

3501-0010 (96 reações)

SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit

**Reação em cadeia da polimerase com transcriptase
reversa em tempo real**

Instruções de utilização.








Fabricante:
Wallac Oy,
Mustionkatu 6, FI-20750 Turku, Finlândia
www.perkinelmer.com






PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

CE


PerkinElmer®

SÍMBOLOS

Símbolo	Título do Símbolo e Número de Referência	Fonte do Símbolo/Título e Número Padrão	Descrição
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> Nº. 5.5.1	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica um dispositivo médico que se destina a ser utilizado como um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Código do lote Nº. 5.1.5	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica o código do lote do fabricante para que o lote possa ser identificado.
	Número de embalagem	Não aplicável	Não aplicável
	Referência de catálogo Nº. 5.1.6	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica o número do catálogo do fabricante para que o dispositivo médico possa ser identificado.
	Prazo de validade Nº. 5.1.4	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica a data após a qual o dispositivo médico não deve ser utilizado.
	Limite de temperatura Nº. 5.3.7	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica os limites de temperatura aos quais o dispositivo médico pode ser exposto de forma segura.
	Manter afastado da luz solar/Manter afastado do calor Nº. 5.3.2	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica um dispositivo médico que necessita de proteção contra fontes de luz.

Símbolo	Título do Símbolo e Número de Referência	Fonte do Símbolo/Título e Número Padrão	Descrição
	Conteúdo suficiente para "n" ensaios Nº. 5.5.5	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica o número total de testes IVD que podem ser realizados com os reagentes do kit IVD.
	Consulte as instruções de utilização Nº. 5.4.3	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica a necessidade do utilizador consultar as instruções de utilização.
	Fabricante Nº. 5.1.1	ISO 15223, Dispositivos Médicos - Símbolos para serem utilizados com rótulos de dispositivos médicos, marcação e informação a fornecer	Indica o fabricante do dispositivo médico, como definido nas Diretivas UE 90/385/EEC, 93/42/EEC e 98/79/EC.
	Este lado para cima	IATA (Associação Internacional de Transporte Aéreo)	Não aplicável
	Reciclável	RESY Organization für Wertstoffentsorgung GmbH	Não aplicável

SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O kit destina-se à deteção qualitativa de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2 (síndrome respiratória aguda grave por coronavírus 2) em RNA extraído do esfregaço orofaríngeo humano e dos espécimes de esfregaço nasofaríngeo como auxílio no diagnóstico de doentes suspeitos de COVID-19 (doença por coronavírus) pelo seu prestador de cuidados de saúde. Para determinar o estado infeccioso do doente, é necessário efetuar a correlação clínica com a história do doente e outras informações de diagnóstico.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O RNA do SARS-CoV-2 é geralmente detetável em espécimes de esfregaços orofaríngeos e de esfregaços nasofaríngeos humanos durante a fase aguda da infeção pelo vírus SARS-CoV-2 [1]. Os resultados positivos são indicativos da presença de RNA do SARS-CoV-2. No entanto, os resultados positivos não excluem infeção bacteriana ou coinfeção por outros vírus. Os resultados negativos não excluem infeção por SARS-CoV-2 e não devem ser utilizados como o único fator para as decisões de gestão de doentes. Os resultados negativos devem ser associados a observações clínicas, história do doente e informações epidemiológicas.

O SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório qualificado e treinado, com instruções e formação específicas sobre as técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIOS DO TESTE

O ensaio RT-PCR em tempo real SARS-CoV-2 utiliza a técnica de PCR em tempo real baseada em TaqMan™ para realizar a transcrição *in vitro* do RNA de SARS-CoV-2, a amplificação do DNA e a deteção da fluorescência.

O ensaio tem como alvo regiões genómicas específicas do SARS-CoV-2: gene do nucleocapsídeo (N) e ORF1ab [2]. As sondas do TaqMan™ para os dois produtos da amplificação são marcadas com corantes fluorescentes FAM™ e HEX™ /VIC™, respetivamente, para gerar um sinal específico do alvo.

