



1. NOME COMERCIAL

Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias.

2. DADOS DO FABRICANTE

INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR DO PARANÁ – IBMP
CNPJ: 03.585.986/0001-05
RUA PROFESSOR ALGACYR MUNHOZ MADER, 3.775 | CEP
81350-010 – CURITIBA – PARANÁ – BRASIL
Suporte e Assessoria Científica: 0800 400 4267
Horário de atendimento: segunda à sexta-feira, das 8:30 às 16:30
(exceto feriados).
sac@ibmp.org.br | www.ibmp.org.br

3. APRESENTAÇÃO

Kit contendo um módulo de amplificação, suficiente para 96 determinações de cada alvo.

4. FINALIDADE

Este produto se destina à detecção qualitativa (presença/ausência) do material genético de Influenza A (FluA), Influenza B (FluB), SARS-CoV-2, Adenovírus (AdV), Vírus Sincicial Respiratório (RSV), Rinovírus/Enterovírus (hRV/EV), Parainfluenza 1 (hPIV1), Parainfluenza 3 (hPIV3) e Metapneumovírus (hMPV), extraído de amostras de trato respiratório, obtidas de pacientes com suspeita de infecção ou coinfeção por esses patógenos. O resultado obtido pode ser utilizado, em conjunto com os dados clínicos e epidemiológicos do paciente, para auxiliar o diagnóstico de infecções respiratórias, síndromes gripais e Síndrome Respiratória Aguda Grave.

USO EM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

5. USUÁRIO PRETENDIDO

O teste deve ser realizado por profissionais da área de saúde com conhecimento em biologia molecular, especificamente em testes diagnósticos baseados em PCR em tempo real.

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO OU MANUSEIO

O armazenamento do produto deve ser feito entre -30°C e -15°C. A temperatura indicada para manipulação do produto é entre 15°C e 30°C.

A manipulação do conteúdo de cada módulo de amplificação deve ser feita com luvas descartáveis sem pó.

7. PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

O Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias utiliza a técnica da transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR).

A reação de RT-qPCR permite a detecção de sequências nucleotídicas específicas no genoma dos patógenos, em DNA (Adenovírus) ou RNA (demais alvos) extraído de amostras de

trato respiratório. Para os alvos de RNA, nesta técnica, ocorre uma etapa de transcrição reversa (geração de cDNA a partir do RNA extraído da amostra biológica) seguida da qPCR, na qual ocorre a avaliação da intensidade de fluorescência capturada ao final de cada ciclo da PCR. Para o alvo de DNA, a molécula participa da reação em cadeia da polimerase sem a necessidade da etapa de transcrição reversa. A detecção do alvo ocorre da mesma forma, através da detecção de intensidade de fluorescência ao final de cada ciclo da PCR.

O Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias permite a identificação e diferenciação dos vírus respiratórios, além da detecção de um controle interno (CI) endógeno. A detecção da presença de ácidos nucleicos dos alvos virais e do CI é feita através da utilização de sondas de hidrólise específicas para cada alvo molecular (oligonucleotídeos marcados com fluorescência), em reação multiplex.

O teste é realizado através do preparo de três misturas de reação multiplex, que permitem a detecção para todos os patógenos em reações distintas, sendo Reação I: Influenza A, Influenza B, SARS-CoV-2 e CI; Reação II: Adenovírus, Vírus Sincicial Respiratório, Rinovírus/Enterovírus e CI; e Reação III: Parainfluenza 1, Parainfluenza 3, Metapneumovírus e CI.

A geração de uma curva de amplificação com formato típico para os alvos moleculares pesquisados demonstra uma reação com resultado detectável para a amostra. Amostras com resultados não detectáveis para os alvos moleculares pesquisados devem apresentar amplificação apenas do CI. A amplificação do CI indica o funcionamento adequado da reação (reagentes e operador), além de refletir a qualidade do material genético extraído da amostra. Caso o CI não seja detectado, a amostra deve ter seu material genético extraído novamente. Entretanto, é importante ressaltar que amostras apresentando amplificação para os alvos moleculares do patógeno devem ter seu resultado considerado válido independente da amplificação do CI.

