



COVID-19 Multiplex PCR

Instruções de uso
Instrucciones de uso
Usage instructions

REF K269-1

Revisão: Junho/2022

ÍNDICE

Finalidade	3
Princípio de Ação	3
Apresentação	3
Reagentes	3
Equipamentos e Insumos Operacionais.....	4
Condições de Armazenamento e Transporte	4
Cuidados Especiais	4
Amostras	5
Procedimento	5
A. Extração do RNA	5
B . Preparo dos Reagentes	6
C . Preparo da PCR	6
D . Definições do Termociclador para a PCR em Tempo Real	6
E . Validação do Resultado	7
F . Interpretação do Resultado	9
Limitações do Processo	9
Reatividade Cruzada	10
Desempenho do Produto / Controle de Qualidade	10
Comparação de Métodos e Especificidade Metodológica	10
Repetibilidade	10
Reprodutibilidade	10
Sensibilidade Clínica	10
Sensibilidade Analítica	11
Linearidade	11
Significado Diagnóstico	11
Referências Bibliográficas	12
Atendimento ao Consumidor	12
Simbologia Universal	13

FINALIDADE

Teste para detecção qualitativa do RNA do vírus SARS-CoV-2 (COVID-19) através da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

O kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** é um ensaio *in vitro* baseado na detecção qualitativa do RNA do vírus SARS-CoV-2 através RT-PCR em tempo real. O método de RT-PCR em Tempo Real é usado para amplificar o RNA do patógeno. Um termociclador de PCR em Tempo Real é usado para amplificar e detectar as sondas fluorescentes específicas para cada alvo. O software do aparelho detecta a presença do patógeno.

Reagente	Apresentação
	100 Testes
R1	1 x 110 µL*
R2	1 x 1,1 mL*
R3	1 x 1,5 mL
R4	1 x 500 µL*
R5	1 x 1,5 mL
R6	1 x 1,5 mL
R7	1 x 200 µL

*Reagentes liofilizados. Os volumes descritos acima correspondem ao volume final após a ressuspensão dos reagentes, conforme descrito no item PROCEDIMENTO, subitem B. (Preparo dos Reagentes).

REAGENTES

R1. Solução PCR : Primer, Sonda, TRIS-HCl.

R2. Mix Taq: Polimerases, dNTPs, MgCl₂, Estabilizantes.

R3. Tampão Mix: TRIS-HCl.

R4. Controle Positivo: Plasmídeo, TRIS-HCl, EDTA.

R5. Diluente: TRIS-HCl, EDTA.

R6. Água: Água livre de DNase/RNase.

R7. Controle Negativo: TRIS-HCl, EDTA.

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instrução de uso (manual).

Materiais necessários, mas não contidos no kit:

- 1- Sistema ótico programável de detecção de fluorescência (Termociclador de PCR em Tempo Real).
- 2- Capela de fluxo laminar.
- 3- Tubos de centrífuga de 1,5 mL.
- 4- Tubos ou placas para reação de PCR.
- 5- Luvas de látex descartáveis livres de pó ou material similar.
- 6- Microcentrífuga (3.000 - 12.000 rpm).
- 7- Vórtex.
- 8- Micropipetas e ponteiros estéreis com filtro (0,5-10µL, 10-100µL, 100-1000µL).
- 9- Kit para extração de ácidos nucleicos.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento é de -20°C (-10 a -30°C).

Após a ressuspensão dos reagentes liofilizados, o produto é estável por 6 meses a partir da data de ressuspensão. Deve-se evitar o congelamento e descongelamento.

O transporte pode ser feito em temperaturas entre 2 e 30°C por 7 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- Manusear e descartar todas as amostras biológicas, reagentes e materiais utilizados para realização do ensaio como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evitar contato direto com as amostras biológicas e os reagentes. Evitar derrames ou aerossol. Os resíduos devem ser manuseados e descartados de acordo com as medidas de segurança adequadas.
- 4- Procedimentos de biologia molecular, tais como a extração de ácidos nucleicos, transcrição reversa, amplificação e detecção requerem pessoal qualificado para evitar o risco de resultados errados, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou contaminação da amostra por produtos de amplificação.
- 5- É necessário dispor de áreas separadas para a extração/preparação de reações de amplificação e para a ampliação/detecção de produtos amplificados. Nunca introduzir um produto de amplificação na área destinada para a extração ou preparação de produtos de amplificação.

6- Todas as amostras e reagentes devem ser manipulados sob uma capela de fluxo laminar. As pipetas devem ser usadas com ponteiros com filtro. As ponteiros empregadas devem ser estéreis, livres de DNases e RNases.

7- Evitar o congelamento e descongelamento repetido dos reagentes.

8- Armazenar as amostras de RNA a -20°C , caso não forem utilizadas imediatamente.

9- Não usar o kit após a data de validade.

10- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

11- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

12- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

13- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Este kit deve ser utilizado com amostras de RNA extraídas de escarro, de swab de nasofaringe ou de orofaringe.

As amostras devem ser coletadas de acordo com as recomendações do laboratório para testes moleculares. Devem ser transportadas e armazenadas entre 2 e 8°C por até 3 dias¹.

RNA (extraído): Utilizar amostras de RNA adequadas à amplificação por PCR com pureza e concentração adequadas.

Para longo tempo de armazenamento, recomenda-se congelar as amostras a -70°C . Deve-se evitar o congelamento e descongelamento repetido.