O ensaio inclui sondas para o alvo de RNA humano que é utilizado como um controlo interno de RNA para monitorizar os processos desde a extração de ácido nucleico até à deteção da fluorescência. A sonda do controlo interno (IC) é marcada com corante fluorescente Cy5® para diferenciar o seu sinal fluorescente dos alvos de SARS-CoV-2. O ensaio também utiliza um sistema de prevenção de transferência dUTP/UNG para evitar a contaminação dos produtos da PCR e subsequentes resultados falsos positivos.

TaqMan é uma marca comercial da Roche Molecular Systems, Inc.

FAM e VIC são marcas comerciais da Thermo Fisher Scientific.

HEX e QuantStudio são marcas comerciais da Thermo Fisher Scientific.

Cy5 é uma marca registada da GE Healthcare UK Limited.

CONTEÚDO DO KIT

Cada 3501-0010 SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent Kit contém reagentes para 96 reações que podem ser utilizados num máximo de quatro execuções separadas.

O prazo de validade do kit intacto é indicado no rótulo exterior. Armazene o kit a $-30 - -16$ °C. Descongele a mistura enzimática em gelo ou a $+2 - +6$ °C. Deixe descongelar os outros reagentes durante 30 minutos para que fiquem à temperatura ambiente ($+19 - +25$ °C) antes de os utilizar. O kit pode tolerar até quatro ciclos de congelação e descongelação. Uma vez aberto, o kit deve ser utilizado no prazo de 30 dias.

Reagentes

Componente	Quantidade	Conservação e armazenamento
CoV2 Reagent A (Reagente A CoV2)	1 frasco, 110 µL	$-30 - -16$ °C protegido da luz até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco.
Tampões, Mg^{2+} , “primers”, sondas		
CoV2 Enzyme Mix (Mistura enzimática CoV2)	1 frasco, 550 µL	$-30 - -16$ °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco.
DNA polimerase, MMLV transcriptase reversa, dNTPs, inibidor da RNase, UNG/dUTP		
CoV2 Positive Control (Controlo positivo CoV2)	1 frasco, 70 µL	$-30 - -16$ °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco.
Fragmentos de RNA de SARS-CoV-2 RNA em plasmídeos		
CoV2 Negative Control (Controlo negativo CoV2)	1 frasco, 1000 µL	$-30 - -16$ °C até ao fim da validade indicada no rótulo do frasco.
Água sem nuclease		
Lot-specific quality control certificate (Certificado de controlo de qualidade, específico do lote)	1 exemplar	

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS COM O KIT

Os itens seguintes são necessários e podem ser obtidos através da Wallac Oy ou PerkinElmer, Inc. e seus distribuidores.

1. Extração de RNA: recomenda-se a utilização dos kits de extração de ácido nucleico PerkinElmer (por ex., CMG-1033-S) com o instrumento e o software chemagic™ 360. Podem ser utilizados outros sistemas de extração de RNA equivalentes.

Além disso, é necessário o seguinte:

- RT-PCR em tempo real: instrumentos com canais FAM™, HEX™/VIC™ e Cy5® (por ex., Roche Life Science LightCycler® 480 System, Thermo Fisher QuantStudio™, Bio-Rad CFX96 Real Time System)
- Pontas de pipeta barreira resistentes a aerossóis (para volumes 1–100 µL, 1–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL)
- Placas de PCR de 96 poços com saia completa. As dimensões e o espaçamento dos poços devem estar em conformidade com as normas ANSI-SBS 1-2004 e 4-2004 e as placas devem estar certificadas como estando isentas de DNase, RNase e DNA humano.
- Vedações de PCR adesivas transparentes para placas de PCR de 96 poços
- Pipetadores (para volumes 1–100 µL, 1–200 µL, 100–1000 µL, 1000–5000 µL)
- Pipetador multicanal (pipetador para 12 ou 8 canais para distribuir 10 µL e 20 µL)
- Agitador vórtex
- Microcentrifugadora capaz de agitar líquido em tubos de microcentrifugadora de 1.5 mL
- Aplicador de vedação/película adesiva (por ex., Thermo Fisher Scientific Inc., Hampton Research Corp. ou Life Technologies Corporation)
- Centrifugadora de placas capaz de centrifugar placas de PCR de 96 poços a 1600 x g durante 1 min (por ex., Labnet International, Inc.)
- Placa espaçadora ou tapete de compressão de silicone para placa de 96 poços (por ex., Sigma Aldrich, Inc. ou Life Technologies Corporation)

