

PT

Manual de instruções

ViroQ SARS-CoV-2

Kit de teste para detecção qualitativa do RNA do SARS-CoV-2

Para a versão eletrônica deste manual de instruções, acesse www.bag-diagnostics.com



REF 728250	ViroQ SARS-CoV-2	96 testes
REF 728251	ViroQ SARS-CoV-2	480 testes

Para o uso com		
Tipos de amostra	Kits de extração de RNA/ Instrumentos de extração automatizada	Instrumentos PCR em tempo real
Swab nasofaríngeo (NF)	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini Kit	Bio-Rad CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System
Swab orofaríngeo	QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit / QIAcube	Roche LightCycler® 480 System II
Swab nasal	QIAGEN QIASymphony DSP Virus / Pathogen Mini Kit / QIASymphony SP	Applied Biosystems QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR- System 96-Well Fast, laptop
Swab nasal anterior	Roche Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / MagNA Pure 96 Instrument	
Swab de concha nasal média		

Aviso importante: Para alguns cicladores, é necessária uma compensação de cor ou uma calibração de cor. Verifique a lista continuamente atualizada em nosso site através do botão “Cycler Settings”: <https://www.bag-diagnostics.com/en/sars-cov-2-en.html>

As alterações da Versão 3/2020 estão marcadas em amarelo.

Versão: 4/2020 / Status: 2020-09

Conteúdo

1. USO PRETENDIDO	3
2. DESCRIÇÃO DO PRODUTO	3
3. PRINCÍPIO DO TESTE	3
4. MATERIAL	3
4.1 Conteúdo do kit ViroQ SARS-CoV-2	3
4.2 Reagentes e dispositivos adicionais necessários	4
4.3 Cicladores e tubos validados	4
5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE	5
6. PROCEDIMENTO DE ENSAIO	5
6.1 Precauções e avisos especiais	5
6.2 Isolamento de RNA	5
6.3 Preparação dos reagentes	6
6.4 Amplificação	6
6.5 Interpretação dos resultados	7
7. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS	9
7.1 Limite de detecção	9
7.2 Avaliação clínica da sensibilidade e especificidade do diagnóstico	9
7.3 Reatividade cruzada	10
8. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES	11
9. LIMITAÇÕES DO MÉTODO	11
10. CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE	12
11. RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	12
12. MARCAS USADAS NESTE DOCUMENTO/PRODUTO	12
13. EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NAS ETIQUETAS	13
14. LITERATURA	13

1. USO PRETENDIDO

O kit ViroQ SARS-CoV-2 é usado para a detecção qualitativa do RNA do SARS-CoV-2 em material de amostra coletado do trato respiratório, como swab nasofaríngeo (NF), swab orofaríngeo (OF), swab nasal, swab nasal anterior e swab da concha nasal média por meio de transcrição reversa do RNA e subsequente amplificação na PCR em tempo real usada. O teste é realizado por pessoal qualificado em laboratórios especializados.

2. DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O kit ViroQ SARS-CoV-2 é usado para a detecção in vitro do RNA do SARS-CoV-2 em material de amostra coletado do trato respiratório como swab nasofaríngeo (NF), swab orofaríngeo (OF), swab nasal, swab nasal anterior e swab da concha nasal média. O kit é baseado em uma reação de uma etapa na tecnologia de PCR em tempo real. Graças a uma síntese eficiente de cDNA a partir do RNA em combinação com uma PCR em tempo real, o kit ViroQ SARS-CoV-2 possibilita a realização de testes em tubos de reação. O kit contém primers e sondas fluorescentes para a amplificação e detecção de fragmentos de genes de SARS-CoV-2. Além disso, contém um controle interno para garantir amostragem correta e amplificação bem-sucedida.

