

RIDA® GENE SARS-CoV-2

REF PG6815



1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico in-vitro. O teste RIDA®GENE SARS-CoV-2, que será realizado no Roche LightCycler® 480II, é um RT-PCR multiplex em tempo real para a detecção qualitativa direta de RNA do coronavírus (SARS-CoV-2) na garganta humana e swabs nasofaríngeas de pessoas com sintomas de infecção respiratória. O teste RIDA®GENE SARS-CoV-2 foi desenvolvido para apoiar o diagnóstico diferencial de infecções por SARS-CoV-2 em pacientes com sintomas de infecção do trato respiratório em conjunto com outros achados clínicos e laboratoriais. Resultados negativos não excluem a infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como única base para o diagnóstico.

O produto é destinado ao uso por profissionais em laboratórios hospitalares, laboratórios de referência, laboratórios particulares ou laboratórios governamentais.

2. Sumário e explicação do teste

No final de dezembro, na metrópole chinesa de Wuhan, ocorreram vários casos de pneumonia de causa desconhecida.¹ No início de janeiro, as autoridades chinesas identificaram um novo tipo de vírus corona (SARS-CoV-2) como a causa.¹ A doença causada pelo SARS-CoV-2 é oficialmente denominada COVID-19 (“doença do vírus da corona 2019”) e é transmissível de pessoa para pessoa.²

Em todo o mundo, foram registrados 3.925.815 casos (em 10 de maio de 2020).³ Os casos iniciais na Alemanha foram confirmados no final de janeiro de 2020.⁴ Na Alemanha, foram relatados 169.575 casos (em 11 de maio de 2020).^{4,5} A OMS declarou uma emergência internacional de saúde em 31 de janeiro de 2020.^{1,5}

As diretrizes originais da OMS recomendavam uma estratégia de três alvos.⁶ Quando essa diretriz foi elaborada, havia informações insuficientes de sequências do SARS-CoV-2, de modo que os intervalos de sequências publicados pela OMS nas regiões gênicas alvo individuais eram muito pouco específicos para a detecção confiável do RNA do SARS-CoV-2. Para poder aumentar a especificidade dos testes de SARS-CoV-2, foi adotada uma estratégia de três alvos de forma correspondente. Em 17 de janeiro de 2020, essa estratégia de três alvos foi reduzida para uma estratégia de dois alvos, porque a sensibilidade apresentada pelo terceiro alvo era insuficiente.

Em 17 de março de 2020, a OMS emitiu uma diretriz provisória para o diagnóstico de casos suspeitos de doença por coronavírus (COVID-19), causada por SARS-CoV-2, no que diz respeito aos requisitos para testes laboratoriais de biologia molecular, que afirma: “Nas áreas em que o vírus da COVID-19 esteja amplamente disseminado, pode ser adotado um algoritmo mais simples no qual, por exemplo, uma triagem por RT-PCR em tempo real de um único alvo discriminatório de SARS-CoV-2 (estratégia de alvo único) é considerada suficiente.”

Ao desenvolver o ensaio de RT-PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2, a R-Biopharm AG seguiu a estratégia de alvo único desde o início. Nosso objetivo era estabelecer a detecção sensível e específica do SARS-CoV-2 com um fluxo de trabalho otimizado, ou seja, sem que houvesse necessidade de confirmações adicionais. Isto foi possível nesse momento inclusive porque havia um grande número de sequências de genoma do novo SARS CoV-2 de coronavírus disponível. No decurso das análises do genoma, fomos capazes de identificar uma região dentro do gene E que é altamente específica para SARS-CoV-2 e possui alta sensibilidade para fins de triagem. Essa região está localizada a aproximadamente 200 pares de bases a jusante da região não específica do gene E do SARS-CoV-2 publicada pela OMS. Detectando essa região específica do gene E, fomos capazes de reduzir a detecção do RNA da SARS-CoV-2 para apenas um alvo.

