

AVISO

- Somente para uso de diagnóstico *in vitro*.
- A confiabilidade dos resultados depende do processo adequado de coleta, armazenamento, transporte e processamento da amostra.
- Este teste foi validado para os seguintes tipos de amostras: escarro, aspirado nasofaríngeo, swab de garganta e nasofaringe e lavado broncoalveolar.
- Para amostras de swab: eSWAB, eNAT e UTM são validados com Allplex™ 2019-nCoV Assay.
- Este teste não foi validado para quaisquer outros tipos de amostra.
- Armazenar as amostras de RNA em temperatura de $\leq -20^{\circ}\text{C}$ até a utilização, e manter em gelo durante o uso.
- A sensibilidade do ensaio pode diminuir caso as amostras sejam repetidamente congeladas/descongeladas ou armazenadas por um período de tempo mais longo.
- O fluxo de trabalho no laboratório deve ocorrer de forma unidirecional.
- Utilizar luvas descartáveis e trocá-las antes de entrar em diferentes áreas. Trocar as luvas imediatamente em caso de contaminação ou tratá-las com reagente descontaminante de DNA.
- Insumos e equipamentos devem ser dedicados à cada área de trabalho e não devem ser transportados de uma área para outra.
- Não pipetar pela boca.
- Não comer, beber ou fumar nas áreas de trabalho laboratorial. Usar luvas descartáveis sem talco, jalecos e óculos de proteção ao manusear amostras e reagentes. Lavar as mãos cuidadosamente depois de manusear as amostras e reagentes de teste.
- Evitar a contaminação dos reagentes ao retirar alíquotas dos tubos. Recomenda-se a utilização de ponteiros descartáveis estéreis e resistentes à contaminação por aerossóis.
- Não misturar reagentes de lotes diferentes, ou de tubos diferentes do mesmo lote.
- Não utilizar o produto após o prazo de validade.
- Não reutilizar nenhum item descartável.
- Utilizar tubos com tampa de rosca e evitar quaisquer respingos ou contaminação cruzada das amostras durante a preparação.
- Não contaminar reagentes com ácidos nucleicos extraídos, produtos de PCR e controle positivo. Para evitar a contaminação dos reagentes, recomenda-se a utilização de ponteiros com filtro.
- Utilizar áreas de trabalho separadas e isoladas para cada experimento.
- Após a amplificação, abrir os tubos ou strips de reação de PCR apenas nas áreas designadas para evitar a contaminação de ambientes de trabalho com produtos amplificados.
- Armazenar materiais positivos separados dos reagentes do kit.
- Procedimentos de segurança laboratorial (consultar documentos de Biossegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos e do CLSI) devem ser realizados ao manusear amostras. Limpe e desinfete completamente todas as superfícies de trabalho com hipoclorito de sódio 0,5% (em água desionizada ou destilada). Os componentes do produto (resíduos e embalagens) podem ser considerados lixo laboratorial. Elimine reagentes e resíduos não utilizados de acordo com os regulamentos federais, estaduais e locais aplicáveis.
- A data de validade é de 8 meses após fabricação a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Para verificar a data de validade, ver embalagem.
- Os equipamentos Seegene (NIMBUS e STARlet) são equivalentes aos Microlab (NIMBUS-IVD e Microlab STARlet-IVD), porém de diferentes fabricantes. Não há diferenças no hardware e, portanto, os mesmos resultados são esperados.
- O nome original "CFX96™ Real-time PCR Detection System-IVD" foi modificado para "CFX96™ Dx System". Não houve nenhuma modificação de hardware, portanto os mesmos resultados são esperados de ambos os sistemas.
- O software "CFX Manager™ Dx v3.1" é uma atualização da versão "CFX Manager™-IVD v1.6". O software atualizado inclui melhorias no menu "Run". Essas melhorias não interferem nos resultados da análise de dados e, portanto, os mesmos resultados são esperados.
- O presente kit contém testes *in vitro* qualitativos para detecção única ou múltipla de 3 tipos de gene (gene E, gene RdRP e gene N).



