

Julho de 2021

# Instruções de uso (Manual) do *artus*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit



Versão 1



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso nos instrumentos Rotor-Gene<sup>®</sup> Q MDx 5plex HRM e ABI<sup>®</sup>  
7500 Fast Dx



4511460, 4511469



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R2

# Conteúdo

Uso pretendido.....	4
Descrição e princípio .....	5
Informações do agente patogênico.....	5
Resumo e explicação .....	6
Materiais fornecidos .....	9
Conteúdo do kit .....	9
Componentes do kit.....	10
Plataforma e software .....	11
Materiais necessários, mas não fornecidos .....	12
Consumíveis .....	12
Equipamento.....	12
Advertências e precauções .....	13
Informações de segurança.....	13
Precauções .....	14
Armazenamento e manuseio dos reagentes .....	15
Transporte, armazenamento e manuseio de amostras .....	15
Coleta, transporte e armazenamento de amostras .....	15
Protocolo: preparo de amostras e detecção do SARS-CoV-2 no RGQ MDx 5plex HRM.....	16
Protocolo: preparo de amostras e detecção do SARS-CoV-2 no ABI 7500 Fast Dx .....	22
Resultados .....	27
Interpretação dos resultados .....	29
Limitações.....	32

---

Desempenho .....	33
Sensibilidade analítica (Limite de detecção).....	33
Estudos de especificidade analítica (inclusividade e exclusividade/ reatividade cruzada) .....	33
Substâncias interferentes .....	39
Precisão .....	40
Desempenho clínico.....	41
Referências .....	45
Guia de solução de problemas .....	46
Símbolos .....	48
Informações de contato .....	49
Informações sobre pedidos .....	50
Histórico de revisões do documento.....	51

---

## Uso pretendido

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit é um teste de RT-PCR em tempo real destinado à detecção qualitativa de ácido nucleico do SARS-CoV-2 em swabs nasofaríngeos (Nasopharyngeal Swabs, NPS), swabs nasais e swabs orofaríngeos de indivíduos com sinais e sintomas de infecção ou de indivíduos sem sintomas ou outros motivos para suspeitar de infecção por COVID-19.

Ele se destina a auxiliar no diagnóstico de COVID-19 na fase aguda da infecção, em combinação com observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas.

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit deve ser usado em um ambiente de laboratório de biologia molecular por usuários profissionais, como uma equipe de laboratório clínico treinada e instruída especificamente nas técnicas de real-time PCR e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

Os resultados negativos não impedem a infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como o único fundamento para as decisões de acompanhamento do paciente.

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit destina-se ao uso com o Rotor-Gene Q (RGQ) MDx System ou o ABI 7500 Fast Dx como sistemas de PCR em tempo real.

---

# Descrição e princípio

## Informações do agente patogênico

Os coronavírus, um gênero da família *Coronaviridae*, são grandes vírus de RNA envelopados e de cadeia positiva que causam doenças altamente virulentas em humanos e animais domésticos (1). Sabe-se que os coronavírus infectam humanos e respondem por um terço das infecções do resfriado comum e também são uma das causas bastante conhecidas de infecções respiratórias superiores nosocomiais em bebês prematuros (2).

Um novo membro da família do coronavírus causou um surto de doença respiratória na cidade de Wuhan, na China (1, 3). Denominado pela primeira vez como novo coronavírus (2019-nCoV), o SARS-CoV-2 difere do SARS-CoV (1, 3), que foi responsável pelo surto de 2003, e o MERS-CoV, que vem circulando no Oriente Médio desde 2012. O SARS-CoV-2 é o agente causador da COVID-19. O RNA do SARS-CoV-2 pode ser detectado durante as fases inicial e aguda da infecção a partir de várias amostras do trato respiratório superior (swabs nasais, orofaríngeos e nasofaríngeos) (3).

Em combinação com o histórico do paciente e a epidemiologia do SARS-CoV-2, os ensaios de RT-PCR se tornaram o padrão ouro para o diagnóstico do SARS-CoV-2. O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) propôs combinar ensaios baseados em RT-PCR com imunoenaios a fim de monitorar o status da infecção e avaliar a eficiência das medidas restritivas tomadas para controlar o surto (4, 5).

O ensaio SARS-CoV-2 Prep&Amp UM tem como alvo dois genes virais (genes N1 e N2) detectados com o mesmo canal de fluorescência. Ambos os alvos gênicos não são diferenciados, e a amplificação de um ou de ambos leva a um sinal de fluorescência. Resultados positivos são indicativos da presença do vírus SARS-CoV-2, mas não excluem a coinfeção com outros patógenos. Por outro lado, resultados negativos de RT-PCR não excluem uma possível infecção.

## Resumo e explicação

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit é um sistema pronto para uso com uma etapa simples de preparo de amostras seguida pela detecção do RNA do SARS-CoV-2 por RT-PCR no sistema RGQ MDx ou nas plataformas ABI 7500 Fast Dx (Figura 1). O SARS-CoV-2 UM Amp Buffer contém reagentes e enzimas para a amplificação específica de uma região de 72 pares de bases (pb) e 67 pb do genoma de RNA do SARS-CoV-2 e para sua detecção direta no canal de fluorescência "Green" dos instrumentos RGQ MDx e com o filtro fluorescente A/1 do ABI 7500 Fast Dx.

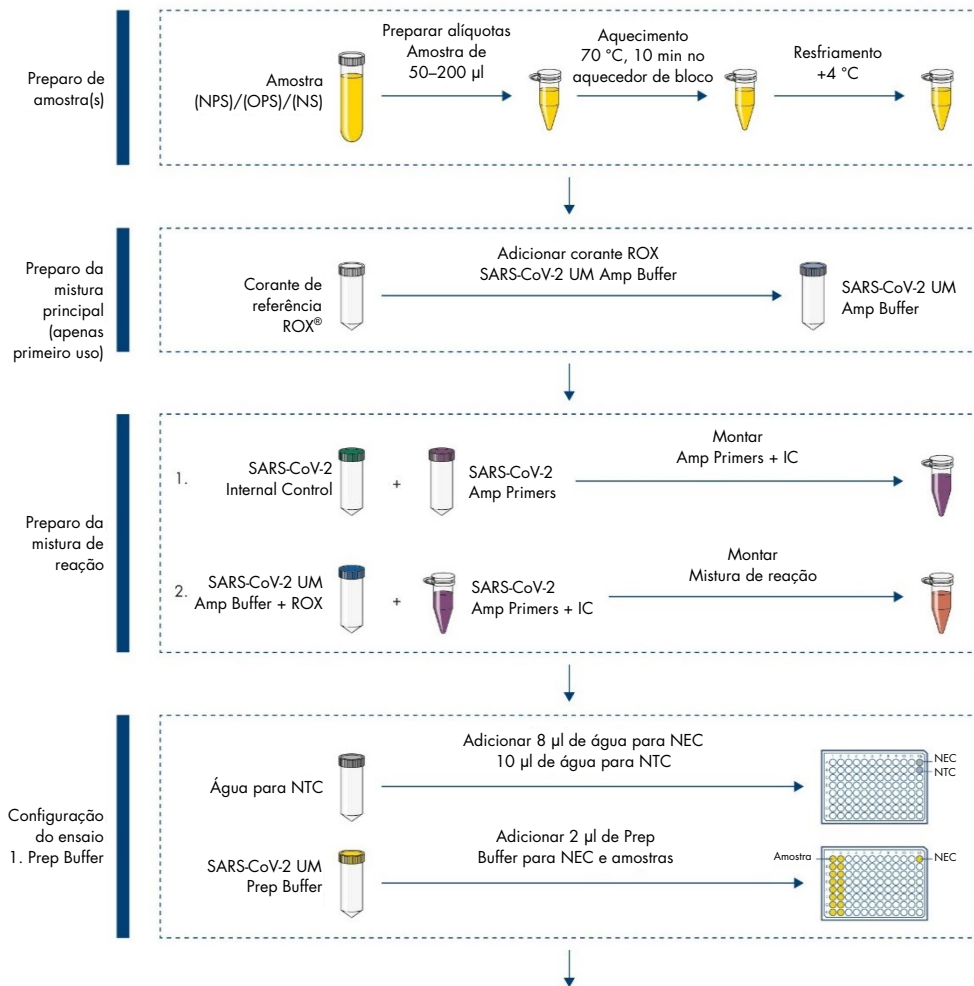
A Mistura de Primers e Sondas do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit também contém os oligonucleotídeos necessários para as amplificações de RNase P. Quando detectados no canal de fluorescência "Yellow" do instrumento RGQ MDx ou com o filtro fluorescente B/2 ABI 7500 Fast Dx, esses amplicons garantem que foi coletada uma quantidade suficiente de amostra biológica no swab. Este controle é fundamental para garantir a presença de amostras biológicas nas amostras negativas para SARS-CoV-2. Deve ser sempre possível detectar uma amplificação. Caso contrário, a qualidade da amostra pode ser questionada.

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit também contém um terceiro sistema de amplificação heterólogo para revelar uma possível inibição de RT-PCR. Este é detectado como um controle interno (Internal Control, IC) de RNA no canal de fluorescência "Red" dos instrumentos RGQ MDx e com o filtro de fluorescência E/5 do ABI 7500 Fast Dx. Como o IC está incluído na SARS-CoV-2 Amp Primers Mix, sua amplificação deve ser constante, a menos que um inibidor de RT-PCR esteja presente na amostra ou na reação de RT-PCR, que retarda ou impede a amplificação.

Os controles externos positivos e negativos (SARS-CoV-2 Positive Control e água livre de nuclease usada como NTC, respectivamente) são fornecidos no *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit para atestar o desempenho da etapa de PCR. É extremamente recomendado um controle negativo de extração (SARS-CoV-2 UM Prep Buffer usado como NEC) para verificar a ausência dos inibidores de RT-PCR no tampão de preparação.

