INSTRUÇÃO DE USO

# Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX

Detecção e genotipagem parcial de HPV de alto risco oncogênico por qPCR multiplex.

## Sumário

1. Nome comercial ..... 2
2. Dados do fabricante ..... 2
3. Apresentação ..... 2
4. Finalidade ..... 2
5. Usuário pretendido ..... 2
6. Indicações de armazenamento e manuseio ..... 2
7. Princípio de funcionamento ..... 3
8. Tipos de amostra e matrizes aplicáveis ..... 3
8.1. Condições para coleta, manuseio, transporte e preservação de amostras ..... 3
8.2. Extração de ácidos nucleicos ..... 3
8.3. Cuidados no armazenamento e manuseio do ácido nucleico extraído ..... 4
9. Descrição do produto ..... 4
9.1. Materiais necessários não fornecidos com o produto ..... 4
10. Estabilidade do produto em uso ..... 5
11. Procedimentos a serem realizados antes da utilização do produto ..... 5
12. Procedimentos de controle de qualidade ..... 5
13. Procedimentos para o uso do produto ..... 6
13.1. Preparo da mistura de reação ..... 6
13.2. Adição de amostras e controles ..... 6
13.3. Configurações de detecção e termociclagem ..... 6
14. Análise dos resultados ..... 7
14.1. Critérios de validade da corrida ..... 7
14.2. Critérios de interpretação por amostra ..... 7
14.3. Guia de resolução de resultados fora dos critérios de aceitação ..... 8
15. Substâncias interferentes e limitações do produto ..... 8
16. Características de desempenho ..... 9
16.1. Sensibilidade analítica (limite de detecção) ..... 9
16.2. Especificidade analítica (reatividade cruzada) ..... 9
16.3. Substâncias interferentes ..... 9
16.4. Desempenho clínico ..... 10
17. Orientações em caso de problemas ..... 10
18. Riscos residuais identificados ..... 11
19. Requisitos de instalações e treinamento ..... 11
20. Descarte de resíduos ..... 11
21. Termos e condições de garantia da qualidade do produto ..... 11
22. Simbologia ..... 12
23. Referências bibliográficas ..... 12
24. Identificação e controle de revisão ..... 13



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

## 1. Nome comercial

Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX.

## 2. Dados do fabricante

BIOBRASIL BIOTECNOLOGIA LTDA

CNPJ: 10.942.372/0001-90

VE VP 1D – Quadra 02, Lote M1E, S/N – Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA) – Anápolis – GO – CEP 75132-035 – Brasil

Responsável Técnica: Dra. Geovana dos Santos Ramos – CRBM/GO 26846

Registro Anvisa n° 80680420126

Horário de atendimento: 08:00 às 17:00 de segunda a sexta-feira

Atendimento ao cliente: +55 11 97169-2311 | sac@biodetecta.com.br

Assessoria técnico-científica: sac@biodetecta.com.br | 08:00 às 17:00 de segunda a sexta-feira

www.biodetecta.com.br

## 3. Apresentação

Kit contendo um módulo de amplificação suficiente para 100 determinações.

Código de catálogo: BD-EX-HPVHR-100

**Produto de uso múltiplo. Não reutilizar componentes individuais entre lotes.**

## 4. Finalidade

Este produto destina-se à detecção qualitativa (presença/ausência) do DNA do papilomavírus humano (HPV) de alto risco oncogênico, com discriminação dos genótipos HPV-16 e HPV-18 e detecção agrupada de outros 12 genótipos de alto risco (HPV-31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68), pela técnica de qPCR multiplex, a partir de DNA extraído de amostras de raspado cervical/vaginal, esfregaço genital e meio líquido para citologia.

O produto destina-se ao auxílio diagnóstico e ao monitoramento de infecções por HPV com potencial oncogênico, em conjunto com os dados clínicos e citológicos da paciente.

O resultado obtido deve ser utilizado em conjunto com os dados clínicos e epidemiológicos da paciente e com os demais achados laboratoriais. Este ensaio foi desenvolvido para análise de perfil qualitativo e não é validado para análise quantitativa.

**USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.**

## 5. Usuário pretendido

O teste deve ser realizado por profissionais da área da saúde com conhecimento em biologia molecular, especificamente em técnicas baseadas em PCR em tempo real, em laboratórios que disponham de infraestrutura de biossegurança adequada e de áreas físicas segregadas conforme o item 19 desta Instrução de Uso.