PROCEDIMENTO

A. Extração do RNA

Os ácidos nucleicos (RNA) das amostras devem ser extraídos seguindo as instruções de uso do kit escolhido.

B. Preparo dos Reagentes

OBS.: O reagente **R4** contém molde de RNA/DNA. Ele deve ser manipulado (ressuspendido) em área apropriada para evitar a contaminação dos demais reagentes.

- 1- Centrifugar (pulso spin) os reagentes **Solução PCR (R1)** e **Controle Positivo (R4)** antes da abertura dos microtubos.
- 2- Ressuspende o reagente **Mix Taq (R2)** com 1,1 mL do reagente **Tampão Mix (R3)**.
- 3- Ressuspende o reagente **Solução PCR (R1)** com 110µL do reagente **Água (R6)**.
- 4- Ressuspende o reagente **Controle Positivo (R4)** com 500µL do **Diluyente (R5)**.

C. Preparo da PCR

- 1- Separar previamente os microtubos/poços a serem utilizados, de acordo com o número de amostra e controles a serem analisados.
- 2- Preparar o volume da solução de PCR final de acordo com o número de reações a ser realizadas.

Reagentes	1reação	25 reações	50 reações	100 reações
Mix Taq (R2)	10µL	250µL	500µL	1mL
Solução PCR (R1)	1µL	25µL	50µL	100µL

Para o preparo de número de reação diferente deve-se multiplicar o volume dos reagentes para 1 reação pelo número de reações necessárias.

- 3- Pipetar 11µL da solução de PCR final nos tubos ou poços determinados para as reações.
- 4- Adicionar 9µL do RNA extraído das amostras ou 9µL dos controles nos tubos previamente determinados.
- 5- Homogeneizar bem.
- 6- Observar que o volume total da reação é de 20µL, e cada corrida de PCR deve incluir os controles relevantes (Controles Negativo/Positivo).
- 7- Transportar os tubos/placa para o termociclador e seguir o descrito na seção D (Definições do Termociclador para a PCR em Tempo Real).

D. Definições do Termociclador para a PCR em Tempo Real

Verificar o manual de operação do equipamento de PCR em tempo real para a programação do experimento.

1- Defina o tipo de experimento:

Teste Qualitativo.

2- Defina os detectores (sondas) fluorescentes como:

Referência Passiva: Equipamentos que utilizam o ROX como referência passiva deve ser programado com a opção “**NONE**” para referência passiva.

Alvo	Detector	Quencher
E	FAM	NFQ-MGB
RdRp	ROX	
Controle Endógeno	VIC	

Obs:

- Os Controles Positivo e Negativo não apresentam o Controle Endógeno (VIC), pois o mesmo é utilizado para o controle da extração e da amplificação das amostras.
- As amostras extraídas devem ser marcadas com os detectores FAM, ROX e VIC.

3- Defina as condições dos ciclos:

Etapas	Temperatura	Tempo	Ciclos
1	55°C	10 minutos	1
2	95°C	3 minutos	1
3	95°C	15 segundos	50
	60°C	60 segundos	

Defina “Data Collection” como “stage 3, step 2 (60@0:60)”.

E. Validação do Resultado**1- Controles**

Controle	Faixa permitida CT	Ampliação/Detecção
Positivos (FAM e ROX)	$16 \leq CT \leq 21$	Válida
Negativo	Indeterminado	Válida
Controle Endógeno (VIC)	$CT \leq 35$	Válida

2- Amostras

SARS-CoV-2 (COVID-19)		Resultado	Detecção
FAM/ROX ¹	VIC ² Controle Endógeno		
Presença de amplificação	CT ≤ 35	Positivo	Válida
	CT > 35	Positivo	Inválido*
Ausência de amplificação	CT ≤ 35	Negativo	Válida
	CT > 35	Negativo	Inválido*

¹COVID-19

Para diagnóstico positivo do SARS-CoV-2 (COVID-19) se faz necessário a detecção dos **2 genes alvos** (E e RdRp).

²Controle Endógeno

O valor de CT do Controle Endógeno pode variar de acordo com a quantidade de material biológico presente na amostra extraída.

- O CT baixo indica alta concentração de material biológico na amostra e que o processo de extração foi eficiente.
- O CT alto indica baixa concentração de material biológico na amostra e/ou extração ineficiente.

***OBS:** Os valores de CT do Controle Endógeno também podem variar de acordo com as condições do processo, como a eficiência da extração do DNA/RNA, a concentração das amostras e as configurações do termociclador. Logo, estas condições devem ser avaliadas quando os valores de CT não forem adequados e, se pertinente, os resultados podem ser validados.

Exemplo: Amostras com alto número de cópias de DNA/RNA do patógeno podem, em alguns casos, inibir a amplificação do Controle Endógeno resultando em valor de CT fora da faixa ideal, este resultado não invalida o teste.

Se os requisitos acima não forem cumpridos, o ensaio é considerado inválido e o teste deve ser repetido.

F. Interpretação do Resultado

SARS-CoV-2 (COVID-19)			Resultado
Gene E (FAM)	Gene RdRp (ROX)	Controle Endógeno (VIC)	
CT Determinado	CT Determinado	CT ≤35	Positivo
CT Determinado	CT Indeterminado		Inconclusivo
CT Indeterminado	CT Determinado		Inconclusivo
CT Indeterminado	CT Indeterminado		Negativo

CT Determinado: presença de curva de amplificação / CT Indeterminado: ausência de curva de amplificação.