Geralmente, a eficiência da transcrição reversa e as etapas de PCR são monitoradas por esses controles.

## Fluxo de trabalho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit



(Continua na próxima página)

(Continuação da página anterior)

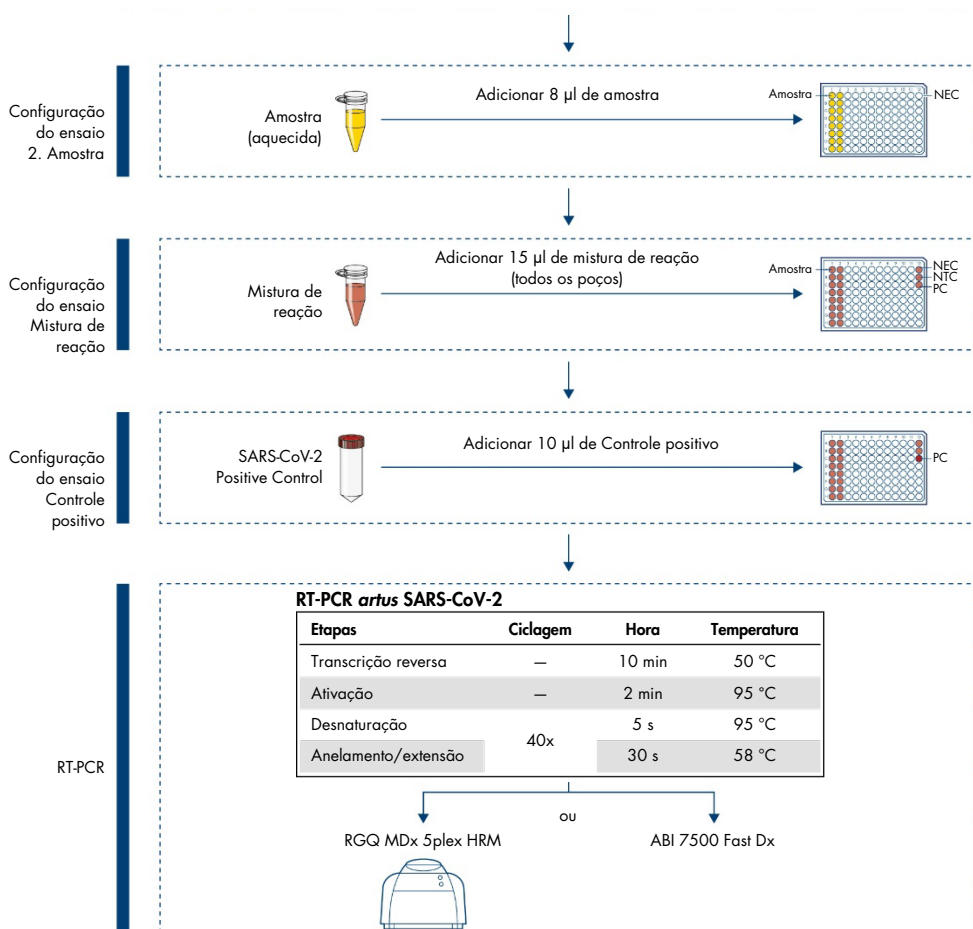


Figura 1 Fluxo de trabalho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit



# Materiais fornecidos

## Conteúdo do kit

<b>artus SARS-CoV-2 Prep&amp;Amp UM Kit</b>					
<b>Nº de referência</b>				<b>4511460</b>	<b>4511469</b>
<b>Número de reações</b>				<b>768</b>	<b>3072</b>
<b>Cor do tubo</b>	<b>Cor da tampa</b>	<b>Identidade</b>	<b>ID do tubo</b>	<b>Volume (µl)</b>	<b>Volume (µl)</b>
Transparente	<b>Amarelo</b>	SARS-CoV-2 UM Prep Buffer	<b>Preparation Buffer (Tampão de preparação)</b>	2 x 930	8 x 930
Transparente	<b>Azul</b>	SARS-CoV-2 UM Amp Buffer	<b>Master Mix (Mistura principal)</b>	4 x 1440	16 x 1440
Transparente	<b>Roxo</b>	SARS-CoV-2 Amp Primers	<b>Primers and Probes (Primers e Sondas)</b>	4 x 1680	16 x 1680
Transparente	<b>Verde</b>	SARS-CoV-2 Internal Control	<b>Internal Control (IC) (Controle interno [IC])</b>	1 x 1390	4 x 1390
Transparente	<b>Vermelho</b>	SARS-CoV-2 Positive Control	<b>Positive Control (Controle positivo)</b>	1 x 220	4 x 220
Transparente	<b>Transparente</b>	Water for NTC (Água para NTC)	<b>Water (NTC) (Água [NTC])</b>	1 x 1900	4 x 1900
Transparente	<b>Transparente</b>	ROX Reference Dye (Corante de referência ROX)	<b>ROX Dye (Corante ROX)</b>	1 x 210	4 x 210

---

## Componentes do kit

### Reagentes

Em cada tubo, os volumes de reagente foram otimizados para 8 lotes de 96 amostras (para o kit de 768 reações) ou 32 lotes de 96 reações (para o kit de 3072 reações), incluindo um controle positivo (Positive Control, PC), um controle sem fita molde (No Template Control, NTC) e um controle negativo de extração (No Extraction Control, NEC).

Pode ser executado um número menor ou maior de amostras, mas haverá um uso de reagentes abaixo do ideal. Recomenda-se evitar vários ciclos de congelamento/descongelamento. Os reagentes podem ser divididos em alíquotas para evitar vários ciclos de congelamento/descongelamento.

### Primers e sondas

Os primers e sondas direcionados às sequências de SARS-CoV-2 são baseados nos primers e sondas desenvolvidos pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention, CDC).

### Controles e calibradores

O ensaio contém 5 controles para monitorar a eficiência da RT-PCR.

Controle interno (Internal Control, IC): o controle interno é um RNA IVT de cadeia simples que verifica a presença de contaminantes que poderiam inibir a transcrição reversa. O controle interno também monitora a eficiência da transcrição reversa no controle sem fita molde (No Template Control, NTC) e no controle negativo de extração (No Extraction Control, NEC).

Controle sem fita molde (No Template Control, NTC): o controle sem fita molde é composto de água livre de nuclease. Ele é adicionado à placa de PCR para verificar a introdução de contaminantes durante o preparo da placa de PCR que podem levar à interpretação incorreta dos alvos do SARS-CoV-2.

---

Controle positivo (Positive Control, PC): o controle positivo é uma cadeia de DNA dupla amplificada com Primers e Sondas de SARS-CoV-2 (mistura P&P). Sua detecção verifica a eficiência do reagente envolvido na etapa de amplificação de PCR.

Etapa de controle negativo de extração (No Extraction Control, NEC): o controle negativo de extração é composto pelo SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Ele é processado paralelamente com as amostras clínicas para verificar a introdução de contaminantes durante o preparo da amostra que podem levar à interpretação incorreta dos alvos do SARS-CoV-2.

Controle de amostragem: o controle de amostragem detecta o gene RNase P e é fundamental para garantir a presença de amostras biológicas nas amostras negativas para SARS-CoV-2. A amplificação do controle de amostragem deve ser sempre detectável. Caso contrário, a qualidade da amostra pode ser questionada.

## Plataforma e software

Antes do uso, certifique-se de que os instrumentos passaram por manutenção e foram calibrados de acordo com as recomendações do fabricante. Este kit pode ser usado em dois fluxos de trabalho que exigem o uso dos instrumentos Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou ABI 7500 Fast Dx e seus softwares apropriados:

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM: software Rotor-Gene Q, versão 2.3.1 ou superior
- ABI 7500 Fast Dx: software SDS, versão 1.4.1 ou superior

# Materiais necessários, mas não fornecidos

## Consumíveis

- Luvas sem talco descartáveis
- Pontas de pipeta estéreis e livres de nuclease com filtros
- Tubos sem PCR de 1,5 ml ou 2 ml
- Tubos de PCR de 0,1 ml para uso com o Rotor-Gene® Q MDx (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, n° de ref. 981103)
- 96-Well MicroAmp™ para uso com a plataforma de qPCR ABI 7500 Fast Dx (placa de 96 poços da Applied Biosystems, n° de ref. N8010560)
- MicroAmp Optical Adhesive Film para uso com a plataforma de qPCR ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems, n° de ref. 4360954)

## Equipamento\*

- Centrífuga de área de trabalho com rotor para tubos de reação de 2 ml
- Pipetas (ajustáveis)
- Misturador tipo vórtex
- Aquecedor de bloco
- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (n° de ref. 9002032) com a versão 2.3.1 ou superior do software Rotor-Gene Q
- Rotor-Disc 72 Rotor (n° de ref. 9018899)
- Rotor-Disc 72 Locking Ring (n° de ref. 9018900)
- Bloco de carregamento de 72 poços (QIAGEN Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, n° de ref. 9018901)
- Como alternativa: Plataforma de qPCR ABI 7500 Fast Dx (Thermo Fisher Scientific®, n° de ref. 4406985) com a versão de software 1.4.1 ou superior e uma centrífuga de placa de 96 poços

\* Antes do uso e quando for o caso, certifique-se de que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

# Advertências e precauções

Esteja ciente de que poderá ser necessário consultar seus regulamentos locais para relatar incidentes graves que tenham ocorrido em relação ao dispositivo ao fabricante e à autoridade regulatória na qual o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

## Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF compacto e conveniente em [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a SDS para cada kit e para componente do kit QIAGEN.

Sempre use equipamento de proteção pessoal apropriado incluindo, entre outros, luvas descartáveis sem talco, um jaleco e óculos de proteção. Proteja a pele, os olhos e as mucosas. Troque de luvas frequentemente ao manusear amostras.