O kit possui um Controle Positivo (CP) sintético biosseguro (que não oferece risco biológico aos operadores ou ao ambiente), que deve apresentar resultado detectável para todos os alvos moleculares pesquisados, incluindo o CI. O kit também possui um Controle Negativo (CN) que avalia as condições ambientais e experimentais e que deve apresentar resultado não detectável para todos os alvos pesquisados exceto CI.

Esse kit foi desenvolvido para a realização de análises de perfil qualitativo, ou seja, avalia apenas a presença ou ausência dos alvos moleculares. O produto não é validado para análise quantitativa.

Produto validado para uso com os seguintes termocicladores: 7500 Real-Time PCR System, QuantStudio 5 (Applied Biosystems), Amplio96 (Loccus) e CFX96 (BioRad).

8. TIPO DE AMOSTRAS OU MATRIZES APLICÁVEIS

Amostras de DNA e RNA extraído de coleta com *swab* naso ou orofaríngeo acondicionadas em meio de transporte viral.

8.1. Condições para coleta, manuseio, preparo e preservação de amostras

A coleta deve ser realizada conforme métodos de coleta de rotina para a matriz preconizada, com cuidado, a fim de evitar a contaminação com outras amostras coletadas simultaneamente.

Amostra respiratória

As amostras devem ser coletadas conforme métodos de coleta de rotina através de *swab* nasal ou nasofaríngeo e mantidas em meio de manutenção viral. Recomenda-se que a coleta seja realizada, preferencialmente, entre o 3º e o 7º dia após o início dos sintomas.

Após a coleta, as amostras devem ser transportadas e permanecer armazenadas entre -30°C e -15°C por até 3 meses, ou por períodos superiores a temperaturas entre -90°C e -70°C.

8.2. Extração de DNA e RNA

Deve-se realizar a extração de DNA e RNA das amostras primárias utilizando metodologia adequada para a matriz biológica preconizada para o teste, e que permita DNA e RNA cuja qualidade e integridade resulte no atendimento aos critérios de análise estabelecidos no item 14.2 desta Instrução de Uso.

8.3. Cuidados no armazenamento e manuseio do DNA e RNA extraídos

– DNA e RNA extraídos devem ser armazenados entre -90°C e -70°C;

– Usar sempre luvas descartáveis sem pó durante o manuseio do DNA e RNA para prevenir contaminação por nucleases. Mãos e partículas de poeira podem carrear microrganismos, que são as fontes mais comuns desse tipo de contaminante;

– Manter os tubos contendo DNA e RNA fechados durante os procedimentos. Abrir um tubo de cada vez para realizar a adição à mistura de reação, para evitar que haja contaminação cruzada entre as amostras.

9. DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias é composto por um módulo de amplificação contendo:

- 01 microtubo de Oligomix I contendo 1000 µL (Reação I);
- 01 microtubo de Oligomix II contendo 1000 µL (Reação II);
- 01 microtubo de Oligomix III contendo 1000 µL (Reação III);
- 01 microtubo de Tampão de Reação para as Reações I, II e III contendo 1700 µL;
- 01 microtubo de Enzima Taq para as Reações I, II e III contendo 140 µL;
- 01 microtubo de Enzima RT para as Reações I, II e III contendo 170 µL;
- 01 microtubo de Controle Positivo (CP) contendo 170 µL;
- 01 microtubo de Controle Negativo (CN) contendo 170 µL.