**Produto de uso profissional. Não destinado a autoteste nem a uso por leigos.**

## 6. Indicações de armazenamento e manuseio

- Armazenamento do produto: entre −25 °C e −15 °C (−20 ± 5 °C), protegido da luz.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

- Temperatura de manipulação: entre 15 °C e 30 °C, mantendo os reagentes em banho de gelo ou estante refrigerada durante todo o preparo.
- Transporte: deve ser realizado congelado, dentro das condições de armazenamento.
- Prazo de validade: 12 meses a partir da data de fabricação, respeitadas as condições acima.
- Não utilizar o produto após o prazo de validade indicado no rótulo.
- Evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento, pode alterar a eficiência e estabilidade do reagente.

## 7. Princípio de funcionamento

O Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX utiliza a técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), em formato multiplex.

A reação permite a detecção de sequências nucleotídicas específicas do genoma do HPV, em DNA extraído da amostra clínica, por meio de sondas de hidrólise marcadas com fluoróforos distintos, com discriminação individual de HPV-16 e HPV-18 e detecção agrupada dos demais genótipos de alto risco em um único canal.

A intensidade de fluorescência é capturada ao final de cada ciclo de amplificação. O resultado é expresso como o valor de Ct (cycle threshold). A geração de curva de amplificação com perfil típico para um alvo, dentro dos critérios do item 14, indica resultado detectável para aquele alvo.

O produto contém um Controle Positivo, composto pelos alvos de interesse e pelo Controle Interno endógeno (RNase P humana). O Controle Positivo permite verificar o desempenho dos reagentes e da amplificação, enquanto o Controle Interno avalia a adequação da coleta, a eficiência da extração e a ausência de inibidores na reação. O produto contém ainda um Controle Negativo, que permite monitorar as condições ambientais e experimentais e identificar possíveis contaminações.

Produto validado para uso com os termocicladores Bio-Rad CFX96, Thermo Fisher QuantStudio 5, Qiagen QIAquant 96 e Bioer LineGene 9600 Plus, com placas e strips compatíveis para cada equipamento. **O desempenho declarado nesta Instrução de Uso é válido apenas para esses equipamentos.**

## 8. Tipos de amostra e matrizes aplicáveis

Amostras de DNA extraído de raspado cervical/vaginal, esfregaço genital e meio líquido para citologia.

### 8.1. Condições para coleta, manuseio, transporte e preservação de amostras

- Raspado cervical/vaginal e esfregaço genital: coletar por profissional de saúde habilitado, com dispositivo específico para amostragem cervical (escova ou swab). Após a coleta, imergir e enxaguar o dispositivo no meio líquido de preservação, tampar, identificar e encaminhar ao laboratório.
- Meio líquido para citologia: seguir integralmente as orientações do fabricante do meio quanto a volume, temperatura e prazo de estabilidade.
- As amostras não devem ser fixadas em meio contendo formalina, que interfere na extração de DNA e prejudica a eficiência da PCR.
- Volume mínimo de amostra primária para extração: 600 µL.
- Todas as amostras devem ser manuseadas como potencialmente infectantes, conforme as boas práticas de biossegurança.
- Evitar ciclos repetidos de congelamento e descongelamento da amostra primária.

### 8.2. Extração de ácidos nucleicos

A extração deve ser realizada com metodologia apropriada para a matriz biológica, assegurando ácido nucleico com qualidade e integridade suficientes. Os kits de extração citados a seguir não são fornecidos com este produto.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

**Método de referência — Spin Extract (Reg. Anvisa 80680420111)**

1. Utilizar o reagente em temperatura ambiente ou refrigerado. O reagente deve ser armazenado preferencialmente entre 2 °C e 8 °C.
2. Pipetar 500 µL de amostra em tubo estéril de 1,5 mL e centrifugar por 5 minutos a 13.000 rpm.
3. Coletar e desprezar 450 µL do sobrenadante, sem perturbar o pellet.
4. Homogeneizar o reagente Spin Extract em vórtex.
5. Adicionar 100 µL do reagente aos 50 µL restantes contendo o pellet.
6. Agitar em vórtex por 15 segundos.
7. Incubar por 10 minutos a 98 °C e, em seguida, por 5 minutos a –20 °C.
8. Centrifugar por 5 minutos a 13.000 rpm e coletar o sobrenadante, que constitui o extrato. Utilizar 4,0 µL do extrato por reação.
9. Após a extração, utilizar imediatamente ou armazenar o extrato a 2–8 °C por no máximo 6 horas

**Métodos alternativos**

O produto é compatível com métodos de extração de DNA baseados em membrana de sílica com lavagem por centrifugação (por exemplo, QIAGEN QIAamp DNA Mini Kit e equivalentes) e com plataformas automatizadas de extração por esferas magnéticas (por exemplo, TANBead Maelstrom 9600/4800 e Thermo Fisher KingFisher Flex/Apex), seguindo integralmente as instruções do respectivo fabricante.