Todas as amostras devem ser tratadas como materiais potencialmente perigosos. Respeite sempre as precauções de segurança indicadas nas diretrizes relevantes, como *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guidelines (M29)* do Clinical and Laboratory Standards Institute® (CLSI) ou outros documentos apropriados.

Espécimes e amostras são potencialmente infecciosos. Descarte os resíduos das amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

---

## Precauções

- Observe os procedimentos laboratoriais padrão para manter a área de trabalho limpa e livre de contaminação. Dedique uma área com equipamentos específicos para manipular RNA.
- Siga as boas práticas de laboratório para minimizar a contaminação cruzada.
- Preste atenção para evitar a contaminação com RNase durante o experimento e use materiais plásticos livres de RNase.
- Certifique-se de ter uma boa rastreabilidade com registros, especialmente para a identificação de amostras.

---

# Armazenamento e manuseio dos reagentes

Deve-se prestar atenção às datas de validade e às condições de armazenamento impressas na caixa e nos rótulos de todos os componentes. Não use componentes cuja data de validade tenha expirado nem que tenham sido incorretamente armazenados.

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit pode ser mantido entre -30 °C e -15 °C por 6 meses ou até a data de validade.

## Transporte, armazenamento e manuseio de amostras

O *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit destina-se ao uso com swabs nasofaríngeos, nasais e orofaríngeos. Todas as amostras devem ser tratadas como materiais potencialmente perigosos.

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) e a Public Health England forneceram diretrizes para a coleta, manuseio e testes de amostras clínicas. Para obter mais informações, consulte essas diretrizes ou outros protocolos de laboratórios de referência nacionais.

### Coleta, transporte e armazenamento de amostras

Para a coleta, armazenamento, transporte de amostras de swab, consulte as recomendações do fornecedor. Os swabs devem ser totalmente imersos no meio de transporte para manter a integridade da amostra.

# Protocolo: preparo de amostras e detecção do SARS-CoV-2 no RGQ MDx 5plex HRM

Este protocolo descreve a amostra e o preparo da RT-PCR para detectar os alvos do SARS-CoV-2 em swabs nasais, nasofaríngeos ou orofaríngeos humanos armazenados em meios de transporte no RGQ MDx 5plex HRM.

## Pontos importantes antes de começar

- Verifique se as datas de validade e as condições de armazenamento impressas na caixa e todos os rótulos dos componentes são seguidos. Não use componentes cuja data de validade tenha expirado nem que tenham sido incorretamente armazenados.
- Use equipamento bem conservado e calibrado.
- Preste atenção para evitar a contaminação com RNAses durante o experimento e use materiais plásticos livres de nuclease.

## ○ que fazer antes de começar

- As amostras podem ser mantidas em temperatura ambiente durante as etapas de preparo e configuração da reação, mas recomenda-se mantê-las em gelo ou a 4 °C em um rack de resfriamento.
- Antes de usar, deixe o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, água para NTC e SARS-CoV-2 Positive Control descongelarem completamente em temperatura ambiente (15–25 °C). Mantenha os tubos em temperatura ambiente e protegidos da luz até que sejam utilizados.
- Antes de usar, homogenize o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer e o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer invertendo-os duas a três vezes (não agitar em vórtex), seguido de uma centrifugação rápida. Todos os outros reagentes individuais podem ser homogeneizados por agitação em vórtex pulsador durante 3 a 5 segundos ou invertendo duas a três vezes, seguido de uma centrifugação rápida.



- O SARS-CoV-2 UM Prep Buffer inibe RNAses presentes nas amostras clínicas para a etapa de detecção, mas não é uma solução de inativação de vírus. Todas as amostras devem ser tratadas como materiais potencialmente perigosos.
- Verifique se as condições de ciclagem da plataforma de qPCR são as especificadas neste protocolo.
- Os reagentes podem ser divididos em alíquotas para evitar vários ciclos de congelamento-descongelamento.
- Prepare imediatamente a mistura de reação (< 2 h para o lançamento da placa de RT-PCR).
- Para minimizar a contaminação, a amostra e os preparos de RT-PCR devem ser feitas em zonas distintas.

## **Procedimento**

1. Preparo de amostras
  - 1a. Agite em vórtex vigorosamente o swab que contém a amostra.
  - 1b. Coloque alíquotas de 50–200 µl de amostra em tubos sem PCR de 1,5 mL
  - 1c. Execute a etapa de aquecimento a 70 °C por 10 min em um aquecedor de bloco. Resfrie as amostras em gelo por pelo menos 5 min. Em seguida, mantenha as amostras em gelo ou a 4 °C.
2. No primeiro uso, complete o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer com o corante de referência ROX.
  - 2a. Adicione 32,8 µl do corante ROX a um tubo de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
  - 2b. Feche a tampa que contém o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer e o corante ROX e inverta o tubo três vezes.
  - 2c. Centrifugue o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer que contém o corante ROX na parte inferior do tubo.
3. Para uma placa RGQ MDx completa (72 poços), prepare uma mistura de alíquotas dos SARS-CoV-2 Amp Primers com o SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 3a. Transfira os volumes necessário dos SARS-CoV-2 Amp Primers e do SARS-CoV-2 Internal Control de acordo com a Tabela 1 para um novo tubo sem PCR de 1,5 mL.
  - 3b. Feche a tampa e inverta o tubo três vezes ou gire o tubo em vórtex por 3–5 segundos.
  - 3c. Centrifugue os SARS-CoV-2 Amp Primers que contém o IC na parte inferior do tubo.

**Tabela 1. Configuração da mistura de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC**

Mistura de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC				Número de reações Volume (µl)
Reagentes	Concentração de estoque	Concentração final	1 rxn	72 rxns (+22% de volume adicional*)
SARS-CoV-2 Amp Primers	<b>3,45x</b>	1x	7,25	638
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 cp/µl	10 cp/µl	1,5	132
Mistura total de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC			8,75	770

\* **Nota:** Ajuste os volumes dos SARS-CoV-2 UM Amp Primers e do SARS-CoV-2 Internal Control de acordo com o número de amostras a serem testadas. Considere o volume adicional para compensar o volume morto.

4. Prepare uma mistura de reação de acordo com a Tabela 2 e misture bem.

**Tabela 2. Configuração da mistura de reação**

Mistura de reação de RT-PCR				Número de reações Volume (µl)
Reagentes	Concentração de estoque	Concentração final	1 rxn	72 rxns (+20% de volume adicional*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer <sup>†</sup>	4x	1x	6,25	540
SARS-CoV-2 Amp Primers <sup>‡</sup>	<b>2,9x</b>	1x	8,75	756
Volume total de reação		–	15,00	1296

\* **Nota:** Ajuste os volumes do SARS-CoV-2 UM Amp Buffer e dos SARS-CoV-2 Amp Primers de acordo com o número de amostras a serem testadas. Considere o volume adicional para compensar o volume morto.

<sup>†</sup> SARS-CoV-2 UM Amp Buffer completado com o corante de referência ROX.

<sup>‡</sup> SARS-CoV-2 Amp Primers completados com o SARS-CoV-2 Internal Control.

5. Dispense 8 µl de água livre de nuclease no tubo de PCR atribuído ao NEC.
6. Carregue 10 µl de água livre de nuclease no tubo de PCR atribuído ao NTC.
7. Dispense 2 µl de SARS-CoV-2 UM Prep Buffer em cada tubo de PCR atribuído ao NEC e às amostras preparadas.
8. Adicione 8 µl da amostra preparada a um tubo de PCR que contém o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Misture pipetando para cima e para baixo por cinco vezes.

9. Adicione 15 µl da mistura de reação preparada na Etapa 4 aos tubos dedicados às amostras e controles (Figura 2 fornecida como um exemplo). Misture pipetando para cima e para baixo cinco vezes e, em seguida, feche as tampas dos tubos de PCR, exceto a reservada como SARS-CoV-2 Positive Control.

**Nota:** Verifique se os tubos estão bem fechados para evitar contaminação cruzada.

10. Carregue 10 µl de SARS-CoV-2 Positive Control no tubo de PCR apropriado. Misture pipetando para cima e para baixo por cinco vezes.

11. Defina o programa de RT-PCR do RGQ MDx 5plex HRM de acordo com as especificações na Tabela 3.

**Nota:** A aquisição de dados deve ser realizada durante a etapa de anelamento/extensão.

12. Coloque os tubos no ciclador em tempo real (um exemplo de disposição dos tubos é representado na Figura 2) e inicie o programa de ciclagem conforme descrito na Tabela 3.

**Nota:** Tenha o cuidado de seguir a mesma posição e ordem dos tubos entre a configuração do ensaio e as etapas do ciclador em tempo real.