COLHEITA E MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

É utilizado RNA purificado como modelo para a reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa em tempo real específica de SARS-CoV-2 descrita na secção da técnica.

Para a extração de RNA recomenda-se a utilização dos kits de extração de ácido nucleico PerkinElmer (por ex., CMG-1033-S) com o sistema chemagic™ 360 ou um método de extração de RNA equivalente.

AVISOS E PRECAUÇÕES

Para diagnóstico *in vitro*.

Este kit deve ser utilizado apenas por técnicos com formação adequada.

A utilização deste kit deve ser efetuada estritamente de acordo com as diretrizes de amplificação de ácido nucleico para conformidade com os requisitos de laboratórios adequados.

Manuseie todos os espécimes de doentes como potencialmente infecciosos.

A eliminação dos resíduos deve ser realizada de acordo com as regulamentações locais.

TÉCNICA

A preparação da mistura de reagentes e da amplificação deve ser efetuada em zonas fisicamente separadas utilizando equipamento de laboratório dedicado. Consulte "OBSERVAÇÕES À TÉCNICA" para obter mais informações.

Executar controlos

O produto fornece um controlo negativo, um controlo positivo e um controlo interno (IC) para monitorizar a fiabilidade dos resultados de todo o lote de espécimes desde a extração da amostra até à amplificação da PCR.

Técnica

Utilize luvas descartáveis e batas de laboratório dedicadas em cada zona. Mude as luvas frequentemente (por ex., quando entrar numa nova zona de trabalho).

Preparação da PCR (na primeira e segunda zonas pré-PCR). **Observação:** utilize a primeira zona pré-PCR para a preparação da mistura de reagentes da PCR, a segunda zona pré-PCR para adicionar o RNA.

1. **Descongelar reagentes** (primeira zona pré-PCR). Retire o **reagente A CoV2**, o **controlo positivo CoV2** e o **controlo negativo CoV2** do congelador e coloque-os na zona de preparação da PCR. A mistura enzimática não congela a $-30 - -16$ °C, mas pode ocorrer gelificação. Mantenha o reagente A CoV2 **protegido da luz**. Descongele a mistura enzimática em gelo ou a $+2 - +6$ °C até retomar o estado líquido. Deixe descongelar os outros reagentes durante 30 minutos para que fiquem à temperatura ambiente ($+19 - +25$ °C) antes de utilizar. Mantenha a mistura enzimática CoV2 no congelador até que seja necessária, no passo 5 abaixo.
2. **Descongelar amostras**. Retire as **amostras de ácido nucleico** a analisar do congelador e coloque-as na segunda zona pré-PCR.
3. Agite no vórtex os reagentes descongelados e centrifugue-os a baixa velocidade durante alguns segundos para enviar o líquido para a parte inferior dos tubos.

4. Agite suavemente as amostras de RNA descongeladas invertendo o frasco 10 vezes e centrifugue brevemente o frasco para que o líquido assente no fundo do frasco.
5. Retire a **mistura enzimática CoV2** do congelador. Agite suavemente invertendo o frasco 10 vezes (evite a formação de espuma e de bolhas de ar) e centrifugue brevemente o frasco para que o líquido assente.
6. Prepare a mistura de reagentes da PCR **em gelo** de acordo com a tabela seguinte. Os controlos positivo e negativo devem ser incluídos no número de amostras (n(amostras)).