**Atenção:** o volume de eluição altera a concentração do alvo no extrato e, portanto, o limite de detecção do ensaio. Métodos de extração diferentes do método de referência devem ser verificados pelo laboratório antes do uso em rotina.

### 8.3. Cuidados no armazenamento e manuseio do ácido nucleico extraído

- O extrato deve ser armazenado a –20 °C ou inferior quando não utilizado imediatamente.
- Utilizar sempre luvas descartáveis sem talco durante o manuseio do extrato, para prevenir contaminação por nucleases.
- Manter os tubos fechados durante os procedimentos, abrindo um tubo por vez ao adicionar a amostra à mistura de reação, para evitar contaminação cruzada.

## 9. Descrição do produto

O Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX é composto por um módulo de amplificação contendo:

- 01 tubo âmbar de Mix de Primers & Sondas, contendo 50 µL;
- 01 tubo transparente de Master Mix, contendo 500 µL;
- 01 tubo transparente de Controle Positivo, contendo 50 µL;
- 01 tubo transparente de Controle Negativo, contendo 50 µL;
- 01 Guia Rápido impresso.

A Instrução de Uso completa está disponível em meio eletrônico no endereço https://biodetecta.com.br/. A versão impressa é fornecida sem custo mediante solicitação ao Atendimento ao Cliente.

Este produto não contém componentes de origem humana ou animal. Nenhum componente é classificado como produto perigoso para transporte.

### 9.1. Materiais necessários não fornecidos com o produto

- Equipamento de PCR em tempo real com pelo menos 4 canais de leitura (FAM, Cy5, ROX, HEX/VIC);
- Cabine do tipo PCR Workstation;
- Kit ou reagente de extração de ácidos nucleicos;



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

- Micropipetas de precisão (0,5–10 µL, 10–100 µL e 100–1000 µL), de uso exclusivo por área;
- Ponteiras com filtro, estéreis e livres de DNases e RNases;
- Microtubos de 0,2 mL, 1,5 mL e 2,0 mL, estéreis e livres de nucleases;
- Placas de PCR de 96 poços ou strips, compatíveis com o termociclador utilizado;
- Adesivo óptico para selagem da placa de reação;
- Agitador tipo vórtex;
- Centrífuga para microtubos e centrífuga para placas de 96 poços;
- Banho de gelo ou estante refrigerada;
- Caneta para marcação permanente em plástico;
- Equipamentos de proteção individual: jaleco, luvas descartáveis sem talco, máscara descartável, touca e óculos de proteção;
- Recipientes para descarte de resíduos biológicos.

## 10. Estabilidade do produto em uso

Este é um produto de uso múltiplo.

O estudo de estabilidade demonstrou que o produto mantém sua qualidade por até 4 ciclos de congelamento e descongelamento, após os quais eventuais sobras de reagentes devem ser descartadas. Não é recomendado o congelamento da mistura de reação após o preparo. A mistura deve ser utilizada na mesma sessão de trabalho.

- Não misturar reagentes de lotes diferentes nem tubos diferentes do mesmo lote.
- Proteger os reagentes da luz durante o armazenamento e o uso.

## 11. Procedimentos a serem realizados antes da utilização do produto

- Descongelar os reagentes e as amostras de ácido nucleico extraído em ambiente refrigerado ou em banho de gelo.
- Homogeneizar cada tubo por inversão manual durante 30 segundos ou em vórtex suave.
- Centrifugar brevemente (spin) todos os tubos antes da abertura.
- Manter os reagentes e as amostras em banho de gelo ou estante refrigerada durante todo o preparo.
- Verificar a integridade de todos os componentes e o prazo de validade antes do uso.

## 12. Procedimentos de controle de qualidade

- Incluir, obrigatoriamente, um Controle Positivo e um Controle Negativo em cada corrida.
- Utilizar equipamentos de proteção individual: jaleco, máscara descartável, touca, luvas descartáveis sem talco e óculos de proteção.
- Realizar a manipulação de reagentes e de amostras no interior de cabine tipo PCR Workstation.
- Respeitar a faixa de operação das micropipetas e utilizar somente instrumentos calibrados e qualificados.
- Não utilizar componentes do teste que estejam fora do prazo de validade.
- Não comer, beber, fumar, aplicar cosméticos ou manusear lentes de contato nas áreas laboratoriais.
- Evitar abrir a placa de PCR após a amplificação, para reduzir o risco de contaminação ambiental por amplicon.
- O Controle Positivo deve ser manipulado como uma amostra positiva, com atenção redobrada para evitar contaminação.
- Comunicar ao fabricante qualquer alteração no desempenho do produto. Incidentes e eventos adversos devem ser reportados à BioBrasil Biotecnologia Ltda.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

- Ficha de Dados de Segurança (FDS) disponível mediante solicitação.

