

## INSTRUÇÕES DE USO

### XGEN MULTI *C. ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T. VAGINALIS*

KIT MULTIPLEX PARTA DETECÇÃO DE *CANDIDA ALBICANS*, *GARDNERELLA VAGINALIS* E *TRICHOMONAS VAGINALIS*

#### 1. FINALIDADE E MODO DE USO

O kit XGEN MULTI *C. ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T. VAGINALIS* é um teste de PCR em tempo real desenhado para a identificação e diferenciação de *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras clínicas de pacientes com sinais e sintomas de infecção vaginal.

O DNA é extraído de amostras clínicas e posteriormente amplificado por PCR em tempo real, sendo detectado através de sondas específicas para *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*.

PRODUTO PARA USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

##### 1. 1 INTRODUÇÃO

Infecções por *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans* e *Gardnerella vaginalis* estão entre as principais causas de corrimento vaginal anormal.

*Candida albicans* é um fungo oportunista comum que habita as superfícies da mucosa humana e pode causar infecções, principalmente em pacientes imunocomprometidos e cirúrgicos de alto risco. A infecção por *C. albicans* está entre as principais causas de corrimento vaginal anormal.

*Gardnerella vaginalis* é uma bactéria anaeróbia pertencente à família Bifidobacteriaceae e é a espécie dominante envolvida na vaginose bacteriana (VB). Embora a VB seja uma condição polimicrobiana sem agente causador único, 100% das mulheres com VB são colonizadas por *G. vaginalis*. Esta bactéria também é um comensal normal da microflora vaginal em mulheres saudáveis.

A infecção por *Trichomonas vaginalis* é uma das infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) mais comuns do mundo. *T. vaginalis* é um protozoário flagelado pertencente à ordem Trichomonadida e se localiza no trato urogenital masculino e feminino, mas também foi isolado do trato respiratório de bebês e adultos. Nas mulheres, pode ser encontrado na vagina e na uretra, enquanto nos homens pode ser encontrado na uretra, próstata e epidídimo. A infecção por *T. vaginalis* tem sido associada a vaginite, cervicite e uretrite, ruptura prematura de membranas e parto prematuro em mulheres grávidas. A infecção por *T. vaginalis* também tem demonstrado correlação com o risco aumentado de aquisição e transmissão de HIV em mulheres.

Neste contexto, a PCR em tempo real é a técnica mais adequada para a detecção de *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* e *Trichomonas vaginalis*, devido a sua alta sensibilidade e especificidade, encurtando o tempo de detecção.

#### 2. ARMAZENAMENTO E MANUSEIO

Os componentes do kit devem ser transportados e armazenados na embalagem original à temperatura de 2°C a 40°C, até a data de validade indicada no rótulo. Após reconstituída, a MMix deve ser armazenada de 2°C a 8°C por até 4 horas ou para longos períodos, armazenar a -20°C. Uma vez reconstituído, o Controle Positivo deverá ser armazenado a -20°C. É

recomendado separar em alíquotas o Controle Positivo e a MMix para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento. O Controle Positivo e a MMix são estáveis por até 6 ciclos de congelamento e descongelamento. Manter os componentes protegidos da exposição à luz. Uma vez ressuspenso, o Controle de Extração (CI) deve ser armazenado a -20°C. A recomendação é separá-lo em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

### 3. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

A detecção dos patógenos é feita através da amplificação de sequências alvo no mesmo poço de reação, através de *primers* e sondas específicas. Após o isolamento do DNA, a identificação é realizada pela amplificação específica da sequência repetitiva de 2kb de *T. vaginalis*, região conservada do gene do RNA ribossomal 5.8S para *C. albicans* e gene do RNA ribossomal 16S para *G. vaginalis*.

O kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS é baseado na atividade exonuclease 5' da DNA polimerase. Durante a amplificação do DNA, esta enzima cliva a sonda ligada a sequência de DNA complementar, separando o *quencher* do *reporter*. Essa reação gera um aumento no sinal fluorescente que é proporcional à quantidade de sequência alvo. Essa fluorescência pode ser medida em plataformas de PCR em tempo real.

### 4. AMOSTRA

#### 4.1 TIPOS

O kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS foi validado com DNA extraído de amostras de *swab* endocervical, *swab* vaginal e *swab* vagino-retais, urina, plasmas, lavado broncoalveolar, solução salina, escarro e amostras em meio de transporte. Outros tipos de amostras podem ser validados pelo usuário.

#### 4.2 CONDIÇÕES PARA COLETA

As amostras clínicas devem ser coletadas e rotuladas adequadamente 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.

#### 4.3 MANUSEIO

##### IMPORTANTE:

Os resultados do teste devem ser avaliados por um profissional de saúde no contexto da história médica, sintomas clínicos e outros testes de diagnóstico.