**Tabela 3. Programa SARS-CoV-2 Prep&Amp UM**

Etapas	Hora	Temperatura (°C)	Número de ciclos	Aquisição
Transcrição reversa	10 min	50	1	Não
Ativação de aquecimento inicial de PCR	2 min	95	1	Não
Ciclagem de 2 etapas				
Desnaturação	5 s	95	40	Não
Anelamento/Extensão	30 s	58		Green (FAM), Yellow (HEX) e Red (Atto)

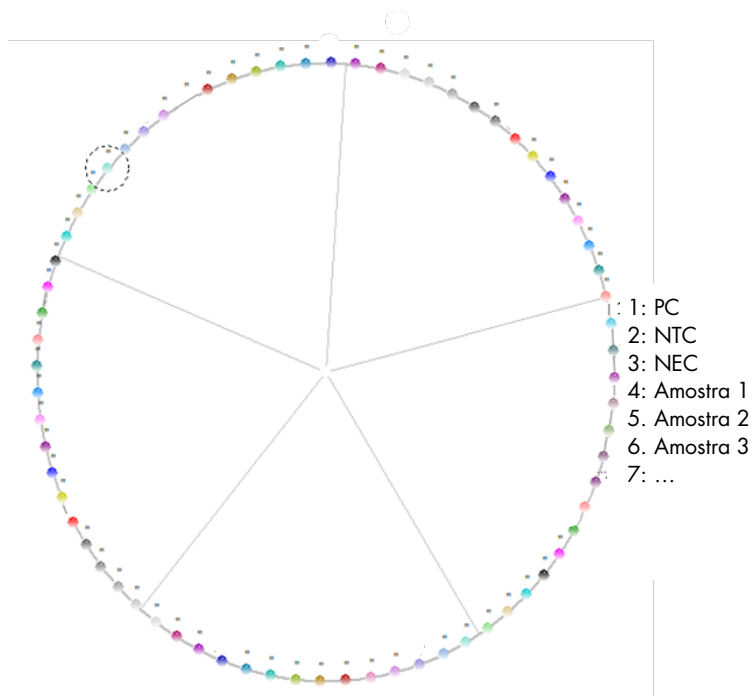


Figura 2. Exemplo de disposição de tubos na plataforma RGQ MDx 5plex HRM

13. Clique em **Gain optimization** (Otimização de ganho) em "New Run Wizard" (Assistente de nova execução) e abra a **Auto-gain Optimization Setup** (Configuração de otimização de ganho automático).

14. Verifique se os canais de aquisição estão configurados conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4. Configuração do RGQ MDx 5plex HRM

Nome	Posição do tubo de PC	Leitura mín. (FI)	Leitura máx. (FI)	Ganho mín.	Ganho máx.
Green	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Yellow	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Red	1*	5 FI	10 FI	-10	10

\* **Nota:** Isso precisa ser alterado de acordo com a posição do tubo de SARS-CoV-2 Positive Control.

15. Selecione **Perform optimization before the first acquisition** (Executar otimização antes da primeira aquisição).

16. Inicie o ensaio.

17. No final da execução, analise os resultados (consulte a seção Resultados).

# Protocolo: preparo de amostras e detecção do SARS-CoV-2 no ABI 7500 Fast Dx

Este protocolo serve para preparar e detectar alvos do SARS-CoV-2 em swabs nasais, nasofaríngeos ou orofaríngeos humanos armazenados em meios de transporte no instrumento de qPCR do ABI 7500 Fast Dx.

## Pontos importantes antes de começar

- Verifique se as datas de validade e as condições de armazenamento impressas na caixa e todos os rótulos dos componentes são seguidos. Não use componentes cuja data de validade tenha expirado nem que tenham sido incorretamente armazenados.
- Use equipamento bem conservado e calibrado.
- Preste atenção para evitar a contaminação com RNAses durante o experimento e use materiais plásticos livres de nuclease.
- Ao usar o ABI 7500 Fast Dx, o corante ROX deve ser adicionado ao tubo de mistura principal antes do primeiro uso.

## O que fazer antes de começar

- As amostras podem ser mantidas em temperatura ambiente durante as etapas de preparo e configuração da reação, mas recomenda-se mantê-las em gelo ou a 4 °C em um rack de resfriamento.
- Ao usar o ABI 7500 Fast Dx, é necessário o corante ROX.
- **Os dados devem ser adquiridos com a configuração de corante passivo ROX.**
- Antes de usar, deixe o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, SARS-CoV-2 Amp Primers, SARS-CoV-2 IC, água para NTC e SARS-CoV-2 Positive Control descongelarem completamente em temperatura ambiente (15–25 °C). Mantenha os tubos em temperatura ambiente e protegidos da luz até que sejam utilizados.

- Antes de usar, homogenize o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer e o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer invertendo-os duas a três vezes (não agitar em vórtex), seguido de uma centrifugação rápida. Todos os outros reagentes individuais podem ser homogeneizados por agitação em vórtex pulsador durante 3 a 5 segundos ou invertendo duas a três vezes, seguido de uma centrifugação rápida.
- O SARS-CoV-2 UM Prep Buffer inibe RNAses presentes nas amostras clínicas para a etapa de detecção, mas não é uma solução de inativação de vírus. Todas as amostras devem ser tratadas como materiais potencialmente perigosos.
- Verifique se as condições de ciclagem da plataforma de qPCR são as especificadas neste protocolo.
- Os reagentes podem ser divididos em alíquotas para evitar vários ciclos de congelamento-descongelamento.
- Prepare imediatamente a mistura de reação (< 2 h para o lançamento da placa de RT-PCR).
- Para minimizar a contaminação, a amostra e os preparos de RT-PCR devem ser feitas em zonas distintas.

## Procedimento

### 1. Preparo de amostras

- 1a. Agite em vórtex vigorosamente o swab que contém a amostra.
- 1b. Coloque alíquotas de 50–200 µl de amostra em tubos sem PCR de 1,5 mL.
- 1c. Execute uma etapa de aquecimento a 70 °C por 10 min em um aquecedor de bloco. Resfrie as amostras em gelo por pelo menos 5 min. Em seguida, mantenha as amostras em gelo ou a 4 °C.

### 2. No primeiro uso, complete o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer com o corante de referência ROX.

- 2a. Adicione 32,8 µl do corante ROX a um tubo de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
- 2b. Feche a tampa que contém o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer e o corante ROX e inverta o tubo três vezes.
- 2c. Centrifugue o SARS-CoV-2 UM Amp Buffer que contém o corante ROX na parte inferior do tubo.

3. Para uma placa ABI 7500 Fast Dx completa (96 poços), prepare uma mistura de alíquotas dos SARS-CoV-2 Amp Primers com o SARS-CoV-2 Internal Control.
  - 3a. Transfira o volume necessário dos SARS-CoV-2 Amp Primers e do SARS-CoV-2 Internal Control de acordo com a Tabela 5 para um novo tubo sem PCR de 1,5 mL.
  - 3b. Feche a tampa e inverta o tubo três vezes ou gire o tubo em vórtex por 3–5 segundos.
  - 3c. Centrifugue os SARS-CoV-2 Amp Primers que contêm o IC para trazer a solução para o fundo do tubo.

**Tabela 5. Configuração da mistura de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC**

Mistura de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC				Número de reações Volume (µl)
Reagentes	Concentração de estoque	Concentração final	1 rxn	96 rxns (+ 21% de volume adicional*)
SARS-CoV-2 Amp Primers	<b>3,45x</b>	1x	7,25	841
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 cp/µl	10 cp/µl	1,5	174
Mistura total de SARS-CoV-2 Amp Primers + IC			8,75	1015

\* **Nota:** Ajuste os volumes dos SARS-CoV-2 UM Amp Primers e do SARS-CoV-2 Internal Control de acordo com o número de amostras a serem testadas. Considere o volume adicional para compensar o volume morto.

4. Prepare uma mistura de reação de acordo com a Tabela 6 e misture bem.

**Tabela 6. Configuração da mistura de reação**

Mistura de reação de RT-PCR				Número de reações Volume (µl)
Reagentes	Concentração de estoque	Concentração final	1 rxn	96 rxns (+20% de volume adicional*)
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer <sup>†</sup>	4x	1x	6,25	720
SARS-CoV-2 Amp Primers <sup>‡</sup>	<b>2,9x</b>	1x	8,75	1008
Volume total de reação		–	15,00	1728

\* **Nota:** Ajuste o volume do SARS-CoV-2 UM Amp Buffer e dos SARS-CoV-2 Amp Primers de acordo com o número de amostras a serem testadas. Considere o volume adicional para compensar o volume morto.

<sup>†</sup> SARS-CoV-2 UM Amp Buffer completado com o corante de referência ROX.

<sup>‡</sup> SARS-CoV-2 Amp Primers completados com o SARS-CoV-2 Internal Control.



5. Dispense 8 µl de água livre de nuclease no poço atribuído ao NEC.
6. Carregue 10 µl de água livre de nuclease no poço atribuído ao NTC.
7. Dispense 2 µl do SARS-CoV-2 UM Prep Buffer em cada poço atribuído ao NEC e às amostras preparadas.
8. Adicione 8 µl da amostra preparada a um poço que contém o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Misture pipetando para cima e para baixo por cinco vezes.
9. Adicione 15 µl da mistura de reação preparada na Etapa 4 aos poços dedicados às amostras e controles (veja o exemplo na Figura 3). Misture pipetando para cima e para baixo por cinco vezes.
10. Carregue 10 µl do SARS-CoV-2 Positive Control no poço apropriado. Misture pipetando para cima e para baixo por cinco vezes.
11. Vede bem a placa de PCR para evitar contaminação cruzada. Aplique pressão uniformemente em toda a placa para obter uma vedação hermética em todos os poços.
12. Centrifugue brevemente a placa de PCR para coletar o líquido no fundo do poço.
13. Ajuste o programa de RT-PCR no modo de execução "Standard 7500" do ABI 7500 Fast Dx de acordo com a Tabela 7.  
**Nota:** A aquisição de dados deve ser realizada durante a etapa de anelamento/extensão.  
**Nota:** Para mais detalhes, consulte as *Instruções de uso do ABI 7500 Fast Dx*.
14. Coloque a placa no ciclador em tempo real (um exemplo da disposição de uma placa de PCR é representado na Figura 3) e inicie o programa de ciclagem conforme descrito na Tabela 7.
15. Selecione os poços usados e aplique os repórteres FAM, VIC e Cy5. Os dados devem ser adquiridos com o corante passivo ROX **ON** (Ativo).
16. Verifique se a curva-padrão do ABI 7500 Fast Dx está configurada para Absolute Quantitation (Quantificação absoluta).
17. Inicie o ensaio.
18. No final da execução, analise os resultados (consulte a seção Resultados).