Componente	Volume
Reagente A CoV2	1 µL / teste x n(amostras)
Mistura enzimática CoV2	5 µL / teste x n(amostras)
Total	6 µL / teste x n(amostras)

Observação: a mistura enzimática é um material viscoso; é necessária precaução durante a pipetagem para garantir que é transferido o volume correto.

7. Feche o frasco que contém a mistura de reagentes da PCR e agite suavemente invertendo o frasco 10 vezes (evite a formação de espuma e de bolhas de ar). **Volte a colocar no congelador os reagentes do kit não utilizados -30 – -16 °C.** Mantenha a mistura de reagentes em gelo e protegida da luz e leve-a para a zona da amostra.
8. Distribua em alíquotas 6 µL da mistura de reagentes da PCR em cada tubo/poço de PCR numa placa de PCR.
9. Passe para a segunda zona pré-PCR e adicione 14 µL de ácido nucleico extraído em cada tubo ou poço contendo a mistura da PCR, feche as tampas dos tubos ou vede bem a placa de PCR utilizando uma vedação de PCR adesiva transparente e um aplicador de vedação/película. Coloque os tubos no vórtex cuidadosamente e centrifugue-os brevemente para remover quaisquer bolhas. Em alternativa, centrifugue a placa durante 1 min a 1600 x g e a +19–+25 °C. Prossiga imediatamente para o passo 10. Transfira os tubos ou a placa de PCR para a zona de PCR.

Amplificação (na zona de PCR)

10. Coloque os tubos de PCR/a placa de PCR do passo 9 numa cicladora de PCR em tempo real.
11. Defina as condições de termociclagem como indicado para a amplificação da PCR e a deteção da fluorescência.

Passo	Temperatura	Tempo	Número de ciclos
1	+25 °C *	2 minutos	1
2	+50 °C	15 minutos	1
3	+95 °C	2 minutos	1
4	+95 °C	3 segundos	45
	+60 °C **	30 segundos	

* Se não for possível definir a temperatura para 25 °C na cicladora (por ex., LightCycler® 480), mantenha a placa de PCR à temperatura ambiente durante dois minutos antes de iniciar a execução de amplificação.

** Detete o sinal de fluorescência durante o passo final a +60 °C.

Defina os canais de fluorescência como indicado abaixo:

Analito	Controlo interno (IC)	Gene N	Gene ORF1ab
Canal de deteção	Cy5®	FAM™	VIC™ ou HEX™

OBSERVAÇÕES À TÉCNICA

- Os laboratórios devem dispor de três zonas de trabalho fisicamente separadas [3]: a primeira zona pré-PCR para a preparação da mistura de reagentes da PCR, a segunda zona pré-PCR para adicionar o RNA e a zona pós-PCR para amplificação e deteção do produto. Se não estiverem disponíveis três salas separadas no laboratório, as câmaras de laboratório ou as cabinas sem circulação de ar com acessórios de luz ultravioleta podem fornecer uma zona pré-PCR limpa; as capelas de laboratório ou as cabinas sem circulação de ar podem ser colocadas na mesma sala da zona pré-PCR para adição do RNA. A zona utilizada para amplificação e deteção do produto deve ser separada da(s) zona(s) pré-PCR.
- Para evitar a contaminação, os laboratórios devem implementar um fluxo de trabalho que minimize a deslocação das zonas "suja" para as zonas "limpas" durante o trabalho de PCR. "Limpo" refere-se às zonas pré-PCR sem produto de amplificação e onde são preparadas as reações de amplificação. Zonas "suja" refere-se às zonas do laboratório pós-PCR com produtos de amplificação, onde ocorre a amplificação, e onde são utilizados métodos de deteção pós-PCR. O fluxo de trabalho das zonas "limpas" para as "suja" também deve ser tido em conta durante a limpeza habitual das zonas do laboratório.
- A limpeza frequente das superfícies de trabalho das zonas de pipetagem com lixívia diluída, o enxaguamento com água esterilizada e a secagem são formas eficazes de prevenir a contaminação (utilize lixívia a 10% recém-preparada, ou seja, aproximadamente hipoclorito de sódio a 0.5%). Além disso, a utilização de luzes ultravioleta colocadas por cima das superfícies de trabalho pode ajudar a prevenir a contaminação. Proteja-se da luz ultravioleta de acordo com as instruções do fabricante do instrumento.