#### 4.4 PREPARO E PRESERVAÇÃO

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. Nesse caso, 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. Para extração de DNA a partir de amostras clínicas, 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, 1µl de controle interno deve ser adicionado à mistura de reação reconstituída.

**IMPORTANTE 1:** Os resultados do teste devem ser avaliados por um profissional de saúde no contexto da história médica, sintomas clínicos e outros testes de diagnóstico.

**IMPORTANTE 2:** 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 24, 48 e 96 testes.

COMPONENTES	CONTEÚDO	QUANTIDADE		
		24 TESTES XG-CGT-MB-24	48 TESTES XG-CGT-MB-48	96 TESTES XG-CGT-MB-96
MMIX	Mistura de enzima, sondas, primers, tampão e dNTPs liofilizada	1 tubo	2 tubos	4 tubos
TR	Tampão de Reidratação	1 x 1,8 mL	1 x 1,8 mL	1 x 1,8 mL
CP	Controle Positivo contendo cDNA sintético liofilizado	1 Tubo	1 Tubo	1 Tubo
CI	Controle Interno	1 Tubo	1 Tubo	1 Tubo
CN	Controle Negativo	1 x 1 mL	1 x 1 mL	1 x 1 mL
ÁGUA LIVRE DE DNASE/RNASE	Água Livre de DNase/RNase	1 x 1 mL	1 x 1 mL	1 x 1 mL

### 5.1 PREPARO E PRESERVAÇÃO DOS REAGENTES

#### 5.1.1 MMIX

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 MMIX 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 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  $-20^{\circ}\text{C}$ . É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

### 5.1.3 CI

Antes de utilizar, centrifugar brevemente (pulso) para concentrar o componente no fundo do tubo. Recomenda-se abrir e manipular o Controle Interno (CI) na área do laboratório de pré-PCR longe de o controle positivo liofilizado. O CI deve ser reconstituído adicionando 500  $\mu\text{L}$  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  $-20^{\circ}\text{C}$ . É recomendado separar em alíquotas para minimizar os ciclos de congelamento e descongelamento.

### 5.1.4 CN

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  $\mu\text{L}$  < volume < 1.000  $\mu\text{L}$ );

**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  $\pm 5\%$ .

✓ 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.

## 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 ponteiros descartáveis, trocando-as após a manipulação de cada reagente para evitar contaminações cruzadas. Da mesma forma, trocar as ponteiros 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 MULTI C. *ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T. VAGINALIS* 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.

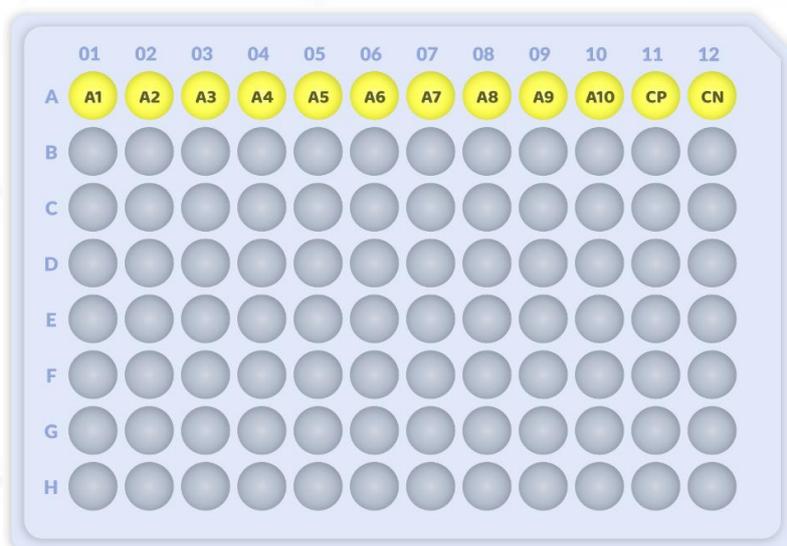
### 10.2 PROCEDIMENTO DE AMPLIFICAÇÃO

- Adicionar 15 µL da MMIX 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.

Abaixo está um 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 (MMIX)

**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
Hold	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.

ALVO	REPÓRTER
<i>Trichomonas vaginalis</i>	FAM

<i>Candida albicans</i>	ROX
<i>Gardnerella vaginalis</i>	Cy5
Controle Interno	JOE/VIC/HEX

### 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 <sup>1</sup>	≤40	Inválido
Controle Positivo	≤40 <sup>2,3</sup>	≤40 <sup>4</sup>	Válido

#### NOTAS:

<sup>1</sup> 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.