**Tabela 7. Programa SARS-CoV-2 Prep&Amp UM**

Etapas	Hora	Temperatura (°C)	Número de ciclos	Aquisição
Transcrição reversa	10 min	50	1	Não
Ativação de aquecimento inicial de PCR	2 min	95	1	Não
Ciclagem de 2 etapas				
Desnaturação	5 s	95	40	Não
Anelamento/Extensão	30 s	58		Green (FAM), Yellow (VIC) e Red (Cy5)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NEC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	...											
H												

**Figura 3. Exemplo de layout de placa no ABI 7500 Fast Dx**

# Resultados

No RGQ MDx 5plex HRM, os dados são analisados com o software Rotor-Gene Q, versão 2.3.1 (ou superior), de acordo com as instruções do fabricante (Manual de usuário do Rotor-Gene Q MDx, Revisão 7, outubro de 2018). Os seguintes parâmetros de análise são necessários para a consistência entre as diferentes análises (Tabela 8).

**Tabela 8. Parâmetros de análise para o RGQ MDx 5plex HRM**

Canais	Green	Red	Yellow
Limiar de fluorescência	0,03	0,03	0,03
Correção do slope	Sim	Sim	Sim
Tubo dinâmico	Sim	Sim	Sim
Ponto de arranque	Não	10–20	10–20
Remoção de outlier: Limiar da eficiência da reação	Sim Ativado 0%	Não	Não
Reduzir ciclos iniciais	5	5	5
Ciclos de cut-off	Ct > 38,00 é considerado como 40,00	Não	Ct > 35,00 é considerado como 40,00

No software RGQ, os resultados da execução estão disponíveis na grade de resultados de quantificação aberta durante a análise. Os dados das amostras selecionadas são resumidos na tabela e podem ser exportados como um arquivo Excel® clicando com o botão direito do mouse na grade e selecionando **Export to Excel** (Exportar para Excel). Verifique se todas as amostras são selecionadas antes de exportar os resultados.

No ABI, os dados são analisados com o 7500 Fast System Software, versão 1.4.1 (ou superior), de acordo com as instruções do fabricante. Os seguintes parâmetros são necessários para a consistência entre as diferentes análises (Tabela 9).

**Tabela 9. Parâmetros de análise para o ABI 7500 Fast Dx**

<b>Canais</b>	<b>FAM*</b>	<b>VIC/HEX*</b>	<b>Cy5/Atto*</b>
Corante passivo	ROX	ROX	ROX
Limiar de fluorescência	0,13	0,05	0,025
Ajuste de linha de base	Auto	Auto	Auto
Ciclos de cut-off	Ct > 39,00 é considerado como 40,00	Não	Ct > 35,00 é considerado como 40,00

\* FAM = Filtro A/1 na plataforma ABI, VIC/HEX = Filtro B/2 na plataforma ABI, Cy5/Atto = Filtro E/5 na plataforma ABI

No software ABI SDS, os valores de Ct de um grupo selecionado de poços ou de toda a placa estão disponíveis na planilha **Reports** (Relatórios) da seção principal de **Results** (Resultados). Os dados podem ser exportados em formato de texto com valores separados por vírgulas (.csv) (recomendado): Na janela do software SDS, selecione **File** (Arquivo) > **Export** (Exportar) > **Results** (Resultados) (o item de menu **Ct** também pode ser escolhido). Selecione o formato do arquivo exportado como .csv.

## Interpretação dos resultados

O controle positivo (Positive Control, PC) e os genes N1 e N2 são detectados no canal de fluorescência Green com o RGQ MDx 5plex HRM (ou no canal de fluorescência FAM no ABI).

O controle de amostragem, composto pela RNase P, é detectado no canal de fluorescência Yellow com o RGQ MDx 5plex HRM (ou no canal de fluorescência VIC/HEX com o ABI). Cada amostra clínica deve exibir uma amplificação de controle de amostragem. No PC, uma amplificação amarela pode ser vista apesar da ausência de sequências humanas. Nesse caso, um sinal no canal amarelo do PC pode ser ignorado porque o sinal de fluorescência forte no canal verde pode alastrar-se para o canal amarelo.

O controle interno (Internal Control, IC) está incluído nos SARS-CoV-2 Amp Primers. Pode ser detectado no controle sem fita molde (No Template Control, NTC), no controle negativo de extração (No Extraction Control, NEC), no controle positivo (Positive Control, PC) e nas amostras clínicas com o canal de fluorescência Red com o RGQ MDx 5plex HRM (ou no canal de fluorescência Cy5/Atto com o ABI).

Para validar as execuções de RT-PCR, os controles PC, NTC e NEC devem ser amplificados e detectados conforme o esperado.

**Tabela 10. Executar critérios de validade e interpretação de resultados para o RGQ MDx 5plex HRM**

Controle	Deteção no canal Green	Deteção no canal Yellow	Deteção no canal Red	Interpretação
<b>Controle positivo (PC)</b>	Ct ≤ 38,00	Indiferente	Indiferente	A execução é validada.
	Ct > 38,00 ou sem Ct	Indiferente	Indiferente	A execução é invalidada.
<b>Controle sem fita molde (NTC) ou Controle negativo de extração (NEC)</b>	Ct > 38,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Sim	A execução é validada.
	Quaisquer outras combinações com amplificação no verde ou amarelo		Indiferente	A execução é invalidada.

**Tabela 11. Executar critérios de validade e interpretação de resultados para o ABI 7500 Fast Dx**

Controle	Deteção no corante FAM*	Deteção no corante VIC/HEX*	Deteção no corante Cy5/Atto*	Interpretação
<b>Controle positivo (PC)</b>	Ct ≤ 39,00	Indiferente	Indiferente	A execução é validada.
	Ct > 39,00 ou sem Ct	Indiferente	Indiferente	A execução é invalidada.
<b>Controle sem fita molde (NTC) ou Controle negativo de extração (NEC)</b>	Ct > 39,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Sim	A execução é validada.
	Quaisquer outras combinações com amplificação no FAM ou VIC/HEX		Indiferente	A execução é invalidada.

\* FAM = Filtro A/1 na plataforma ABI, VIC/HEX = Filtro B/2 na plataforma ABI, Cy5/Atto = Filtro E/5 na plataforma ABI

Para validar as amostras testadas, as amostras devem ser amplificadas e detectadas conforme o esperado.

**Tabela 12. Critérios de validade da amostra e interpretação de resultados para o RGQ MDx 5plex HRM**

Deteção no canal Green	Deteção no canal Yellow	Deteção no canal Red	Interpretação
Ct ≤ 38,00	Indiferente	Indiferente	A amostra é positiva para RNA do SARS-CoV-2.
Ct > 38,00 ou sem Ct	Ct ≤ 35,00	Indiferente	A amostra é negativa. o RNA do SARS-CoV-2 não foi detectado.
Ct > 38,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Sim	Amostra inválida. Não foi detectado material humano ou este foi insuficiente. É necessária uma nova amostragem.
Ct > 38,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Não	Amostra inválida. A reação de RT-qPCR é inibida. É necessário um novo teste.

**Tabela 13. Critérios de validade da amostra e interpretação de resultados para o ABI 7500 Fast Dx**

<b>Detecção no corante FAM*</b>	<b>Detecção no corante VIC/HEX*</b>	<b>Detecção no corante Cy5/Atto*</b>	<b>Interpretação</b>
Ct ≤ 39,00	Indiferente	Indiferente	A amostra é positiva.
Ct > 39,00 ou sem Ct	Ct ≤ 35,00	Indiferente	A amostra é negativa; SARS-CoV-2 não detectado.
Ct > 39,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Sim	Amostra inválida. Nenhum material humano detectado. É necessária -uma nova amostragem.
Ct > 39,00 ou sem Ct	Ct > 35,00 ou sem Ct	Não	Amostra inválida. A reação de RT-qPCR é inibida. É necessário um novo teste.

\* FAM = Filtro A/1 na plataforma ABI, VIC/HEX = Filtro B/2 na plataforma ABI, Cy5/Atto = Filtro E/5 na plataforma ABI

---

## Limitações

- Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Os resultados do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit não se destinam a serem usados como a única base de diagnóstico, tratamento ou outras decisões de acompanhamento do paciente. Os resultados negativos não impedem a infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser a base única para as decisões de tratamento do paciente.
- O produto deve ser usado somente por pessoal devidamente instruído e treinado nos processos de diagnóstico *in vitro*.
- Para obter resultados ideais de PCR, é necessário seguir rigorosamente o manual do usuário da plataforma de qPCR (Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx ou ABI 7500 Fast Dx).
- É necessário prestar atenção às datas de validade impressas na caixa e nos rótulos de todos os componentes. Não utilizar componentes vencidos.



# Desempenho

## Sensibilidade analítica (Limite de detecção)

A sensibilidade analítica, ou limite de detecção, é definida como a menor concentração na qual um valor  $\geq 95\%$  das amostras testadas gera um resultado positivo.

O LoD (Limite de detecção) foi avaliado por meio da análise de diluições em série de amostras nasofaríngeas negativas preparadas com estoques de alto título de partículas virais inativadas obtidas de fornecedores comerciais (ZeptoMetrix®). Para confirmar a concentração do LoD estabelecido, a taxa de detecção de todas as réplicas deve ser  $\geq 95\%$  (pelo menos 19/20 réplicas devem gerar um sinal positivo). A concentração do LoD foi confirmada em ambas as plataformas de PCR em tempo real declaradas, utilizando dois lotes de reagentes diferentes.

O limite de detecção declarado para ambas as plataformas de PCR em tempo real para o *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit é de 950 cp/ml.