3. PRINCÍPIO DO TESTE

Para sua realização, o teste utiliza como material de partida o RNA. O RNA é convertido em cDNA por meio de transcriptase reversa e subsequentemente amplificado em uma PCR. Os primers foram desenvolvidos especialmente para a amplificação seletiva do cDNA transcrito dos genes virais RdRP e E (RdRP Gen: Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2; E Gen: Corman et al. 2020). Os amplicons são detectados usando sondas de hidrólise marcadas com fluorescência específicas para SARS-CoV-2 (sondas TaqMan®).

No caso de presença de amplicons, as sondas são hidrolisadas pela polimerase Taq, gerando um sinal de fluorescência que aumenta proporcionalmente à quantidade do produto de PCR. Os sinais de fluorescência são medidos pelo sistema de detecção óptica do ciclador de PCR em tempo real. O teste é realizado em uma única reação de PCR, que detecta os dois genes virais RdRP e E e um gene humano expresso universalmente (RNase P) com diferentes cores fluorescentes. A detecção do gene RNase P garante a amostragem correta, o isolamento do RNA e a amplificação por RT-PCR.

4. MATERIAL

4.1 Conteúdo do kit ViroQ SARS-CoV-2

- **ViroQ|ENZYME** ViroQ Enzyme, liofilizado, contém transcriptase reversa, polimerase Taq, dNTPs
- **ViroQ|SOLV** ViroQ Solvent, pronto para uso, contém tampão de reconstituição para a ViroQ Enzyme
- **ViroQ|MIX** ViroQ Mix, pronto para uso, contém primers, sondas e tampão de armazenamento

- **CONTROL+** **ViroQ Pos Ctrl**, controle de positivo, seco, contém RNA humano e RNA de referência para o vírus

- **IFU or eIFU** **Manual de instruções ou Manual de instruções eletrônicas**

4.2 Reagentes e dispositivos adicionais necessários

- Reagentes para isolamento de RNA (para kits de isolamento de RNA validados, consulte 6.2)
- Ciclador em Tempo Real (para ciclador validado, consulte 4.3)
- Tubos de PCR em tempo real com tampa ou película (para produtos validados, consulte 4.3)
- H₂O livre de RNase
- Pipetas de embolo (0,5 - 1000 µl) e ponteiros
- Color Compensation kit para o LightCycler® 480 I+II, 2.0 (REF 728258 ViroQ CC Light Cycler®, fornecido pela BAG Diagnostics)
- Color Calibration Kit para QuantStudio, StepOne, ABI 7500, ViiA7 (REF 728260 RT CC Universal Applied Biosystems®, fornecido pela BAG Diagnostics)

4.3 Cicladores e tubos validados

Ciclador	Tubos de reação	Sistemas de fechamento
CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System Empresa Bio-Rad	FrameStar® Break-A-Way PCR Plate, Low Profile, 96 white wells, black frame N.º do produto 4ti-1201 Empresa 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ N.º do produto 4ti-0755/120 Empresa 4titude / Brooks Life Sciences
	Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, Low Profile, thin wall, skirted, white/white N.º do produto HSP9655 Empresa Bio-Rad	qPCR Seal N.º do produto 4ti-0560 Empresa 4titude / Brooks Life Sciences
LightCycler® 480 System II Empresa Roche	LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white N.º do produto 04729692001 Empresa Roche	0.2 ml Flat PCR Tube 8-Cap Strips, optical, ultraclear, N.º do produto TCS0803 Empresa Bio-Rad
QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast, laptop Empresa Applied Biosystems	Vari-Strip™ 8 Well PCR Tube Strips N.º do produto 4ti-0753 Empresa 4titude/ Brooks Life Sciences	qPCR Seal N.º do produto 4ti-0560 Empresa 4titude / Brooks Life Sciences
	FrameStar® 96 Well Semi-Skirted, PCR Plate, ABI® FastPlate Style, white wells, clear frame N.º do produto 4ti-0911 Empresa 4titude/ Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ N.º do produto 4ti-0755/120 Empresa 4titude / Brooks Life Sciences

Aviso especial: Se outros cicladores em tempo real, tubos de reação e sistemas de fechamento forem usados, deverão ser validados pelo usuário.

5. ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Os kits são enviados à temperatura ambiente. Após o recebimento, todos os reagentes devem ser armazenados em unidades com temperatura monitorada a ≤ -20 °C. A data de validade é mostrada no rótulo dos reagentes. A data de validade indicada no rótulo externo refere-se ao reagente com a menor validade. Os reagentes ViroQ Enzyme e ViroQ Solvent podem ser armazenados em temperatura ambiente até o fim da validade, desde que o liofilizado ainda não tenha sido dissolvido no tampão de reconstituição. Após a solução, o prazo de validade é de 12 meses.

Descongelamento e congelamento repetidos dos reagentes já dissolvidos (mais de duas vezes) devem ser evitados, pois isso pode afetar o desempenho do ensaio. Se usados de forma intermitente, os reagentes devem ser aliquotados.

6. PROCEDIMENTO DE ENSAIO

6.1 Precauções e avisos especiais

Técnicas genéticas moleculares são métodos particularmente sensíveis e só devem ser realizadas por profissionais qualificados com experiência em técnicas genéticas moleculares.

Precauções especiais devem ser tomadas para evitar contaminação, resultando em reações incorretas:

- ◆ Trabalhe sempre com luvas (de preferência sem pó)
- ◆ Use ponteiros novas (com inserto de filtro ou punção integrada) a cada etapa de pipetagem
- ◆ Áreas de trabalho separadas para pré-amplificação (preparação das reações) e pós-amplificação (detecção); se possível, use duas salas separadas
- ◆ Use dispositivos e outros materiais apenas nos respectivos locais de trabalho, sem trocar.

6.2 Isolamento de RNA

O material da amostra para isolar o RNA deve ser enviado em sistemas de amostragem adequados. Para uma amostragem correta, as instruções da OMS no link a seguir devem ser seguidas <https://www.who.int/csr/sars/sampling/en/>. Recomenda-se o uso de kits com CE certificação IvD para o isolamento de RNA.

Kits de isolamento de RNA validados:

Manual

- QIAGEN QIAamp Viral RNA Mini Kit

Automatizado

- QIAGEN QIAamp® Viral RNA Mini QIAcube Kit
- QIAGEN QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Mini Kit

- Roche MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit

Se o método padrão estabelecido pelo laboratório para o isolamento de RNA for utilizado e não corresponder a um dos kits validados acima, então deverá ser validado pelo usuário.

6.3 Preparação dos reagentes

ViroQ Enzyme

Antes de usar, a mistura de enzimas ViroQ Enzyme é liofilizada e deve ser dissolvida com 400 µl de ViroQ Solvent pipetando para cima e para baixo.

ViroQ Pos Ctrl

O controle de positivo ViroQ Pos Ctrl é seco e deve ser dissolvido com 30 µl de H₂O livre de RNase pipetando para cima e para baixo, deixando-se hidratar completamente por 15 minutos e, em seguida, misturar mais uma vez em vórtex minuciosamente.

6.4 Amplificação

Devem ser utilizados tubos de reação recomendados pelo fabricante do ciclador em tempo real ou os materiais recomendados no capítulo 4.3.

Para cada amostra, as seguintes reagentes são pipetados em um tubo de reação:

- 4 µl ViroQ Enzyme
- 2 µl ViroQ Mix (primers e sondas)
- 5 µl* Amostra de RNA
- 9 µl H₂O livre de RNase

*Em caso de uma concentração muito baixa esperada de cópias virais, o volume da amostra poderá ser aumentado e, ao mesmo tempo, a quantidade de água, reduzida.

O volume da reação para cada teste de PCR em tempo real é de 20 µl.

Se uma pré-mistura de ViroQ Enzyme, ViroQ Mix e H₂O livre de RNase for produzida para mais de uma amostra, considere uma quantidade adicional apropriada para compensar perdas por pipetagem.