3. Princípio do teste

O RIDA®GENE SARS-CoV-2 é um RT-PCR multiplexado em tempo real para a detecção qualitativa direta de RNA de coronavírus (SARS-CoV-2) da garganta humana e zaragoas nasofaríngeas de pessoas com sintomas de infecção do trato respiratório.

A detecção é feita em um formato de RT-PCR em tempo real de uma etapa: transcrição reversa (RT) e PCR subsequente ocorrem em um tubo de ensaio. No processo, o RNA isolado é transcrito para o cDNA com a ajuda de uma transcriptase reversa. Os fragmentos de genes específicos para SARS-CoV-2 (gene E) são então amplificados usando PCR em tempo real. As sequências alvo amplificadas são detectadas usando sondas de hidrólise que são marcadas em uma extremidade com um extintor e um corante repórter fluorescente (fluoróforo) na outra. As sondas hibridam com o fragmento amplificado na presença de uma sequência alvo. Durante a extensão, a Taq-Polymerase separa o repórter do extintor. O repórter emite um sinal fluorescente que é detectado pela unidade óptica de um instrumento de PCR em tempo real. O sinal fluorescente aumenta com a quantidade de fragmentos amplificados formados. O teste RIDA®GENE SARS-CoV-2 contém Internal Control RNA (ICR) para ser capaz de controlar o preparo da amostra e/ou qualquer potencial inibição da PCR.

4. Reagentes fornecidos

Tabela 1: Reagentes fornecidos (Os reagentes fornecidos no kit são suficientes para 100 determinações)

| Código do kit | Reagente | Quantidade | | Cor da tampa |
|---------------|----------------------|------------|---------|--------------|
| 1 | Reaction Mix | 2x | 1050 µl | amarelo |
| 2 | Enzyme Mix | 1x | 80 µl | vermelho |
| R | Internal Control RNA | 2x | 1700 µl | castanho |
| N | No Template Control | 1x | 450 µl | branco |
| P | Positive Control | 1x | 200 µl | azul |

5. Instruções de armazenamento

- Todos os reagentes devem ser armazenados longe da luz a -20 °C e, se não abertos, podem ser usados até a data de validade impressa no rótulo. Nenhuma garantia de qualidade poderá ser assegurada após o término do prazo de validade.
- Todos os reagentes devem ser cuidadosamente descongelados antes do uso (por exemplo, em uma geladeira entre 2 °C e 8 °C).
- O congelamento/descongelamento repetidos até 20 vezes não afeta a propriedade do teste (se necessário, crie alíquotas após o primeiro descongelamento e recongele os reagentes imediatamente).
- Arrefecer todos os reagentes adequadamente durante a preparação da PCR (2 °C - 8 °C).

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

O teste RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 foi verificado com a seguinte plataforma de extração e combinação de dispositivos de PCR em tempo real:

Tabela 2a: Equipamento necessário (verificado)

| | |
|---------------------------------------|-------------------|
| Plataformas de extração | |
| Promega | Maxwell®RSC |
| Dispositivos PCR em tempo real | |
| Roche | LightCycler®480II |

Além disso, o teste de RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 é adequado para ser usado com as seguintes plataformas de extração e dispositivos de PCR em tempo real:

Tabela 2b: Equipamento necessário (compatível)

| Plataformas de extração | |
|---------------------------------------|----------------------------|
| R-Biopharm AG | RIDA®Xtract |
| Roche | MagNA Pure 96 ⁷ |
| Dispositivos PCR em tempo real | |
| R-Biopharm AG | RIDA®CYCLER |
| Agilent Technologies | Mx3005P |
| Applied Biosystems | ABI 7500 Fast Dx |
| Bio-Rad | CFX96™ Dx |
| QIAGEN | Rotor-Gene Q |

Indicação: Ao usar com o Rotor-Gene Q (QIAGEN), utilize apenas tubos de 0,1 ml.