9.1. Materiais necessários não fornecidos com o produto

- Adesivo não-óptico;
- Adesivo óptico;
- Agitador tipo vórtex;
- Banho de gelo ou estante refrigerada para microtubos de 1,5 ou 2,0 mL;
- Cabine do tipo PCR *Workstation*;
- Caneta para marcação permanente em plástico;
- Centrifuga para microtubos de 1,5 a 2,0 mL;
- Centrifuga para placas de 96 posições;
- Consumíveis e materiais para coleta e armazenamento da amostra primária;
- Equipamento de PCR em tempo real;
- Equipamentos de proteção individual (jaleco, máscara descartável, touca, luvas descartáveis sem pó, protetores de barba, óculos de segurança);
- Kit de extração de DNA e RNA;
- Micropipetas de precisão (0,5-10 µL 10-100 µL e 100-1000 µL);
- Microtubos de 1,5 ou 2,0 mL, estéreis e livres de nucleases;
- Placa de PCR (96 poços);
- Ponteiros livres de RNAses e DNAses com filtro (0,5-10 µL, 10-100 µL e 100-1000 µL);
- Recipientes para descarte de resíduos;
- Suporte/estante para microtubos de 1,5 a 2,0 mL.

10. ESTABILIDADE DO PRODUTO EM USO

Esse é um produto de uso múltiplo.

O estudo de estabilidade demonstrou que o produto mantém sua qualidade por até 10 ciclos de descongelamento, após os quais eventuais sobras de reagentes devem ser descartadas.

Não é recomendado o congelamento/descongelamento da mistura de reação após o preparo.

11. PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS ANTES DA UTILIZAÇÃO DO PRODUTO

No momento do uso, os reagentes e amostras de DNA e RNA extraídos devem ser descongelados, centrifugados brevemente e mantidos sob refrigeração utilizando banho de gelo ou estante refrigerada.

12. PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE

- Utilizar equipamentos de proteção individual (EPI) tais como jaleco, máscara descartável, touca e luvas sem pó descartáveis, protetores de barba e óculos de segurança para a manipulação de amostras e reagentes;
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ou manusear lentes de contato nas áreas laboratoriais;
- Não utilizar componentes do teste que estejam vencidos;
- A utilização das micropipetas deve respeitar a faixa de operação do instrumento;
- Evitar abrir a placa de PCR após a reação de amplificação para reduzir riscos de contaminação do ambiente;

– Realizar a manipulação de reagentes e amostras de DNA e RNA no interior de cabines tipo PCR *Workstation*.

13. PROCEDIMENTOS PARA O USO DO PRODUTO

13.1. Preparo das misturas de reação

Atenção: É necessário preparar três misturas de reação separadamente: Reação I, Reação II e Reação III.

– Identificar o número de reações a serem realizadas, considerando a necessidade de inclusão de pelo menos um controle positivo e um controle negativo em cada corrida **para cada mistura de reação**;

– Elaborar o mapa da placa de reação, identificando os poços a serem utilizados e a posição de aplicação de cada amostra, dos controles positivos e dos controles negativos;

– Calcular, conforme os volumes apresentados na Tabela 1, os volumes necessários para realização da corrida;

OBS.: Os volumes indicados não contemplam eventual perda durante o processo de pipetagem.

Tabela 1. Receita para preparo das misturas de reação I, II e III do Kit IBMP Biomol Painel de Vírus Respiratórias.

Componente	Volume para uma reação
Tampão de Reação	5 µL
Enzima Taq	0,4 µL
Enzima RT	0,5 µL
Oligomix I ou II ou III	9,1 µL
Total	15 µL

– Na área física apropriada, identificar os microtubos de 1,5 ou 2,0 mL para preparo das misturas de reação;

– Adicionar aos microtubos, devidamente identificados, os componentes e volumes listados na Tabela 1, ajustados ao número de reações a serem realizadas;

– Homogeneizar gentilmente por vórtex suave, pipetagem ou tamborilando e centrifugar brevemente (*spin*);

– Distribuir 15 µL das misturas de reação em cada poço da placa de PCR de 96 poços, seguindo o mapa da placa de reação;

– Selar a placa com adesivo não-óptico para transferi-la até a área de manipulação de amostras de ácidos nucleicos.

13.2. Adição de amostras e controles

– Em área física apropriada e seguindo o mapa da placa de reação, adicionar 5 µL de cada amostra de DNA e RNA extraídos nos poços correspondentes na placa de reação;

OBS.: Cada amostra será pipetada três vezes na placa, uma vez para cada mistura de reação. Utilizar uma ponteira nova a cada poço da placa.