Para a preparação do **Controle de positivo (PTC)**, uma reação de PCR é preparada e o ViroQ Pos Ctrl é usado no lugar da amostra de RNA. Para a preparação de um **No Template Control (NTC)**, água é usada em vez do RNA.

Feche os tubos de reação e assegure-se de que o líquido esteja no fundo do tubo. Certifique-se de que não haja bolhas nos tubos de reação. Se houver bolhas, bata suavemente o tubo de reação na bancada para remover as bolhas.

Inicie o programa de PCR com os seguintes parâmetros:

Passo	Tempo	Temperatura	Número de ciclos
Transcrição reversa	20 min	48 °C	1 ciclo
Ativação da polimerase	3 min	95°C	1 ciclo
Desnaturação	15 s	95°C	45 ciclos
Recozimento + Extensão	30 s + leitura	58°C	

Os seguintes cicladores em tempo real foram validados para o kit ViroQ SARS-CoV-2:

Biorad: CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System

Roche: LightCycler® 480 System II

Applied Biosystems: QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR-System 96-Well Fast, laptop

Aviso especial

Se outros cicladores em tempo real forem usados, deverão ser validados pelo usuário.

6.5 Interpretação dos resultados

A avaliação dos resultados dos testes para amostras clínicas deve ser realizada após os controles de positivos e negativos terem sido examinados e considerados válidos e aceitáveis. Se os controles não forem válidos, os resultados do paciente não poderão ser interpretados.

Um valor de corte de Ct é usado para todas as três reações na mistura do PCR multiplex para definir reações positivas. Se o valor de Ct for inconclusivo, pode ser útil verificar as curvas de fluorescência.

Todos os testes, exceto No Template Control (NTC), devem mostrar um sinal fluorescente no canal vermelho com o controle interno. As amostras positivas de SARS-CoV-2 devem mostrar um sinal positivo no canal FAM (gene RdRP) ou em ambos os canais FAM e CFO560/HEX/VIC/JOE (gene E). O controle de positivo deve ter um sinal de amplificação dentro dos valores de Ct definidos em cada canal.

Canal	Especificidade
FAM	SARS-CoV-2/Gene RdRP (RNA-dependend RNA-Polymerase – RNA polimerase dependente de RNA)
CFO560/HEX/VIC/JOE	Beta-CoV/E Gen (Sarbeco, Envelope)
CFR610/Texas Red/ROX	Controle celular/ Rnase P

Os sinais de amplificação para amostras negativas de SARS-CoV-2 devem estar fora dos valores de Ct definidos para ambos os canais (verde e laranja).

O NTC é usado como controle de contaminação. Caso um RNA ou amplificação do material genético contaminada tenha sido adicionada não intencionalmente, um sinal positivo será visível no NTC. Caso o Ct for menor que 35, isto deve ser considerado como uma possível contaminação. Sinais de amplificação acima de Ct 35 no NTC podem ser baseados em artefatos de PCR e podem ser ignorados, levando em consideração a fluorescência final (RFU) e a forma da curva de amplificação (veja abaixo a interpretação dos resultados entre Ct 35 e Ct 45). Caso haja suspeita de contaminação, recomenda-se respeitar as diretrizes locais para descontaminação e substituir os reagentes.

Para resultados válidos, todos os valores de Ct ≤ 35 são classificados como positivos (consulte a tabela abaixo).

	Canal	Nível de Ct	Verificar	Comprimento de onda em nm
Controle celular	Vermelho (CFR610)	$\leq 35^*$	>35-45**	Estímulo: 590 Emissão: 610
Gene RdRP do vírus	Verde (FAM)	≤ 35	>35-45	Estímulo: 495 Emissão: 520
Gene E do vírus	Laranja (CFO560)	≤ 35	>35-45	Estímulo: 538 Emissão: 559

* Uma alta concentração de RNA do SARS-CoV-2 na amostra pode resultar em sinais de controle celular reduzidos ou ausentes.

** Uma falha nesse controle significa: Concentração inadequada de material celular humano. Amostragem ou envio de amostras inadequada.