Se tiver que usar outros procedimentos de extração ou instrumentos de PCR em tempo real, entre em contato com a R-Biopharm AG para verificar a compatibilidade em mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) ao usar o LightCycler® 480II
- Consumíveis de PCR em tempo real (placas, tubos, lâminas)
- Centrífuga com rotor para tubos de ensaio ou placas
- Vortexer
- Pipetas (0,5 - 20 µl, 20 - 200 µl, 100 - 1.000 µl)
- Pontas de pipeta com filtros
- Luvas descartáveis sem pó
- Água PCR (livre de nuclease)

7. Medidas preventivas

- Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório treinado. As diretrizes para trabalho em laboratórios médicos devem ser seguidas.
- Sempre cumpra estritamente as instruções de usuário para a realização desse teste.
- Não despeje amostras ou reagentes usando sua boca. Evite o contato com membranas mucosas e pele lesionada.
- Utilize equipamentos de segurança pessoal (luvas adequadas, jaleco, óculos de segurança) ao manusear os reagentes e as amostras, e lave as mãos após concluir o teste.
- Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras estiverem sendo manipuladas.
- Garanta que a extração, a preparação da PCR e a PCR sejam realizadas em salas diferentes, a fim de evitar contaminações cruzadas.

- As amostras clínicas devem ser vistas como potencialmente infecciosas e devem ser descartadas adequadamente, como todos os reagentes e materiais que entram em contato com amostras potencialmente infecciosas.
- Descarte o kit de teste assim que o prazo de validade expirar.
- Os usuários são os responsáveis por descartar de modo adequado todos os reagentes e materiais após sua utilização. Para o descarte, cumpra com os regulamentos nacionais.

Para maiores detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDSs) em www.r-biopharm.com.

8. Coleta e armazenamento de amostras

8.1 Preparação de RNA a partir de amostras respiratórias humanas

Um kit de extração de ácido nucleico disponível no mercado (por exemplo, RIDA®Xtract (R-Biopharm AG)) ou sistema de extração de ácido nucleico (por exemplo, Maxwell®RSC (Promega)) é recomendado para a preparação de RNA a partir de amostras respiratórias humanas. As instruções do fabricante devem ser observadas.

O teste RIDA®GENE SARS-CoV-2 contém um **Internal Control RNA** que indica potencial inibição da PCR, verifica a integridade dos reagentes e confirma a extração bem-sucedida de ácido nucleico. O **Internal Control RNA** pode ser utilizado como controle de inibição de PCR ou como controle de extração para o procedimento de preparação de amostra e como controle de inibição PCR.

Se o **Internal Control RNA** for usado apenas como controle de inibição, deve ser adicionado 1 µl de **Internal Control RNA** à mistura principal para cada reação (consulte a Tabela 4)

Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o preparo da amostra e como controle de inibição, durante o procedimento de extração, devem ser usados 20 µl do **Internal Control RNA** para cada amostra. O **Internal Control RNA** deve sempre ser adicionado à mistura amostra-tampão de lise e **não** deve ser adicionado diretamente ao material de amostra. Recomendamos adicionar 1 µl para cada reação do **Internal Control RNA** à mistura de PCR do controle negativo e do controle positivo.

Para obter mais informações sobre a coleta, armazenamento e transporte de amostras, consulte as orientações provisórias da OMS de 2 de março de 2020 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.⁶

9. Realização do teste

9.1 Preparação da mistura principal

O número total de reações necessárias para a PCR (amostras e reações de controle) deve ser calculado. Em cada teste realizado, devem ser incluídos um controle positivo e um controle negativo.

É recomendável adicionar um volume adicional de 10 % à mistura principal para equilibrar a perda de pipeta (consulte a Tabela 3, Tabela 4). Antes de usar a **Reaction Mix**, descongele a **Enzyme Mix**, **Positive Control**, **No Template Control**, e **Internal Control RNA**, misture bem e centrifugue por um curto período de tempo. Sempre resfrie os reagentes adequadamente durante as etapas de trabalho (2 °C - 8 °C).