<sup>2</sup> Controle Positivo e qualquer amostra positiva irá mostrar curva exponencial de fluorescência. Qualquer amostra exibindo um traço exponencial é considerada positiva.

<sup>3</sup> As sondas possuem diferentes níveis de fluorescência, por isso as curvas para diferentes alvos apresentam aspectos diferentes.

<sup>4</sup> 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

Qualquer amostra exibindo um traço exponencial é considerada positiva.

ALVOS	CI (JOE/VIC)	RESULTADO DO ENSAIO
Ct < 40	Determinado	Positivo Válido
	Indeterminado	Positivo Válido <sup>1</sup>
Ct ≥ 40 ou	< 40	Negativo Válido

Indeterminado/Não detectado	$Ct \geq 40$ ou indeterminado	Inválido <sup>2</sup>
-----------------------------	-------------------------------	-----------------------

**NOTAS:**

<sup>1</sup> A concentração de DNA dos alvos (sinal FAM, ROX e/ou Cy5 positivos) pode levar a um sinal REDUZIDO ou AUSENTE do Controle Interno devido à competição entre os reagentes.

<sup>2</sup> Nestes casos podem ocorrer problemas durante a etapa de amplificação (ineficiência ou ausência de amplificação) ou durante a etapa de extração (presença de inibidores ou amostras iniciais contendo número insuficiente de células), o qual pode levar a resultados incorretos e falsos negativos. O procedimento deve ser repetido iniciando a partir da etapa de extração usando amostra fresca vinda do paciente.

A tabela a seguir pode ser utilizada como auxiliar na interpretação dos resultados:

Trichomonas vaginalis (FAM)	Candida albicans (ROX)	Gardnerella vaginalis (Cy5)	CI (HEX)	CN	CP	Interpretação
+	+	+	+/-	-	+	Positivo para Trichomonas vaginalis, Candida albicans e Gardnerella vaginalis
-	-	-	+	-	+	Negativo para Trichomonas vaginalis, Candida albicans e Gardnerella vaginalis
+	-	-	+/-	-	+	Positivo para Trichomonas vaginalis; negativo para Candida albicans e Gardnerella vaginalis
+	+	-	+/-	-	+	Positivo para Trichomonas vaginalis e Candida albicans; negativo para Gardnerella vaginalis
+	-	+	+/-	-	+	Positivo para Trichomonas vaginalis e Gardnerella vaginalis; negativo para Candida albicans
-	+	-	+/-	-	+	Positivo para Candida albicans; negativo para Trichomonas vaginalis e Gardnerella vaginalis

						Gardnerella vaginalis
-	+	+	+/-	-	+	Positivo para Candida albicans e Gardnerella vaginalis; negativo para Trichomonas vaginalis
-	-	+	+/-	-	+	Positivo para Gardnerella vaginalis; negativo para Trichomonas vaginalis e Candida albicans
-	-	-	-	-	+	Falha no teste - recomendada repetição
+	+	+	+	+	-	Falha no teste - recomendada repetição

+: com curva de amplificação

-: sem curva de amplificação

## 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 MULTI *C. ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T. VAGINALIS* 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 do 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 MULTI *C. ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T* para cada um dos alvos está na tabela abaixo.

ALVO	SENSIBILIDADE
------	---------------

Sensibilidade (LOD) <i>Candida albicans</i>	10 cópias por reação
Sensibilidade (LOD) <i>Gardnerella vaginalis</i>	10 cópias por reação
Sensibilidade (LOD) <i>Trichomonas vaginalis</i>	10 cópias por reação

## 12.2 ESPECIFICIDADE

Já 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 MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS foi confirmada por um painel de testes composto por diferentes microrganismos que representam os patógenos ou flora entéricos e geniturinários mais comuns presentes no trato gastrointestinal ou sistema urogenital. Nenhuma reação cruzada foi detectada entre qualquer um dos seguintes microrganismos testados: *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Bacteroides fragilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Chlamydia trachomatis* (LGV), *Chlamydia trachomatis* (SW), *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* 0.1285, *Escherichia coli* O18:H7:K1, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducrey*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria ivanovii*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Treponema pallidum*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, Citomegalovirus, Hepatite A, Papilomavírus humano genótipo 16 e 18, HSV-1 e HSV-2.

## 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%

## 12.5 SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

Para determinar a precisão do diagnóstico clínico do kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS foi realizado um estudo comparativo-retrospectivo desenhado para a avaliação clínica do kit em comparação com o método de referência utilizado em laboratório para o diagnóstico de vaginite (vaginose bacteriana, candidíase vulvovaginal (CVV) e tricomoníase).

