

RIDA® GENE Flu & SARS-CoV-2

REF PG6825



1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico in-vitro. O teste RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2, realizado no dispositivo PCR em tempo real LightCycler® 480II, é um RT-PCR em tempo real multiplex para a detecção qualitativa direta e diferenciação de gripe A/gripe B e de RNA do coronavírus (SARS-CoV-2) em esfregaços nasais e da garganta de pessoas com sinais e sintomas de infecção respiratória.

O teste RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 foi desenvolvido para apoiar o diagnóstico diferencial de infecções por gripe A/gripe B e SARS-CoV-2 em pacientes com sintomas de infecção respiratória em conjunto com outros achados clínicos e laboratoriais.

Resultados negativos não excluem a infecção por gripe A/gripe B e SARS-CoV-2 e não devem ser usados como única base para o diagnóstico. O produto é destinado ao uso por profissionais que trabalham em laboratórios hospitalares, laboratórios de referência, laboratórios particulares ou laboratórios públicos.

2. Sumário e explicação do teste

No final de dezembro de 2019, na metrópole chinesa de Wuhan, ocorreram numerosos casos de pneumonia de causa desconhecida.¹ No início de janeiro de 2020, as autoridades chinesas identificaram um novo coronavírus (SARS-CoV-2) como a causa dessas doenças.¹ A doença causada pela SARS-CoV-2 foi oficialmente nomeada COVID-19 (“doença do coronavírus 2019”) e é transmitida de humano para humano.² Devido à novidade deste patógeno, a epidemia evoluiu rapidamente para uma pandemia.

Já foram registrados 105.805.951 casos no mundo inteiro (até 9 Fevereiro 2021).³ No final de janeiro de 2020, os primeiros casos foram confirmados também na Alemanha. A Alemanha teve 2.291.924 casos até agora (até 9 Fevereiro 2021).⁴ A OMS declarou Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional em 2020-01-31.¹

Os vírus SARS-CoV-2 e influenza compartilham algumas semelhanças. Por exemplo, a principal rota de transmissão para estes dois patógenos é a rota aérea através de gotas respiratórias carregadas de vírus geradas pela respiração, tosse, fala e espirros.^{5,6} Os sintomas no estágio inicial são típicos de patógenos respiratórios virais. Os sintomas mais comumente relatados para ambos os patógenos são febre, tosse e congestão nasal. Como os cursos da doença SARS-CoV-2 podem variar muito nos sintomas e na gravidade (de pneumonia assintomática a grave com insuficiência pulmonar e morte), a diferenciação dos vírus SARS-CoV-2 e influenza é importante para uma terapia adicional.

3. Princípio do teste

O RIDA[®]GENE Flu & SARS-CoV-2 é um teste RT-PCR em tempo real multiplex para detecção qualitativa direta e diferenciação de gripe A/gripe B e de RNA do coronavírus (SARS-CoV-2) em esfregaços nasais e da garganta humana.

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. Em seguida, o PCR em tempo real é usado para amplificar os fragmentos de genes para influenza A (gene M), influenza B (gene NP1) e SARS-CoV-2 (gene E e gene RdRp). As sequências de alvo amplificadas são detectadas usando sondas de hidrólise que são etiquetadas com um supressor em uma extremidade e um corante de 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 supressor. 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 Flu & SARS-CoV-2 contém um **Internal Control RNA** (ICR) para ser capaz de controlar o preparo da amostra e/ou potencial de inibição do PCR.

4. Reagentes fornecidos

Tabela 1: Reagentes fornecidos (Os reagentes fornecidos no kit são suficientes para 200 determinações)

Código do kit	Reagente	Quantidade		Cor da tampa
1	Reaction Mix	4x	1050 µl	Amarelo
2	Enzyme Mix	1x	160 µl	Vermelho
R	Internal Control RNA	4x	1700 µl	Castanho
N	No Template Control	1x	450 µl	Branca
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 a 8 °C).
- O congelamento/descongelamento repetidos até 20 vezes não afeta as propriedades 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 a 8 °C).