## 13. Procedimentos para o uso do produto

### 13.1. Preparo da mistura de reação

1. Identificar o número de reações a serem realizadas, considerando a inclusão de, no mínimo, um Controle Positivo e um Controle Negativo por corrida.
2. Elaborar o mapa da placa de reação, identificando a posição de cada amostra e dos controles.
3. Calcular, conforme a Tabela 1, os volumes necessários para a corrida, acrescentando margem de 10% para compensar perdas de pipetagem.
4. Em área física apropriada, identificar um microtubo de 1,5 ou 2,0 mL para o preparo da mistura de reação.
5. Adicionar ao microtubo os componentes e volumes da Tabela 1, ajustados ao número de reações.
6. Homogeneizar gentilmente por vórtex suave ou pipetagem e centrifugar brevemente (spin).
7. Distribuir 5,5 µL da mistura de reação em cada poço da placa ou strip, seguindo o mapa da placa, mantendo o volume uniforme e evitando a formação de bolhas.
8. Selar a placa com adesivo não óptico para transferi-la à área de manipulação de ácidos nucleicos.

**Tabela 1. Receita para o preparo da mistura de reação.**

| Componente | Volume para uma reação |
|---|---|
| Master Mix | 5,0 µL |
| Mix de Primers & Sondas | 0,5 µL |
| **Volume da mistura de reação** | **5,5 µL** |
| Amostra (ácido nucleico extraído) ou controle | 4,5 µL |
| **Volume final da reação** | **10,0 µL** |

*Sugere-se o preparo de, no mínimo, 25 reações por vez, a fim de reduzir erros e variações de pipetagem.*

### 13.2. Adição de amostras e controles

1. Em área física apropriada e seguindo o mapa da placa, adicionar 4,5 µL de cada amostra extraída nos poços correspondentes.
2. Adicionar 4,5 µL do Controle Positivo no poço correspondente.
3. Adicionar 4,5 µL do Controle Negativo no poço correspondente.
4. Evitar contato cruzado entre as amostras, abrindo um tubo por vez.
5. Homogeneizar por pipetagem, cada amostra com o reagente do poço, por pelo menos 10x e evitando a formação de bolhas. Retirar as bolhas com o uso da pipeta se necessário.
6. Selar a placa de reação com adesivo óptico.
7. Centrifugar a placa brevemente (6.000 rpm por 15 segundos) para garantir que todo o líquido esteja no fundo dos poços e que não fique bolhas.

### 13.3. Configurações de detecção e termociclagem

Configurar o software do equipamento conforme o mapa da placa, identificando a posição de cada amostra e dos controles. Configurar as fluorescências de cada canal conforme a Tabela 2 e os parâmetros de termociclagem conforme a Tabela 3.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

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

| Alvo | Fluoróforo repórter | Quencher |
|---|---|---|
| HPV-16 | FAM | BHQ1 |
| HPV-18 | Cy5 | BHQ3 |
| HPV de alto risco (12 genótipos) | ROX / Texas Red | BHQ2 |
| Controle Interno (RNase P) | HEX / VIC | BHQ1 |

**Tabela 3. Parâmetros de termociclagem.**

| Etapa | Temperatura (°C) | Tempo | Número de ciclos |
|---|---|---|---|
| Desnaturação inicial | 95 | 2 minutos | 1 |
| Desnaturação | 95 | 15 segundos | 40 |
| Anelamento / extensão* | 60 | 60 segundos | 40 |

** Etapa de captura de fluorescência.*

Referência passiva: None. Volume de reação a configurar no software: 10 µL.

## 14. Análise dos resultados

### 14.1. Critérios de validade da corrida

Em cada corrida devem ser incluídos o Controle Positivo (CP) e o Controle Negativo (CN) fornecidos no kit. A corrida será considerada válida somente se ambos atenderem aos critérios abaixo:

- **Controle Positivo:** amplificação com curva sigmoide e Ct ≤ 28 para todos os alvos HPV.
- **Controle Negativo:** ausência de amplificação para todos os alvos HPV e para o controle interno.