4. Cada zona de trabalho deve ter pipetadores, utensílios de plástico, marcadores e utensílios de vidro dedicados. Devem ser utilizadas pontas de pipeta barreira resistentes a aerossóis para pipetar os reagentes e preparar as reações de amplificação.
5. Feche os frascos de reagentes imediatamente após a utilização para evitar uma exposição desnecessária a possíveis fontes de contaminação.
6. Armazene as vedações nas embalagens originais e evite a exposição desnecessária à luz antes da utilização.
7. Armazene as placas de PCR nas embalagens originais antes da utilização. Evite uma exposição desnecessária a possíveis fontes de contaminação.
8. Antes e após a incubação térmica, recomenda-se que se certifique visualmente que a placa está adequadamente vedada. Uma vedação aberta pode afetar os resultados causando a evaporação e a contaminação cruzada dos poços.
9. É necessária uma compreensão total deste folheto informativo e dos manuais dos instrumentos de PCR em tempo real para a utilização correta do 3501-0010 SARS-CoV-2 RT-qPCR Reagent kit. Os reagentes fornecidos com este kit destinam-se a ser utilizados em conjunto. Não utilize os reagentes do kit depois do fim da data de validade indicada no rótulo do kit.
10. A velocidade recomendada da centrifugação é 1600 x g. Tenha em conta que as rotações por minuto (rpm) podem diferir dos valores g dependendo do rotor utilizado.
11. Qualquer desvio do procedimento de ensaio pode afectar os resultados.
12. Os laboratórios devem seguir os regulamentos locais e as práticas adequadas para a eliminação de reações de amplificação que contêm material de amostras para evitar a contaminação. A eliminação das amostras dos doentes deve cumprir os regulamentos locais e as políticas das instituições. **Observação: após a conclusão da técnica, as placas de reação vedadas devem ser eliminadas sem que sejam abertas.** As reações de amplificação vedadas também podem ser enviadas para um centro fora do laboratório ou eliminadas em sacos de resíduos de plástico autoclaváveis vedados juntamente com os restantes resíduos do laboratório.

CÁLCULO DOS RESULTADOS

Após a conclusão da execução, guarde e analise os dados de acordo com as instruções do instrumento. A maioria dos instrumentos irá configurar automaticamente os parâmetros de fundo/linha de base e o nível do limiar que irão gerar, frequentemente, resultados aceitáveis. Em alguns casos, os valores de fundo/linha de base e de limiar devem ser definidos manualmente para a obtenção de resultados otimizados. Os valores de fundo/linha de base começam, normalmente, a partir de 3-5 ciclos e terminam alguns ciclos antes de ocorrer qualquer amplificação de fluorescência significativa. O nível do limiar deve ser definido para o início da fase exponencial das curvas de amplificação e acima do sinal de fundo, tal como o sinal do controlo negativo.

Efetue a análise dos dados e interprete os resultados com base nas tabelas indicadas nas secções “Controlo de qualidade” e “Análise e interpretação dos resultados de espécimes de doentes”.

Controlo de qualidade

Os resultados dos testes do controlo positivo e do controlo negativo devem ser analisados antes da interpretação dos resultados dos espécimes. O controlo positivo e o controlo negativo devem cumprir os requisitos indicados na tabela abaixo para garantir resultados válidos. Se os controlos não forem válidos, não é possível interpretar os resultados dos espécimes.