Independentemente do valor de Ct, uma reação positiva deve apresentar uma curva de amplificação sigmóide e fluorescência final suficiente (RFU). A RFU depende do ciclador - a RFU final do controle de positivo pode ser usada como uma referência para a RFU final normal em um ciclador específico. O controle de positivo também pode ser usado como um exemplo para forma sigmóide correta da curva de amplificação. Por esta razão, resultados com valor de Ct acima de 35 e RFU final mais baixa devem ser verificados em relação à forma sigmóide da curva de amplificação e a plausibilidade da reação. Amostras com resultados inconclusivos devem ser repetidas e interpretadas no contexto da evolução clínica do paciente. Em caso de dúvida sobre o ajuste de Thresholds ou valores limite de Ct, entre em contato com a assistência da BAG Diagnostics (telefone: +49 (0) 6404 925125, e-mail: info@bag-diagnostics.com) ou com seu representante de vendas.

A tabela a seguir mostra a interpretação dos resultados da amplificação:

FAM Gene RdRP	CFO560 Gene E	CFR610 Controle celular	Resultado
+	+	+*	RNA específico do SARS-CoV-2 detectado.
+	-	+*	RNA específico do SARS-CoV-2 detectado.
-	+	+*	RNA específico do Beta-CoV detectado. Repita o teste com a mesma amostra ou uma nova amostra.
-	-	+	Nenhum RNA específico do SARS-CoV-2 detectado. A amostra não contém quantidades detectáveis ou suficientes de cópias (LoD) do RNA específico.
-	-	-**	Resultado inválido devido à inibição da PCR em tempo real ou falha do reagente. Repita o isolamento do RNA e/ou o teste com a amostra original.

* Uma alta concentração de RNA do SARS-CoV-2 na amostra pode resultar em sinais de controle celular reduzidos ou ausentes.

** Uma falha nesse controle significa: Concentração inadequada de material celular humano. Amostragem, armazenamento de amostras ou envio de amostras inadequado.

7. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

A combinação de primers e sondas garante a identificação confiável do RNA específico para SARS-CoV-2. A precisão e reprodutibilidade da especificidade do kit de teste são verificadas para cada lote usando amostras de referência previamente tipadas.

7.1 Limite de detecção

O limite de detecção (LoD) é definido pela menor concentração de RNA do SARS-CoV-2, detectada com sucesso com uma probabilidade de 95% ou mais. O LoD foi determinado usando cinco níveis diferentes de diluição de um RNA de referência do vírus, cada testado em 20 repetições. A sensibilidade analítica do teste ViroQ-SARS-CoV-2 RT-PCR é, portanto, **5 cópias / 20 µl de reação** para os dois genes alvo (RdRP, E-Gen) com o LightCycler® 480 II System.

7.2 Avaliação clínica da sensibilidade e especificidade do diagnóstico

Para o kit ViroQ SARS-CoV-2, um estudo de avaliação de desempenho foi realizado com 371 amostras de RNA previamente tipadas. Os resultados do estudo foram comparados aos resultados obtidos em um laboratório clínico em testes de rotina com kits de teste de outro fabricante. Resultados discrepantes foram resolvidos usando um terceiro teste e múltiplos retestes. A avaliação final dos resultados de uma amostra foi utilizada para calcular a especificidade e sensibilidade diagnóstica do teste.

Especificidade diagnóstica: 99,7%

Sensibilidade diagnóstica: 100%

		ViroQ SARS-CoV-2	
		Positivo	Negativo
Avaliação final	Positivo	37	0
	Negativo	1*	333

* Mensagem pessoal do laboratório clínico relator: reação fraca com Ct tardio para esta amostra, porém negativa devido a informações clínicas adicionais!

7.3 Reatividade cruzada

A reatividade cruzada dos primers com outros vírus e bactérias respiratórios foi desenvolvida pelo Instituto Pasteur (Paris) e testada por Corman et al. 2020 com amostras positivas conhecidas. Nenhum dos organismos testados mostrou reatividade.