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

O teste RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 foi verificado usando a seguinte combinação da plataforma de extração e dispositivo de PCR em tempo real:

Tabela 2a: Equipamento necessário (verificado)

Plataforma de extração	
Promega	Maxwell® RSC
Dispositivo de PCR em tempo real	
Roche	LightCycler® 480II

Além disso, o teste RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 é compatível para uso com os seguintes dispositivos de PCR em tempo real:

Tabela 2b: Equipamento necessário (compatível)

Dispositivos PCR em tempo real	
R-Biopharm	RIDA®CYCLER
Applied Biosystems	ABI 7500 Fast Dx
Bio-Rad	CFX96™ Dx
QIAGEN	Rotor-Gene Q
qTOWER ³	Analytik Jena
Configuração de PCR	
CyBio Felix	Analytik Jena

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

Se tiver que usar outros procedimentos de extração ou dispositivos de PCR em tempo real, entre em contato com a R-Biopharm 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 de ensaio, filmes)
- Centrífuga com rotor para tubos de ensaio ou placas
- Vortexer
- Pipetas (0,5 a 20 µl, 20 a 200 µl, 100 a 1.000 µl)
- Pontas da pipeta com filtros
- Luvas descartáveis sem pó
- Água PCR (livre de nuclease)

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

- 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 uso para a realização desse teste.
- Não pipete amostras ou reagentes usando a 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) no site da R-Biopharm.

8. Coleta e armazenamento de amostra

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]) 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 Flu & 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 apenas como controle de inibição ou como controle de extração para preparo das amostra e como controle de inibição.

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 um controle de inibição, durante a extração, deve ser utilizado 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 à mistura do PCR do controle negativo e do controle positivo para cada reação do **Internal Control RNA**.

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, descongele a **Reaction Mix**, a **Enzyme Mix**, o **Positive Control**, o **No Template Control** e o **Internal Control RNA**, misture bem (exceto a mistura de enzimas) e centrifugue por um curto período de tempo. Sempre resfrie os reagentes adequadamente durante as etapas de trabalho (2 °C a 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 preparação 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: Pipete 5 µl do **No Template Control** à mistura principal pré-pipetada.

Nota: Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o preparo da amostra e como controle de inibição, recomendamos pipetar 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.

Nota: 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 o PCR de acordo com a configuração do equipamento de PCR (consulte a Tabela 5, Tabela 6, Tabela 7).

9.3 Configuração do dispositivo de PCR

9.3.1 Perfil de RT-PCR em tempo real universal

Tabela 5: Perfil de RT-PCR em tempo real universal para a LightCycler® series 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

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

Tabela 6: Perfil de RT-PCR em tempo real universal para ABI 7500 Fast Dx, Rotor-Gene Q, CFX96™ Dx e qTOWER³

<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

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

Nota: 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 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 RIDA®CYCLER	Influenza A/B	Verde	-
	ICR	Amarelo	
	Gene E SARS-CoV-2	Laranja	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Vermelho	
Roche LightCycler® 480II	Influenza A/B	465/510	É necessário o RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004).
	ICR	533/580	
	Gene E SARS-CoV-2	533/610	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	618/660	
ABI 7500 Fast Dx	Influenza A/B	FAM	Defina o corante de referência passiva ROX como nenhum.
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	
Bio-Rad CFX96™ Dx	Influenza A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	Influenza A/B	Verde	As configurações de ganho devem ser definidas como 5 (padrão de fábrica) para todos os canais.
	ICR	Amarelo	
	Gene E SARS-CoV-2	Laranja	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Vermelho	
qTOWER³	Influenza A/B	FAM	-
	ICR	VIC	
	Gene E SARS-CoV-2	ROX	
	Gene RdRp SARS-CoV-2	Cy5	

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** tem uma concentração de 10^3 cópias/ μl . 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 atingidos, verifique os seguintes itens antes de repetir o teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo utilizado
- Execução correta do teste

O controle positivo é composto por fragmentos de RNA sintético e cobre pelo menos um sistema de detecção do canal de detecção correspondente. Portanto, nem todos os sistemas de detecção utilizados são necessariamente cobertos por um controle positivo. Para um controle de qualidade adicional, recomendamos, portanto, a realização de controles externos e amostras positivas pré-determinadas de pacientes em intervalos regulares.