Obs: O resultado é válido desde que todos os controles apresentem valores entre os limites de faixa permitida e que o aspecto da curva da amostra testada seja semelhante as curvas obtidas no Controle Positivo (R4), com forma sigmóide.

O kit é capaz de detectar de 10 a 1.000.000 de cópias por reação.

A não detecção do RNA do patógeno não exclui a presença de infecção quando o título do patógeno estiver abaixo do limite de detecção deste kit.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

Os resultados obtidos devem ser avaliados considerando os dados clínicos e os exames laboratoriais do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

Contaminações cruzadas que ocorrem durante a coleta da amostra, processamento, transporte e armazenamento poderão ocasionar resultados falsos. Amostras com presença de inibidores de PCR devem ser diluídas para reduzir o seu efeito na reação.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 50 amostras negativas para SARS-CoV-2, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 12 amostras positivas para o vírus Influenza, 15 positivas para Rinovírus, 13 positivas para Vírus Sincicial Respiratório e 10 positivas para Coronavírus endêmicos. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para vírus Influenza, Rinovírus, Vírus sincicial respiratório e Coronavírus endêmicos.

DESEMPENHO DO PRODUTO CONTROLE DE QUALIDADE

Exatidão

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA

O kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** foi comparado com outro kit para a detecção do RNA do vírus SARS-CoV-2. Foram realizadas 200 análises e os resultados foram avaliados. Os resultados obtidos, entre os kits avaliados, apresentaram concordância de 99%. Com estes resultados pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

Precisão

REPETIBILIDADE

Foram realizadas 10 dosagens sucessivas de 2 amostras positivas, os resultados estão mostrados na tabela abaixo:

Amostra	Nº de repetições	COVID-19
Amostra 27	10	100% Positiva
Amostra 28	10	100% Positiva

REPRODUTIBILIDADE

Foram realizadas 10 dosagens durante 3 dias consecutivos com 1 amostra, obtendo-se os seguintes resultados:

Amostra	Dia 1	Dia 2	Dia 3
Amostra 28	100% Positiva	100% Positiva	100% Positiva

Sensibilidade Clínica

O kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** apresentou sensibilidade clínica de 98% (IC 95%: 94,1% – 100%) e especificidade clínica >99,9%.

Método		Dados Clínicos		Total
Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	49	0	49
	Negativo	1	50	51
RESULTADO TOTAL		50	50	100

Sensibilidade Analítica

A sensibilidade analítica encontrada nos estudos de performance foi 1,20 cópias/ μ L (10 cópias/reação) para o gene E, e 6,55 cópias/ μ L (60 cópias/reação) para o gene RdRp, ou seja, a técnica foi capaz de detectar aproximadamente 2000 cópias/mL.

* A sensibilidade pode variar de acordo com o kit de extração utilizado.

Linearidade

A linearidade encontrada nos estudos de performance foi de 1×10^5 cópias/ μ L (5,0 log).

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Os Coronavírus (CoV) pertencem a família Coronaviridae, e estão amplamente distribuídos infectando seres humanos e outros mamíferos. Em humanos, os sintomas mais comuns apresentados são febre, tosse, dispneia, mialgia ou fadiga. Pode causar doenças que variam do resfriado comum a doenças mais graves, como a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV). Em dezembro de 2019, uma série de casos de pneumonia de causa desconhecida surgiu em Wuhan na China, com sintomatologia clínica muito semelhante à pneumonia viral, após sequenciamento completo das amostras respiratórias foi evidenciado ser infecção por Coronavírus, que foi chamado de novo coronavírus (2019-nCoV), em todos os continentes já foram notificados casos de infecção. Logo, a detecção do COVID-19 por PCR real time, tem grande importância por ser um método sensível, preciso e ágil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
2. Corman VM, Landt O, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
3. Huang C, Wang Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente

Tel.: 0800 031 5454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR na ANVISA:
10269360363

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMVEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO



COVID-19 Multiplex PCR

Español . Instrucciones de uso

REF K269-1

Revisión: Junio/2022

ÍNDICE

Finalidad	3
Principio de Acción	3
Presentación	3
Reactivos	3
Equipamientos e Insumos Operacionales	4
Condiciones de Almacenamiento y Transporte	4
Cuidados Especiales	5
Muestras	6
Procedimiento	6
A . Extracción de RNA	6
B . Preparación de los Reactivos	6
C . Preparación de la PCR	7
D . Definiciones del Termociclador para la PCR en Tiempo Real	7
E . Validación de lo Resultado	8
F . Interpretación de lo Resultado	10
Limitaciones de Proceso.....	11
Reactividad Cruzada	11
Desempeño del Producto / Control de Calidad	11
Comparación de Métodos y Especificidad Metodológica	11
Repetibilidad	11
Reproductibilidad	11
Sensibilidad Clínica	12
Sensibilidad Analítica	12
Linealidad	12
Significado Diagnóstico	12
Referencias Bibliográficas	13
Asistencia al Consumidor	13
Simbología Universal	15

FINALIDAD

Test para detección cualitativa del RNA del virus SARS-CoV-2 (COVID-19) a través de la transcripción inversa seguida de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) en tiempo real. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

El kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** es un ensayo *in vitro* basado en la detección cualitativa del RNA del virus SARS-CoV-2 a través de la RT-PCR en tiempo real.