Esta análise comparativa foi realizada usando 232 espécimes do trato genital e retal (vaginoretal, esfregaços vaginais e uretrais) de pacientes sintomáticos (principalmente mulheres, mas também homens) com suspeita de infecção por vaginite coletada durante 2018-2019 nos

serviços hospitalares do Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa (HCULB, Zaragoza), o Hospital Germans Trias I Pujol (Barcelona) e o Hospital Ernest Lluch (Calatayud).

Por fim, de acordo com o diagnóstico inicial, 51 amostras foram negativas para os três patógenos estudados e 181 foram positivas para pelo menos um dos três patógenos. Os dados de sensibilidade e especificidade do kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS foram calculados usando intervalo de confiança de 95% para cada patógeno considerando os métodos convencionais (cultura e microscopia), como método padrão-ouro.

Os resultados foram concordantes para 227 espécimes (97,84% de concordância geral), incluindo 179 positivos e 48 amostras negativas em comparação com as técnicas utilizados no diagnóstico de rotina.

ALVOS	Métodos convencionais (cultura e microscopia)			
XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS	<b>T. vaginalis - Cultura</b>			
		+	-	Total
	+	52	3*	55
	-	0	177	177
	Total	52	180	232
	<b>C. albicans - Cultura e microscopia</b>			
		+	-	Total
	+	88	0	88
	-	2	142	144
	Total	90	142	232
	<b>G. vaginalis - Coloração de Gram</b>			
		+	-	Total
	+	152†	2	154
	-	0	78	78
	Total	152	80	232

Resultados comparativos obtidos com 232 amostras clínicas utilizando o kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS e métodos de diagnóstico considerados padrão ouro.

\*Amostras também foram analisadas em microscópio, com presença de *T. vaginalis*, cultura não foi solicitada. Coinfecção com *C. trachomatis* e *C. albicans* foram encontradas e relatadas como agente causador.

† As 152 amostras continham *G.vaginalis*, porém não foram relatados como o principal patógeno. 25/152 foram coinfeções de *T. vaginalis*, 62/152 foram coinfeções por *Candida* spp., 25/152 foram coinfeções por *C. trachomatis*, 4 foram coinfeções de *S. agalactiae*, 6 foram coinfeções de *N. gonorrhoeae* e 2 foram coinfeções de *U. urealyticum*.

XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS x Diagnósticos de rotina			
	Cultura T. vaginalis	Cultura e microscopia C. albicans	Coloração de Gram G. vaginalis
<b>Sensibilidade</b>	1 (0,91 - 1)	0,97 (0,91 - 0,99)	1 (0,96 - 1)
<b>Especificidade</b>	0,99 (0,96 - 0,99)	1 (0,96 - 1)	0,97 (0,9 - 0,99)

<b>Concordância total</b>	99,56%	99,13%	99,13%
---------------------------	--------	--------	--------

Sensibilidade, especificidade (intervalo de confiança de 95%) e concordância total do kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS em comparação com metodologias de diagnóstico de rotina.

### 13. RISCOS RESIDUAIS

Não aplicável.

### 14. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Não aplicável.

### 15. REQUISITOS

Usuário profissional com conhecimentos em biologia molecular.

### 16. SOLUÇÕES DE PROBLEMAS

Os resultados obtidos com o kit XGEN MULTI C. ALBICANS, G. VAGINALIS & T. VAGINALIS 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
<b>CONTROLE POSITIVO SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	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 ambiente.	Conferir a calibração das micropipetas.
	Condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não estão de acordo com a instrução de uso ou a data de validade do kit expirou.	Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (verificar na etiqueta do produto) dos reagentes e repetir o procedimento, se necessário.
<b>CONTROLE INTERNO COM SINAL FRACO OU SEM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	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	Verificar se nenhum potencial inibidor de PCR contaminou os

	funcionamento do equipamento.	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.
<b>CONTROLE NEGATIVO COM SINAL DE AMPLIFICAÇÃO</b>	Contaminação durante a extração ou durante a preparação da PCR.	Repetir a PCR com novo 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.

**IMPORTANTE:** A interpretação dos resultados deve ser feita sob a supervisão do responsável do laboratório para reduzir o risco de erros e resultados mal interpretados. Quando os resultados do laboratório são transmitidos do laboratório para o centro de informática, deve-se prestar muita atenção para evitar erro na transferência de dados.

## 17. ALERTAS E PRECAUÇÕES

Não aplicável.

## 18. GARANTIA

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

O produto XGEN MULTI C. *ALBICANS*, *G. VAGINALIS* & *T. VAGINALIS* 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



**FABRICANTE:**

CERTEST BIOTEC

Endereço: Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza, Espanha.

**IMPORTADO 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](mailto:suporte@mobiuslife.com.br) | Website: [www.mobiuslife.com.br](http://www.mobiuslife.com.br)

CNPJ: 04.645.160/0001-49

**20. REGISTRO ANVISA**

80502070108