– Adicionar 5 µL do Controle Positivo (CP) nos poços correspondentes na placa de reação;

OBS.: Cada Controle Positivo será pipetado três vezes na placa, uma vez para cada mistura de reação. Utilizar uma ponteira nova a cada poço da placa.

– Adicionar 5 µL de Controle Negativo (CN) nos poços correspondentes na placa de reação;

OBS.: Cada Controle Negativo será pipetado três vezes na placa, uma vez para cada mistura de reação. Utilizar uma ponteira nova a cada poço da placa.

– Selar a placa de reação com adesivo óptico;

– Centrifugar a placa brevemente (*spin*).

13.3. Configurações de detecção e termociclagem

– Configurar o software do equipamento conforme o mapa da placa de reação estabelecido pelo usuário, identificando a posição de cada amostra, do controle positivo e do controle negativo;

– Configurar as fluorescências para cada canal conforme a Tabela 2.

Tabela 2. Alvos e fluorescências/canais a serem configurados para a análise.

Reação	Alvo	Fluoróforo repórter	Quencher
I	FluA	FAM	None
	FluB	VIC	None
	SARS-CoV-2	Texas Red/ROX*	None
	CI	Cy5	None
II	AdV	FAM	None
	hRV/EV	VIC	None
	RSV	Texas Red/ROX*	None
III	CI	Cy5	None
	hPIV1	FAM	None
	hPIV3	VIC	None
	hMPV	Texas Red/ROX*	None
	CI	Cy5	None

* Selecionar o canal de acordo com o termociclador em tempo real: TexasRed para 7500, Amplio96 e CFX96; ROX para QuantStudio 5.

– Selecionar a referência passiva do equipamento como NONE, quando aplicável;

– Configurar os parâmetros de termociclagem da reação conforme a Tabela 3.



Tabela 3. Parâmetros de termociclagem para o kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo	Número de ciclos
Estágio 1	50	15 minutos	01
Estágio 2	95	2 minutos	01
Estágio 3	95	15 segundos	40
	55*	30 segundos	

* Estágio para captura de fluorescência.

– Salvar arquivo e iniciar a corrida no equipamento.

14. ANÁLISE DOS RESULTADOS

14.1. Parâmetros de análise dos resultados

Para a análise de resultados, devem ser adotados os parâmetros descritos nas Tabelas 4, 5, 6 ou 7, de acordo com o equipamento e reação.

Tabela 4. Parâmetros analíticos a serem utilizados no equipamento 7500.

Reação	Alvo	Threshold	Baseline
I	FluA	15.000	3 – 15
	FluB	6.500	3 – 15
	SARS-CoV-2	20.000	3 – 15
	CI	15.000	3 – 15
II	AdV	60.000	3 – 15
	hRV/EV	50.000	3 – 15
	RSV	60.000	3 – 15
	CI	20.000	3 – 15
III	hPIV1	200.000	6 – 15
	hPIV3	50.000	6 – 15
	hMPV	50.000	6 – 15
	CI	30.000	6 – 15

Tabela 5. Parâmetros analíticos a serem utilizados no equipamento QuantStudio 5.

Reação	Alvo	Threshold	Baseline
I	FluA	15.000	3 – 15
	FluB	6.500	3 – 15
	SARS-CoV-2	20.000	3 – 15
	CI	15.000	3 – 15
II	AdV	20.000	3 – 15
	hRV/EV	30.000	3 – 15
	RSV	30.000	3 – 15

III	CI	10.000	3 – 15
	hPIV1	60.000	6 – 15
	hPIV3	10.000	6 – 15
	hMPV	15.000	6 – 15
	CI	15.000	6 – 15

Tabela 6. Parâmetros analíticos a serem utilizados no equipamento Amplio96*.

Reação	Alvo	Threshold	Baseline
I	FluA	100	AUTO
	FluB	50	AUTO
	SARS-CoV-2	100	AUTO
	CI	100	AUTO
II	AdV	150	AUTO
	hRV/EV	300	AUTO
	RSV	200	AUTO
	CI	100	AUTO
III	hPIV1	400	AUTO
	hPIV3	200	AUTO
	hMPV	200	AUTO
	CI	200	AUTO

* Necessário ativar o modo *Hypersensitive* para a análise.