Tabela 3: Exemplo de cálculo e preparação da mistura principal para 10 reações (ICR como controle de extração e inibição)

| Código do kit | Componentes da mistura principal | Quantidade por reação | 10 reações (mais 10 %) |
|---------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,3 µl | 212,3 µl |
| 2 | Enzyme Mix | 0,7 µl | 7,7 µl |
| | Total | 20 µl | 220 µl |

Misture a mistura principal e depois centrifugue por pouco tempo.

Tabela 4: Exemplo do cálculo e produção da mistura principal para dez (10) reações (ICR apenas como controle de inibição)

| Código do kit | Componentes da mistura principal | Quantidade por reação | 10 reações (mais 10 %) |
|---------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| 1 | Reaction Mix | 19,3 µl | 212,3 µl |
| 2 | Enzyme Mix | 0,7 µl | 7,7 µl |
| R | Internal Control RNA | 1,0 µl | 11 µl |
| | Total | 21,0 µl | 231,0 µl |

Misture a mistura principal e depois centrifugue por pouco tempo.

9.2 Preparação da mistura de PCR

Pipete 20 µl da mistura principal em cada tubo de ensaio (frasco/placa).

Controle negativo: Adicione 5 µl de **No Template Control** à mistura principal pré-pipetada.

Indicação: Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o preparo da amostra e como controle de inibição, recomendamos adicionar 1 µl do **Internal Control RNA** à mistura de RT-PCR do controle negativo.

Amostras: Adicione 5 µl de eluato à mistura principal pré-pipetada.

Controle positivo: Adicione 5 µl de **Positive Control** à mistura principal pré-pipetada.

Indicação: Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o preparo da amostra e como controle de inibição, recomendamos adicionar 1 µl do **Internal Control RNA** à mistura de RT-PCR do controle positivo.

Selar os tubos de ensaio ou placas, centrifugar brevemente em velocidade lenta e transferir para o dispositivo de PCR em tempo real. Inicie a PCR de acordo com a configuração do instrumento de PCR (consulte a Tabela 5, Tabela 6, Tabela 7).

9.3 Configuração do instrumento de PCR

9.3.1 Perfil de PCR em tempo real universal

Tabela 5: Perfil de RT-PCR universal em tempo real para LightCycler® 480II e RIDA®CYCLER

| | |
|---|---------------|
| <u>Transcrição reversa</u> | 10 min, 58 °C |
| Desnaturação inicial | 1 min, 95 °C |
| Ciclos | 45 ciclos |
| <u>PCR</u> Desnaturação | 10 s, 95 °C |
| Recozimento/Extensão | 15 s, 60 °C |
| Índice da temperatura de transição / Índice de subida | Máximo |

Indicação: O recozimento e a extensão acontecem na mesma etapa.

Tabela 6: Perfil de RT-PCR em tempo real universal para Mx3005P, ABI7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q, e CFX96™ Dx

| | |
|---|---------------|
| <u>Transcrição reversa</u> | 10 min, 58 °C |
| Desnaturação inicial | 1 min, 95 °C |
| Ciclos | 45 ciclos |
| <u>PCR</u> Desnaturação | 15 s, 95 °C |
| Recozimento/Extensão | 30 s, 60 °C |
| Índice da temperatura de transição / Índice de subida | Máximo |

Indicação: O recozimento e a extensão acontecem na mesma etapa.

Indicação: O perfil de PCR em tempo real universal também pode ser utilizado em testes de DNA se houver a combinação dos testes RIDA®GENE DNA e PCR em tempo real de RIDA®GENE RNA em uma execução.

9.4 Configuração do canal de detecção

Tabela 7: Seleção dos canais de detecção adequados

| Dispositivo de PCR em tempo real | Deteção | Canal de deteção | Comentário |
|------------------------------------|------------|------------------|--|
| R-Biopharm AG RIDA®CYCLER | SARS-CoV-2 | Verde | - |
| | ICR | Amarelo | |
| Roche LightCycler® 480II | SARS-CoV-2 | 465/510 | É necessário o RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004). |
| | ICR | 533/580 | |
| Agilent Technologies Mx3005P | SARS-CoV-2 | FAM | Defina o corante de referência como nenhum. |
| | ICR | HEX | |
| ABI 7500 Fast Dx | SARS-CoV-2 | FAM | Defina o corante de referência passiva ROX como nenhum. |
| | ICR | VIC | |
| Bio-Rad CFX96™ Dx | SARS-CoV-2 | FAM | - |
| | ICR | VIC | |
| Qiagen Rotor-Gene Q | SARS-CoV-2 | Verde | As configurações de ganho devem ser definidas como 5 (padrão de fábrica) para todos os canais. |
| | ICR | Amarelo | |