## Estudos de especificidade analítica (inclusividade e exclusividade/reatividade cruzada)

### Inclusividade

A inclusividade dos Primers e Sondas *artus* SARS-CoV-2 Amp foi avaliada com uma análise *in silico* em sequências disponíveis nos bancos de dados GISAID ([www.gisaid.org](http://www.gisaid.org)). Foi analisado um total de 722.488 sequências (disponíveis em 23/03/2021) no COVID CG (<https://covidcg.org>), alimentado por metadados do GISAID. As sequências foram alinhadas à sequência de referência WIV04 (100% idêntica a Wuhan-Hu-1/NC\_045512.2, exceto no que diz respeito ao comprimento da cauda poli-A) e as variações de nucleotídeos únicos (Single Nucleotide Variations, SNVs) foram analisadas na região genômica visada pelos Primers e Sondas do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit. A prevalência das SNVs identificadas ficou abaixo de 1%, assim como a frequência das coocorrências de mutações. Não houve SNVs localizadas nos últimos 1 a 3 nucleotídeos da extremidade 3' nos respectivos oligonucleotídeos, o que poderia afetar o desempenho. Considera-se que o *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit consiga detectar 100% das sequências publicadas.

## Exclusividade/reatividade cruzada

### Análise *in silico*

A exclusividade dos Primers e Sondas do *artus* SARS-CoV-2 Amp foi avaliada por uma análise *in silico* em sequências armazenadas no banco de dados NCBI. A análise *in silico* mostrou que alguns dos patógenos testados têm mais de 80% de homologia com um dos primers ou sondas do *artus* SARS-CoV-2. Entre eles estão: *Candida albicans*, SARS-CoV-1, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococcus salivarius*. O *Pseudomonas aeruginosa* tinha menos de 80% de homologia com um dos primers/sondas do ensaio SARS-CoV-2. No entanto, os Primers e Sondas do *artus* SARS-CoV-2 Amp não apresentaram uma possível amplificação com as diferentes sequências armazenadas na base de dados nr/nt do NCBI.

Foi analisado um total de 36 cepas bacterianas, virais e fúngicas por PCR *in silico* com um tamanho de amplicon potencial limitado de 500 bp. Foram coletadas sequências de patógenos do banco de dados NCBI. No entanto, nenhum desses patógenos apresentou amplificação *in silico*.

**Tabela 14. Lista de patógenos *in silico* testados.**

Patógenos	Cepa/Tipo	ID de taxonomia	Resultados da PCR <i>in silico</i>
<i>Adenovirus</i> Tipo 3	Tipo 3	45659	Sem correspondência
<i>Adenovirus</i> Tipo 4	Tipo 4	28280	Sem correspondência
<i>Adenovirus</i> Tipo 5	Tipo 5	28285	Sem correspondência
<i>Adenovirus</i> Tipo 7A	Tipo 7A	85755	Sem correspondência
<i>Adenovirus</i> Tipo 14	Tipo 14	10521	Sem correspondência
<i>Adenovirus</i> Tipo 31	Tipo 31	10529	Sem correspondência
<i>Bordetella pertussis</i>	A639	520	Sem correspondência
<i>Candida albicans</i>	Z006 SC5314	5476	Sem amplificação possível*†
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	CWL-029 TW-183	115713	Sem correspondência
Enterovirus	Tipo 68	42789	Sem correspondência

\* A correspondência de sequência com um dos primers/sondas apresentou uma homologia < 80%.

† A correspondência de sequência com um dos primers/sondas apresentou uma homologia ≥ 80%.

(Continua na próxima página)

**Tabela 14 (continuação da página anterior)**

<b>Patógenos</b>	<b>Cepa/Tipo</b>	<b>ID de taxonomia</b>	<b>Resultados da PCR <i>in silico</i></b>
<i>Haemophilus influenzae</i>	KW20	727	Sem correspondência
Coronavírus humano	229E	11137	Sem correspondência
Coronavírus humano	NL63	277944	Sem correspondência
Coronavírus humano	HKU-1	290028	Sem correspondência
Coronavírus humano OC43	OC43	31631	Sem correspondência
Coronavírus humano	MERS-CoV	1335626	Sem correspondência
Metapneumovírus humano	n/a	162145	Sem correspondência
Influenza A	H1N1	114727	Sem correspondência
Influenza A	H3N2	119210	Sem correspondência
Influenza B	n/a	11520	Sem correspondência
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129 FH	272634	Sem correspondência
Vírus Parainfluenza	Tipo 1	12730	Sem correspondência
Vírus Parainfluenza	Tipo 2	2560525	Sem correspondência
Vírus Parainfluenza	Tipo 3	11216	Sem correspondência
Vírus Parainfluenza	Tipo 4	2560526	Sem correspondência
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	RU7	42068	Sem correspondência
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO1	287	Sem amplificação possível*
Vírus sincicial respiratório	Tipo A (RSV-A)	208893	Sem correspondência
Vírus sincicial respiratório	Tipo B (RSV-B)	208895	Sem correspondência
Rinovírus	Tipo A	147711	Sem correspondência
Rinovírus	Tipo B	147712	Sem correspondência
Coronavírus-SARS	Tor2	694009	Sem amplificação possível†
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	n/a	1282	Sem correspondência
<i>Streptococcus pyogenes</i>	n/a	1314	Sem amplificação possível†
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC® BAA-1024D-5 CCHSS3	1304	Sem amplificação possível†
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 700669 NCTC11032	1313	Sem correspondência

\* A correspondência de sequência com um dos primers/sondas apresentou uma homologia < 80%.

† A correspondência de sequência com um dos primers/sondas apresentou uma homologia ≥ 80%.

## Análise in vitro

A reatividade cruzada foi verificada in vitro com patógenos que apresentavam uma homologia  $\geq 80\%$  com os SARS-CoV-2 Amp Primers na análise in silico. As amostras foram preparadas ao adicionar potenciais organismos com reatividade cruzada em uma matriz de amostra de swab nasofaríngeo a  $10^6$  cp/ml, exceto no que diz respeito ao SARS-CoV-1, que foi testado sem diluir de acordo com a recomendação do fornecedor. Nenhum dos patógenos apresentou reatividade cruzada in vitro.

A interferência microbiana do ensaio do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit foi avaliada in vitro em um painel de patógenos recomendados. As amostras foram preparadas ao adicionar um máximo de cinco patógenos – a  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/mL para alvos virais,  $10^6$  cp/mL para alvos bacterianos e fúngicos ou na concentração mais alta possível com base na concentração de estoque – a swabs nasofaríngeos negativos misturados com partículas inativadas do SARS-CoV-2 (Zeptomatrix) a  $2,87 \times$  LoD. Os painéis NATrol™ e o SARS-CoV-1 foram misturados diretamente com partículas virais inativadas do SARS-CoV-2 (Zeptomatrix) a  $2,87 \times$  LoD. Os resultados para cada grupo de microrganismos testados e as respectivas concentrações estão resumidos abaixo.

**Tabela 15. Lista de patógenos in vitro testados em interferência microbiana.**

ID do grupo/ ID da amostra:	Microrganismo	Fonte	Concentração final	Unidade	Resultado
<b>Grupo 1</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Sem interferência
	Coronavírus humano 229E	Zeptomatrix (0810229CFHI)	1,43E+05	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Coronavírus humano OC43	Zeptomatrix (0810024CFHI)	5,86E+04	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Coronavírus humano NL63	Zeptomatrix (0810228CFHI)	2,84E+04	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Adenovírus T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+05	TCID <sub>50</sub> /ml	
Vírus Parainfluenza 1	Zeptomatrix (0810014CFHI)	9,14E+06	TCID <sub>50</sub> /ml		
<b>Grupo 2</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Sem interferência
	Adenovírus T31	Zeptomatrix (0810073CFHI)	1,67E+04	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Vírus Parainfluenza 2	Zeptomatrix (0810015CFHI)	4,29E+04	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Influenza B Flórida/02/2006	Zeptomatrix (0810037CFHI)	1,43E+05	TCID <sub>50</sub> /ml	
	Rinovírus T 1A	Zeptomatrix (0810012CFNHI)	2,86E+04	TCID <sub>50</sub> /ml	

(Continua na próxima página)

Tabela 15 (continuação da página anterior)

ID do grupo/ ID da amostra:	Microorganismo	Fonte	Concentração final	Unidade	Resultado
<b>Grupo 3</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Sem interferência
	Vírus Parainfluenza T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+07	TCID50/ml	
	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC (51907D-5)	1,00E+06	UFC/ml	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC (700669DQ)	3,30E+06	UFC/ml	
	<i>Candida albicans</i>	Zeptomatrix (0801504DNA)	1,00E+06	UFC/ml	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC (12228DQ)	4,60E+06	UFC/ml	
<b>Grupo 4</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	Adenovírus T7A	Zeptomatrix (0810021CFHI)	1,02E+06	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC (700294DQ)	1,00E+07	UFC/ml	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Zeptomatrix (0801579DNA)	1,00E+08	UFC/ml	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC (47085DQ)	1,00E+07	UFC/ml	
<b>Grupo 5</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Sem interferência
	Vírus sincicial respiratório RSV A	Zeptomatrix (0810482CFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H1N1 Califórnia	Zeptomatrix (0810165CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Grupo principal de enterovírus Tipo 68	Zeptomatrix (0810300CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Adenovírus T14	Zeptomatrix (0810108CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
<b>Grupo 6</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	Coronavírus-MERS	Zeptomatrix (0810575CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Adenovírus T4	Zeptomatrix (0810070CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Metapneumovírus humano (hMPV) Tipo B	Zeptomatrix (0810156CFHI)	7,14E+03	TCID50/ml	
	Vírus sincicial respiratório Tipo B (RSV-B)	Zeptomatrix (0810040CFHI)	1,43E+03	TCID50/ml	

(Continua na próxima página)

Tabela 15 (continuação da página anterior)

ID do grupo/ ID da amostra:	Microorganismo	Fonte	Concentração final	Unidade	Resultado
<b>Grupo 7</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	Adenovírus T5	Zeptomatrix (0810020CFHI)	6,43E+05	TCID50/ml	
	Vírus Parainfluenza 4B	Zeptomatrix (0810060BCFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H3N2 Suíça/9715293/13	Zeptomatrix (0810511CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	Zeptomatrix (BAA-1024D-5)	1,00E+06	UFC/ml	
<b>Grupo 8</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	Painel NATrol RP1 (Influenza A H3N2 (Brisbane/10/07), Influenza A H1N1 (NY/02/2009), Rinovírus (Tipo 1A), Adenovírus T3, Parainfluenza T1, Parainfluenzavírus T4, Metapneumovírus (Peru 6-2003) <i>C. pneumoniae</i> (CWL-029), <i>M. pneumoniae</i> (M129), Coxsackievírus (Tipo A1)	Zeptomatrix (MDZ001)	Desconhecido*	N/A	
<b>Grupo 9</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	Painel NATrol RP2 (Influenza A H1 (Nova Caledônia/20/99), Influenza B (Flórida/02/06), RSV-A, Parainfluenza T2, Parainfluenza T3, Coronavírus HKU recombinante, Coronavírus (OC43, NL63, 229E), <i>Bordetella pertussis</i> (A639)	Zeptomatrix (MDZ001)	Desconhecido*	N/A	
<b>Grupo 10</b>	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Sem interferência
	SARS-CoV-1	Zeptomatrix (NATSARS-ST)	Desconhecido*	N/A	

\* Concentração não comunicada pelo fornecedor.

