

Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2

REF PCRAE0120

Para usar com o equipamento VitaPCR™

Para amostras de exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos. Apenas para diagnóstico *in vitro*.

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 realizado com o equipamento VitaPCR™ é um teste rápido de diagnóstico molecular *in vitro* que utiliza uma tecnologia de amplificação da reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) para a detecção qualitativa do RNA viral da Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19) em exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos de pacientes com casos suspeitos de COVID-19 segundo o seu médico.

Os resultados servem para a identificação presuntiva de SARS-CoV-2. A identificação definitiva de SARS-CoV-2 requer testes e procedimentos de confirmação adicionais, consultando as autoridades de saúde pública ou outras autoridades às quais é necessário reportar estes processos. O diagnóstico da infecção por SARS-CoV-2 deve ser realizado com base no historial, sinais, sintomas, possibilidade de exposição e outras provas laboratoriais, além da identificação do SARS-CoV-2.

Os testes rápidos moleculares que identificam o vírus-alvo nos pacientes infetados com SARS-CoV-2 podem ajudar no controlo efetivo do surto global. A infecção por SARS-CoV-2 não é excluída por um resultado negativo. Os resultados não devem ser utilizados como a única base para o diagnóstico, tratamento ou outras decisões para gestão do paciente.

O Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 destina-se a ser utilizado por todos os profissionais de saúde.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

A Doença por Coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença respiratória aguda causada por infecção por SARS-CoV-2, inicialmente denunciada à OMS em Wuhan, na China, a 31 de dezembro de 2019. O SARS-CoV-2 pertence à mesma família dos vírus da Síndrome respiratória aguda grave (SARS) e propaga-se de pessoa para pessoa. As gotículas que contêm vírus expelidas por uma pessoa infetada podem ser transmitidas através do nariz, dos olhos ou da boca, para outra pessoa.

Os sintomas da infecção por SARS-CoV-2 variam, podem causar doenças leves com rinorreia, dor de garganta, tosse e febre. Em casos graves, pode levar a pneumonia, dificuldades respiratórias ou morte.

O Teste SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 realizado com o equipamento VitaPCR™ é um teste de diagnóstico molecular *in vitro* rápido que utiliza uma tecnologia de amplificação da reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) para a detecção qualitativa do RNA viral do SARS-CoV-2. O produto contém iniciadores, sondas marcadas por fluoróforo e material de controlo usado em RT-PCR em Tempo Real para a detecção qualitativa *in vitro* de RNA específico do SARS-CoV-2 em amostras respiratórias.




PRINCÍPIO DO TESTE

O Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 realizado com o equipamento VitaPCR™ é um teste de diagnóstico molecular rápido *in vitro* que utiliza uma tecnologia de amplificação da reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real (RT-PCR). É usado para a detecção e discriminação qualitativa do RNA viral SARS-CoV-2 em exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos obtidos de pacientes com suspeitas de COVID-19 segundo os seus médicos. O teste está concebido para a detecção do RNA específico de SARS-CoV-2 e o RNA universal do tipo SARS (incluindo SARS-CoV-2, SARS-CoV, coronavírus de morcego tipo SARS), e ambos os alvos de detecção estão localizados nas regiões do gene nucleocapsídeo (N) do vírus. O teste inclui um RNA de cadeia simples artificial como controlo Interno (CI) para monitorizar todo o processo de RT-PCR.





A detecção de sequências alvo é conseguida através de uma sonda de detecção clivada específica para SARS-CoV-2, marcada por fluoróforo, com medição em tempo-real, uma sonda universal para vírus de tipo SARS e uma sonda de detecção de RNA de controlo Interno, seguidas de amplificação da sequência por pares de iniciadores complementares específicos. Em seguida, o tubo de reagente é carregado no equipamento VitaPCR™ e o tempo de resposta da análise de uma amostra é de cerca de 20 minutos.

REAGENTES E MATERIAIS

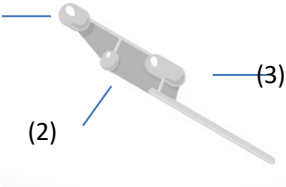

Materiais fornecidos

Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2	
	Tampão_A de colheita de amostras VitaPCR™: Tubo de plástico com tampa de rosca que contém 4 ml de tampão de colheita de amostra.
	Tubo de reagente: Tubo de teste transparente com reagentes liofilizados pela amplificação alvo do RNA do SARS-CoV-2.
	Tampa do tubo de reagente: Uma tampa de plástico usada para selar o tubo de reagente após adicionar a amostra.
Guia de referência rápido para o teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2	

Materiais necessários, mas não fornecidos

	Equipamento VitaPCR™
	Suporte
	Adaptador de alimentação (INPUT: AC 100-240V, 2.0A Max, 50- 60Hz. SAÍDA: DC 12V, 5A)
	Exsudado nasofaríngeo ou exsudado orofaríngeo: Para garantir um desempenho otimizado do teste, usar EXCLUSIVAMENTE zaragatoas que atendam às exigências da diretiva CE sobre os dispositivos médicos. Para evitar interferências, não utilizar zaragatoas com cabos em madeira ou em alginato de cálcio, pois podem conter um inibidor da reação. Recomendamos fortemente a utilização de zaragatoas floculadas de fibra sintética com cabos de plástico.
Manual do Utilizador do Equipamento VitaPCR™ Guia de referência rápida do equipamento VitaPCR™	

