de interferentes (não foi realizado um estudo de interferência que avaliasse o efeito de vacinas, terapia antiviral, antibióticos, quimioterápicos ou imunossupressores relacionados ao COVID-19);
 - ✓ Falha em seguir as instruções e procedimentos do fabricante.
- A detecção de RNA viral (sequências dos genes ORF1ab e/ou N) pode não indicar a presença de vírus viáveis e/ou infecciosos ou que SARS-CoV-2 é o agente causador de sintomas clínicos.
- Os resultados negativos não impedem a infecção pelo vírus SARS-CoV-2 e não devem ser a única base de uma decisão de tratamento do paciente. Os tipos de amostras para a identificação de SARS-CoV-2 e/ou estágio de infecção mais adequado para sua coleta ainda não foram estabelecidos. Considere a coleta de várias amostras do mesmo paciente em diferentes momentos, podendo assim aumentar a probabilidade de detecção do vírus.
- Se os dados clínicos do paciente, exames laboratoriais e estudos epidemiológicos sugerirem uma possível infecção por SARS-CoV-2 e outras doenças respiratórias tiverem sido descartadas, um resultado negativo falso não pode ser descartado e testes adicionais devem ser realizados.

11. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES E LIMITAÇÕES

Para o usuário deste kit recomenda-se a leitura cuidadosa e a compreensão da Instrução de Uso. A adesão estrita ao protocolo é necessária para a obtenção de resultados confiáveis.

Em particular, a veracidade da amostra, a pipetagem de reagentes, a aplicação do fluxo de trabalho correto, juntamente com a etapa da programação cuidadosa do termociclador, é essencial para resultados precisos e reprodutíveis. A determinação positiva em amostra do paciente tem implicações médicas, sociais, psicológicas e econômicas.

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER COVID-19 devem ser interpretados pelos responsáveis do laboratório levando em consideração os sintomas clínicos dos pacientes e outros parâmetros de laboratório relacionados às condições do paciente.

É recomendado que a confidencialidade, aconselhamento apropriado e avaliação médica sejam considerados aspectos essenciais na sequência de testes.

12. DESEMPENHO

12.1 SENSIBILIDADE

A sensibilidade analítica é a capacidade de um método analítico obter resultados positivos frente a resultados positivos obtidos pelo método de referência, até a menor quantidade de analito que pode ser mensurada. O limite de detecção (LOD) é a menor quantidade de cópias do alvo que pode ser detectada pelo sistema de ensaio com uma probabilidade de 95%. A sensibilidade do kit XGEN MASTER COVID-19 para cada um dos alvos está na tabela abaixo.

| CRITÉRIO | RESULTADO |
|--|----------------------|
| Sensibilidade (LOD) SARS-CoV-2 (gene ORF1ab) | 10 cópias por reação |
| Sensibilidade (LOD) SARS-CoV-2 (gene N) | 50 cópias por reação |

Sensibilidade clínica é a relação entre a presença do analito na amostra e a presença de uma determinada doença ou condição e pode ser analisada através da capacidade do kit em determinar amostras verdadeiramente positivas.

| SENSIBILIDADE CLÍNICA |
|-----------------------|
| 100% |

12.2 ESPECIFICIDADE

A especificidade analítica é a capacidade de um método analítico de determinar somente o analito frente a outras substâncias presentes na amostra. A especificidade kit XGEN MASTER COVID-19 foi confirmada através de análises de bioinformática e ferramentas de pesquisa e/ou alinhamento, como *BLAST*, *Maftt Aligment* e *Primer-BLAST*. As análises mostraram a maioria dos alvos para SARS-CoV-2. Além disso, eles não coincidem com outras sequências de ácidos nucleicos de espécies microbianas ou humanas (Coronavírus Humano cepas: 229E, HKU1, NL63, OC43, SARS-CoV e MERS-CoV).

Nenhuma reação cruzada foi detectada entre qualquer um dos seguintes microorganismos testados: *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Bordetella holmesii*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus influenzae Minna*, *Chlamydia caviae*, *Chlamydia psittaci* genótipos A e C, *Chlamydophila pneumoniae* CM-1, *Legionella bozemanii*, *Legionella micdadei*, *Legionella dumoffii*, *Legionella pneumophila*, *Legionella longbeache*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* Z022, *Staphylococcus aureus subsp. aureus*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium tuberculosis* não resistente à rifampicina, *Pneumocystis jirovecii*, vírus Influenza A (New Caledonia/20/99 (H1N1), California/7/2009 (H1N1), Michigan/45/2015 (H1N1), Singapore/GP1908/2015 (H1N1), Perth/16/2009 (H3N2), Thüringen/5/2017 (H3N2), Switzerland/9715293/2013 (H3N2), Hong Kong/4801/2014 (H3N2), DE-SH/Reiherente/AR8444/ 2016 (H5N8) e Anhui/1/2013 (H7N9)), vírus Influenza B (Brisbane/60/2008, Florida/04/06, Phuket/3073/2013), vírus da parainfluenza humana 1, 2, 3 e 4, metapneumovírus humano A e B, rinovírus humano tipo C, adenovírus humano tipos 1-5, 8, 15, 31, 40 e 41, bocavírus humano, vírus sincicial respiratório (RSV) A e B, coronavírus humanos 229E, OC43, NL63, HKU1, MERS, e SARS cepa Frankfurt 1.