Seegene Inc.,
Taewon Bldg., 91, Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul, 05548, República da Coreia



Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80, D-66386 St.Ingbert, Alemanha

Uso Pretendido

O Allplex 2019-nCov Assay é um teste de diagnóstico *in vitro* (IVD) por RT-PCR em tempo real destinado à detecção qualitativa de ácido nucléico proveniente de SARS-CoV-2 em amostras respiratórias superiores, tais como aspirado nasofaríngeo e orofaríngeo, e amostras respiratórias inferiores, tais como escarro, de indivíduos com sinais e sintomas de COVID-19. Para amostras de swab, os tipos eSWAB, eNAT e UTM são validados.

Extração De Ácido Nucleico

NOTA: 10 µL de RP-V IC devem ser adicionados a cada amostra antes da extração de ácido nucleico.

NOTA: Agitar a amostra em vórtice antes de usar. Se a amostra ainda estiver viscosa, reduzir sua temperatura. Caso contrário, adicionar a quantidade adequada de PBS ou solução salina e agitar em vórtice. Para escarro, diluir com PBS correspondente ao dobro do volume da amostra e agitar em vórtice até homogeneizar.

NOTA: Após a extração, armazenar as amostras de RNA em temperatura de ≤ -20°C até a utilização, e manter em gelo durante o uso.

Microlab NIMBUS IVD / STARlet IVD
Seegene NIMBUS/STARlet

Reagente de extração: STARMag™
96 x 4 Universal Cartridge kit.

300 µL Amostra
10 µL RP-V IC

Efetuar passo de extração seguindo o "Tutorial" do programa Seegene Launcher.

SGprep32™ (Seegene)

Efetuar o processo de extração seguindo o manual rápido fornecido com o instrumento.

200 µL Amostra
10 µL RP-V IC
10 µL Proteinase K
100 µL Eluição

SEEPREP32™ (Seegene)

Efetuar o processo de extração seguindo o manual rápido fornecido com o instrumento.

200 µL Amostra
10 µL RP-V IC
10 µL Proteinase K
100 µL Eluição

NucliSENS® easyMAG™ (bioMérieux)

Efetuar o processo de extração seguindo o protocolo genérico do NucliSENS easyMAG.

200 µL Amostra
10 µL RP-V IC
50 µL Sílica magnética
100 µL Eluição

Ribospin® vRD Kit (GeneAll)

290 µL Amostra
10 µL RP-V IC
500 µL Tampão VL

Pulsar em vórtice por 15 seg e incubar à temperatura ambiente por 10 min

Adicionar 700 µL de Tampão RB1 e misturar em vórtice

NÃO CENTRIFUGAR após a adição de Tampão RB1

Aplicar 750 µL de lisado à coluna e centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 30 seg

Descartar o filtrado

Aplicar o lisado restante à coluna e centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 30 seg

Descartar o filtrado

Adicionar 500 µL de Tampão RBW e centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 30 seg

Descartar o filtrado

Adicionar 500 µL de Tampão RNW e centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 30 seg

Descartar o filtrado

Centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 1 min para secar completamente a membrana

Colocar a coluna em um tubo de microcentrifugação de 1,5 ml limpo

Aplicar 40 µL de água livre de nuclease na parte central da membrana

Incubar à temperatura ambiente por 2 min

Centrifugar a 15.000 xg (13.000 rpm) por 1 min

QIAamp® DSP Virus Spin Kit (Qiagen)

25 µL QIAGEN Protease
190 µL Amostra
10 µL RP-V IC
200 µL Tampão AL

Pulsar em vórtice por 15 seg e incubar a 56°C por 15 min

Adicionar 250 µL de Etanol 100%

Pulsar em vórtice por 15 seg e incubar à temperatura ambiente por 5 min

Aplicar todo o lisado à coluna e centrifugar a 6.000 xg (8.000 rpm) por 1 min

Colocar a coluna em um tubo de coleta de 2 ml limpo

Adicionar 500 µL de Tampão AW1 e centrifugar a 6.000 xg (8.000 rpm) por 1 min

Colocar a coluna em um tubo de coleta de 2 ml limpo

Adicionar 500 µL de Tampão AW2 e centrifugar a 6.000 xg (8.000 rpm) por 1 min

Colocar a coluna em um tubo de coleta de 2 ml limpo

Adicionar 500 µL de Etanol 100% e centrifugar a 6.000 xg (8.000 rpm) por 1 min

Colocar a coluna em um tubo de coleta de 2 ml limpo

Centrifugar à velocidade máxima de 20.000 xg (14.000 rpm) por 3 min para secar completamente a membrana