Um painel de controle contendo 22 patógenos respiratórios (partículas virais intactas e células bacterianas) foi usado para demonstrar a especificidade e exclusividade analíticas do kit ViroQ SARS CoV-2. O RNA foi extraído de cada pool contido no painel (veja a tabela abaixo) e testado com o kit ViroQ SARS-CoV-2. Nenhuma reatividade com o gene RdRP ou o gene E pode ser demonstrada em qualquer pool.

Painel de controle respiratório					
	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Pool 5
Adenovírus tipo 3	✓				
Coronavírus OC43	✓				
Metapneumovírus humano (Peru6-2003)**	✓				
Parainfluenza tipo 2	✓				
<i>B. pertussis</i> (A639)	✓				
Coronavírus NL63		✓			
Bocavírus-Lambda (recombinante, isolado 2)		✓			
Influenza A H1 (A/New Caledonia/20/99)		✓			
Parainfluenza tipo 3		✓			
Coronavírus 229E			✓		
Rinovírus (1A)			✓		
Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07)			✓		
<i>C. pneumoniae</i> (CWL-029)			✓		
Influenza B (B/Florida/02/06)				✓	
Parainfluenza tipo 4A				✓	
Vírus sincicial respiratório B (CH93(18)-18)				✓	
<i>M. pneumoniae</i> (M129)				✓	
Coronavírus HKU-1 (recombinante)				✓	
Influenza A H1N1 (A/NY/02/09)					✓
Parainfluenza tipo 1					✓
Vírus sincicial respiratório A (isolado 2006)					✓
<i>L. pneumophila</i> (Philadelphia)					✓

8. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

O kit ViroQ SARS-CoV-2 foi desenvolvido para fins de diagnóstico in vitro e deve ser usado apenas por pessoal qualificado e adequadamente treinado. Todo o trabalho deve ser realizado utilizando boas práticas de laboratório.

O reagente ViroQ Solvent está sujeito a rotulagem de substâncias perigosas para **avisos e riscos à saúde**. Para mais informações, consulte a tabela no capítulo 13.

Material biológico usado para extrair RNA, por exemplo, amostras coletadas do trato respiratório, deve ser tratado como potencialmente infeccioso. Recomenda-se medidas de segurança apropriadas ao manusear material biológico (não pipetar com a boca; usar luvas e proteção descartáveis para o nariz e a boca ao manusear material biológico e ao realizar o teste; desinfetar as mãos após a conclusão do teste).

Materiais biológicos devem ser desativados antes do descarte (por exemplo, em autoclave). Materiais descartáveis devem ser autoclavados ou queimados após o uso.

Material potencialmente infeccioso derramado deve ser removido imediatamente com uma toalha de papel absorvente e a área contaminada desinfetada com um desinfetante adequado ou etanol a 70%. O material que foi usado para remover derramamentos deve ser inativado antes do descarte (por exemplo, em autoclave).

Todas as amostras, reagentes não utilizados e resíduos devem ser descartados de acordo com as leis do país e das autoridades locais.

A contaminação microbiana deve ser evitada ao aliquotar os reagentes. Recomenda-se o uso de pipetas descartáveis estéreis e ponteiros de pipeta. Não use reagentes turvos ou com sinais de contaminação microbiana.

Uma folha de dados de segurança ou uma explicação das folhas de dados de segurança (MSDS) estão disponíveis para download em www.bag-diagnostics.com.

9. LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Mutações ou polimorfismos nos pontos de ligação do primer e da sonda podem levar a resultados falso-negativos.

Devido à alta suscetibilidade do método PCR em tempo real à contaminação cruzada, é necessário um cuidado especial ao isolar o RNA.

A presença de primers da PCR pode levar a resultados inválidos para este produto. Um resultado negativo não exclui uma possível infecção, pois os resultados dependem de uma amostragem adequada, da falta de primers e do LoD definido.