El método de RT-PCR en Tiempo Real es usado para amplificar el RNA del patógeno. Un termociclador de PCR en Tiempo Real es usado para amplificar y detectar las sondas fluorescentes específicas para cada alvo. El software del aparato detecta la presencia del patógeno.

Reactivo	Presentación
	100 Pruebas
R1	1 x 110 µL*
R2	1 x 1,1 mL*
R3	1 x 1,5 mL
R4	1 x 500 µL*
R5	1 x 1,5 mL
R6	1 x 1,5 mL
R7	1 x 200 µL

*Reactivos liofilizados. Los volúmenes arriba descritos corresponden el volumen final después de la resuspensión de los reactivos como se describe en el ítem PROCEDIMIENTO, subítem B (Preparación de los Reactivos).

REACTIVOS

R1. Solución PCR : Primer, Sonda, TRIS-HCl.

R2. Mix Taq: Polimerases, dNTPs, MgCl₂, Estabilizantes.

R3. Tapón Mix: TRIS-HCl.

R4. Control Positivo: Plasmídeo, TRIS-HCl, EDTA.

R5. Diluyente: TRIS-HCl, EDTA.

R6. Agua: Água livre de DNase/RNase

R7. Control Negativo: TRIS-HCl, EDTA.

EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.
- Instrucción de uso (manual).

Materiales necesarios, pero no contenidos en el kit:

- 1- Sistema óptico programable de detección de fluorescencia (Termociclador de PCR en Tiempo Real).
- 2- Cámara del flujo laminar.
- 3- Tubos de microcentrifuga 1,5mL.
- 4- Tubos o placa para reacción de PCR.
- 5- Guantes de látex desechables libres de polvo o material similar.
- 6- Microcentrifuga (3.000 - 12.000 rpm).
- 7- Vórtice.
- 8- Micropipetas y punteras esterilizadas con filtro (0,5-10µL, 10-100µL, 100-1000µL).
- 9- Kit para extracción de ácidos nucleicos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento es de -20°C (-10 a -30°C).

Después de resuspensión de los reactivos liofilizados, el producto es estable por 6 meses a partir de la fecha de resuspensión. Se debe evitar el congelamiento y descongelamiento.

El transporte puede realizarse a temperaturas entre 2 y 30°C por hasta 7 días. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.

3- Manipular y desechar todas las muestras biológicas, reactivos y materiales utilizados para la realización del ensayo como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Evitar contacto directo con las muestras biológicas y los reactivos. Evitar derrames o aerosol. Los residuos deben ser manipulados y desechados de acuerdo con las medidas de seguridad adecuadas.

4- Procedimientos de biología molecular, tales como la extracción de ácidos nucleicos, transcripción inversa, amplificación y detección requieren personal calificado para evitar el riesgo de resultados errados, especialmente debido a la degradación de ácidos nucleicos contenidos en las muestras o contaminación de la muestra por productos de amplificación.

5- Es necesario disponer de áreas separadas para la extracción/preparación de reacciones de amplificación y para la ampliación/detección de productos amplificados. Nunca introducir un producto de amplificación en el área destinada para la extracción o preparación de productos de amplificación.

6- Todas las muestras y reactivos deben ser manipulados debajo de una Cámara de flujo laminar. Las pipetas deben ser usadas con punteras con filtro. Las punteras empleados deben ser estériles, libres de DNases y RNases.

7- Evitar el congelamiento y descongelamiento repetido de los reactivos.

8- Almacenar las muestras de RNA a -20°C, caso no fueran utilizadas inmediatamente.

9- No usar el kit después de la fecha de vencimiento.

10- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

11- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

12- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

13- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Este kit puede ser utilizado con muestras de RNA extraídas de esputo, hisopados nasofaríngeo y orofaríngeo.

Las muestras deben ser colectadas de acuerdo con las recomendaciones del laboratorio para las pruebas moleculares. Deben ser transportados y almacenados entre 2 y 8°C hasta por 3 días¹.

RNA (extraído): Utilizar muestras de RNA adecuadas a la amplificación por PCR con pureza y concentración adecuadas.

Para un largo tiempo de almacenamiento, se recomienda congelar las muestras a -70°C. Se debe evitar el congelamiento y descongelamiento repetido.

PROCEDIMIENTO

A. Extracción de RNA

Los ácidos nucleicos (RNA) de las muestras deben ser extraídos siguiendo las instrucciones de uso del kit escogido.

B. Preparación de los Reactivos

OBS.: El reactivo **R4** contiene molde de RNA/DNA. El debe ser manipulado (resuspender) en área apropiada para evitar la contaminación de los demás reactivos.

- 1- Centrifugar (pulso *spin*) los reactivos **Solución PCR (R1)** y **Control Positivo (R4)** antes de la abertura de los microtubos.
- 2- Resuspender lo reactivo **Mix Taq (R2)** con 1,1 mL del reactivo **Tampón Mix (R3)**.
- 3- Resuspender lo reactivo, Solución PCR (R1) con 110 µL del reactivo Agua (R6).
- 4- Resuspender el reactivo **Control Positivo (R4)** con 500 µL del reactivo **Diluyente (R5)**.

C. Preparación de la PCR

1- Separar previamente los microtubos/pozos a ser utilizados, de acuerdo con el número de muestras y controles a ser analizados.

2- Preparar el volumen de la solución de PCR final de acuerdo con el número de reacciones que se debe realizar.