Tabela 7. Parâmetros analíticos a serem utilizados no equipamento CFX96.

Reação	Alvo	Threshold	Baseline
I	FluA	45	AUTO
	FluB	25	AUTO
	SARS-CoV-2	60	AUTO
	CI	100	AUTO
II	AdV	100	AUTO
	hRV/EV	120	AUTO
	RSV	100	AUTO
	CI	100	AUTO
III	hPIV1	350	AUTO
	hPIV3	200	AUTO
	hMPV	90	AUTO
	CI	100	AUTO

14.2. Interpretação dos resultados

– Para que uma corrida seja considerada válida, os Controles Positivos (CP) devem apresentar amplificação para os quatro

alvos avaliados (virais e controle interno) de acordo com a mistura de reação, apresentando Ct ≤ 35;

– Para que uma corrida seja considerada válida, os Controles Negativos (CN) não devem apresentar amplificação para nenhum dos alvos virais e devem apresentar amplificação do controle interno com Ct ≤ 30;

– Para que uma amostra seja considerada negativa, não deve apresentar amplificação nos alvos virais, e deve apresentar amplificação do controle interno com Ct < 35;

– Para que uma amostra seja considerada positiva, deve apresentar amplificação com curva de perfil típico para o(s) alvo(s) virais com Ct < 35, mesmo se não houver amplificação do controle interno.

Os critérios para interpretação de resultados estão descritos nas Tabelas 8, 9 e 10.

Tabela 8. Critérios para interpretação de resultados do kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias – Reação I.

Amostra				CP	CN	Resultado
FluA	FluB	SARS-CoV-2	CI			
-	-	-	+	+	-	Não detectável
+	-	-	+/-	+	-	Influenza A detectável
-	+	-	+/-	+	-	Influenza B detectável
-	-	+	+/-	+	-	SARS-CoV-2 detectável
+	-	+	+/-	+	-	Influenza A e SARS-CoV-2 detectáveis
-	+	+	+/-	+	-	Influenza B e SARS-CoV-2 detectáveis
+	+	-	+/-	+	-	Influenza A e Influenza B detectáveis
+	+	+	+/-	+	-	Influenza A, Influenza B e SARS-CoV-2 detectáveis
-	-	-	-	+	-	Amostra inválida
+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	Ensaio inválido
+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	Ensaio inválido

Tabela 9. Critérios para interpretação de resultados do kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias – Reação II.

Amostra				CP	CN	Resultado
AdV	RSV	hRV/EV	CI			
-	-	-	+	+	-	Não detectável
+	-	-	+/-	+	-	Adenovírus detectável
-	+	-	+/-	+	-	Vírus Sincicial Respiratório detectável



14.2.1. Guia de resolução de possíveis resultados fora de critério de aceitação

- Ensaios que não apresentem amplificação para algum dos alvos do CP devem ser repetidos;
- Ensaios que não apresentem amplificação do CI no poço correspondente ao CN devem ser repetidos;
- Amostras sem amplificação para os alvos virais e com amplificação do CI fora dos critérios de aceitação indicados no item 14.2 são consideradas inválidas e o processo deve ser repetido desde a extração;
- Amostras com amplificação dos alvos virais com Ct \geq 35 devem ser retestadas uma vez e serão consideradas positivas se houver amplificação típica independentemente do valor do Ct obtido, mesmo se não houver amplificação do CI.

15. SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES DO PRODUTO

- O desempenho deste ensaio depende da coleta, conservação e transporte adequados da amostra para o local do ensaio (consulte a seção TIPOS DE AMOSTRAS E MATRIZES APLICÁVEIS nesta Instrução de Uso);
- Amostras de trato respiratório coletadas com *swab* de naso e orofaringe, acondicionadas em meio de transporte viral, podem ser utilizadas com o Kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias. O uso de outras matrizes biológicas não foi validado com o Kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias;
- Os resultados obtidos com o Kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias devem ser interpretados em conjunto com informações clínicas, epidemiológicas e laboratoriais do paciente. Um resultado “Não detectável” não exclui a possibilidade de infecção por Influenza A, Influenza B, SARS-CoV-2, Adenovírus, Vírus Sincicial Respiratório, Rinovírus humano/Enterovírus, Parainfluenza 1, Parainfluenza 3 e/ou Metapneumovírus;
- Este teste pode ser utilizado como ferramenta auxiliar de diagnóstico somente na fase aguda da doença. Amostras clínicas devem ser coletadas conforme métodos de coleta de rotina para métodos moleculares seguindo as recomendações do Ministério da Saúde ou das respectivas Secretarias de Saúde.

16. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

16.1. Sensibilidade analítica

Para a determinação do limite mínimo de detecção, foram testados no mínimo seis pontos de diluição de DNA/RNA de cada alvo, em concentrações variáveis, com seis a 50 réplicas de cada ponto. Uma regressão matemática utilizando modelo Probit foi utilizada para determinar o limite de detecção de cada alvo. Os limites mínimos de detecção do Kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11. Limite de detecção com 95% de confiança (LoD95%) para cada um dos alvos do Kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias.

Alvo	LoD95% em cópias/reacção
Influenza A	15,48 (4,30 – 238,94)
Influenza B	18,25 (6,51 – 114,36)
SARS-CoV-2	25,81 (8,56 – 168,91)
Adenovírus	168,63 (40,08 – 1.411,17)
Rinovírus/Enterovírus	26,67 (10,67 – 98,82)
Vírus Sincicial Respiratório	7,27 (2,98 – 42,22)
Parainfluenza 1	16,00 (5,63 – 102,85)
Parainfluenza 3	4,71 (2,16 – 38,51)
Metapneumovírus	14,15 (4,66 – 123,83)

16.2. Especificidade analítica

A Reação I do kit não apresentou detecção cruzada frente a análise de amostras conhecidamente positivas para os seguintes patógenos: *Mycobacterium tuberculosis*, Vírus Sincicial Respiratório A, Vírus Sincicial Respiratório B, Adenovírus, Rinovírus, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Coronavírus NL63, Coronavírus HKU1, Coronavírus OC43 e Coronavírus 229E, Bocavírus humano, Enterovírus Espécie A – Coxsackievírus A, MERS, SARS-CoV (2003) e *Haemophilus influenzae*.

A Reação II do kit não apresentou detecção cruzada frente a análise de amostras conhecidamente positivas para os seguintes patógenos: *Mycobacterium tuberculosis*, Metapneumovírus humano, Parainfluenza 1, Parainfluenza 2, Parainfluenza 3, Coronavírus HKU1, Coronavírus NL63, Coronavírus 229E, Coronavírus OC43, SARS-CoV-2 Ômicron, SARS-CoV-2 Ômicron BA.2, SARS-CoV-2 Delta B1.617.2, SARS-CoV-2 B.1.351, SARS-CoV-2 B 1.1.7, SARS-CoV-2 P.01, Influenza A H1N1, Influenza A H3, Influenza A H5, Influenza A H1, Influenza B, Bocavírus, MERS, SARS-CoV (2003) e *Haemophilus influenzae*.

A Reação III do kit não apresentou detecção cruzada frente a análise de amostras conhecidamente positivas para os seguintes patógenos: *Mycobacterium tuberculosis*, Vírus Sincicial Respiratório A, Vírus Sincicial Respiratório B, Adenovírus, Rinovírus, Parainfluenza 2, Coronavírus NL63, Coronavírus HKU1, Coronavírus OC43, Coronavírus 229E, Influenza A H1N1, Influenza A H3, Influenza A H5, Influenza B, SARS-CoV-2, MERS, SARS-CoV (2003) e *Haemophilus influenzae*.