Deve-se tomar extremo cuidado para evitar contaminação dos reagentes do kit e de outros materiais e equipamentos de laboratório com amplicons, RNA ou DNA. Testes regulares de

limpeza e controles de negativo (NTC) com água destilada a cada ensaio são fortemente recomendados.

Não deve haver sinal de fluorescência no controle de negativo com água destilada ($Ct > N.A.$). Se houver desenvolvimento de sinal no controle de negativo, consulte o capítulo 6.5 e, conforme aplicável e necessário, descontamine a estação de trabalho de PCR e substitua os reagentes.

Todos os instrumentos (por exemplo, pipetas, cicladores em tempo real) devem ser calibrados de acordo com as instruções do fabricante.

Resultados negativos não excluem a infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como única base para decisões de gerenciamento de pacientes. Resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico médico e informações epidemiológicas.

10. CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE

O controle interno da qualidade de novos lotes do kit ViroQ SARS-CoV-2 pode ser realizado usando uma combinação de amostras de RNA previamente determinadas como positivas ou negativas. Recomendam-se controles de negativos para detectar possíveis contaminações. Para isso, use uma reação de PCR com água livre de RNase como NTC.

11. RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS








Problema	Possível causa	Possível solução
Sinal ruim ou nenhum sinal	Presença de inibidores.	Usar reagentes frescos.
	Nenhum RNA na reação.	Repetir teste. Prestar atenção na pipetagem correta.
	Degradação de sondas fluorescentes ou dos primers.	Usar ViroQ Mix fresco. Evitar a exposição à luz e descongelamento e congelamento recorrente. Observar as condições de armazenamento!
	Bolhas na reação de PCR, resíduos líquidos na parede interna dos tubos de reação.	Pipetagem cuidadosa. Centrifugar a placa de PCR brevemente.
	Produtos de plástico não são compatíveis ou de baixa qualidade	Usar produtos plásticos compatíveis e de boa qualidade (consultar capítulo 4.3).
	Evaporação dos reagentes devido ao fechamento incorreto dos tubos de PCR.	Verificar se os tubos de PCR estão fechados corretamente. Ter cuidado com as bordas das películas de vedação.
Sinal no controle de negativo	Contaminação com RNA ou DNA no controle de negativo	Repetir o controle de negativo. Descontaminação do local de trabalho.

12. MARCAS USADAS NESTE DOCUMENTO/PRODUTO

TaqMan[®] é uma marca comercial da Roche Molecular Systems Inc.

Cal Fluor[®] é uma marca registrada da LGC Biosearch Technologies.

13. EXPLICAÇÃO DOS SÍMBOLOS UTILIZADOS NAS ETIQUETAS

	Suficiente para n testes
	Temperatura de armazenamento/Limite inferior de temperatura
	Válido até
	Consultar informações de uso
	Fabricante
DRY	Seco
CONT	Conteúdo, contém
CONTROL +	Controle de positivo
IFU	Informações de uso
or	ou
eIFU	Informações de uso eletrônicas
IVD	Dispositivo in vitro
LOT	Número de lote
LYOPH	Liofilizado
REF	N.º do pedido
ViroQ ENZYME	Mistura enzimática para produtos ViroQ
ViroQ MIX	Mistura de primers para produtos ViroQ
ViroQ SOLV	Solvente para a mistura enzimática ViroQ
	Aviso H302: Nocivo se ingerido H412: Nocivo para organismos aquáticos com efeitos a longo prazo
	Riscos para a saúde H371: Pode danificar o sistema nervoso central. Via de exposição: Oral

14. LITERATURA

Victor M Corman, Christian Drosten et.al.(2020), Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR, Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Institut Pasteur Protocol: Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2

Para mais informações, consulte nosso site <http://www.bag-diagnostics.com>

Para manuais de instruções em outros idiomas, consulte:

<http://www.bag-diagnostics.com> ou entre em contato diretamente conosco pelo e-mail info@bag-diagnostics.com ou pelo telefone: +49 (0) 6404-925-125