Reactivos	1 Reacción	25 Reacciones	50 Reacciones	100 Reacciones
Mix Taq (R2)	10µL	250µL	500µL	1mL
Solución PCR(R1)	1µL	25µL	50µL	100µL

Para la preparación de un número diferente de reacción se debe multiplicar el volumen de cada reactivo para una reacción por el número de reacciones requeridas.

3- Pipetear 11µL de la solución de PCR final en los microtubos/pozos a ser utilizados.

4- Añadir 9µL del RNA extraído de la muestra o 9µL de los controles en los tubos predeterminados.

5- Homogenizar bien.

6- Observar que el volumen total de la reacción es de 20µL, y cada corrida de PCR debe incluir los controles relevantes (Control Negativo/Positivo).

7- Transportar los tubos/placa para el termociclador y seguir lo descrito en la sección D (Definiciones del Termociclador para la PCR en Tiempo Real).

D. Definiciones del Termociclador para la PCR en Tiempo Real

Verificar el manual de operaciones del equipamiento de PCR en tiempo real para la programación de lo experimento.

1- Defina el tipo del experimento:

Prueba Cualitativa.

2- Defina los detectores (sondas) fluorescentes como:

Referencia Pasiva: Los equipos que utilizan el ROX como referencia pasiva deben programarse con la opción **"NONE"** para referencia pasiva.

Alvo	Detector	Quencher
E	FAM	NFQ-MGB
RdRp	ROX	
Control Endógeno	VIC	

Obs: • Los Controles Positivo e Negativo no presentan el Control Endógeno (VIC), pues el mismo es utilizado para control de extracción y amplificación de las muestras.
• Las muestras extraídas deben marcarse con los detectores FAM, ROX y VIC.

3- Defina las condiciones de los ciclos:

Pasos	Temperatura	Tiempo	Ciclos
1	55°C	10 minutos	1
2	95°C	3 minutos	1
3	95°C	15 segundos	50
	60°C	60 segundos	

Defina "Data Collection" como "stage 3, step 2 (60@0:60)".

E. Validación de lo Resultado**1- Controls**

Controles	Rango permitido CT	Amplificación/ Detección
Positivos (FAM e ROX)	$16 \leq CT \leq 21$	Válida
Negativo	Indeterminado	Válida
Controle Endógeno (VIC)	$CT \leq 35$	Válida

2- Muestras

SARS-CoV-2 (COVID-19)		Resultado	Detección
FAM/ROX ¹	VIC ² Control Endógeno		
Presencia de amplificación	CT ≤ 35	Positivo	Válida
	CT > 35	Positivo	Inválido*
Ausencia de amplificación	CT ≤ 35	Negativo	Válida
	CT > 35	Negativo	Inválido*

¹COVID-19

Para un diagnóstico positivo de SARS-CoV-2 (COVID-19), es necesario detectar **2 genes alvo** (E y RdRp).

²Control Endógeno

El valor CT del Control Endógeno puede variar según la cantidad de material biológico presente en la muestra extraída.

- El CT baja indica una alta concentración de material biológico en la muestra y que el proceso de extracción fue eficiente.
- El CT alta indica baja concentración de material biológico en la muestra y / o extracción ineficiente.

***Nota:** El valor de CT del Control Endógeno varía con las condiciones del proceso, tales como la eficiencia de la extracción de DNA/RNA, la concentración de las muestras y los ajustes del termociclador. Por lo tanto, estas condiciones deben ser evaluadas cuando los valores de CT no son apropiados y los resultados relevantes se pueden validar.

Ejemplo: Las muestras con un alto número de copias de DNA/RNA pueden, en algunos casos, inhibir la amplificación del Control Endogeno resultante en el valor de CT fuera del rango óptimo, este resultado no invalida el test.

Si los requisitos mencionados no fueran cumplidos, el ensayo es considerado inválido y el test debe ser repetido.

F. Interpretación de lo Resultado

El kit es capaz de detectar 10 a 1.000.000 copias por reacción.

SARS-CoV-2 (COVID-19)			Resultado
Gen E (FAM)	Gen RdRp (ROX)	Control Endógeno (VIC)	
CT Determinado	CT Determinado	CT ≤35	Positivo
CT Determinado	CT Indeterminado		Inconclusivo
CT Indeterminado	CT Determinado		Inconclusivo
CT Indeterminado	CT Indeterminado		Negativo

CT Determinado: presencia de curva de amplificación / CT Indeterminado: ausencia de curva de amplificación.

Obs.: El resultado es válido siempre que todos los controles presenten valores entre los límites de rango permitidos y que el aspecto de la curva de la muestra probada sea similar a las curvas obtenidas en el Control Positivo (R4), con forma sigmoide.

El kit es capaz de detectar 10 a 1.000.000 copias por reacción.