11. Interpretação das amostras

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

Tabela 9: Interpretação das amostras

Detecção de			ICR	Resultado
Gene E (SARS-CoV-2)	Gene RdRp (SARS-CoV-2)	Gene M/ Gene NP1 (Influenza A/B)		
negativo	negativo	positivo	positivo/ negativo	Influenza A/B detectável
positivo	positivo	negativo	positivo/ negativo	SARS-CoV-2 detectável
positivo	positivo	positivo	positivo/ negativo	SARS-CoV-2 e influenza A/B detectáveis
positivo	negativo	negativo	positivo/ negativo	SARS-CoV-2 detectável
negativo	positivo	negativo	positivo/ negativo	SARS-CoV-2 detectável*
negativo	negativo	negativo	positivo	Gene-alvo não detectável
negativo	negativo	negativo	negativo	Inválido

* Potencial fraca reatividade cruzada à SARS-CoV-1

Uma amostra é positiva caso a amostra e o **Internal Control RNA** apresentem um sinal de amplificação no sistema de detecção.

O segmento do gene E detectado neste teste é um fragmento específico do SARS-CoV-2. No alinhamento BLAST, o segmento de gene RdRp detectado mostra algumas combinações com o segmento de sequência SARS-CoV-1 correspondente. A amplificação não pode ser completamente descartada neste caso.

A sensibilidade destes dois fragmentos nas amostras do SRA-CoV-2 dentro da faixa LoD pode variar ligeiramente, o que pode levar a que apenas um dos dois genes tenha um resultado positivo dentro da faixa LoD.

A amostra também é positiva se o RNA da amostra 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**.

Uma amostra é negativa se o RNA da amostra não mostrar um sinal de amplificação, mas um sinal de amplificação for visível 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 se destina apenas para esfregaços nasais e de garganta humana.
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. 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 teste RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2.
4. 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.
5. Um resultado positivo nos testes não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Um resultado positivo indica que os genes alvo correspondentes para influenza A (gene M), influenza B (gene NP1) e SARS-CoV-2 (gene E; gene RdRp) estão presentes.
6. Este ensaio deve ser realizado em conformidade com o regulamento sobre Boas Práticas Laboratoriais (BPL). Os usuários devem seguir exatamente as instruções do fabricante ao realizar o teste.
7. A partir de uma concentração testada de 3,0% de dihidrocodeína mostra um efeito inibidor sobre a detecção da gripe A/B.

13. Características de desempenho

13.1 Precisão

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

Precisão intraensaio: Determinação de cinco amostras de controle usando 20 réplicas, cada uma no LightCycler® 480II sob condições idênticas.

Precisão interensaio: Determinação de cinco amostras de controle em duas vezes em dez dias de trabalho realizadas por diferentes técnicos sob condições reprodutíveis.

Precisão interlote: Os testes de precisão intra e interensaio foram realizados utilizando três lotes diferentes.

Os coeficientes de variação obtidos de cada medição utilizando o teste PCR em tempo real RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 no LightCycler® 480II foram inferiores a 2,5 %.

13.2 Sensibilidade analítica

13.2.1 Limite de detecção do dispositivo

Para determinar o limite de detecção do dispositivo, 20 réplicas de uma amostra de controle (cada uma com 50 cópias/reação) foram medidas no LightCycler® 480II. Todas as réplicas foram positivas.

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

13.3 Especificidade analítica

O teste PCR em tempo real RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 é específico para SARS-CoV-2 e gripe A/gripe B em esfregaços nasais/garganta.

Diferentes organismos também foram testados. Não foram detectadas reatividades cruzadas para as seguintes espécies (consulte a Tabela 10):

Tabela 10: Testes de reatividade cruzada

<i>Acinetobacter baumannii</i> estirpe 5377	-	Adenovírus 1, humano, estirpe de adenóide 71	-	Adenovírus 7, humano, estirpe Gomen	-	<i>Bordetella parapertussis</i> estirpe 12822	-
<i>Bordetella pertussis</i> Tohama 1	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	-	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	-
Echovírus 11	-	Vírus Epstein-Barr, estirpe B95-8	-	<i>Escherichia coli</i> (O26:H-)	-	<i>Escherichia coli</i> (O6)	-