Colocar a membrana em um tubo de microcentrifugação de 1,5 ml limpo

Aplicar 40 µL de Tampão AVE no centro da membrana

Incubar à temperatura ambiente por 2 min

Centrifugar a 20.000 xg (14.000 rpm) por 1 min

NOTA: caso o RP-V IC não seja adicionado durante a extração, a amostra negativa é interpretada como "Inválida".

* Para uso com 1. Microlab NIMBUS IVD e Microlab STARlet IVD
2. Seegene NIMBUS e Seegene STARlet

Estabilidade do Kit

- A data de validade é de **8 meses** a partir da data de fabricação a $\leq -20^{\circ}\text{C}$. Para verificar a data de validade, ver embalagem
- Este produto pode ser utilizado por **30 dias** após a abertura da embalagem e pode ser repetidamente congelado e descongelado por até 5 ciclos.

Manuseio e Armazenamento de Amostras

- Amostras podem ser armazenadas a 4°C por até 72 horas após a coleta. Caso seja esperada a ocorrência de atraso na extração, armazene as amostras a no mínimo -70°C .
- Ácidos nucleicos extraídos devem ser armazenados a no mínimo -70°C .

Amplificação e Detecção (CFX96™, Bio-Rad)

1. Preparação para PCR em Tempo Real

NOTA: Centrifugar todos os reagentes armazenados a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ após descongelarem completamente.

NOTA: A amplificação do controle positivo e as amostras clínicas demandam cuidados especiais de forma a evitar contaminação cruzada.

NOTA: A configuração da PCR pode ser efetuada no Microlab NIMBUS IVD/STARlet IVD. Para Seegene NIMBUS/STARlet, favor entre em contato com a Seegene para metodologia e arquivo de protocolo.

- Preparar os seguintes reagentes em um tubo rotulado estéril de 1,5 ml. Prepare todos os reagentes em gelo.

Mastermix One-Step RT-PCR para diferentes números de reação. Und.: μL

Número de reações	1	2	3	4	5
2019-nCoV MOM	5	10	15	20	25
RNase Free-Water (Água livre de RNase)	5	10	15	20	25
5X Real-time One-step Buffer (Tampão)	5	10	15	20	25
Real-time One-step Enzyme (Enzima)	2	4	6	8	10

- Misturar por inversão do tubo 5 vezes ou por vórtice, e depois centrifugar brevemente.

- Aliquotar **17 μL** de Mastermix One-Step RT-PCR nos tubos de PCR.

- Adicionar **8 μL** de ácido nucleico de cada amostra e os controles Positivo e Negativo 2019-nCoV (água livre de RNase) aos tubos contendo a alíquota de Mastermix One-Step RT-PCR.

- Fechar a tampa e centrifugar brevemente todos os tubos de PCR.

- Verifique se o líquido contendo os componentes de PCR está no fundo de cada tubo de PCR. Se não, centrifugue novamente em rpm mais elevado e por período de tempo maior.

- Iniciar imediatamente a PCR.

NOTA: Os tubos de PCR devem ser centrifugados antes da corrida para forçar o líquido para o fundo do tubo e evitar bolhas de ar.

• Tubos de PCR Disponíveis

Low Profile em tiras 8x0,2 mL s/ tampa (branco, Cat.N°. TLS0851, Bio-Rad)
Tiras c/ 8 tampas ópticas planas (Cat.N°. TCS0803, Bio-Rad)
Placas PCR Hard-Shell® c/ 96 poços WHT/WHT (Cat.N°. HSP9655, Bio-Rad)
Selante de calor permanente transparente (Cat. No. 1814035, Bio-Rad)*
Selador de placa de PCR PX1 (auto selante, Cat. No. 181-4000, Bio-Rad)*

* O selante térmico e o selador devem ser utilizados conjuntamente.