Corridas que não atendam a esses critérios são inválidas e devem ser integralmente repetidas a partir da etapa de amplificação, utilizando o material já extraído. Em caso de amplificação no Controle Negativo, recomenda-se a descontaminação da área de trabalho e dos equipamentos antes da repetição.

### 14.2. Critérios de interpretação por amostra

A interpretação deve ser realizada somente em corridas válidas (item 14.1) e para cada alvo separadamente.

- **Detectável:** a amostra é considerada detectável para um alvo quando apresenta curva de amplificação com perfil típico naquele canal, com Ct < 35, e amplificação do Controle Interno. Em amostras detectáveis, o Controle Interno pode apresentar Ct mais tardio devido à competição com o alvo na reação multiplex; nesse caso, é aceita qualquer amplificação do Controle Interno com curva de perfil típico.
- **Não detectável:** a amostra é considerada não detectável para um alvo quando não apresenta amplificação naquele canal ou apresenta Ct ≥ 35. Quando nenhum dos alvos for detectável, o resultado só é válido se o Controle Interno apresentar amplificação com Ct ≤ 30.
- Amostras com amplificação para um ou mais alvos e ausência de amplificação do Controle Interno devem ser repetidas a partir da etapa de amplificação, utilizando o material já extraído. Persistindo o resultado, a amostra deve ser reportada como inconclusiva e uma nova coleta deve ser solicitada.
- **Inválido:** amostras sem amplificação dos alvos (ou com Ct ≥ 35) e sem amplificação do Controle Interno, ou com Controle Interno com Ct > 30, são inválidas e devem ser repetidas a partir da extração. Persistindo o resultado, a amostra deve ser reportada como inconclusiva e uma nova coleta deve ser solicitada.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D – Quadra 02 – Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

**Tabela 4. Critérios de interpretação de resultados.**

| Amostra | | | | CP | CN | Resultado a liberar |
|---|---|---|---|---|---|---|
| FAM | Cy5 | ROX | HEX (CI) | | | |
| – | – | – | + | + | – | HPV HR não detectável |
| + | – | – | + | + | – | HPV-16 detectável |
| – | + | – | + | + | – | HPV-18 detectável |
| + | + | – | + | + | – | HPV-16 e HPV-18 detectáveis |
| – | – | + | + | + | – | HPV HR (Pool de 12 genótipos) detectável |
| + | – | + | + | + | – | HPV-16 e HPV HR (Pool de 12 genótipos) detectáveis |
| – | + | + | + | + | – | HPV-18 e HPV HR (Pool de 12 genótipos) detectáveis |
| + | + | + | + | + | – | HPV-16 e HPV-18 e HR (Pool de 12 genótipos) detectáveis |
| +/–[1] | +/–[1] | +/–[1] | – | + | – | Repetir a partir da amplificação |
| – | – | – | – | + | – | Amostra inválida — repetir a partir da extração |
| +/– | +/– | +/– | +/– | +/– | + | Ensaio inválido — repetir a corrida |
| +/– | +/– | +/– | +/– | – | +/– | Ensaio inválido — repetir a corrida |

*+ amplificação com curva de perfil típico dentro do ponto de corte (alvos: Ct ≤ 35; Controle Interno: Ct ≤ 30) nas amostras não detectáveis e qualquer amplificação com perfil típico nas amostras detectáveis; Controle Positivo: Ct ≤ 28); – ausência de amplificação ou Ct fora do ponto de corte; +/– resultado indiferente para a interpretação. No Controle Negativo, qualquer amplificação, em qualquer canal, é considerada +. [1] ao menos um dos alvos com +.*

### 14.3. Guia de resolução de resultados fora dos critérios de aceitação

- Ensaios em que o Controle Positivo não amplifique algum dos alvos são inválidos e devem ser repetidos.
- Ensaios em que o Controle Negativo apresente amplificação de qualquer alvo são inválidos e devem ser repetidos, com descontaminação prévia da área de trabalho.
- Amostras sem amplificação dos alvos e com amplificação tardia do Controle Interno devem ser repetidas a partir da qPCR; persistindo o resultado, repetir a partir da extração; persistindo novamente, reportar como inconclusiva.
- Valores de Ct muito baixos e isolados, sem curva de perfil típico, podem decorrer de artefato de leitura de fluorescência e devem ser reavaliados.