A especificidade clínica é a relação entre a ausência do analito na amostra e a ausência de uma determinada doença ou condição e pode ser analisada através da capacidade do kit em determinar amostras verdadeiramente negativas.

| ESPECIFICIDADE CLÍNICA |
|------------------------|
| 100% |

12.3 EXATIDÃO

Não aplicável.

12.4 PRECISÃO

O ensaio de precisão foi realizado através do resultado de um mesmo analito medido diversas vezes sob mesmas condições operacionais (repetibilidade) e sob condições operacionais distintas (reprodutibilidade). O resultado pode ser visualizado através do coeficiente de variação (CV%). Assim, os resultados foram estabelecidos conforme tabela abaixo.

| CRITÉRIO | RESULTADO |
|-------------------|-----------|
| Repetibilidade | CV% < 5% |
| Reprodutibilidade | CV % < 5% |

13. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

14. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

15. REQUISITOS

Profissional com conhecimentos em biologia molecular.

16. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Os resultados obtidos com o kit XGEN MASTER COVID-19 devem ser interpretados pelos responsáveis do laboratório levando em consideração os sintomas clínicos dos pacientes e outros parâmetros de laboratório relacionados às condições do paciente.

Se um ou mais dos problemas descritos na tabela abaixo forem recorrentes, deve-se realizar uma investigação e para que se tomem ações a fim de evitá-los.

| PROBLEMA | CAUSA | SOLUÇÃO |
|---|--|---|
| Controle positivo sem sinal de amplificação | Configuração incorreta da temperatura na programação da PCR no equipamento. | Verificar se a configuração está de acordo com a instrução de uso. |
| | Aplicação incorreta do CP. | Verificar as etapas de trabalho por meio do esquema de pipetagem e repetir o procedimento, se necessário. |
| | Homogeneização inadequada ou descongelamento em temperatura diferente da recomendada (ambiente). | Conferir a calibração das micropipetas. |
| | Condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não estão de acordo com a | Verificar as condições de armazenamento e a data de |

| | | |
|--|--|--|
| | instrução de uso ou a data de validade do kit expirou. | validade (verificar na etiqueta do produto) dos reagentes e repetir o procedimento, se necessário. |
| Controle interno com sinal fraco ou sem sinal de amplificação | As condições da PCR não cumprem o protocolo. | Verificar as condições da PCR e repetir o procedimento de acordo com a instrução de uso, se necessário. |
| | Possibilidade de inibição, erro no procedimento ou mau funcionamento do equipamento. | Verificar se nenhum potencial inibidor de PCR contaminou os tubos. |
| | | Sinal positivo muito forte de um alvo pode, por vezes, inibir a fluorescência do Controle Interno. |
| | | Verificar se as análises foram realizadas com a configuração correta do equipamento. |
| | Problemas durante a extração. | Verificar se o método de extração utilizado é compatível com o kit e se o procedimento foi executado corretamente. |
| Controle negativo com sinal de amplificação | Contaminação durante a extração ou durante a preparação da PCR. | Repetir a PCR com novos reagentes em replicatas. |
| | | É recomendado realizar a pipetagem do Controle Positivo após todos os outros reagentes. |
| | | Certificar-se de que o local de trabalho e os instrumentos são descontaminados em intervalos regulares. |

17. ALERTAS E PRECAUÇÕES

Não aplicável.

18. GARANTIA

A Mobius Life Science fornece garantia de todos os produtos por ela revendidos.

O produto XGEN MASTER COVID-19 é garantido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

18.1 EXCEÇÕES NA GARANTIA

- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.

18.2 EXTINÇÃO DA GARANTIA

- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

- A Mobius não se responsabiliza por resultados/diagnósticos que sejam obtidos através da utilização de equipamentos e amostras não previstas na instrução de uso.

19. INFORMAÇÕES DO FABRICANTE LEGAL E IMPORTADOR

FABRICADO POR:

Mobius Life Science Indústria e Comércio de Produtos para Laboratórios Ltda.

Rua Jandaia do Sul 441 - Pinhais - PR - CEP: 83.324-440

Telefone: (41) 3401-1850 | 0800-7101850

E-mail: suporte@mobiuslife.com.br | Website: www.mobiuslife.com.br

CNPJ: 04.645.160/0001-49

20. REGISTRO ANVISA

80502070088