Materiais não fornecidos, mas vendidos em separado

	Pipeta de transferência: Componente de plástico descartável de utilização única com três bulbos de ar. O bulbo de topo (1) é utilizado para aspirar e distribuir a solução. O bulbo do meio (2) é utilizado para pipetar. O bulbo inferior (3) é utilizado como câmara de descarga. É usada para transferir o extrato da amostra do tampão de colheita de amostra para o tubo de reagente.
	Pipeta ajustável e ponta com filtro: As pipetas ajustáveis distribuem sempre a mesma quantidade de líquido. É usada para transferir o extrato da amostra do tampão de colheita de amostra para o tubo de reagente.

Materiais não fornecidos, mas vendidos em separado

Controlo externo	
Conjunto de Controlo Externo para SARS-CoV -2 -2 VitaPCR™ Gen 2	Os controlos externos estão disponíveis, mas não são fornecidos neste teste. Por favor contacte o seu revendedor local se for necessário.

PRECAUÇÕES

1. Para diagnóstico *in vitro*.
2. Evitar qualquer contacto entre a pele e o tampão de colheita de amostra. Colocar luvas antes de realizar o teste.
3. Usar apenas com o Equipamento VitaPCR™.
4. Tratar todas as amostras como agentes potencialmente infecciosos. Seguir as precauções universais ao manusear as amostras e os conteúdos deste kit. Seguir as orientações para manuseamento das amostras.
5. A colheita, armazenamento e transporte adequados da amostra são essenciais para obter resultados corretos. Utilizar apenas tipos de amostra validados, tal como descrito em "Uso pretendido".
6. Os exsudados dos pacientes anteriormente armazenados no VTM ou UTM não são recomendados pois invalidam o teste.
7. Não abrir o alumínio dos tubos de reagente antes de realizar o teste.
8. Não usar o *kit* após a data de validade.
9. Se os componentes do teste caírem, ficarem rachados, danificados ou abertos ao ser recebidos, NÃO OS USAR e eliminá-los. Não utilizar tesouras ou objetos afiados para abrir as bolsas de alumínio pois pode danificar os componentes do teste.
10. Se o tampão de colheita de amostra for derramado durante a abertura, limpar a área de trabalho seguindo as instruções fornecidas no Manual do Utilizador. Se for necessário ou se existir a suspeita de contaminação, repetir o teste com um novo tampão de colheita de amostra.
11. Não deixar nada no suporte nem no dispositivo após o teste. Eliminar os componentes em conformidade com as instruções de remoção descritas no Manual do Utilizador deste dispositivo, e com os requisitos locais e nacionais. Respeitar as normas nacionais ou locais para a eliminação correta dos resíduos.
12. Todos os materiais do *kit* são peças de utilização única. Não podem ser usados para várias amostras.
13. O tubo de reagente contém muitos segmentos de vírus após a reação. Deve ser eliminado e a tampa não pode ser aberta após realizar o teste.
14. As amostras do teste poderão, em casos raros, conter inibidores que fazem o teste falhar. A taxa de erro é um resultado caso a caso.
15. As amostras positivas anteriores deixadas na área de trabalho podem resultar em falsos positivos. Manusear as amostras seguindo as práticas laboratoriais normais. Limpar o dispositivo e as superfícies circunstantes seguindo o Manual do Utilizador.
16. Amostras com sangue visível podem interferir com o desempenho do teste.
17. Não tocar nas extremidades das zaragatoas das amostras. Pode ocorrer contaminação que interfere com o desempenho do teste.

CONTROLO DE QUALIDADE

Controlo Interno (IC)

Em cada tubo de reagente é incluído um controlo interno que verifica o inteiro processo de PCR. O controlo interno monitoriza a validade dos reagentes das reações de PCR associadas com a amostra. Entre todos os resultados gerais, o controlo interno exhibe constantemente o sinal. Em algumas circunstâncias especiais é possível que o alvo seja detetado sem o sinal de controlo interno devido à inibição molecular.

Controlos positivos e negativos externos

- O controlo positivo consiste numa transcrição do RNA do segmento do gene N do SARS-CoV-2 cuja sequência é usada como alvo para o iniciador/sonda universal e o iniciador/sonda específico.
- Adicionar 40 µl de controlo positivo no tampão de colheita de amostra do teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 e seguir imediatamente o procedimento do teste para efetuar o teste de controlo positivo.
- O Tampão de colheita de amostra (SCB) pode ser usado como controlo negativo, seguindo o procedimento do teste para efetuar o teste de controlo negativo.
- Estes controlos são usados para testes de controlo de qualidade e sempre que chega uma nova encomenda de kits ou que se

forma um novo operador, e em conformidade com os procedimentos internos de controlo de qualidade, e com normas locais, regionais ou nacionais, grupos de acreditação ou procedimentos laboratoriais.