16.3. Precisão

Os testes de repetibilidade e reprodutibilidade foram realizados por três operadores distintos em três termocicladores do modelo 7500, a partir de curvas de diluição de todos os alvos detectáveis pelo kit. Os resultados de repetibilidade e reprodutibilidade

-	-	+	+/-	+	-	Rinovírus/Enterovírus detectável
+	+	-	+/-	+	-	Adenovírus e Vírus Sincicial Respiratório detectáveis
+	-	+	+/-	+	-	Adenovírus e Rinovírus/Enterovírus detectáveis
-	+	+	+/-	+	-	Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus/Enterovírus detectáveis
+	+	+	+/-	+	-	Adenovírus, Vírus Sincicial Respiratório e Rinovírus/Enterovírus detectáveis
-	-	-	-	+	-	Amostra inválida
+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	Ensaio inválido
+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	Ensaio inválido

Tabela 10. Critérios para interpretação de resultados do kit IBMP Biomol Pannel de Viroes Respiratórias – Reação III.

Amostra				CP	CN	Resultado
hPIV 1	hPIV 3	hMPV	CI			
-	-	-	+	+	-	Não detectável
+	-	-	+/-	+	-	Parainfluenza 1 detectável
-	+	-	+/-	+	-	Parainfluenza 3 detectável
-	-	+	+/-	+	-	Metapneumovírus detectável
-	+	+	+/-	+	-	Parainfluenza 3 e Metapneumovírus detectáveis
+	-	+	+/-	+	-	Parainfluenza 1 e Metapneumovírus detectáveis
+	+	-	+/-	+	-	Parainfluenza 1 e Parainfluenza 3 detectáveis
+	+	+	+/-	+	-	Parainfluenza 1, Parainfluenza 3 e Metapneumovírus detectáveis
-	-	-	-	+	-	Amostra inválida
+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	Ensaio inválido
+/-	+/-	+/-	+/-	-	+/-	Ensaio inválido



demonstraram desvios padrão relativos iguais ou inferiores a 5,23% e 5,16%, respectivamente.

16.4. Desempenho diagnóstico

O desempenho diagnóstico do teste foi determinado através da análise de três painéis de amostras clínicas de *swab* nasofaríngeo com 762, 211 e 160 amostras, respectivamente, previamente caracterizadas utilizando RT-qPCR. Os resultados estão descritos nas Tabela 12 e 13.

Tabela 12. Comparação entre os resultados obtidos com o Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias e o método de referência.

Alvo/Resultado		Método de Referência		
		Detectável	Não Detectável	TOTAL
FluA	Detectável	121	3	124
	Não Detectável	0	638	638
	TOTAL	121	641	762
FluB	Detectável	113	0	113
	Não Detectável	0	649	649
	TOTAL	113	649	762
SARS-CoV-2	Detectável	151	0	151
	Não Detectável	0	611	611
	TOTAL	151	611	762
AdV	Detectável	55	0	55
	Não Detectável	0	156	156
	TOTAL	55	156	211
hRV/EV	Detectável	87	8	95
	Não Detectável	1	115	116
	TOTAL	88	123	211
RSV	Detectável	71	3	74
	Não Detectável	0	137	137
	TOTAL	71	140	211
hPIV1	Detectável	52	0	52
	Não Detectável	0	108	108
	TOTAL	52	108	160
hPIV3	Detectável	54	0	54
	Não Detectável	0	106	106
	TOTAL	54	106	160
hMPV	Detectável	54	1	55
	Não Detectável	0	105	105
	TOTAL	54	106	160

Tabela 13. Desempenho diagnóstico do Kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias.