## Substâncias interferentes

O efeito de substâncias interferentes putativas (para as substâncias listadas na Tabela 16) foi avaliado no desempenho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit. Foram realizados testes em três grupos de swabs nasofaríngeos negativos e em três grupos de swabs nasofaríngeos positivos misturados com partículas virais inativadas do SARS-CoV-2 (Zeptomatrix) a 4 x LoD. Os experimentos foram realizados na plataforma RGQ MDx 5plex HRM (em quatro instrumentos) por um operador com um kit piloto.

Cada grupo foi dividido em dois para testar a substância interferente dissolvida em um solvente (amostra de teste) ou o solvente sozinho (amostra de controle). As taxas de acerto nos canais de fluorescência verde e vermelho foram comparadas entre o teste e suas amostras de controle correspondentes. Na ausência de interferência, o teste e suas amostras de controle correspondentes têm a mesma taxa de acerto.

A Tabela 16 mostra que nenhuma das substâncias testadas interfere no desempenho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit no canal de fluorescência verde.

**Tabela 16. Lista de substâncias interferentes.**

Substâncias interferentes	Função	Concentração o testada	Resultados em swab nasofaríngeo negativo	Resultados em swab nasofaríngeo positivo (4x LoD)
<b>Tobramicina</b>	Antibiótico sistêmico	1 mg/ml	Sem interferência 0/15	Sem interferência 0/15
<b>Mupirocina</b>	Pomada antibiótica nasal	6,6 mg/ml	Sem interferência 0/15	Sem interferência 0/15
<b>Fluticasona</b>	Corticosteroide nasal	5% (v/v)	Sem interferência 0/15	Sem interferência 0/15
<b>Mentol (pastilhas para a garganta)</b>	Anestésico e analgésico oral	0,5 mg/ml	Sem interferência 0/15	Sem interferência 0/15

(Continua na próxima página)

Tabela 16. (Continuação da página anterior)

Substâncias interferentes	Função	Concentração testada	Resultados em swab nasofaríngeo negativo	Resultados em swab nasofaríngeo positivo (4x LoD)
<b>Oximetazolina</b>	Spray nasal	10% (v/v)	Sem interferência (0/15)	Sem interferência (0/15)
<b>Osetamivir</b>	Medicamento antiviral	3,3 mg/ml	Sem interferência (0/15)	Sem interferência (0/15)
<b>Mucina (glândula submaxilar bovina tipo I-S)</b>		2,5 mg/ml	Sem interferência (0/15)	Sem interferência (0/15)
<b>Sangue total</b>		4% (v/v)	Sem interferência (1/15*)	Sem interferência (0/15)

\* Foi detectada uma amplificação correspondente a um artefato.

## Precisão

O estudo de precisão avaliou a reprodutibilidade (a mesma amostra é repetida em diferentes execuções e condições: Cinco dias, três lotes de kit, três operadores e dois instrumentos) e a repetibilidade (a mesma amostra é repetida na mesma execução e condição). Os testes foram realizados em amostras nasofaríngeas negativas e amostras nasofaríngeas negativas misturadas a 5 x LoD no RGQ MDx.

Para cada nível de diluição, foram coletados 204 pontos de dados. Os dados de repetibilidade e reprodutibilidade foram usados para determinar o desvio-padrão (Standard Deviation, SD) e o coeficiente de variação (Coefficient of Variation, %CV) dos alvos do SARS-CoV-2 nos canais verde, amarelo e vermelho. A Tabela 17 mostra que o *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit tem uma precisão geral de 0,63 SD (2,03% CV) no canal verde, de 0,54 SD (2,22% CV) no canal amarelo e de 1,28 SD (4,10% CV) no canal vermelho.



**Tabela 17. Desvio-padrão e coeficiente de variação do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit**

Amostras e canal de detecção	Total	Entre dias	Entre lotes	Entre operadores	Entre instrumentos	Entre execuções	Na execução
<b>Desvio-padrão (Standard Deviation, SD) (Coeficiente de variação [Coefficient of Variation, %CV])</b>							
NPS negativo Canal Yellow	0,54 (2,22)	0,09 (0,37)	0,10 (0,42)	0,06 (0,27)	0,11 (0,47)	0,09 (0,36)	0,50 (2,05)
NPS negativo Canal Red	1,15 (3,68)	0,0 (0,00)	0,55 (1,76)	0,00 (0,00)	0,12 (0,40)	0,39 (1,26)	0,92 (2,96)
NPS misturado Canal Green	0,63 (2,03)	0,18 (0,59)	0,31 (1,00)	0,00 (0,00)	0,08 (0,25)	0,00 (0,00)	0,51 (1,64)
NPS misturado Canal Yellow	0,47 (1,93)	0,13 (0,53)	0,24 (0,98)	0,05 (0,20)	0,18 (0,73)	0,00 (0,00)	0,33 (1,38)
NPS misturado Canal Red	1,28 (4,10)	0,12 (0,37)	0,58 (1,84)	0,11 (0,34)	0,00 (0,00)	0,49 (1,57)	1,02 (3,27)

## Desempenho clínico

O desempenho clínico do ensaio do *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp foi avaliado usando amostras retrospectivas de swab nasofaríngeo em meios de transporte, que consiste em:

- 98 amostras negativas de RNA do SARS-CoV-2
- 52 amostras positivas de RNA do SARS-CoV-2

Todas as amostras foram coletadas de pacientes com sinais e sintomas de infecção por COVID-19 e armazenadas e congeladas até o uso.

A validação clínica foi realizada no ABI 7500 Fast Dx. A Tabela 18 relata o desempenho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit em relação a um método de referência, que é expresso como porcentagem de concordância positiva (Positive Percent Agreement, PPA) e porcentagem de concordância negativa (Negative Percent Agreement, NPA).

**Tabela 18. Desempenho clínico do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit em relação a um método de referênci**

Tipo de amostra	N	% de positivo	95% de IC	% de negativo	95% de IC
Positivo	52	98,1 (51/52)	89,9–99,7	5,1 (5/98)	
Negativo	98	1,9 (1/52)		94,9 (93/98)	88,7–97,8

Os resultados contraditórios foram avaliados por um terceiro método e analisados novamente com uma tabela de contingência. Os resultados gerais do desempenho clínico são expressos como porcentagem de concordância positiva (Positive Percent Agreement, PPA) e porcentagem de concordância negativa (Negative Percent Agreement, NPA) e são mostrados na Tabela 19.

**Tabela 19. Desempenho clínico do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit**

Tipo de amostra	N	% de positivo	95% de IC	% de negativo	95% de IC
Positivo	52	98,1 (51/52)	89,9–99,7	5,1 (5/98)	
Negativo	98	1,9 (1/52)		94,9 (93/98)	88,7–97,8

Abaixo estão a fração das amostras em concordância e a porcentagem de concordância positiva e negativa (PPA e NPA, respectivamente) com os status das amostras esperadas:

Porcentagem de concordância positiva

(Positive Percent Agreement, PPA%):  $51/52 = 98,1\%$  (95% de IC: 89,9%–99,7%)

Porcentagem de concordância negativa

(Negative Percent Agreement, NPA%):  $93/98 = 94,9\%$  (95% de IC: 88,6%–97,8%)

## Desempenho clínico, incluindo indivíduos assintomáticos

O desempenho clínico do ensaio do *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp foi avaliado usando amostras retrospectivas de swab nasofaríngeo em meios de transporte, que consiste em:

- 100 amostras negativas de RNA do SARS-CoV-2
- 53 amostras positivas de RNA do SARS-CoV-2

Todas as amostras foram coletadas de pacientes sem sintomas ou outros motivos para suspeitar de infecção por COVID-19.

A validação clínica foi realizada no ABI 7500 Fast Dx. Dezesesseis amostras foram excluídas da análise depois de testes com o *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit devido a um status inválido de acordo com os critérios de validade das amostras (Tabela 13).

A Tabela 20 relata o desempenho do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit em relação a um método de referência, que é expresso como porcentagem de concordância positiva (Positive Percent Agreement, PPA) e porcentagem de concordância negativa (Negative Percent Agreement, NPA).