- Se o teste externo de controlo de qualidade falhar, repetir novamente o teste ou contactar o distribuidor local.

Controlo de qualidade					
Tipo de controlo	Tipo de controlo Nome do controlo externo	Usado para monitorizar	RNA específico do SARS- CoV-2	RNA universal do tipo da SARS	Controlo interno
Controlo positivo	Segmento do Gene N do SARS- CoV-2	Falha substancial do reagente, incluindo a integridade do iniciador e da sonda de deteção	+	+	+
Controlo negativo	Tampão de colheita de amostra	Contaminação do reagente e/ou ambiental	-	-	+

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Armazenar o kit de reagente a 5-25°C. O Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 é estável até à data de validade assinalada na embalagem exterior e nos recipientes. Certificar-se de que todos os materiais do teste atingiram a temperatura ambiente antes da utilização.

COLHEITA E MANUSEAMENTO DAS AMOSTRAS

Utilizar amostras acabadas de colher para garantir um desempenho otimizado do teste. Uma colheita de amostras inadequada ou um manuseamento/armazenamento/transporte inadequado das amostras pode dar resultados errados.

Para garantir um desempenho otimizado do teste, usar EXCLUSIVAMENTE zaragatoas que atendam às exigências da diretiva CE sobre os dispositivos médicos. Para evitar interferências, não utilizar zaragatoas com cabos em madeiras ou em alginato de cálcio, pois podem conter um inibidor da reação. Recomendamos fortemente a utilização de zaragatoas floculadas de fibra sintética com cabos de plástico. Colocar os exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos recolhidos do mesmo paciente imediatamente no tampão de colheita de amostra.

Exsudado nasofaríngeo (exsudado NF)

Inserir cuidadosamente a zaragatoa na narina e passar a zaragatoa diretamente para trás, sem inclinar a extremidade da zaragatoa para cima ou para baixo. Rodando levemente, inserir a zaragatoa nas narinas anteriores, paralelamente ao palato, fazendo avançar a zaragatoa para a nasofaringe; deixar imóvel alguns segundos e depois rodar lentamente a zaragatoa ao retirá-la. Para garantir uma colheita adequada, a zaragatoa deve ter passado uma distância a meio entre o nariz e a ponta da orelha. NÃO USAR FORÇA ao inserir a zaragatoa.

Exsudado orofaríngeo (exsudado OF)

Passar a zaragatoa na faringe posterior e nas amígdalas, evitando a língua.

TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras recolhidas nas zaragatoas devem ser testadas logo que possível. Se não for possível testá-la imediatamente, remete-se às seguintes orientações para o transporte e o armazenamento:

1. Amostra em zaragatoa armazenada a 2°C- 8°C até 24 horas.
2. A amostra eluída no Tampão de colheita de amostra (SCB) pode ser armazenada a:
 - 2°C a 25°C até 7 dias (idealmente: de 2°C a 8°C refrigerada).
 - No caso de um armazenamento a longo prazo, as amostras devem ser congeladas a -80°C.

Os exsudados dos pacientes anteriormente armazenados no VTM ou UTM não são recomendados pois invalidam o teste.


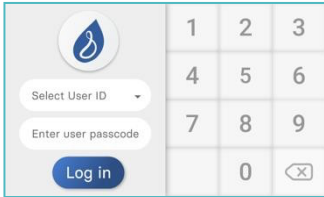
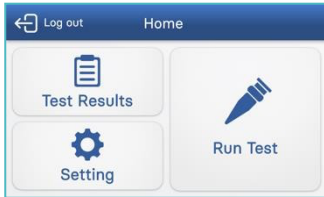
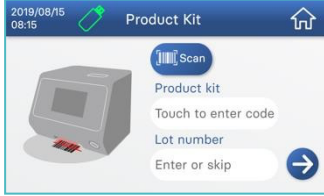
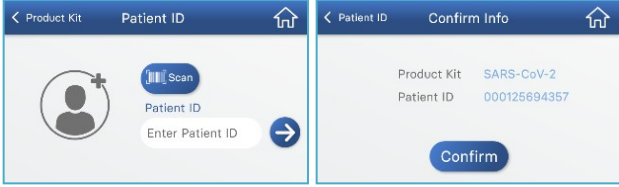
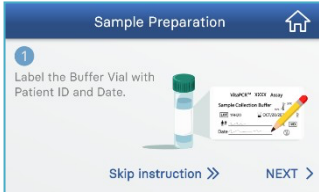
Nota: Conservar as amostras à temperatura acima indicada. Não congelar repetidamente as amostras.