Controlo	Ct		
	Gene N (FAM™)	Gene ORF1ab (HEX™/VIC™)	Controlo interno (Cy5®)
Negativo	Indeterminado ou Ct > 40	Indeterminado ou Ct > 40	Indeterminado ou Ct > 40
Positivo	Ct ≤ 32	Ct ≤ 35	Nenhum requisito

Controlo negativo: os genes *ORF1ab* e *N* de SARS-CoV-2 ou o controlo interno **não devem ser** detetados ou Ct deve ser > 40.

Controlo positivo: os genes *ORF1ab* e *N* de SARS-CoV-2 devem ser detetados e os respetivos valores de Ct devem ser ≤ 35 ≤ 32, respetivamente, o valor de Ct do controlo positivo não tem requisito de Ct para o controlo positivo.

Análise e interpretação dos resultados de espécimes de doentes

A avaliação dos resultados dos testes de espécimes clínicos deve ser efetuada depois de os controlos positivo e negativo terem sido analisados e confirmados como válidos e aceitáveis. Se os controlos não forem válidos, não é possível interpretar os resultados dos doentes.

A tabela abaixo mostra um exemplo dos resultados esperados para o kit com controlo positivo e controlo negativo válidos. Os alvos de “cut-off” de Ct abaixo derivam de estudos de verificação e validação do produto e o utilizador deve determinar os seus próprios valores de “cut-off” de Ct para um desempenho otimizado.

Ct		Interpretação de resultados
IC (Cy5®)	N (FAM™), ORF1ab (HEX™)	
≤40	Ambos os alvos indeterminados ou > 42	SARS-CoV-2 não detetado
Sem requisitos no valor de Ct	Ambos os alvos ≤ 42	SARS-CoV-2 detetado
Sem requisitos no valor de Ct	Um dos alvos ≤ 42	SARS-CoV-2 detetado*
> 40 ou indeterminado	Ambos os alvos indeterminados ou > 42	Resultado inválido, o espécime tem de ser testado novamente a partir de nova extração ou nova colheita do doente para teste.

* No caso de um positivo para o alvo SARS-CoV-2/um negativo para o alvo SARS-CoV-2, o resultado sugere uma amostra em concentrações próximas ou abaixo do limite de deteção do teste. O espécime pode ser testado novamente a partir de nova extração.

LIMITAÇÕES

Este kit é utilizado para a deteção qualitativa de RNA de SARS-CoV-2 a partir de RNA extraído de uma amostra de esfregaço orofaríngeo e de esfregaço nasofaríngeo humano. Os resultados não refletem diretamente a carga viral dos espécimes originais.

Este kit é aplicável apenas a tipos de espécimes descritos na secção “UTILIZAÇÃO PRETENDIDA”. Testar outros tipos de espécimes poderá originar resultados imprecisos. Os espécimes a testar devem ser colhidos, processados, armazenados e transportados de acordo com as condições especificadas nas instruções. A preparação e operação inadequadas dos espécimes poderão originar resultados imprecisos.

O PerkinElmer Nucleic Acid Extraction Kit (CMG-1033-S) e o instrumento chemagic™ 360 são recomendados para a extração de ácido nucleico. Se forem utilizados outros reagentes ou equipamentos para a extração de ácido nucleico, estes devem ser verificados antes da utilização.

Roche Life Science LightCycler® 480 System, Thermo Fisher QuantStudio™ e Bio-Rad CFX 96 Touch são recomendados para a amplificação de ácido nucleico. Outros instrumentos de amplificação de ácido nucleico devem ser verificados antes da utilização.

O limite de deteção (LoD) é determinado com base numa confiança de 95% de deteção. Quando o SARS-CoV-2 se apresenta na ou acima da concentração do LoD no espécime de teste, existe uma baixa probabilidade de não deteção do SARS-CoV-2. Quando o SARS-CoV-2 se apresenta abaixo da concentração do LoD no espécime de teste, existe também uma baixa probabilidade de deteção do SARS-CoV-2.

Na determinação do LoD deste kit, foi utilizado um número conhecido de cópias de RNA de SARS-CoV-2. Os resultados aplicam-se apenas a este kit e os números de cópias definidos por outros métodos não são necessariamente equivalentes.