10. Controle de qualidade

As amostras são avaliadas usando o software de análise do respectivo dispositivo de PCR em tempo real, de acordo com as instruções do fabricante. Os controles negativos e positivos devem mostrar os resultados corretos (consulte a Tabela 8). O **Positive Control** vem em uma concentração de 10^3 cópias/ μ l. É usado em uma quantidade total de 5×10^3 cópias em cada execução de PCR.

Tabela 8: Uma execução de PCR válida deve atender às seguintes condições:

| Amostra | Resultado | ICR Ct | Gene alvo Ct |
|-------------------|-----------|---------|---|
| Controle positivo | Positivo | N/A *1 | Veja o Certificado de Garantia de Qualidade |
| Controle negativo | Negativo | Ct > 20 | Não detectável |

*1 Um valor de Ct para o ICR não é necessário para obter um resultado positivo do controle positivo.

Os controles positivo e negativo são válidos quando atendem às condições especificadas na tabela. A faixa de Ct para o controle positivo é especificada no Certificado de Garantia da Qualidade incluído no produto. Se um dos dois controles não atender às condições para uma execução válida, todas as reações precisarão ser analisadas novamente, incluindo os controles.

Se os valores especificados não forem obtidos, verifique o seguinte antes de repetir o teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade dos dispositivos utilizados
- Realização correta do teste

11. Interpretação das amostras

A interpretação dos resultados é realizada de acordo com a Tabela 9.

Tabela 9: Interpretação das amostras

| Detecção de | | |
|-------------|-----------------------|--------------------------|
| SARS-CoV-2 | ICR | Resultado |
| positivo | positivo/ negativo | SARS-CoV-2 detectável |
| negativo | positivo | Gene-alvo não detectável |
| negativo | negativo | Inválido |

O SARS-CoV-2 é detectado se a amostra RNA e o **Internal Control RNA** apresentarem um sinal de amplificação no sistema de detecção.

O SARS-CoV-2 também é detectável se o RNA mostrar um sinal de amplificação, mas nenhum sinal de amplificação puder ser visto para o Internal Control RNA no sistema de detecção. A detecção do Internal Control RNA não é necessária neste caso, porque as altas concentrações de fragmentos amplificados podem causar um sinal fraco ou ausente do Internal Control RNA.

O SARS-CoV-2 não é detectável se o RNA não mostrar sinal de amplificação, mas um sinal de amplificação puder ser visto para o Internal Control RNA no sistema de detecção. A inibição da reação de PCR pode ser excluída através da detecção do Internal Control RNA.

Uma amostra é inválida se o RNA da amostra e o Internal Control RNA não mostrarem um sinal de amplificação no sistema de detecção. Existem inibidores de PCR na amostra ou ocorreu um erro durante o processo de extração. A amostra extraída deve ser diluída de 1:10 com água de PCR e re-amplificada, ou o isolamento e a purificação da amostra devem ser melhorados.

O limite de detecção do ensaio RIDA®GENE usando o LightCycler® 480II é de >50 cópias / reação. Amostras com um valor de CT >35 estão dentro do limite de detecção. É necessário observar que o limite de detecção do RT-PCR depende da matriz da amostra, do ciclador e da extração do RNA, podendo variar de modo correspondente. Portanto, recomendamos que essas amostras sejam avaliadas como inconclusivas, examinar o quanto as curvas individuais podem ser sigmóides e solicitar uma amostra de acompanhamento correspondente levando em consideração os sintomas clínicos. A avaliação dessas amostras cabe a uma equipe devidamente treinada.