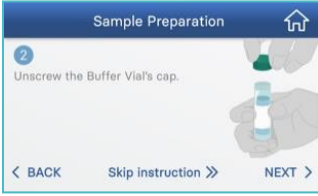
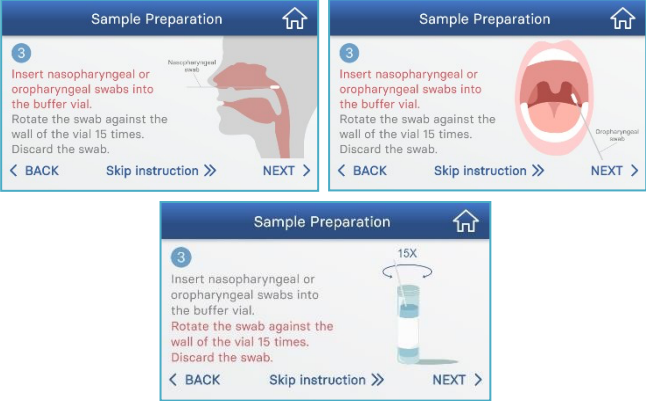




PROCEDIMENTO DO TESTE

Antes do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2:

- Deixar que todas as amostras fiquem à temperatura ambiente.
- Deixar que todos os componentes do teste fiquem à temperatura ambiente.

Para obter os melhores resultados, os exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos diretos devem ser testados imediatamente após a colheita.

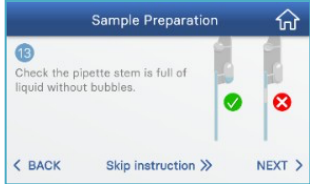
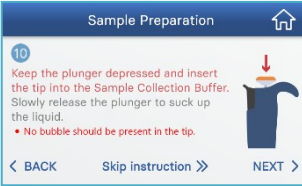
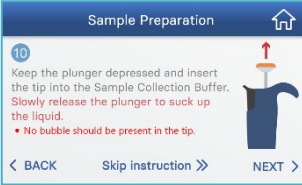
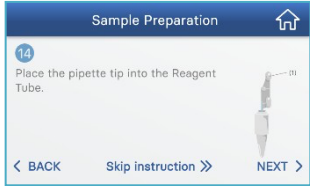
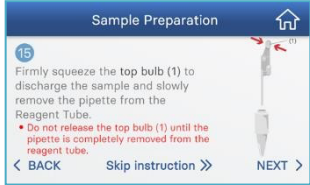
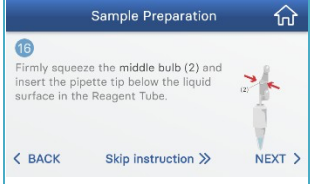
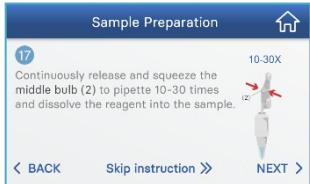
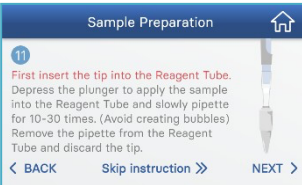
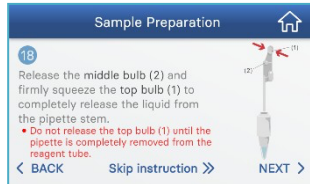
<p>Colocar o Equipamento VitaPCR™ numa superfície plana. Ligar o equipamento VitaPCR™ pressionando o botão de alimentação na parte da frente do equipamento</p>	
<p>Selecionar o ID de utilizador (<i>Select User ID</i>) Introduzir o código de utilizador (<i>Enter User Passcode</i>). Pressionar 'Log in'.</p>	
<p>Pressionar 'Run Test'.</p>	
<p>Ligar o equipamento VitaPCR™ pressionando o botão de alimentação na parte frontal do equipamento.</p>	
<p>Ler ou introduzir manualmente o ID do paciente (<i>Patient ID</i>). Confirmar o kit de produto (<i>Product Kit</i>) e o ID do paciente (<i>Patient ID</i>).</p>	
<p>1. Rotular o frasco do tampão com o ID do paciente e a data.</p>	

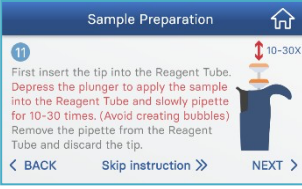
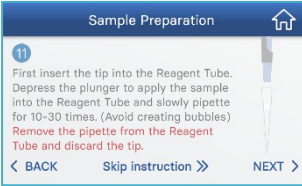
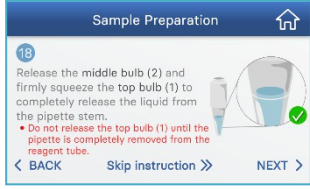
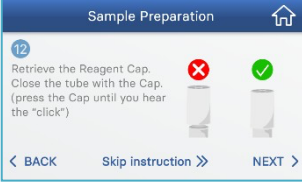
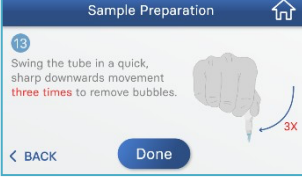