Os “primers” e as sondas deste kit têm como alvo regiões altamente preservadas dentro do genoma do SARS-CoV-2. As mutações que ocorrem nestas regiões altamente preservadas, embora raras, podem fazer com que o RNA não seja detetável.

Este kit utiliza um sistema de prevenção de transferência de produtos da PCR UNG/dUTP que pode ser eficaz na prevenção da contaminação causada por produtos da PCR. Contudo, no processo de operação efetivo, só é possível evitar a contaminação da PCR seguindo estritamente as instruções dos laboratórios de PCR.

Os resultados negativos não excluem a presença de infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser utilizados como o único fator para o tratamento ou para a tomada de outras decisões de gestão de doentes.

Os impactos de vacinas, terapêuticas antivirais, antibióticos, medicamentos quimioterapêuticos ou imunossupressores no desempenho do ensaio não foram avaliados.

Os laboratórios estão obrigados a notificar todos os resultados positivos às autoridades de saúde pública apropriadas.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DO ENSAIO

Precisão¹

Foram testadas duas amostras com alvos de RNA a $1\times$ LoD e $5\times$ LoD e o controlo positivo com 40 réplicas em 10 execuções utilizando dois instrumentos diferentes e 2 operadores. O coeficiente de variação (CV%) dos valores de Ct para estas amostras foi de $\leq 6\%$.

Limites analíticos²

O limite de deteção (LoD) deste kit foi determinado como sendo um volume de 1 cópia/ μ L ou 20 cópias/reação para cada agente viral (N e ORF1ab).

Especificidade analítica - Reatividade cruzada³

Foram testados com outro kit, utilizando as mesmas sequências alvo, coronavírus humano (229E, OC43), SARS-coronavírus (plasmídeo), MERS-coronavírus (plasmídeo), adenovírus (tipo 2, 3, 31, 37 e 51), enterovírus (tipo A e D), rinovírus (tipo A e B), vírus influenza A (H1N1, H1N1-2009, H3N2), vírus influenza B, vírus sincicial respiratório, vírus parainfluenza, vírus do sarampo, vírus da papeira, citomegalovírus humano, Chlamydia pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae, Hemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus saliva, vírus da hepatite A, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C, vírus Epstein-Barr, vírus herpes simplex tipo I, vírus herpes simplex tipo II, vírus da imunodeficiência humana tipo I (HIV-1), vírus da imunodeficiência humana

¹ Estudo realizado na Wallac Oy, Turku, Finlândia.

² Como acima indicado

³ Estudo realizado na Suzhou SYM-BIO LifeScience Co., Ltd., Taicang, China.

tipo II (HIV-2) e DNA genómico humano. Os resultados foram todos negativos para SARS-CoV-2, não foi detetada qualquer reatividade cruzada para as sequências de “primer” e sonda utilizadas com estes agentes patogénicos ou DNA.

GARANTIA

As características do ensaio aqui apresentadas foram obtidas utilizando a técnica indicada. Qualquer alteração da técnica, não recomendada pelo fabricante, pode afectar os resultados; neste caso a Wallac Oy e os seus afiliados não se responsabilizam por nenhuma garantia, expressa, implícita ou estatutária, incluindo a garantia implícita de venda ou adequação ao uso.

A Wallac Oy, os seus afiliados e distribuidores autorizados não serão, neste caso, responsáveis por danos indirectos ou consequentes.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in suspected human cases, World Health Organization, 2020.
- [2] China CDC Virus Disease Control and Prevention. Novel coronavirus nucleic acid detection primer and probe sequences (Specific Primers and Probes for Detection Novel coronavirus 2019) [EB / OL]., 2020-01-21.
- [3] Health Protection Agency. Good Laboratory Practice when Performing Molecular Amplification Assays. National Standard Method QSOP. 2018; Q 4, Issue no: 5.

Ultima revisão Abril 2020