## 15. Substâncias interferentes e limitações do produto

- O desempenho deste ensaio depende da coleta, da conservação e do transporte adequados da amostra até o laboratório (ver item 8).
- O ensaio detecta a presença de DNA viral e não distingue infecção transitória de infecção persistente, nem indica a presença de lesão. Um resultado detectável isolado não estabelece diagnóstico de lesão precursora ou de câncer.
- O ensaio não individualiza os 12 genótipos de alto risco detectados no canal agrupado; informa apenas a presença de ao menos um deles.
- O ensaio não detecta genótipos de baixo risco oncogênico, o que é intencional, nem genótipos de alto risco fora da lista declarada na finalidade.
- Um resultado “não detectável” não exclui a possibilidade de infecção por HPV nem de lesão cervical, e não substitui o seguimento clínico e citológico da paciente.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

- O desempenho em amostras anais, orofaríngeas, de urina e de autocoleta não foi avaliado e essas matrizes não devem ser utilizadas com este produto sem validação prévia.
- O ensaio não deve ser realizado diretamente sobre a amostra primária. A extração de ácidos nucleicos é obrigatória.
- Os parâmetros de desempenho declarados são aplicáveis às matrizes listadas no item 8. O uso de outras matrizes biológicas não foi validado.
- O desempenho declarado é válido apenas para os equipamentos listados no item 7. Não foi possível garantir desempenho com protocolo modificado.
- Os resultados devem ser interpretados em conjunto com os achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais do paciente.
- O uso deste produto é restrito a pessoal treinado em técnicas de PCR em tempo real e em procedimentos de diagnóstico in vitro.

As substâncias interferentes avaliadas e os respectivos resultados estão descritos no item 16.3.

## 16. Características de desempenho

### 16.1. Sensibilidade analítica (limite de detecção)

A sensibilidade analítica do Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX foi determinada a partir de diluições seriadas (fator 10) de fragmentos sintéticos de cada um dos alvos (HPV-16, HPV-18 e cada um dos 12 genótipos do pool HPV HR), de $10^7$ a $10^1$ cópias/reação, testadas em triplicata. A concentração de 10 cópias/reação foi confirmada com 20 réplicas de cada alvo, com detecção em ≥ 19/20 réplicas (≥ 95%).

Foi estabelecido que o kit apresenta limite de detecção de 10 cópias/reação para HPV-16, HPV-18 e para os genótipos do pool HPV HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68).

### 16.2. Especificidade analítica (reatividade cruzada)

A especificidade analítica foi avaliada in vitro e in silico.

In vitro, foram testados genótipos de HPV filogeneticamente relacionados aos alvos e microrganismos potencialmente presentes em amostras do trato urogenital, na concentração de $10^6$ cópias/reação: HPV de alto risco 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 e 68; HPV de baixo risco 6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 70, 72 e 81; *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, HSV-1, HSV-2 e DNA genômico humano.

Os genótipos do pool HPV HR foram detectados exclusivamente no canal ROX, sem amplificação nos canais FAM (HPV-16) e Cy5 (HPV-18). Os genótipos de baixo risco e os demais microrganismos não apresentaram amplificação em nenhum dos canais dos alvos.

In silico, as sequências de primers e sondas foram alinhadas por BLASTn contra o banco de dados. Foi considerada potencial reatividade cruzada a homologia ≥ 80% entre o organismo e o conjunto de primers e sonda de um alvo. Nenhum organismo além dos genótipos-alvo atingiu esse critério.

### 16.3. Substâncias interferentes

O produto foi avaliado quanto à interferência de sangue (hemoglobina em sangue total até 5% v/v), lubrificantes e espermicidas (gel com glicerina e nonoxinol-9), cremes vaginais (base oleosa de antifúngico), urina feminina concentrada (2–10% v/v), pH da amostra ajustado para 5, 7 e 9, ureia, nitrito, albumina e leucócitos, salinidade elevada, lipídios, bilirrubina, heparina e EDTA, detergentes (SDS e Triton X-100), antissépticos (clorexidina e PVPI), meios de citologia líquida (PreservCyt e SurePath), DNA humano em alta carga (100 ng/reação) e co-detecção HPV-16 + pool AR e HPV-18 + pool AR.

Não foi observada interferência relevante (ΔCt < 1,5) na maioria das condições testadas. Foram identificadas três condições de atenção:



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

- Lubrificantes e espermicidas a partir de 5% v/v: leve aumento do Ct do Controle Interno. Evitar excesso visível de lubrificante na coleta.
- Detergentes acima de 0,05%: leve atraso do Controle Interno.
- Meios de citologia líquida: sem interferência até 1% de carry-over; acima de 2% o ΔCt ultrapassa 2,0. Limitar o carry-over de fixador na extração.