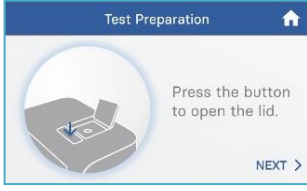
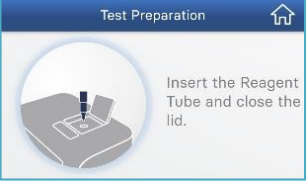
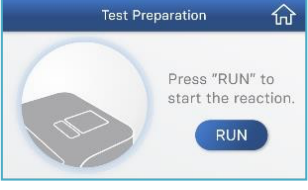

<p>2. Desapertar a tampa do frasco do tampão.</p>	
<p>3. Inserir o exsudado nasofaríngeo ou orofaríngeo dentro do frasco do tampão. Girar a zaragatoa contra a parede do frasco por pelo menos 15 vezes. Eliminar a zaragatoa.</p>	
<p>4. Apertar a tampa do frasco do tampão.</p>	
<p>5. Inverter o fresco do tampão 10 vezes. Colocar o frasco do tampão no suporte.</p>	
<p>6. Abrir a bolsa de alumínio do reagente e extrair o tubo de reagente. Bater ao de leve para confirmar que o reagente se encontra no fundo do tubo de reagente.</p>	
<p>7. Colocar o frasco do tampão e o tubo de reagente no suporte.</p>	

Escolher qual usar.



Pipeta ajustável e ponta com filtro		Pipeta de transferência	
<p>8. Remover o selo de alumínio do tubo de reagente. Desapertar a tampa do frasco do tampão.</p>		<p>8. Remover o selo de alumínio do tubo de reagente. Desapertar a tampa do frasco do tampão. Retirar a pipeta da embalagem.</p> <p>9. O bulbo de topo (1) é utilizado para aspirar e distribuir a solução. O bulbo do meio (2) é utilizado para pipetar. O bulbo inferior (3) é utilizado como câmara de descarga.</p> <p>* NÃO apertar o bulbo inferior (3) durante a operação.</p>	
<p>9. Definir o volume para 30 µl se se estiver a usar uma pipeta com volume ajustável.</p> <p>Instalar a ponta da pipeta na pipeta, firmemente.</p>		<p>10. Apertar firmemente o bulbo de topo (1) sem libertar a pressão.</p> <p>11. Manter o bulbo de topo (1) apertado e colocar a ponta da pipeta por cima da superfície do líquido do Tampão de colheita de amostra.</p> <p>12. Manter a ponta da pipeta por cima da superfície do líquido e libertar delicadamente a pressão no bulbo de topo (1).</p>	

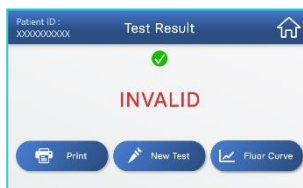
		<p>13. Certificar-se de que a haste da pipeta está cheia de líquido sem bolhas.</p>	
<p>10. Manter o êmbolo apertado e inserir a ponta no tampão de colheita de amostra.</p> <p>Libertar lentamente o êmbolo para aspirar o líquido</p> <p>*A ponta deve estar livre de bolhas.</p>	 	<p>14. Colocar a ponta da pipeta dentro do Tubo de reagente.</p> <p>15. Apertar firmemente o bulbo de topo (1) para distribuir a amostra e remover lentamente a pipeta do tubo de reagente.</p> <p>* NÃO libertar o bulbo de topo (1) antes de retirar completamente a pipeta do tubo de reagente.</p>	 
		<p>16. Apertar firmemente o bulbo do meio (2) e inserir a ponta da pipeta por cima da superfície do líquido no tubo de reagente.</p> <p>17. Distribuir de forma contínua e apertar o bulbo do meio (2) para pipetar 10-30 vezes e dissolver o reagente na amostra.</p>	 
<p>11. Inserir a ponta no tubo do reagente.</p> <p>Apertar o êmbolo para distribuir a amostra no tubo de reagente e pipetar lentamente 10-30 vezes.</p>		<p>18. Libertar o bulbo do meio (2) e apertar firmemente o bulbo de topo (1) para distribuir todo o líquido da haste da pipeta.</p>	

<p>Remover a pipeta do tubo de reagente e eliminar a ponta.</p> <p>*Nota. Evitar a formação de bolhas</p>	 	<p>* NÃO libertar o bulbo de topo (1) antes de retirar completamente a pipeta do tubo de reagente.</p>	
<p>12. Recolher a tampa do reagente. Fechar o tubo com a tampa. (Pressionar a tampa até ouvir um clique).</p> <p>*Nota. Certificar-se de que não há espaço entre a tampa e o tubo do reagente.</p> <p>13. Fazer oscilar o tubo num movimento rápido, acentuado, três vezes, para remover as bolhas.</p>	 	<p>19. Recolher a tampa do reagente. Fechar o tubo com a tampa. (Pressionar a tampa até ouvir um clique).</p> <p>*Nota. Certificar-se de que não há espaço entre a tampa e o tubo de reagente.</p> <p>20. Fazer oscilar o tubo num movimento rápido, acentuado, três vezes, para remover as bolhas.</p>	 
<p>Pressionar o botão para abrir a tampa.</p> <p>Inserir o tubo de reagente e fechar a tampa.</p> <p>Pressionar 'Run' para iniciar a reação.</p>	  		
<p>Verificar que no ecrã do VitaPCR™ a percentagem do processo está a aumentar. A barra de progresso torna-se azul enquanto a reação está em curso.</p> <p>Nota:</p> <ul style="list-style-type: none"> O ecrã continuará a exibir a percentagem até estar completa a 100%. O VitaPCR™ apitará no final do processamento do teste. A tampa estará bloqueada durante a reação. Não tentar reabrir a tampa do VitaPCR™ até que o ecrã indique que o teste está terminado. Para abortar o teste, pressionar 'End Run' e aguardar pelas instruções no ecrã. Não movimentar nem desconectar o VitaPCR™ enquanto o teste está a ser processado. 			