<i>Escherichia coli</i> (O157:H7)	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	Enterovírus tipo 71, estirpe 2003 isolada	-	<i>Haemophilus influenzae</i>	-
Vírus Herpes Simplex 1, estirpe McIntyre	-	Vírus Herpes Simplex 2, estirpe MS	-	Coronavírus humano 229E	-	Coronavírus humano OC43	-
Coronavírus humano HKU1	-	Coronavírus humano NL63	-	Coxsackievírus humano A2, estirpe Fleetwood	-	Coxsackievirus humano B4	-
Citomegalovírus humano	-	Metapneumovírus humano	-	Vírus parainfluenza humana 1, estirpe C35	-	Vírus parainfluenza humana 2, estirpe Greer	-
Vírus parainfluenza sorotipo 3	-	Vírus parainfluenza humana 4a, estirpe M-25	-	Vírus parainfluenza humana 4b, estirpe CH19503	-	Vírus sincicial respiratório humano, estirpe longa	-
Vírus sincicial respiratório humano, estirpe 9320	-	Genogrupo A de rinovírus humano	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> estirpe MGH 78578	-	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-
<i>Legionella pneumophila</i> subesp. Pneumophila	-	MERS	-	<i>Moraxella catarrhalis</i>	-	Vírus da Caxumba, genótipo G-198	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> estirpe FH de Eaton Agent	-	<i>Neisseria meningitidis</i> estirpe FAM18	-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Serratia marcescens</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , estirpe NCTC 7465	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	<i>Streptococcus salivarius</i>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-		-		-

13.4 Reatividade analítica

A reatividade analítica do RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Flu & SARS-CoV-2 foi examinada usando diferentes estirpes de vírus de influenza A/B e SARS-CoV-2 (consulte a Tabela 11).

Tabela 11: Testes de reatividade analítica

Estirpe	Influenza A/B	SARS-CoV-2 (Gene E)	SARS-CoV-2 (Gene RdRp)
SARS-CoV-2 (isolado: USA-WA1/2020)	negativo	positivo	positivo
SARS-CoV-2 (isolado: Itália-INMI1)	negativo	positivo	positivo
A/Brisbane/02/2018	positivo	negativo	negativo
A/Michigan/45/2015	positivo	negativo	negativo
A/California/7/2009	positivo	negativo	negativo
A/Brisbane/59/2007	positivo	negativo	negativo
A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019	positivo	negativo	negativo
A/Kansas/14/2017	positivo	negativo	negativo
A/Singapura/INFIMH-16-0019/2016	positivo	negativo	negativo
A/Hong Kong/2671/2019	positivo	negativo	negativo
A/Texas/50/2012	positivo	negativo	negativo
A/Perth/16/2009	positivo	negativo	negativo
A/Anhui/1/2013	positivo	negativo	negativo
B/Colorado/06/2017	positivo	negativo	negativo

B/Brisbane/60/2008	positivo	negativo	negativo
B/Washington/02/2019	positivo	negativo	negativo
B/Phuket/3073/2013	positivo	negativo	negativo

13.5 Substâncias interferentes

A presença de inibidores de RT-PCR e de substâncias interferentes pode levar a resultados falso-negativos ou inválidos. Assim, foram testados os efeitos de diferentes substâncias que poderiam estar presentes nas respectivas amostras devido à sua utilização generalizada em infecções das vias respiratórias ou prevalência generalizada (ver Tabela 12) para a substância dihidrocodeína e foi observado um efeito inibitório a partir de uma concentração testada de 3,0% (ver Limitações do método). Não foi identificada qualquer interferência para as outras substâncias listadas (Tabela 12):

Tabela 12: Lista de substâncias e concentrações usadas no teste

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]
Cloreto de sódio	10 % [v/v]
Fosfato de oseltamivir	25 mg/ml
Cloridrato de benzidamina	10 % [v/v]

14. Histórico de versões

Número da versão	Seção e designação
2020-12-08	Versão anterior
2021-02-16	2. Sumário e explicação do teste 5. Instruções de armazenamento 6. Reagentes necessários, mas não fornecidos 9. Realização do teste 10. Controle de qualidade 11. Interpretação das amostras 12. Limitações do método 13.5 Substâncias interferentes

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico <i>in vitro</i>
	Respeitar as instruções de utilização
	Número do lote
	Data de validade
	Temperatura de conservação
	Número do item
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos do teste

Reaction Mix

Enzyme Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Referências

1. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/nCoV.html. Último acesso: 16.09.2020
2. <https://www.spiegel.de/wissenschaft/medizin/covid-19-weltgesundheitsorganisation-verkuendet-neuen-namen-des-coronavirus-a-810ce436-7081-43d2-b8e0-f0b315503e0b>. Último acesso: 12.02.2020
3. <https://covid19.who.int/>. Último acesso: 09.02.2021
4. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Fallzahlen.html. Último acesso: 09.02.2021
5. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html. Último acesso:16.09.2020
6. https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/I/Influenza/IPV/Influenza.html?cms_box=1&cms_current=Influenza&cms_lv2=2961756. Último acesso: 16.09.2020