[Analitos]

Fluoróforo	Analito
FAM	Gene E
HEX	Controle Interno (IC)
Cal Red 610	Gene RdRP
Quasar 670	Gene N

2. Configuração do Instrumento de PCR em Tempo Real

- Configuração do Protocolo.

- No menu principal, selecionar **File** → **New** → **Protocol** para abrir o **Protocol Editor**.

- Em **Protocol Editor**, definir o perfil térmico conforme tabela abaixo.

Clicar na caixa de texto de Sample Volume e inserir "**25 μL** ".

Clicar em **OK** e salvar o protocolo para abrir a janela **Experiment Setup**.

Passo	N° de ciclos	Temperatura	Duração
1	1	50°C	20 min
2	1	95°C	15 min
3	45	94°C	15 seg
4*		58°C	30 seg
5	IR PARA Passo 3 por mais 44 vezes		

* **Leitura da Placa no Passo 4.** A fluorescência é detectada à 58°C .

- Configuração de Placa.

- A partir da aba **Plate** em **Experiment Setup**, clicar em **Create New** para abrir a janela **Plate Editor**.

- Clicar em **Select Fluorophores** para indicar os fluoróforos que serão utilizados (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610** e **Quasar 670**); em seguida, clicar em **OK**.

Selecionar o(s) poço(s) desejado(s) e, em seguida, o tipo de amostra a partir do menu suspenso em **Sample Type**.

- **Desconhecido:** Amostras clínicas

- **Negative Control**

- **Positive Control**

- Clicar nas caixas de seleção apropriadas (**FAM**, **HEX**, **Cal Red 610** e **Quasar 670**) para especificar os fluoróforos a serem detectados nos poços selecionados.

- Digitar nome da amostra em **Sample Name** e pressionar a tecla Enter.

- Em **Settings**, no menu principal do **Plate Editor**, escolher o tamanho da placa **Plate Size (96 wells)** e o tipo de placa **Plate Type (BR White)**.

- Clicar em **OK** para salvar a nova placa.

- Você retornará à janela **Experiment Setup**.

- Iniciar Corrida.

- A partir da aba **Start Run** em **Experiment Setup**, clicar em **Close Lid** para fechar a tampa do instrumento.

- Clicar em **Start Run**.

- Salvar o arquivo de corrida em Meus Documentos ou outra pasta à escolha. Insira o nome, clique em **SAVE** e a corrida será iniciada.

* Para uso com 1. Microlab NIMBUS IVD e Microlab STARlet IVD
2. Seegene NIMBUS e Seegene STARlet

Uso Pretendido

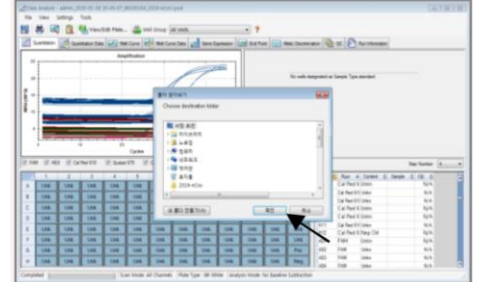
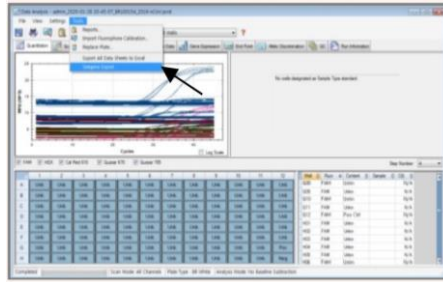
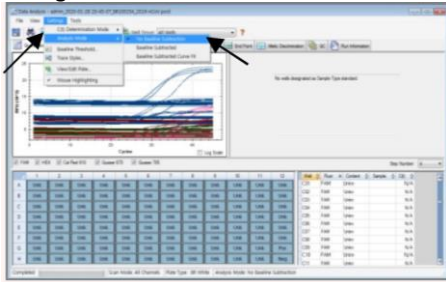
1. Pré-configurações para Análise de Dados

A. Criar pastas para exportação de dados

- ① Criar uma pasta para salvar os resultados de detecção da curva de amplificação.
- ② O local e o nome da pasta são especificados pelo usuário, mas, no caso de uso da função "Seegene Export", uma pasta denominada "QuantStep4" é criada automaticamente na localização escolhida.