Si el RNA del patógeno no es detectado, esto no excluye la presencia de infección cuando el título del patógeno está por debajo de lo límite de detección de este kit.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

Los resultados deben ser evaluados teniendo en cuenta los datos clínicos y las pruebas de laboratorio del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

Contaminaciones cruzadas que ocurren durante la colecta de la muestra, procesamiento, transporte y almacenamiento podrán ocasionar resultados falsos. Las muestras con presencia de inhibidores de la PCR deben diluirse para reducir su efecto en la reacción.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 50 muestras negativas para SARS-CoV-2, pero positivas para otras infecciones. Entre ellos 12 muestras positivas para Influenza virus, 15 positivas para Rhinovirus, 13 muestras positivas para Virus sincitial respiratorio y 10 muestras positivas para Coronavirus endémicos. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para Influenza virus, Rhinovirus, Virus sincitial respiratorio y Coronavirus endémico.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO CONTROL DE CALIDAD

Exactitud

COMPARACIÓN DE MÉTODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA

El kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** fue comparado con otro protocolo para la detección del RNA del SARS-CoV-2. Fueron realizadas 200 análisis y los resultados fueron evaluados. Los resultados obtenidos entre los kits, presentaron 99% de concordancia. Con estos resultados se puede concluir que lo kit presenta buena especificidad metodológica.

Precisión

REPETIBILIDAD

Fueron realizadas 10 dosificaciones sucesivas de 2 muestras positivas, los resultados están mostrados en la tabla abajo:

Muestras	Nº de repeticiones	COVID-19
Muestra 27	10	100% Positiva
Muestra 28	10	100% Positiva

REPRODUCTIBILIDAD

Fueron realizadas 10 dosificaciones durante 3 días consecutivos con 1 muestra, obteniéndose los siguientes resultados:

Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
Muestra 28	100% Positiva	100% Positiva	100% Positiva

Sensibilidad Clínica

El kit **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** presentó sensibilidad clínica de 98% (IC 95%: 94,1% – 100%) y especificidad clínica >99,9%.

Método		Datos Clínicos		Total
Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	49	0	49
	Negativo	1	50	51
RESULTADO TOTAL		50	50	100

Sensibilidad Analítica

La sensibilidad analítica encontrada en los estudios de desempeño fue 1,20 copias/μL (10 copias/reação) para el gen E, y 6,55 copias/μL (60 copias/reação) para el gen RdRp, o sea, la técnica fue capaz de detectar aproximadamente 2000 copias/mL.

* La sensibilidad puede variar de acuerdo con el kit de extracción utilizado.

Linealidad

La linealidad encontrada en los estudios de rendimiento fue de 1×10^5 copias/μL (5,0 log).

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

Los coronavirus (CoV) pertenecen a la familia Coronaviridae, y están ampliamente distribuidos infectando humanos y otros mamíferos. En humanos, los síntomas más comunes presentados son fiebre, tos, disnea, mialgia o fatiga. Puede causar enfermedades que van desde resfriado común a enfermedades más graves, como el síndrome respiratorio Medio Oriente (MERS-CoV) y Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV). En diciembre de 2019, una serie de casos de neumonía, de causa desconocida apareció en Wuhan en China, con

síntomas muy similar a la neumonía viral, después de la secuenciación de las muestras respiratorias se encontró infección por Coronavirus, que se llamó el nuevo coronavirus (2019-nCoV). En aproximadamente 150 países en todos los continentes, se han reportado casos de infección. Por lo tanto, la detección de COVID-19 por PCR en tiempo real es muy importante por la precisión y agilidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
2. Corman VM, Landt O, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
3. Huang C, Wang Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497- 506.

ASISTENCIA AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 031 5454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro del kit Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR en la ANVISA: 10269360363

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLOGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO



COVID-19 Multiplex PCR

English . Usage instructions

REF K269-1

Review: June/2022

INDEX

Function	3
Principle of Action	3
Presentation	3
Reagents	3
Equipments and Operational Inputs	4
Transportation and storage Conditions	4
Special Care	4
Samples	5
Process Description	5
A . RNAExtraction	5
B . Preparation of the reagents	5
C . PCR Preparation	6
D . Thermocycler settings for Real-Time PCR	6
E . Result Validation	7
F . Result Interpretation	9
Process Limitations	10
Cross Reactivity	10
Product Performance / Quality Control	10
Comparison of Methods and Methodology Specificity	10
Repeatability	10
Reproducibility	10
Clinical Sensitivity	11
Analytical Sensitivity	11
Linearity	11
Diagnostic Significance	11
Bibliographic References	12
Customer Service	12
Universal Symbolology	13

FUNCTION

Qualitative detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus RNA through reverse transcription followed by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR). For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

The **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** test is a *in vitro* assay based on the qualitative detection of SARS-CoV-2 virus RNA by real-time RT-PCR.

The Real-Time RT-PCR method is used to amplify the pathogen RNA.

A thermocycler for Real Time PCR is used to amplify and detect the fluorescent probes for each specific target. The software detects the presence of the pathogens.

Reagent	Presentation
	100 Tests
R1	1 x 110 µL*
R2	1 x 1.1 mL*
R3	1 x 1.5 mL
R4	1 x 500 µL*
R5	1 x 1.5 mL
R6	1 x 1.5 mL
R7	1 x 200 µL

*Lyophilized reagents. The volumes described above refer to the final volume after the reagents resuspension, as described in the item PROCESS DESCRIPTION, subitem B (Preparation of the Reagents).

REAGENTS

R1. PCR Solution: Primer, probe, TRIS-HCl.

R2. Mix Taq: Polymerases, dNTPs, MgCl₂, stabilizers.

R3. Mix Buffer: TRIS-HCl.

R4. Positive Control: Plasmid, TRIS-HCl, EDTA.

R5. Diluent: TRIS-HCl, EDTA

R6. Water: DNase/RNase free water.

R7. Negative Control: TRIS-HCl, EDTA.

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the previous item.
- Usage instructions (manual).