A co-detecção de HPV-16 ou HPV-18 com o pool de genótipos de alto risco, a 3× o limite de detecção de cada alvo, não apresentou competição significativa, com ambos os alvos detectados.

### 16.4. Desempenho clínico

A sensibilidade e a especificidade clínicas foram determinadas em estudo comparativo, a partir de amostras de material genital (raspado cervical/vaginal e esfregaço genital) obtidas de laboratório de referência. Foram avaliadas 100 amostras por alvo, sendo 50 previamente caracterizadas como positivas e 50 como negativas.

**Tabela 5. Desempenho clínico.**

| Alvo | Sensibilidade (IC 95%) | Especificidade (IC 95%) | Pos. / neg. | Total |
|---|---|---|---|---|
| **HPV-16** | 100% (92,9 – 100) | 100% (92,9 – 100) | 50 / 50 | 100 |
| **HPV-18** | 100% (92,9 – 100) | 100% (92,9 – 100) | 50 / 50 | 100 |
| **HPV de alto risco (12 genótipos)** | 100% (92,9 – 100) | 100% (92,9 – 100) | 50 / 50 | 100 |

*Intervalos de confiança de 95% calculados pelo método exato de Clopper-Pearson.*

## 17. Orientações em caso de problemas

| Problema | Causa provável | Recomendação |
|---|---|---|
| **Ausência de sinal em todos os canais, inclusive no Controle Positivo** | Configuração incorreta do protocolo ou dos canais de leitura | Verifique o protocolo de ciclagem, a atribuição de canais (Tabela 2) e a referência passiva. |
| | Preparo incorreto da mistura de reação | Confirme a adição de todos os componentes nos volumes da Tabela 1. |
| | Reagentes comprometidos por armazenamento inadequado | Verifique a integridade, a validade e o número de ciclos de descongelamento dos reagentes. |
| **Amplificação no Controle Negativo** | Contaminação cruzada entre amostras | Descarte a corrida, descontamine a área e repita a partir do preparo da mistura. |
| | Contaminação ambiental por amplicon | Reforce a segregação de áreas e o fluxo unidirecional; realize monitoramento ambiental. |
| **Controles adequados, mas ausência de sinal na amostra, incluindo o Controle Interno** | Falha na extração ou material genético degradado | Repita a extração a partir da amostra primária. |
| | Presença de inibidores | Avalie o comportamento do Controle Interno; considere diluir o extrato 1:2 e repetir. |
| **Resultados discrepantes entre réplicas** | Configuração incorreta de canais, threshold ou baseline | Reavaliação da corrida e da configuração do software. |
| **Curvas de amplificação atípicas** | Configuração incorreta de canais, threshold ou baseline | Reveja a Tabela 4 e a configuração do software. |
| **Amplificação tardia ou sensibilidade reduzida** | Baixa carga do alvo ou perda no processo de extração | Avalie a qualidade da amostra e o volume de eluição utilizado. |



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

## 18. Riscos residuais identificados

- Os procedimentos descritos nesta Instrução de Uso visam minimizar o risco de contaminação cruzada ou ambiental pelo produto amplificado. Permanece, contudo, o risco de contaminação por ácidos nucleicos provenientes de outras fontes, que deve ser mitigado pela adoção de boas práticas laboratoriais.
- O Controle Positivo deve ser tratado como uma amostra positiva. Sua manipulação inadequada pode contaminar amostras ou o ambiente e gerar resultados falso-positivos.
- Permanece o risco de resultado falso-negativo decorrente de coleta inadequada, conservação ou transporte da amostra em desacordo com o item 8, carga de alvo abaixo do limite de detecção ou presença de inibidores não detectados pelo Controle Interno.
- Permanece o risco de resultado incorreto por uso de equipamento não listado no item 7, por protocolo modificado ou por operador não treinado.
- Recomenda-se a descontaminação periódica de ambientes, bancadas e instrumentos com agente apropriado para áreas de biologia molecular, e o monitoramento periódico das instalações quanto à contaminação ambiental por amplicon.
- Permanece o risco de resultado falso-negativo por genótipo de alto risco não coberto ou detectado com sensibilidade inferior no canal agrupado, enquanto a seção de inclusividade não estiver completa.

A BioBrasil Biotecnologia conclui que todos os riscos associados ao Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX foram avaliados e que o produto não apresenta riscos maiores que os benefícios obtidos com o seu uso, desde que utilizado por profissionais treinados e cientes das precauções descritas nesta Instrução de Uso.