B. Pré-configurações para Análise de Dados no CFX96 Manager™

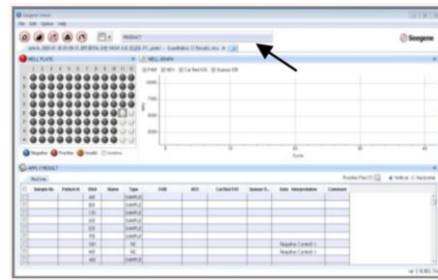
- ① Após o teste, selecionar **No Baseline Subtraction** em **Analysis Mode** no menu **Settings**.
- ② Selecionar **Seegene Export** no menu **Tools**.
- ③ Escolher um local para salvar os dados e clicar em **OK**.



Observação: Em caso de dúvidas sobre o processo "Seegene Export" ou sobre exportação de dados, favor entrar em contato com a Seegene.

2. Configurações para Análise de Dados no Seegene Viewer

- ① Abrir o programa **Seegene Viewer** e clicar em **Open**; selecionar os dados exportados.
- ② Após abrir o arquivo de resultados, selecionar "**Allplex™ 2019-nCov Assay**" no mnu **PRODUCT**.
- ③ Verificar os resultados para cada poço.



Análise de Dados

[Interpretação]

Caso	IC HEX	Gene E FAM	Gene RdP CalRed610	Gene N Quasar670	Interpretação Automática	Resultados
Caso 1	+/-	+	+	+	2019-nCoV Detectado	Resultados de todos os Alvos são válidos. Resultado para SARS-CoV RNA: Detectado.
Caso 2	+/-	+	-	+	2019-nCoV Detectado	Resultados de todos os Alvos são válidos. Resultado para SARS-CoV RNA: Detectado. Resultados negativos de alvos sugerem: 1) amostra em concentração próxima ou abaixo do limite de detecção do teste, 2) mutação na região alvo correspondente, ou 3) outros fatores.
Caso 3	+/-	+	+	-		
Caso 4	+/-	-	+	+		
Caso 5	+/-	-	-	+		
Caso 6	+/-	-	+	-		
Caso 7	+/-	+	-	-	Suposto Positivo	Resultados de todos os Alvos são válidos. Resultado para SARS-CoV RNA: Detectado. Resultados negativos de alvos sugerem: 1) amostra em concentração próxima ou abaixo do limite de detecção do teste, 2) mutação na região alvo correspondente, ou 3) outros fatores.
Caso 8	+	-	-	-	Negativo	Resultados de todos os Alvos são válidos. Resultado para SARS-CoV RNA: Não detectado.
Caso 9	-	-	-	-	Inválido	Os resultados são inválidos. Repetir o teste. Se o resultado ainda for inválido, uma nova amostra deve ser obtida.

[Corte]

Para todos os alvos,

Valor de Ct

≤ 40

> 40 ou N/A

Resultado

Detectado

Não-Detectado

Se o valor de Ct de IC for '> 40', favor realizar um novo teste.

Dados de Desempenho

1. Especificidade

A reatividade cruzada do Allplex™ 2019-nCov Assay foi testada com uso de 50 materiais e organismos padrão, conforme tabela abaixo. Os alvos específicos, que foram projetados para detecção, foram identificados pelo Allplex™ 2019-nCov Assay.