**Tabela 20. Desempenho clínico do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit em relação a um método de referência**

Tipo de amostra	N	% de positivo	95% de IC	% de negativo	95% de IC
Positivo	50	64,0 (32/50)	50,1–75,9	1,15 (1/87)	–
Negativo	87	36,0 (18/50)	–	98,85 (86/87)	93,8–99,8

Dezenove resultados contraditórios foram avaliados por um terceiro método e analisados novamente com uma tabela de contingência. Os resultados gerais do desempenho clínico são expressos como porcentagem de concordância positiva (Positive Percent Agreement, PPA) e porcentagem de concordância negativa (Negative Percent Agreement, NPA) e são mostrados na Tabela 21.

**Tabela 21. Desempenho clínico do *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit**

Tipo de amostra	N	% de positivo	95% de IC	% de negativo	95% de IC
Positivo	32	100,0 (32/32)	89,3–100,0	0,95 (1/105)	-
Negativo	105	-	-	99,05 (104/105)	94,8–99,8

Dezoito amostras falso-negativas foram reclassificadas como verdadeiro-negativas, enquanto uma falso-positiva se manteve falso-positiva.

Abaixo estão a fração das amostras em concordância e a porcentagem de concordância positiva e negativa (PPA e NPA, respectivamente) com os status das amostras esperadas:

Porcentagem de concordância positiva

(Positive Percent Agreement, PPA):  $32/32 = 100,0\%$  (95% de IC: 89,3%–100,0%)

Porcentagem de concordância negativa

(Negative Percent Agreement, NPA):  $104/105 = 99,05\%$  (95% de IC: 94,8%–99,8%)

---

## Referências

1. CUI J *et al.* (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* **17**, 181-192
2. Gagneur *et al.* (2002) Infections nosocomiales à coronavirus humains chez le nouveau-né. *Arch Pédiatr* **9**, 61-69
3. HU *et al.* (2020) Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* **6**:1-14.
4. Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol. Infect* **10**(3), 190–212
5. European Commission. (2020) Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. 16 April 2020. <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/40805/attachments/1/translations/en/renditions/native>

# Guia de solução de problemas

Este guia de solução de problemas pode ajudar a resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes (Frequently Asked Questions, FAQ) no nosso Centro de Suporte Técnico: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx).

## Comentários e sugestões

### Sinal verde fraco ou nulo (FAM) no controle positivo (Positive Control, PC)

- |   |   |
|---|---|
| a) O canal de fluorescência selecionado para a análise de dados de RT-PCR não atende ao protocolo.  | Para a análise de dados, selecione o canal de fluorescência FAM (verde) para os alvos analíticos de RT-PCR do SARS-CoV-2, o canal de fluorescência HEX/VIC/JOE (amarelo) para o controle de amostragem e o Cy5/Atto (vermelho) para o controle interno.   |
| b) Programação incorreta do perfil de temperatura.  | Compare o programa de RT-PCR com o protocolo.   |
| c) Configuração incorreta da reação de PCR  | Verifique seus passos de trabalho por meio do esquema de pipetagem e repita a PCR, caso seja necessário.  |
| d) As condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não estão em conformidade com as instruções ou o <i>artus</i> SARS-CoV-2 RT-PCR Kit estava vencido. | Siga as condições de armazenamento, verifique o prazo de validade dos reagentes e utilize um novo kit, se necessário.   |
| e) Configuração incorreta da plataforma de qPCR durante a configuração dos dados.   | Aplique as configurações recomendadas relacionadas à sua plataforma de qPCR que são descritas neste manual.   |
| f) A PCR foi inibida.   | Siga as boas práticas no laboratório de biologia molecular para evitar a introdução de contaminantes. Certifique-se de que o local de trabalho e os instrumentos sejam descontaminados regularmente. Siga o protocolo mencionado neste manual. Verifique o prazo de validade do reagente e use um novo kit, se necessário. Repita o ensaio com outra amostra. |

### Sinal verde (FAM) no controle sem fita molde ou no controle negativo de extração

A contaminação com sequências de SARS-CoV-2 ocorreu durante o preparo da placa de RT-PCR.

Repita a RT-PCR com novos reagentes. Siga as boas práticas no laboratório de biologia molecular para evitar a introdução de contaminantes. Siga o protocolo mencionado neste manual. Certifique-se de que o local de trabalho e os instrumentos sejam descontaminados regularmente.

## Comentários e sugestões

---

### Sinal vermelho fraco ou nulo (Cy5/Atto) do controle interno













- a) Um interferente foi introduzido na reação de RT-PCR. A PCR é inibida.
- Siga as boas práticas no laboratório de biologia molecular para evitar a introdução de contaminantes.
- Certifique-se de que o local de trabalho e os instrumentos sejam descontaminados regularmente.
- Siga o protocolo mencionado neste manual.
- Repita o experimento com uma amostra recentemente coletada.
- b) O controle interno é inválido.
- Siga as boas práticas no laboratório de biologia molecular para evitar a introdução de RNAses. Siga as recomendações mencionadas neste manual.
- Certifique-se de que o local de trabalho e os instrumentos sejam descontaminados regularmente.
- Siga as condições de armazenamento, verifique o prazo de validade dos reagentes e utilize um novo kit, se necessário.
- c) Configuração incorreta da plataforma de qPCR durante a configuração dos dados.
- Aplique as configurações recomendadas relacionadas à sua plataforma de qPCR que são descritas neste manual.

### Sinal amarelo fraco ou nulo (VIC/HEX) do controle de amostragem

- a) A amostra clínica está degradada.
- Siga as recomendações fornecidas pelo fornecedor do dispositivo de coleta para seu armazenamento, manuseio e transporte.
- Siga o protocolo mencionado neste manual, incluindo as etapas de preparo da amostra com o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer.
- Siga as condições de armazenamento e verifique o prazo de validade dos reagentes, como o SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, e use um novo kit, se necessário.
- b) O espécime não foi coletado corretamente. Não foram coletadas células humanas suficientes no swab nem transferidas para o meio de transporte.
- Siga as recomendações fornecidas pelo fornecedor do dispositivo de coleta para a coleta e manuseio de espécimes.
- c) Configuração incorreta da plataforma de qPCR durante a configuração dos dados.
- Aplique as configurações relacionadas à sua plataforma de qPCR que são descritas neste manual.

# Símbolos

Os seguintes símbolos podem aparecer nas instruções de uso ou na embalagem e no rótulo:

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para 768 ou 3072 reações
	Data de validade
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
	Número de lote
	Componentes
	Contém
	Número
	Número global de item comercial
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão
	Limites de temperatura
	Fabricante
	Consultar as instruções de uso
	Conservar ao abrigo da luz solar
	Aviso/cuidado



---

## Informações de contato

Para obter assistência técnica e mais informações, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN no site **[support.qiagen.com](https://support.qiagen.com)**.

# Informações sobre pedidos

<b>Produto</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>Nº de ref.</b>
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (768)	Para 768 reações: Tampão de preparação, Corante ROX, Mistura principal, Primers e Sondas, Controle interno, Água (NTC) e Controle positivo	4511460
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (3072)	Para 3072 reações: Tampão de preparação, Corante ROX, Mistura principal, Primers e Sondas, Controle interno, Água (NTC) e Controle positivo	4511469
<b>Instrumento e acessórios</b>		
PCR Tubes, 0.1 ml, para Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Para uso com rotor de 72 poços, tubos de tiras e tampas	981103
Software Rotor-Gene Q	Software Rotor-Gene Q v2.3.1 (ou superior)	
Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Ciclador de real-time PCR com 5 canais, analisador de fusão de alta resolução, software, laptop e acessórios; 1 ano de garantia em componentes e mão de obra, instalação	9002032
Loading Block	72 x 0,1 ml tubes	9018901

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte o manual do usuário ou o manual do respectivo kit QIAGEN. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

# Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R1, Abril de 2021	Lançamento inicial.
R2, julho de 2021	Extensão da declaração: o teste foi estabelecido para indivíduos assintomáticos. O Uso pretendido foi atualizado para incluir indivíduos sem sintomas ou outros motivos para suspeitar de infecção por COVID-19. A seção sobre Desempenho clínico, incluindo indivíduos assintomáticos foi adicionada aos dados de Desempenho Remoção da afirmação: "O desempenho deste teste não foi estabelecido para pacientes sem sinais e sintomas de infecção respiratória" na seção Limitações . Pequenas alterações editoriais e de formatação.

## Contrato de Licença Limitada para o *artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit*

O uso deste produto implica a aceitação, por parte de qualquer comprador ou usuário do produto, dos seguintes termos:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo ao uso exclusivo de componentes contidos no painel. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incorporar os componentes deste painel com quaisquer componentes não incluídos nele, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, no presente manual e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Alguns desses protocolos adicionais foram fornecidos pelos usuários da QIAGEN para os usuários da QIAGEN. Esses protocolos não foram testados por completo nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece garantias de que eles não infrinjam os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou o seu uso não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este painel e seus componentes estão licenciados para uso único e não podem ser reutilizados, reconstruídos ou revendidos.
4. A QIAGEN renuncia especificamente a quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, à exceção das expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do painel concordam em não realizar nem permitir que outra pessoa realize qualquer etapa que possa levar a ou facilitar qualquer um dos atos proibidos acima. A QIAGEN poderá fazer cumprir as proibições deste Contrato de Licença Limitada em qualquer Tribunal e recuperará todos os seus custos de investigação e de Tribunal, incluindo honorários de advogados, em qualquer ação destinada a fazer cumprir este Contrato de Licença Limitada ou qualquer um de seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group); ATCC® (American Type Culture Collection); Clinical and Laboratory Standards Institute®, CLSI® (Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc); Zephetrix®, NATrol™ (Cole-Parmer); Excel® (Microsoft Corporation); ABI®, MicroAmp™, Thermo Fisher Scientific® (Thermo Fisher Scientific ou subsidiárias). Os nomes registrados, marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

07/2021 R2 HB-2850-002 © 2021 QIAGEN, todos os direitos reservados.

---

Pedidos [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência Técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)