## 19. Requisitos de instalações e treinamento

- O ensaio deve ser executado em laboratório com áreas físicas segregadas para: (i) extração de ácidos nucleicos; (ii) preparo da mistura de reação; (iii) adição de amostras; e (iv) amplificação e detecção.
- O fluxo de trabalho deve ser unidirecional, das áreas de menor para as de maior carga de amplicon, sem retorno de materiais, equipamentos ou pessoal.
- Cada área deve dispor de jalecos, micropipetas e materiais de uso exclusivo.
- O operador deve ter treinamento comprovado em PCR em tempo real, em biossegurança e nesta Instrução de Uso, registrado conforme o sistema da qualidade do laboratório.
- Instrumentos de medição e detecção devem ser calibrados e qualificados.

## 20. Descarte de resíduos

Os resíduos gerados após o uso do produto — reagentes, amostras, placas seladas e materiais de consumo — devem ser descartados como resíduos de serviços de saúde, em recipientes apropriados e destinados a tratamento adequado, conforme a RDC Anvisa n° 222/2018 e a legislação ambiental e sanitária local aplicável.

Placas de reação seladas não devem ser abertas após a amplificação; devem ser descartadas íntegras.

## 21. Termos e condições de garantia da qualidade do produto

A BioBrasil Biotecnologia Ltda garante a troca deste conjunto diagnóstico desde que esteja dentro do prazo de validade e que sua Assessoria Técnica comprove não ter havido falhas na execução, no manuseio ou na conservação do produto.

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 esta Instrução de Uso e as condições de armazenamento dos insumos.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

O Kit HPV 16, 18 e HR Genotyping – EasyPLEX é produzido sob Sistema de Gestão da Qualidade certificado em Boas Práticas de Fabricação pela Anvisa (RDC n° 665/2022). Cada lote é testado segundo especificações predeterminadas, para garantir a qualidade e a segurança do produto.

Este produto está em conformidade com a RDC Anvisa n° 830/2023 e demais legislações aplicáveis.

## 22. Simbologia

Os símbolos utilizados na rotulagem deste produto seguem a norma ABNT NBR ISO 15223-1.

| Símbolo | Descrição | Símbolo | Descrição |
|---|---|---|---|
|  | Fabricante |  | Consulte as instruções de uso |
|  | Número de catálogo |  | Limite de temperatura |
|  | Código do lote |  | Conteúdo suficiente para <n> ensaios |
|  | Prazo de validade |  | Dispositivo médico para diagnóstico in vitro |
|  | Não reutilizar |  | Manter afastado da luz solar |
|  | Cuidado / consulte a documentação |  | Risco biológico |

## 23. Referências bibliográficas

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes brasileiras para o rastreamento do câncer do colo do útero: parte I — rastreamento organizado utilizando testes moleculares para detecção de DNA-HPV oncogênico. Brasília, 2025.
2. MENÊSES, G. A.; TORALLES, M. B. P.; MENDES, C. M. C. Evolução da técnica de PCR: sua contribuição no diagnóstico da infecção por HPV. Cadernos de Medicina e Biologia, v. 18, n. 3, p. 41–47, 2019.
3. SILVA, G. L.; SOUSA, R. M.; ALMEIDA, P. R. Principais técnicas de biologia molecular para detecção genotípica do Papilomavírus Humano (HPV): revisão da literatura. Revista Multisertão, v. 1, n. 1, p. 60–72, 2020.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC n° 830, de 6 de dezembro de 2023.



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil

## 24. Identificação e controle de revisão

**Fabricado e regularizado por:**

BIOBRASIL BIOTECNOLOGIA LTDA

CNPJ: 10.942.372/0001-90

VE VP 1D – Quadra 02, Lote M1E, S/N – Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA) – Anápolis – GO – CEP 75132-035 – Brasil

Responsável Técnica: Dra. Geovana dos Santos Ramos – CRBM/GO 26846

Registro Anvisa n° 80680420126

**USO EXCLUSIVO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO**

| Código do documento | Revisão | Data de emissão | Motivo da revisão |
|---|---|---|---|
| IU-IVD-031.v01 | 02 | 06/2026 | Adequação integral ao art. 50 da RDC 830/2023 |
| IU-IVD-031.v00 | 01 | 12/2025 | Emissão anterior |



+55 (11) 97169-2311
contato@biodetecta.com.br
biodetecta.com.br
Distrito Agroindustrial de Anápolis (DAIA)
Rua VP-1D - Quadra 02 - Módulo 01
Anápolis, 75132-035, Brasil