N°	Organismo	Fonte	N° do Isolado	Resultado
1	Coronavirus humano HKU1		Isolado coreano	Não Detectado
2	Coronavirus humano OC43		Isolado coreano	Não Detectado
3	Coronavirus humano NL63		Isolado coreano	Não Detectado
4	Síndrome Respiratória Aguda Grave humana, SARS		Isolado clínico	Gene E Detectado
5	Síndrome Respiratória do Oriente Médio, MERS-CoV		Isolado clínico	Não Detectado
6	Coronavirus humano 229E	ATCC	VR-740	Não Detectado
7	Virus Influenza A (H1N1)	ATCC	VR-95 (H1N1)	Não Detectado
8	Virus Influenza A (H3N2)	ATCC	VR-547	Não Detectado
9	Virus Influenza B	ATCC	VR-523	Não Detectado
10	Rinovirus humano 1	KBPV	VR-81	Não Detectado
11	Rinovirus 21	KBPV	VR-40	Não Detectado
12	Rinovirus humano tipo 90	ATCC	VR-1291	Não Detectado
13	Rinovirus humano tipo 16	ATCC	VR-283	Não Detectado
14	Rinovirus humano tipo 42	ATCC	VR-338	Não Detectado
15	Rinovirus humano tipo 8	ATCC	VR-488	Não Detectado
16	Rinovirus humano tipo 14	ATCC	VR-284	Não Detectado
17	Enterovirus humano tipo 68	ATCC	VR-1826	Não Detectado
18	Enterovirus humano tipo 70	ATCC	VR-836	Não Detectado
19	Enterovirus humano tipo 71	ATCC	VR-784	Não Detectado
20	Virus Sincial Respiratório humano A	ATCC	VR-26	Não Detectado
21	Virus Sincial Respiratório humano B	ATCC	VR-955	Não Detectado
22	Virus Parainfluenza 1	ATCC	VR-1380	Não Detectado
23	Virus Parainfluenza humano 2	ATCC	VR-92	Não Detectado
24	Virus Parainfluenza humano 3	ATCC	VR-93	Não Detectado
25	Virus Parainfluenza humano 4a	ATCC	VR-1378	Não Detectado
26	Virus Parainfluenza humano 4b	ATCC	VR-1377	Não Detectado
27	Metapneumovirus humano (MPV)	KBPV	VR-87	Não Detectado
28	Adenovirus humano 1	ATCC	VR-1	Não Detectado
29	Adenovirus humano 11	KBPV	VR-63	Não Detectado
30	Adenovirus humano 18	ATCC	VR-1095	Não Detectado
31	Adenovirus humano 23	ATCC	VR-1101	Não Detectado
32	Adenovirus humano 3	ATCC	VR-3	Não Detectado
33	Adenovirus humano 4	ATCC	VR-1572	Não Detectado
34	Adenovirus humano 8	ATCC	VR-1368	Não Detectado
35	Adenovirus humano tipo 31	ATCC	VR-1109	Não Detectado
36	Adenovirus humano tipo 40	ATCC	VR-931	Não Detectado
37	Adenovirus humano tipo 5	KBPV	VR-61	Não Detectado
38	Adenovirus humano tipo 35	ATCC	VR-718	Não Detectado
39	Bocavirus humano (HBoV)		Isolado coreano	Não Detectado
40	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 2	ATCC	33154	Não Detectado
41	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>fraseri</i> serotipo 4	ATCC	33156	Não Detectado
42	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 7	ATCC	33823	Não Detectado
43	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 10	ATCC	43283	Não Detectado
44	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 11	ATCC	43130	Não Detectado
45	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 12	ATCC	43290	Não Detectado
46	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 13	ATCC	43736	Não Detectado
47	<i>Legionella pneumophila</i> serotipo 14	ATCC	43703	Não Detectado
48	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>fraseri</i> serotipo 15	ATCC	35251	Não Detectado
49	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC	15293	Não Detectado
50	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> M129-B7	ATCC	29342	Não Detectado

2. Sensibilidade

Para detectar a sensibilidade do Allplex™ 2019-nCov Assay, foi realizada uma diluição em série de RNA de transcrição e matéria de referência (Seracare, Accuplex™ SARS-COV-2) seguida de análise com o Allplex™ 2019-nCov Assay. O limite de detecção do Allplex™ 2019-nCov Assay foi de **4.167 cópias/ml** (100 cópias de RNA/reacção).