Interpretação do resultado:



Nota: Pressionar o botão 'New Test' para iniciar um novo teste.



INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E RELATÓRIO

A tabela abaixo lista os resultados esperados para o Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2.

Deteção de RNA específico do SARS-CoV-2	Deteção de RNA universal de tipo SARS	Controlo Interno	Resultado	Interpretação
+	+	±	Positivo	RNA para SARS-CoV-2 detetado. São detetados tanto o RNA específico do SARS-CoV-2 como o RNA universal de tipo SARS.
+	-	±		RNA para SARS-CoV-2 detetado. (O RNA universal parecido com a SARS não detetado pode ser devido a uma carga virémica baixa na amostra ou à acumulação de mutações ao longo do tempo.)
-	+	±	Presumível positivo	<p>Presumível positivo para RNA de SARS-CoV-2.</p> <p>(O RNA específico do SARS-CoV-2 não detetado pode ser devido a uma carga virémica baixa na amostra ou à acumulação de mutações ao longo do tempo.)</p> <p>A amostra deve ser testada novamente. Para amostras com um resultado presumível positivo repetido, devem ser realizados testes adicionais de confirmação, se for necessário diferenciar entre SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1 ou outros coronavírus de tipo SARS que atualmente se desconhece se infetam humanos, para fins epidemiológicos ou de gestão clínica.</p>

-	-	+	Negativo	RNA para SARS-CoV-2 não detetado.
-	-	-	Inválido	Inibição de RT-PCR ou falha dos reagentes. Recolher uma nova amostra e repetir o teste.

NOTA:
Devido à evolução molecular do SARS-CoV-2, existe um risco inerente para qualquer sistema de testes de PCR que a acumulação de mutações ao longo do tempo produza resultados de falsos negativos.

LIMPEZA DO DISPOSITIVO

Recomendamos limpar o Equipamento VitaPCR™ todos os dias após a utilização.

Procedimento:

1. Desligar a ficha de alimentação da tomada e do VitaPCR™.
2. Fechar a tampa.
3. Usando etanol a 70% ou um toalhete germicida descartável, limpar delicadamente as superfícies exteriores do VitaPCR™, removendo qualquer resíduo.

NOTA: Não pressionar o toalhete contra as aberturas do equipamento VitaPCR™.

4. Usando um toalhete limpo, limpar a parte frontal do VitaPCR™ duas vezes, de cima para baixo, e depois duas vezes da esquerda para a direita. Seguir o mesmo procedimento para a parte posterior, superior e inferior do VitaPCR™.
5. Não deixar que líquidos se acumulem perto das aberturas. Certificar-se de que não entram líquidos no dispositivo.
6. Deixar o equipamento secar durante pelo menos 10 minutos e verificar que está completamente seco antes de voltar a ligar o cabo de alimentação ao adaptador AC.

LIMITAÇÕES

- O desempenho do teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 é determinado pelos procedimentos descritos neste documento. O não cumprimento das instruções pode prejudicar o desempenho do teste.
- O teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 deve ser usado exclusivamente para amostras de exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos.
- A colheita, armazenamento ou transporte incorretos das amostras pode resultar em falsos negativos.
- Os resultados dos testes também devem ter em conta o historial médico do paciente, os sintomas e sinais clínicos e os resultados de outros testes diagnósticos.
- Como no caso dos outros testes, os resultados negativos não excluem infeções de SARS-CoV-2 e não devem ser usados como base única para decisões de gestão do paciente.
- Os resultados de falso negativo podem ocorrer se os níveis de vírus forem inferiores ao limite de deteção.
- Os resultados de falso negativo podem ocorrer se existirem mutações nas regiões alvo do teste.
- A presença de inibidores na amostra pode levar a resultados inválidos.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Sensibilidade analítica (limite de detecção)

Os estudos de LoD determinam a concentração mais baixa detetável em que $\geq 95\%$ (19/20) das réplicas testam como positivas. O vírus recombinante que contém o RNA SARS-CoV-2 (Seracare, AccuPlex SARS-CoV-2, número de material 0505-0129) foi diluído em série na matriz clínica simulada para o estudo de determinação do LoD. O SARS-CoV-2 AccuPlex é acrescentado no tampão de colheita de amostra que consiste numa matriz clínica negativa para imitar a amostra clínica. A matriz clínica negativa é criada a partir de amostras nasofaríngeas ou orofaríngeas colhidas de pacientes, armazenadas a -20°C num tubo de plástico limpo, seco, firmemente selado, por 24 horas antes do teste. As amostras realizam o procedimento operacional padrão com o teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 seguindo as instruções de utilização.