12. Limitações do método

1. Este teste é destinado apenas a amostras respiratórias humanas.
2. Amostragem, transporte, armazenamento e manuseio inadequado de amostras ou carga de patógenos abaixo da sensibilidade analítica do teste podem levar a resultados falso-negativos.
3. A presença de inibidores de PCR pode levar a resultados não avaliáveis.
4. Mutações ou polimorfismos nos locais de ligação do iniciador ou da sonda podem interferir na detecção de variantes novas ou desconhecidas e podem levar a resultados falso-negativos usando o RIDA®GENE SARS-CoV-2.
5. Como em todos os testes *in vitro* baseados em PCR, podem ser detectadas concentrações extremamente baixas das sequências alvo abaixo do limite de detecção (LoD). Os resultados obtidos nem sempre são reproduzíveis.
6. Um resultado positivo nos testes não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Um resultado positivo indica que o gene alvo (gene E) está presente.
7. A presença de inibidores de RT-PCR e substâncias interferentes pode levar a resultados falsos negativos ou inválidos. Os efeitos de vacinas, terapêuticas

antivirais, antibióticos, quimioterapêuticos ou imunossupressores na prevenção de COVID-19 ou no tratamento da infecção ou de outras substâncias interferentes não foram investigados.

8. Este ensaio deve ser realizado de acordo com as BPL (Boas Práticas de Laboratório).

O usuário deve seguir atentamente as instruções do fabricante ao realizar o teste.

13. Características de desempenho

13.1 Precisão

A precisão do teste de PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 foi determinada para os seguintes níveis de observação.

Precisão intraensaio: Determinação de 5 amostras de controle com 20 réplicas de cada no LightCycler® 480II sob condições idênticas.

Precisão interensaio: Determinação de 5 amostras de controle em duplicatas por 10 dias úteis por diferentes operadores em condições reprodutíveis.

Precisão inter-lote: Os testes de precisão intra e interensaios são realizados em três lotes diferentes.

Os coeficientes de variação obtidos para as respectivas medições com o teste de PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 no LightCycler® 480II estavam abaixo de 3 %.

13.2 Sensibilidade analítica

13.2.1 Limite de detecção do dispositivo

Para determinar o limite de detecção do dispositivo, 20 repetições de uma amostra de controle (50 cópias/reação) foram medidos com o LightCycler® 480II. Todas as réplicas foram positivas.

O limite de detecção do dispositivo é, portanto, 50 cópias/reação.

13.2.2 Limite de detecção (LoD 95 %)

O limite de detecção do teste de PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 foi determinado em um estudo externo, utilizando o MagNaPure 96 DNA e Viral NA Small Volume Kit, além do LightCycler® 480II. O LoD 95 % determinado aqui para o teste de PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 é de 4,3 cópias/ml.⁷

O limite de detecção do procedimento geral depende da matriz da amostra, do cicladador e da extração do RNA.

13.3 Especificidade analítica

O teste de PCR em tempo real RIDA®GENE SARS-CoV-2 é específico para o SARS-CoV-2 humano de zangaratoa nasofaríngea. A correspondência de sequência usando bancos de dados de nucleotídeos existentes (National Center for

Biotechnology Information, NCBI) mostrou especificidade para SARS-CoV-2 e nenhuma homologia significativa com outros organismos. Vários organismos também foram testados. Não foram encontradas reatividades cruzadas para as seguintes espécies (consulte a Tabela 10):