Resolução de Problemas

Allplex™ 2019-nCov Assay












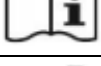


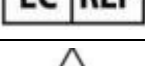


OBSERVAÇÃO	CAUSAS PROVÁVEIS	SOLUÇÃO
Ausência de sinal	Os fluoróforos para análise de dados não estão em conformidade com o protocolo	Selecionar os fluoróforos corretos para análise de dados. e exportar dados novamente. Não há necessidade de repetir o teste neste caso.
	Ajuste incorreto do termociclador em tempo real	Verificar as condições de ciclagem térmica e repetir o teste nas configurações corretas.
	Armazenamento incorreto do kit de testes ou data de validade expirada	Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (vide rótulo) do kit de teste, e usar um novo kit, caso necessário.
	Falha de extração de ácido nucleico	Ausência de sinal, incluindo de IC, pode indicar perda de ácido nucleico durante a extração. Certificar-se de estar utilizando método de extração correto. Caso a ausência seja devido a inibidores, extrair novamente a amostra original ou diluir a amostra (1/3~1/10) em solução salina e repetir o teste a partir da etapa de extração.
Ausência de sinal de Controle Interno	Alta carga de ácido nucleico do patógeno	Se o sinal do patógeno alvo for observado, mas não o de IC, então a amplificação de IC pode ter sido inibida pelo título elevado do patógeno alvo. Para confirmar o sinal de IC, diluir a amostra (1/3~1/10) em solução salina e repetir o teste a partir da fase de extração.
	Presença de inibidor de RT-PCR	Diluir a amostra (1/3 a 1/10) em solução salina e repetir o teste a partir da etapa de extração.
Suposto falso positivo ou sinais-alvo observados no Controle Negativo	Contaminação	Descontaminar todas as superfícies e instrumentos com hipoclorito de sódio e etanol. Utilizar somente pontiras com filtro ao longo do processo e trocar de pontiras entre os tubos. Repetir todo o procedimento de extração de ácido nucleico com um novo conjunto de reagentes.

Resolução de Problemas

Allplex™ 2019-nCov Assay

OBSERVAÇÃO	CAUSAS PROVÁVEIS	SOLUÇÃO
Suposto falso negativo ou ausência de sinais-alvo observados no Controle Positivo	Erro na coleta de amostra	Verificar o método de coleta de amostras e coletar novamente a amostra.
	Armazenamento incorreto de amostra	Coletar novamente a amostra e repetir o procedimento completo. Certificar-se de que a amostra está armazenada conforme recomendado.
	Erro na extração de ácido nucleico	Verificar o procedimento de extração de ácido nucleico e sua concentração e realizar nova extração.
	Erro na adição de ácido nucleico aos correspondentes tubos de PCR	Verificar os números dos tubos de amostra que contêm ácido nucleico e certificar-se de adicionar ácido nucleico aos tubos de PCR corretos, e repetir o teste cuidadosamente, caso necessário.
	Presença de inibidor	Diluir a amostra (1/3 a 1/10) em solução salina e repetir o teste a partir da etapa de extração.
	Mistura de PCR incorreta	Confirmar se todos os componentes foram adicionados à mistura de RT-PCR (a sensibilidade é comprometida por pré-mistura pré-composta). Todos os reagentes devem ser homogeneizados e centrifugados antes da utilização.
Picos na curva de amplificação em qualquer ciclo	Bolhas no tubo de PCR	Centrifugar o tubo de PCR antes da corrida.

Referência de símbolos

Símbolo	Significado
	Dispositivo de diagnóstico médico in-vitro
	Código do lote
	Número de catálogo
	Data de validade
	Limite superior de temperatura
	Mistura de oligonucleotídeos para amplificação e detecção
	Mistura de Enzimas
	Tampão
	Água livre de RNase
	Controle Positivo (PC)
	Controle Interno (IC)
	Consultar instruções de uso
	Fabricante
	Data de fabricação
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Perigo
	Contém o suficiente para <n> testes