Estes dados demonstram que o teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 deteta 1,0 cópias/ μl do vírus recombinante de SARS-CoV-2 com uma fiabilidade de $\geq 95\%$. Esta concentração serve como limite de detecção.

Sensibilidade analítica (limite de detecção) da detecção da região específica do SARS-CoV-2			
Concentração de RNA (cópias/ μl)	% de detecção das réplicas	Ct médio	Desvio padrão (Ct)
1,0	100 (20/20)	37,00	1,45
0,5	90 (18/20)	37,94	0,94

Sensibilidade analítica (limite de detecção) da detecção da região de tipo SARS universal			
Concentração de RNA (cópias/ μl)	% de detecção das réplicas	Ct médio	Desvio padrão (Ct)
1,0	100 (20/20)	37,95	1,10
0,5	85 (17/20)	39,47	0,94

Especificidade analítica *in silico* (reatividade cruzada)

Foi realizada uma análise BLASTn com o iniciador e a sonda do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 contra todas as sequências de ácido nucleico disponíveis publicamente na GenBank à data de 6 de março de 2020. A coleção de nucleotídeos consta de sequências GenBank, EMBL, DDBJ, PDB e RefSeq, mas exclui sequências patenteadas EST, STS, GSS, WGS e TSA, bem como as sequências HTGS de fase 0, 1 e 2 e sequências mais longas de 100Mb. Os parâmetros de pesquisa são ajustados automaticamente para sequências curtas e o limiar esperado é de 100. As pontuações de correspondência são respetivamente de 1 e -3. A penalidade para criar e estender um intervalo é respetivamente de 5 e 2.

Iniciador/sonda específicos do SARS-CoV-2

As sequências de iniciador direto (forward) e reverso (reverse) para a detecção do RNA específico do SARS-CoV-2 mostraram uma homologia de sequência elevada com os coronavírus do morcego. Contudo, a sequência da sonda não mostrou homologia de sequência com o coronavírus SARS, coronavírus parecido com a SARS do morcego e outro genoma de coronavírus (exceto o coronavírus RaTG13 do morcego), ou genoma humano. Combinando os iniciadores e a sonda, não há previsão de potenciais resultados RT-PCR de falsos positivos.

Iniciador/sonda universais de tipo SARS

A análise das sequências de iniciador e sondas direto (forward) e reverso (reverse) do RNA viral de tipo SARS universal mostraram uma homologia significativa apenas com o coronavírus SARS humano e o coronavírus de tipo SARS do morcego. Combinando os iniciadores e as sondas, não existem homologias significativas com o genoma humano, ou outros coronavírus (exceto o coronavírus do morcego RaTG13) que possam prever potenciais resultados de falsos positivos da RT-PCR.

Em síntese, não são esperadas reatividades cruzadas acidentais para ambos os alvos.

Especificidade analítica (reatividade cruzada)

O desempenho de reatividade cruzada do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 foi avaliado testando os organismos inteiros ou as amostras representativas apropriadas listadas abaixo. Estes organismos foram testados em três réplicas neste estudo. Foi adicionado nas amostras de testes um alto nível deste organismo (a saber, 10^6 CFU/ml para bactérias e 10^5 TCID₅₀/ml para vírus) no tampão de colheita de amostra com a matriz clínica e, posteriormente, foi testado com o teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 segundo o mesmo procedimento operacional para ver se era identificada alguma reação de falso-positivo.

Não foi observada reatividade cruzada do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 com os organismos selecionados às concentrações testadas. Em princípio, os coronavírus SARS devem ser detetados pelos iniciadores/sondas universais de tipo SARS (os resultados foram ilustrados como “Presumível positivo”).

Organismos	Concentração	Deteção de RNA específico do SARS-CoV-2	Deteção de RNA universal de tipo SARS
		Resultado (x/3)	Resultado (x/3)
Coronavírus humano 229E	$1,00 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3
Adenovírus humano tipo 1	$5,62 \times 10^8$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3
Gripe A/Califórnia/7/2009 (H1N1)	$3,16 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3
Gripe A/Wisconsin/67/2005 (H3N2)	$3,16 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3
Gripe B/Malásia/2506/2004 (B/Victoria)	$3,16 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3
Vírus sincicial respiratório (longo A)	$1,17 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	0/3	0/3

Estudo sobre as substâncias interferentes endógenas

Para demonstrar que a função prevista do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 é operacional enquanto a amostra é testada na presença de substâncias endógenas comuns, testamos individualmente as substâncias interferentes, adicionando as substâncias interferentes a amostras positivas com 3xLoD para detetar se ocorriam resultados inesperados. Foram executadas três réplicas para cada teste.