Tabela 10: Testes de reatividade cruzada

| | | | | | | | |
|--|---|--------------------------------------|---|---------------------------------|---|-----------------------------------|---|
| Coronavírus humano 229E | - | Parainfluenza 1 (estirpe C35) | - | Enterovírus (Tipo 71) | - | <i>Streptococcus pyogenes</i> | - |
| Coronavírus humano OC43 | - | Parainfluenza 2 (estirpe Greer) | - | RSV (estirpe longa) | - | <i>Bordetella pertussis</i> | - |
| Coronavírus humano NL63 | - | Parainfluenza 3 | - | RSV (estirpe 9320) | - | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | - |
| SARS | - | Parainfluenza 4 (b, estirpe CH19503) | - | Rinovírus (genogrupo A) | - | <i>Pneumocystis jirovecii</i> | - |
| MERS | - | Influenza A H1N1 Brisbane/59/07 | - | <i>Chlamydia pneumoniae</i> | - | <i>Candida albicans</i> | - |
| Adenovírus 7, humano (estirpe Gomen) | - | Influenza A H3N2 Texas/50/12 | - | <i>Haemophilus influenzae</i> | - | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - |
| Adenovírus 1, humano (estirpe adenoide 71) | - | Influenza B/Washington/02/2019 | - | <i>Legionella pneumophila</i> | - | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | - |
| Metapneumovírus humano | - | Influenza Virus B/Colorado/6/2017 | - | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | - | <i>Streptococcus salivarius</i> | - |

13.4 Reatividade analítica

A reatividade analítica do RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE SARS-CoV-2 foi demonstrada usando o teste de proficiência INSTAND e.V. RV 340059 (consulte a Tabela 11).

Tabela 11: Reatividade analítica

| | | | | | |
|----------------------|---|--|--|--|--|
| SARS-CoV-2 RV 340059 | + | | | | |
|----------------------|---|--|--|--|--|

13.5 Substâncias interferentes

A presença de inibidores de RT-PCR e de substâncias interferentes pode levar a resultados falso-negativos ou inválidos. Portanto, foram examinados os efeitos de várias substâncias que poderiam estar presentes nas amostras correspondentes devido ao uso generalizado em infecções respiratórias ou a ocorrência generalizada (ver Tabela 12).

Tabela 12: Substâncias interferentes

| Ingrediente ativo/farmacêutico | Concentração |
|---|---------------------|
| Etanol | 5 % [v/v] |
| Cloridrato de guanidina | 5 % (p/v) |
| Azitromicina | 84 mg/ml |
| Mucina | 60 µg/ml |
| Xilometazolina/ spray nasal ratiopharm® | 10 % [v/v] |
| Dipropionato de beclometasona | 10 % [v/v] |
| Paracetamol | 10 mg/ml |
| Amoxicilina | 1 mg/ml |
| Sangue humano | 2 % [v/v] |
| Dihidrocodeína | 10 % [v/v] |









As substâncias listadas na Tabela 12 mostraram efeito não interferente nas concentrações testadas.

14. Histórico de versões

| Número da versão | Seção e designação |
|-------------------------|--|
| 2020-05-15 | Versão anterior |
| 2020-06-17 | Revisão geral: 2. Sumário e explicação do teste 5. Instruções de armazenamento 11. Interpretação das amostras 13 Características de desempenho |
| 2020-07-27 | Revisão do Instruções de uso espanhol 2. Sumário e explicação do teste |

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

| | |
|---|---------------------------------------|
|  | Para diagnóstico <i>in-vitro</i> |
|  | Respeitar as instruções de utilização |
|  | Número de lote |
|  | Válido até |
|  | Temperatura de conservação |
|  | Referência do produto |
|  | Número de testes |
|  | Data de fabricação |

Símbolos específicos do teste

Não aplicável

16. Referências

1. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 24.01.2020
2. <https://www.spiegel.de/wissenschaft/medizin/covid-19-weltgesundheitsorganisation-verkuendet-neuen-namen-des-coronavirus-a-810ce436-7081-43d2-b8e0-f0b315503e0b>. Zugriff am 12.02.2020
3. <https://covid19.who.int/> Zugriff am 11.05.2020
4. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Fallzahlen.html. Zugriff am 11.05.2020
5. <https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Ausbrueche/respiratorisch/Pneumonien-China.html>. Zugriff am 03.02.2020
6. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>. Zugriff am 11.05.2020
7. van Kasteren, Puck B., et al. "Comparison of commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19." bioRxiv (2020)