Materials needed but not contained in the kit:

- 1- Real-time PCR thermocycler.
- 2- Laminar flow hood.
- 3- 1.5 ml microcentrifuge tubes.
- 4- PCR reaction tubes or plate.
- 5- Powder free latex gloves or similar material.
- 6- Microcentrifuge (3,000 - 12,000 rpm).
- 7- Vortex.
- 8- Micropipettes and sterile filter pipette tips (0.5-10 μ L, 10-100 μ L, 100-1000 μ L).
- 9- Nucleic acid extraction kit.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The required storage temperature is -20°C (-10 to -30°C). **After resuspension of lyophilized reagents, the product is stable for 6 months from the date of resuspension.** Avoid freezing and thawing.

The kit may be transported between 2 and 30°C for 7 days. Protect from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE

1- For professional *in vitro* diagnostic use only.

- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3- Handle and dispose of all biological samples, reagents and materials as it contain infectious agents. Avoid direct contact with biological samples and reagents. Avoid spills and aerosol. Handle and dispose of wastes in accordance with appropriate security procedures.
- 4- It is require skilled personnel for the molecular biology procedures in order to minimize the risk of erroneous results, degradation of nucleic acids contained in the samples or even sample contamination by amplicons.
- 5- It is necessary to have separate areas for the extraction / preparation of amplification reactions and for the amplification / detection of amplified products. Never introduce an amplification product in the area intended for the extraction or preparation of amplification products.

6- All samples and reagents should be handled inside a laminar flow hood. It is necessary to use sterile and DNase/RNase free filter pipettes tips.

7- Avoid repeated thawing and freezing of the reagents.

8- Store the RNA samples at -20°C in case they will not be used immediately.

9- Do not use reagents after expiration date.

10- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

11- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

12- Do not use the product in case of damaged packaging.

13- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

This kit should be used with RNA samples extracted from sputum, nasopharyngeal or oropharyngeal swab. Samples should be collected according to laboratory recommendations for molecular testing. They must be transported and stored as between 2 to 8°C for up to 3 days¹.

RNA (extracted): Use RNA samples suitable for RT-PCR amplification with adequate purity and concentration. For long-term storage, it is recommended to freeze samples at -70°C. Avoid repeated freezing and thawing of the samples.

PROCESS DESCRIPTION

A. RNA Extraction

The nucleic acids (RNA) must be extracted in accord to the procedure of the chosen extraction kit.

B. Preparation of the Reagents

Note: The **R4** reagent contain RNA/DNA template. It need to be handle (resuspended) in a separated area.

1- Before open, spin (*spin* pulse) each of the following reagents **PCR Solution (R1)** and **Positive Control (R4)**

- 2- Resuspend the vial of **Mix Taq (R2)** reagent with 1.1 mL of **Mix Buffer (R3)** reagent.
- 3- Resuspend the reagent **PCR Solution (R1)** with 110 μL of **Water (R6)** reagent.
- 4- Resuspend the reagent **Positive Control (R4)** with 500 μL of **Diluent (R5)** reagent.

C. PCR Preparation

- 1- Prior beginning the assay, select sufficient number of microtubes/wells to be used on the reaction, in accord to the number of samples and Controls to be used.
- 2- Prepare the final PCR solution in accord with reactions number required.

Reagents	1 Reaction	25 Reactions	50 Reactions	100 Reactions
Mix Taq (R2)	10 μL	250 μL	500 μL	1 mL
PCR Solution (R1)	1 μL	25 μL	50 μL	100 μL

To prepare different reaction number must be multiplied the volume of reagents for a reaction by the number of required reactions.

- 3- Pipette 11 μL of the final PCR solution in microtubes or wells previously determined.
- 4- Add 9 μL of extracted RNA sample or 9 μL of controls in previously determined tubes.
- 5- Mix well.
- 6- The total volume of the reaction is 20 μL . Each PCR run should include the relevant controls: Negative/Positive Controls.
- 7- Transport the tubes/plate to the thermocycler and follow the instructions in the section D (Thermocycler Settings for Real-Time PCR).

D. Thermocycler Settings for Real-Time PCR

Check the operation manual of the Real-time PCR thermocycler to program the experiment.

- 1- **Set the type of experiment:**
Qualitative Test.

2- Set the fluorescent probes:

Passive Reference: Equipments that use ROX as a passive reference must be programmed with the option “**NONE**” for passive reference.

Target	Detector	Quencher
E	FAM	NFQ-MGB
RdRp	ROX	
Endogenous Control	VIC	

Note:

- Controls do not present Endogenous Control (VIC), because it is used for extraction and amplification control of the samples.
- The extracted samples must be marked with the FAM, ROX and VIC detectors.

3- Set the cycling conditions:

Stage	Temperature	Time	Cycles
1	55°C	10 minutes	1
2	95°C	3 minutes	1
3	95°C	15 seconds	50
	60°C	60 seconds	

Set “Data Collection” as “stage 3, step 2 (60@0:60)”.

E. Result Validation

1- Controls

Controls	CT Permitted Range	Amplification/Detection
Positives (FAM e ROX)	$16 \leq CT \leq 21$	Valid
Negative	Undetermined	Valid
Endogenous Control (VIC)	$CT \leq 35$	Valid

2- Samples

SARS-CoV-2 (COVID-19)		Result	Detection
FAM/ROX ¹	VIC ² Endogenous Control		
Presence of amplification	CT ≤ 35	Positive	Valid
	CT > 35	Positive	Invalid*
Absence of amplification	CT ≤ 35	Negative	Valid
	CT > 35	Negative	Invalid*

¹COVID-19

For the SARS-CoV-2 (COVID-19) positive diagnosis, it is necessary to detect **2 target genes** (E and RdRp).