Substâncias interferentes: A tabela abaixo mostra a avaliação das substâncias interferentes no que se refere à capacidade de gerar resultados de falsos positivos:

Substância potencialmente interferente	Concentração	Resultados (Detetados X/3)
Mucina	0,05%	0/3
Sangue	0,1%	0/3

Substâncias interferentes: A tabela abaixo mostra a avaliação das substâncias interferentes no que se refere à capacidade de gerar resultados de falsos negativos:

Substância potencialmente interferente	Concentração	Adição 3xLoD SARS-CoV-2 Resultados (Detetados X/3)
Mucina	0,05%	3/3
Sangue	0,1%	3/3

Desempenho clínico

Devido à dificuldade em obter amostras clínicas de pacientes infectados com SARS-CoV-2, as características de desempenho do Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 foram avaliadas usando amostras clínicas artificiais. Neste teste foi utilizado o vírus recombinante que contém o RNA SARS-CoV-2 (Seracare, AccuPlex SARS-CoV-2, número de material 0505-0129). O vírus recombinante que contém o RNA de SARS-CoV-2 com título reconhecido foi preparado para fortificar 30 amostras de exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos individuais negativos com concentrações diferentes. Foi acrescentado às cegas, de forma casual e em spiking no tampão de colheita de amostra onde são lavados os exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos individuais. 20 exsudados nasofaríngeos ou orofaríngeos foram acrescentados em spiking a 1,5x LoD, 5 a 3x LoD e 5 a 5x LoD. Outros 30 exsudados NF ou OF negativos foram deixados sem adição. Em resumo, adicionamos exsudados NF ou OF em amostras artificiais com várias concentrações, e em seguida procedemos com o teste desta secção.

Todas as 60 amostras foram distribuídas às cegas a operadores imparciais para serem analisadas com o Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2 para gerar a percentagem de acordo positivo (PPA), percentagem de acordo negativo (NPA) e percentagem de acordo geral (OPA) como medição de precisão de diagnóstico estimada:




















Exsudados nasofaríngeos (NF)		Amostra clínica artificial (Resultado esperado)	
Variável	Estado	Positivo	Negativo
Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Percentagem de acordo positivo (PPA) (95% CI) ¹		100% (88,4 - 100)	
Percentagem de acordo negativo (NPA) (95% CI) ²		100% (88,4 - 100)	
Percentagem de acordo geral (OPA) (95% CI) ³		100% (94,0 - 100)	
Nota:			
1 Percentagem de Acordo Positivo = [Verdadeiros positivos / (Verdadeiros positivos + Falsos negativos)] *100%			
2 Percentagem de acordo negativo = [Verdadeiros negativos / (Verdadeiros negativos + Falsos positivos)] *100%			
3 Percentagem de acordo geral = [(Verdadeiros positivos + Verdadeiros negativos) / (Verdadeiros positivos + Falsos negativos + Verdadeiros negativos + Falsos positivos)] *100%			


Amostras orofaríngeas (OF)		Amostra clínica artificial (Resultado esperado)	
Variável	Estado	Positivo	Negativo
Teste para SARS-CoV-2 VitaPCR™ Gen 2	Positivo	30	0
	Negativo	0	30
Percentagem de acordo positivo (PPA) (95% CI) ¹		100% (88,4 - 100)	
Percentagem de acordo negativo (NPA) (95% CI) ²		100% (88,4 - 100)	
Percentagem de acordo geral (OPA) (95% CI) ³		100% (94,0 - 100)	
Nota:			
1 Percentagem de Acordo Positivo = [Verdadeiros positivos / (Verdadeiros positivos + Falsos negativos)] *100%			
2 Percentagem de acordo negativo = [Verdadeiros negativos / (Verdadeiros negativos + Falsos positivos)] *100%			
3 Percentagem de acordo geral = [(Verdadeiros positivos + Verdadeiros negativos) / (Verdadeiros positivos + Falsos negativos + Verdadeiros negativos + Falsos positivos)] *100%			

INFORMAÇÃO DE CONTACTO, ENCOMENDAS E APOIO AO CLIENTE

Para apoio técnico e relativo aos produtos, contactar
e-mail : service@credodxbiomed.com

SÍMBOLOS

	Não reutilizar		Fabricante
	Consultar as instruções de utilização		Controlo positivo
	Atenção		Controlo negativo
	Limite de temperatura		Número de catálogo
	Prazo de validade		Contém o suficiente para <n> testes
	Código do lote		Número do paciente
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Manter afastado da luz solar
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada		Manter seco
	Marcação CE		Representante autorizado na União Europeia
	REEE - Os equipamentos elétricos marcados com este símbolo são sujeitos à diretiva da União Europeia 2012/19/UE (REEE) e não podem ser eliminados com os resíduos municipais		

 **Trenton Biomedical Ltd.**
(Building A) 35F, No. 99, Sec. 1, Xintai 5th Rd.,
Xizhi Dist., New Taipei City 22175, Taiwan
(R.O.C.) Tel.: +886-2-2697-2728
Fax: +886-2-2697-1876
E-mail: service@credodxbiomed.com



MedNet GmbH
Borkstraße 10, 48163 Münster,
Alemanha

ver. 1.1