Alvo	Sens.	Espec.	VPP	VPN
FluA	100,00% (CI95% 97,00 – 100,00)	99,53% (CI95% 98,64 – 99,90)	97,58% (CI95% 92,88 – 99,20)	100,00% (CI95% 99,43 – 100,00)
FluB	100,00% (CI95% 96,79 – 100,00)	100,00% (CI95% 99,43 – 100,00)	100,00% (CI95% 96,79 – 100,00)	100,00% (CI95% 99,43 – 100,00)
SARS-CoV-2	100,00% (CI95% 97,59 – 100,00)	100% (CI95% 99,40 – 100)	100% (CI95% 97,59 – 100,00)	100,00% (CI95% 99,52 – 100,00)
AdV	100,00% (CI95% 93,51 – 100,00)	100% (CI95% 97,66 – 100,00)	100,00% (CI95% 93,51 – 100,00)	100% (CI95% 97,66 – 100,00)
hRV/EV	98,86% (CI95% 93,83 – 99,97)	93,50% (CI95% 87,59 – 97,15)	91,58% (CI95% 84,76 – 95,51)	99,14% (CI95% 94,24 – 99,88)
RSV	100,00% (CI95% 94,94 – 100,00)	97,86% (CI95% 93,87 – 99,56)	95,95% (CI95% 88,54 – 98,64)	100,00% (CI95% 97,34 – 100,00)
hPIV1	100,00% (CI95% 93,15 – 100,00)	100,00% (CI95% 96,64 – 100,00)	100,00% (CI95% 93,15 – 100,00)	100,00% (CI95% 96,64 – 100,00)
hPIV3	100,00% (CI95% 93,40 – 100,00)	100,00% (CI95% 96,58 – 100,00)	100,00% (CI95% 93,40 – 100,00)	100,00% (CI95% 96,58 – 100,00)
hMPV	100,00% (CI95% 93,40 – 100,00)	99,06% (CI95% 94,86 – 99,98)	98,18% (CI95% 88,48 – 99,74)	100,00% (CI95% 96,55 – 100,00)

Legenda: Sens.: Sensibilidade diagnóstica; Espec.: Especificidade diagnóstica; VPP: Valor Preditivo Positivo; VPN: Valor Preditivo Negativo.

17. RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS

- Os procedimentos descritos nesta Instrução de Uso visam minimizar o risco de contaminação cruzada ou ambiental pelo produto amplificado. No entanto, o risco de contaminação com ácido nucléico proveniente de outras fontes deve ser mitigado por meio da adoção de boas práticas de laboratório;
- O Controle Positivo deve ser tratado como uma amostra positiva. Mesmo não apresentando risco biológico para humanos, o Controle Positivo deve ser manipulado com extremo cuidado para que não ocorra contaminação acidental de amostras ou do ambiente, o que pode levar a resultados falsos-positivos;
- Realizar a descontaminação periódica de ambientes, bancadas e instrumentos, utilizando agente descontaminante apropriado para áreas de trabalho em Biologia Molecular;
- Realizar os processos de extração de ácidos nucleicos, o preparo de misturas de reação e a etapa de PCR em áreas físicas distintas para reduzir o risco de contaminação de reagentes, amostras e do ambiente;
- Recomenda-se realizar o monitoramento periódico das instalações laboratoriais para garantir que não haja

contaminação ambiental por ácidos nucleicos ou produtos de PCR que possam levar a resultados falsos-positivos.

18. DESCARTE DE RESÍDUOS

Os resíduos gerados após o uso do produto devem ser descartados em locais apropriados e destinados ao tratamento adequado de acordo com a legislação vigente local.

19. TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO COMERCIAL

- O produto deve ser utilizado dentro do prazo de validade determinado pelo fabricante;
- O fabricante não se responsabiliza pelos resultados obtidos, caso o usuário não siga corretamente as instruções de uso e condições de armazenamento dos insumos;
- Devem ser utilizados instrumentos de medição e detecção calibrados e/ou qualificados, sempre que aplicável;
- As condições de coleta e armazenamento de amostras impactam diretamente na qualidade do resultado obtido pelo kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias. Amostras coletadas e armazenadas em desacordo com o preconizado no item 8 desta Instrução de Uso podem gerar resultados falsos;
- Os parâmetros de desempenho apresentados nesta Instrução de Uso são aplicáveis para a análise de amostras de DNA ou RNA obtidos de *swab* naso e orofaríngeo acondicionados em meio de transporte viral. O uso de DNA ou RNA extraído de outras matrizes biológicas não foi validado para o kit IBMP Biomol Pannel de Vírus Respiratórias;
- O produto pode ser utilizado com os equipamentos constantes no item 7 desta Instrução de Uso.