²Endogenous Control

The CT value of the Endogenous Control may vary according to the amount of biological material present in the extracted sample.

- The low CT indicates high concentration of biological material in the sample and that the extraction process was efficient.
- The high CT indicates low concentration of biological material in the sample and / or inefficient extraction.

***Note:** The CT values of Endogenous Control vary with the process conditions, as the extraction efficiency of the DNA/RNA, the concentration of the samples and the thermocycler settings. Therefore, these conditions must be evaluated when the CT values are not appropriated and, in case it is relevant, the results can be validated.

Example: In some cases, the samples with high numbers of copies of DNA / RNA can inhibit the amplification of the Endogenous Control, resulting in CT value outside the optimal range, this does not invalidate the test results.

If the above requirements are not achieved, the assay must be considered invalid and must be repeated.

F. Result Interpretation

SARS-CoV-2 (COVID-19)			Results
Gene E (FAM)	Gene RdRp (ROX)	Endogenous Control (VIC)	
CT Determined	CT Determined	CT ≤35	Positive
CT Determined	CT Undetermined		Inconclusive
CT Undetermined	CT Determined		Inconclusive
CT Undetermined	CT Undetermined		Negative

Determined CT: presence of curve amplification / Undetermined CT: absence of curve amplification.

Obs.: The result is valid as long as all the controls present values between the of permitted range limits and that the aspect of the sample curve tested be similar the curves obtained in the Positive Control (R4) with sigmoid form.

This kit is able to detect from 10 to 1.000.000 copies per reaction.

The non-detection of the pathogen RNA does not exclude the presence of infection when the pathogen title is below the detection limit of this kit.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only parameter for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

The results obtained must be evaluated considering the clinical data and laboratory tests of the patient.

PROCESS LIMITATIONS

Cross contamination that eventually occurs during the sample collection, processing, transportation and storage may give false results. The samples with presence of PCR inhibitors should be diluted to reduce their effect on the reaction.

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was carried out evaluating 50 negative samples for SARS-CoV-2, but positive for other infections. Among them 12 positive samples for Influenza virus, 15 positive samples for Rhinovirus and 13 positive samples for Respiratory Syncytial Virus, and 10 positive samples for endemic Coronavirus. It was not observed cross-reactivity with positive samples for Influenza virus, Rhinovirus, Respiratory syncytial virus and endemic Coronavirus.

PRODUCT PERFORMANCE QUALITY CONTROL

Accuracy

COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGY SPECIFICITY

The **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** test was compared with another protocol for the detection of the SARS-CoV-2 virus RNA. 200 analyzes were performed and the results were evaluated. The results obtained among the kits presented 99% agreement. This shows that the test has good methodological specificity.

Precision

REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 2 positive samples, obtaining the following results:

Samples	N° of repetitions	COVID-19
Sample 27	10	100% Positive
Sample 28	10	100% Positive

REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 1 sample, obtaining the following results:

Samples	Day 1	Day 2	Day 3
Sample 28	100% Positive	100% Positive	100% Positive

Clinical Sensitivity

The **Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR** showed clinical sensitivity of 98% (CI 95%: 94,1% – 100%) and a clinical specificity >99,9%.

Method		Clinical Data		Total
Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR	Result	Positive	Negative	
	Positive	49	0	49
	Negative	1	50	51
TOTAL		50	50	100

Analytical Sensitivity

It was found in the performance study that the analytical sensitivity of the kit is 1.20 copies/μL (10 copies/reaction) for the E gene, and 6.55 copies/μL (60 copies/reaction) for the RdRp gene. This means the assay is capable to detect approximately 2000 copies/mL.

* The sensitivity may vary according to the used extraction kit.

Linearity

The linearity found in the performance studies was 1×10^5 copies/μL (5.0 log).

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Coronaviruses (CoV) belong to the family Coronaviridae, and they are widely distributed infecting humans and other mammals. In humans, the most common symptoms presented are fever, cough, dyspnea, myalgia or fatigue. It can cause diseases ranging from cold common to more serious diseases, such as Respiratory Syndrome Middle East (MERS-CoV) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV). In December 2019, a series of pneumonia cases of unknown cause appeared in Wuhan in China, with symptoms very similar to viral pneumonia, after sequencing of the respiratory samples was found to be infection by Coronavirus, which

was called the new coronavirus (2019-nCoV). In all continents, cases of infection have been reported. Therefore, the detection of COVID-19 by real time PCR is very important due to its accuracy and agility.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Collection, transport, preparation and storage of specimens for molecular methods; approved guideline. CLSI document MM13-A. Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
2. Corman VM, Landt O, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3).
3. Huang C, Wang Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497- 506

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service

Phone: 0800 031 5454

E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Bio Gene COVID-19 Multiplex PCR: 10269360363

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER



Bioclin · QUIBASA



Rua Teles de Menezes, 92 . Belo Horizonte . MG . Brasil . CEP: 31565-130

Tel +55 31 3439 5454 . www.bioclin.com.br

FARM. RESP. Silvio Wandalsen Arndt - CRF MG 7422

C.N.P.J.: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira