

Instructions for use

InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP

INVITEK
diagnostics



ALS Life Sciences Portugal, S.A.
Zona Industrial de Tondela, ZIM II, Lote 6,
3460-070 Adiça - Tondela, Portugal

Phone: +351 232 817 817
info@invitek.com
invitek.com

UDI 5600236235112
REF 6010003200

Σ 100 testes

-15 °C
-25 °C

IVD

1. Finalidade prevista

O kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP é um teste de diagnóstico in vitro com tecnologia RT-LAMP, para a deteção qualitativa de duas regiões específicas do RNA de SARS-CoV-2 em amostras do trato respiratório superior (zaragatoa nasofaríngea e orofaríngea). Este kit deve ser usado como um método de rastreio para amostras de indivíduos com e sem suspeita de doença COVID-19, e como alternativa ao método de referência (PCR em tempo real) para diagnóstico de COVID-19. O teste é particularmente adequado para a deteção de SARS-CoV-2 em pessoas que estão em fase infecciosa. Os resultados do kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP representam o estado de infeção da pessoa testada à data de realização do teste. Os resultados negativos não excluem a infeção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como base única para as decisões de tratamento do paciente. Um resultado presumivelmente positivo deve ser verificado posteriormente por PCR em tempo real. O kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP é adequado ao uso em ambiente laboratorial hospitalar ou clínico. A reação RT-LAMP demora entre 30-40 minutos, dependendo do método de análise escolhido (fluorescência ou colorimetria). Este teste é indicado para o uso de amostras nativas (sem extração prévia) ou RNA extraído. A colheita das amostras deve ser realizada por profissionais de saúde habilitados para o efeito, e o kit deve ser utilizado por profissionais de saúde e técnicos de laboratório devidamente treinados e com formação específica em procedimentos de diagnóstico in vitro.

2. Princípio do método

RT-LAMP é uma técnica de transcrição reversa e amplificação de ácidos nucleicos a temperatura constante (isotérmico). À semelhança do RT-PCR, este é um teste molecular de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN), que se caracteriza por ser mais simples e rápido que a alternativa PCR. Este teste molecular rápido e high-throughput baseia-se na amplificação isotérmica a 65 °C de porções específicas do genoma viral, após um passo de conversão do genoma do vírus (RNA) em cDNA (ou DNA complementar), por transcrição reversa. O kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP foi desenvolvido com o intuito de detetar especificamente todas as variantes atualmente conhecidas de SARS-CoV-2, sem apresentar reação cruzada com outros vírus relacionados ou patogénicos respiratórios comuns. As regiões alvo escolhidas são regiões altamente conservadas do genoma do SARS-CoV-2, correspondentes ao gene Nsp3 localizado na região ORF1ab e ao gene N. A escolha das regiões alvo está de acordo com as recomendações fornecidas pela Organização Mundial de Saúde (OMS), Centro de Controlo de Doenças (CDC) e Direção Geral de Saúde (DGS). Os dois genes alvos são amplificados simultaneamente na mesma mistura reacional (em multiplex). Durante a amplificação, o intercalador de DNA fluorescente, presente na mistura reacional, liga-se aos produtos de amplificação levando à emissão de fluorescência. Este sinal de fluorescência pode ser monitorizado a cada minuto num instrumento apropriado: termociclador de PCR ou leitor de placas de fluorescência com canal FAM/SYBR Green (495 nm ± 15). Adicionalmente, a presença de RNA viral e consequente amplificação resulta numa reação química que leva à alteração colorimétrica visível da mistura reacional de incolor para azul turquesa, enquanto que as amostras negativas se mantêm incolores, permitindo a análise a olho nu dos resultados. O kit foi validado para utilização com amostras nativas sem necessidade prévia de extração de RNA, sendo as amostras adicionadas diretamente à mistura reacional. Alternativamente, o kit pode também ser utilizado com RNA extraído de amostras clínicas.

3. Conteúdo do kit

REF.	COMPONENTES	COLOR DA TAMPA	QUANTIDADES
COV09	Reaction Mix	●	1 tubo, 1.5 mL
COV10	Stabilization Solution	●	1 tubo, 5 mL
COV11	Positive Control	●	1 tubo, 0.1 mL
COV12	Negative Control	○	1 tubo, 0.1 mL

4. Armazenamento

Os reagentes devem ser armazenados selados a -20 ± 5 °C e abrigados da luz. O estudo das condições de estabilidade do kit revela que o kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP na sua embalagem original, cumprindo as especificações recomendadas para armazenamento, uso e transporte, é estável até à data de validade especificada na embalagem e esta não deverá ser excedida. Manusear todos os reagentes em refrigeração e evitar ciclos de congelação/descongelação (>3x) correndo o risco de comprometer a sensibilidade do ensaio.

5. Equipamento e material necessários (não fornecidos)

- Kit de extração de RNA viral (opcional)
- Strips ou tubos de 0.2 mL transparentes (tubos reacionais de PCR)
- Vortex
- Mini centrífuga
- Micropipetas (volume fixo ou variável de 5 µL) e pontas com filtro
- Banho seco/termobloco com termostato regulável a 65 °C e 95 °C e compatíveis com tubos de 0.2 mL e tubos de colheita de zaragatoa (opcional)
- Termociclador de PCR em tempo real com canal FAM/SYBR Green (alternativa)

6. Advertências e/ou precauções a adotar

- Ler cuidadosamente as instruções de utilização antes de usar o kit. Este produto é um dispositivo médico destinado ao diagnóstico in vitro. O kit deve ser utilizado de acordo com as Boas Práticas de Laboratório.
- O ensaio deve ser realizado por pessoal competente e qualificado em técnicas laboratoriais de biologia molecular aplicadas ao diagnóstico.
- O teste InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP destina-se à deteção de RNA viral de SARS-CoV-2, e não se destina a ser utilizado para a deteção de quaisquer outros vírus ou organismos.
- As amostras biológicas devem ser manuseadas como sendo infecciosas, seguindo as devidas precauções de biossegurança de acordo com os requisitos e/ou da legislação aplicável.
- O kit deve ser transportado e armazenado a -20 ± 5 °C. Antes do uso, os componentes do kit devem ser totalmente descongelados, agitados e centrifugados. Evitar congelar e descongelar repetidamente os reagentes do kit. Não utilizar o kit nem nenhum dos seus componentes após a data de validade.
- As amostras nativas devem ser inativadas a 95 °C. Caso não seja possível, o utilizador deve utilizar um kit de extração de RNA viral.
- Recomenda-se distribuir a mistura reacional cuidadosamente em ambiente controlado, de preferência em zona livre de ácidos nucleicos e nucleases. A adição do controlo positivo e do RNA da amostra deve ser realizada preferencialmente em sala separada.
- A leitura dos resultados pelo método colorimétrico deve ser efetuada no suporte de leitura fornecido, num local bem iluminado, mantendo na posição vertical e ao nível dos olhos.
- Utilizar sempre luvas e pontas estéreis com filtro.
- Evitar a formação aerossóis.
- Não usar componentes de outros lotes.
- Descartar os tubos imediatamente após término do teste em recipiente de risco biológico adequado. Não abrir os tubos reacionais para prevenir a contaminação e surgimento de falsos positivos.
- Descartar as amostras e restos de reagentes de acordo com as diretivas de segurança locais e legislação aplicável.

7. Tipo de amostra, colheita, armazenamento e transporte

O kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP foi validado para utilização com amostras colhidas do trato respiratório superior humano, com e sem extração de RNA, de acordo com as instruções fornecidas pela DGS (Orientação nº 15/2020). As amostras devem ser colhidas em tubos estéreis, contendo 5 mL de solução

Instructions for use

InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP

INVITEK
diagnostics



salina isotónica (soro fisiológico, NaCl 0.9%), refrigeradas a ~2-8 °C e processadas em 24h. A utilização de meio de transporte viral ou outro meio de colheita similar pode ser usado, no entanto a sua composição pode influenciar os resultados do teste e o seu uso deverá ser validado previamente pelo utilizador.

8. Procedimento de ensaio

I. Distribuição das reações

Permitir que todos os reagentes descongelem lentamente a temperatura ambiente ou a 4 °C. Após a descongelação completa, agitar gentilmente cada tubo no vortex e centrifugar brevemente os tubos correspondentes aos componentes Positive Control e Negative Control. Distribuir uma gota (15 µL) de Reaction Mix (conta-gotas de tampa verde) pelos tubos reacionais, mantendo o conta-gotas sempre na vertical. Para cada ensaio é necessário incluir dois tubos reacionais adicionais para os controlos positivo e negativo (nº de tubos reacionais necessários = nº de amostras + 2). No caso da amostra utilizada ser RNA extraído, o utilizador pode incluir um tubo adicional para o controlo de extração.

Nota: a utilização do conta-gotas Reaction Mix deve ser feita impreterivelmente na vertical uma vez que a utilização inadequada pode levar a que as reações tenham volumes variáveis e consequentemente afete a eficiência e sensibilidade do teste.

É recomendado distribuir a totalidade do volume da Reaction Mix após abertura do kit e guardar a -20 °C, mantendo os tubos fechados, devidamente armazenados e abri-los apenas imediatamente antes de adicionar as amostras.

II. Preparação das amostras

IIa. Amostras nativas (sem extração/purificação)

As amostras nativas devem ser colhidas em 5 mL de solução salina isotónica (soro fisiológico, NaCl 0.9%). Após colheita, adicionar 1 gota (50 µL) do reagente Stabilization Solution e agitar gentilmente. Inativar a amostra incubando num termobloco ou equipamento equivalente durante 5 minutos a 95 °C.

IIb. RNA extraído de amostras nativas

Alternativamente, o teste pode ser realizado usando RNA extraído de amostras clínicas. A escolha do kit de extração de RNA viral é da responsabilidade do utilizador, devendo ser previamente validado.

Nota: no caso de uso de extratos de RNA, não adicionar o reagente Stabilization Solution às amostras nativas, nem ao extrato de RNA.

III. Amplificação RT-LAMP

IIIa. Método colorimétrico

Adicionar 5 µL de amostra (lisado nativo inativado ou RNA extraído) a cada tubo reacional. Incluir pelo menos uma reação de controlo positivo e uma de controlo negativo no planeamento da análise, substituindo os 5 µL de amostra por 5 µL do respetivo controlo. Incubar num termobloco ou equipamento equivalente a 65 °C durante 40 minutos. No caso de ser utilizado um termociclador de PCR, deve ser programado um ciclo com temperatura a 65 °C e duração de 40 minutos, com um volume de reacional de 20 µL. No final do período de incubação, as amostras devem ser retiradas do equipamento e guardadas a temperatura ambiente para análise de resultados.

IIIb. Método fluorimétrico

Adicionar 5 µL de amostra (lisado nativo inativado ou RNA extraído) a cada tubo reacional, seguido de 5 µL de controlo positivo e 5 µL de controlo negativo aos tubos respetivos. Incluir pelo menos uma reação de controlo positivo e uma de controlo negativo no planeamento da análise, substituindo os 5 µL de amostra por 5 µL do respetivo controlo. Volume reacional final de 20 µL.

Programar o termociclador de PCR em tempo real de acordo com o protocolo na tabela abaixo:

TEMPERATURA	DURAÇÃO	Nº DE CICLOS
65°C	60 Seg + plate read (FAM/SYBR Green)	30

IV. Interpretação de Resultados

IVa. Método colorimétrico

Um resultado é considerado positivo se após 40 minutos de incubação a amostra apresentar coloração azul turquesa (ver Esquema). Na ausência de coloração, o resultado deve ser considerado negativo. Amostras com baixa carga viral, ou positivos fracos, podem originar uma coloração azul ténue. Nestes casos a amostra pode ser incubada por 10-20 minutos adicionais. Caso não haja alteração de cor, a análise deve ser repetida ou o resultado positivo presuntivo confirmado pelo método de referência (PCR em Tempo Real).

Nota: no caso de serem utilizadas amostras nativas colhidas em meio de transporte viral ou similar, é possível que se desenvolva uma coloração diferente do expectável. Nestes casos, amostras positivas podem apresentar uma coloração azul-violeta, e amostras negativas podem apresentar uma coloração rosa.

IVb. Método fluorimétrico

Os resultados devem ser interpretados utilizando o software de análise recomendado pelo fabricante do equipamento de PCR em tempo real utilizado. Depois de definir a linha de base (threshold baseline), o resultado da análise deve ser interpretado tendo em conta o tempo de positividade (Tp), i.e., tempo necessário para observar um sinal de amplificação. Uma vez que cada ciclo de leitura corresponde a 1 minuto, o Tp coincide com o valor de Ct. Um resultado é positivo quando $Tp \leq 25$. Quando obtido um valor de Tp superior a 25, recomenda-se a repetição do teste e/ou da colheita da amostra biológica.

9. Controlo de Qualidade

O ensaio apenas pode ser considerado válido nas seguintes condições: controlo positivo deve apresentar coloração azul turquesa e valor de Tp inferior a 20; controlo negativo não deve apresentar coloração nem amplificação de fluorescência detetável. Os controlos negativo e positivo servem de calibradores do kit e devem ser utilizados em todos os ensaios. Caso não se verifiquem todos os critérios acima, o teste é considerado inválido. Neste caso, as condições dos equipamentos, reagentes e protocolo devem ser verificados e o ensaio repetido.

10. Limitações ao Método

a. O correto desempenho do kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP requer colheita, transporte, armazenamento e preparação de amostras de forma adequada e tendo em conta as Instruções de Uso. As amostras nativas adequadas correspondem a zaragatoas orofaríngeas e nasofaríngeas recolhidas em solução salina isotónica (soro fisiológico, NaCl 0.9%). Outras que não as descritas podem não ser adequadas e gerar resultados falsos positivos ou falsos negativos. As características de desempenho só foram estabelecidas com os tipos de amostra descritos na secção "Finalidade Prevista". Não foram avaliadas as características de desempenho do ensaio com outros tipos de amostras. Os resultados do teste são apenas para referência clínica, não podendo ser usados como único critério para o diagnóstico ou exclusão de casos. O diagnóstico clínico e o tratamento dos pacientes devem ser combinados com os seus sintomas, sinais, histórico médico, exames laboratoriais, entre outros.

b. Um resultado de teste negativo não exclui a possibilidade de uma infeção por SARS-CoV-2, uma vez que os resultados podem ser afetados pela colheita de amostra inadequada, inibição da reação, erro técnico, mistura de amostras, ou cargas virais abaixo da sensibilidade do ensaio (relativamente ao período da infeção em que a amostra é recolhida). Por outro lado, um resultado negativo não exclui o início de uma infeção com carga viral baixa, inferior ao limite de deteção do método. O kit não contém um sistema de controlo interno para controlo do processo de extração de RNA, ou para detetar uma possível inibição da reação de RT-LAMP. A presença de inibidores pode levar a resultados inválidos. A variabilidade das sequências das regiões alvo em variantes clínicas previamente desconhecidas pode levar a resultados falsos negativos.

c. Os resultados do teste são apenas para referência clínica, não podendo ser usados como único critério para o diagnóstico ou exclusão de casos. O diagnóstico clínico e o tratamento dos

Instructions for use

InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP

INVITEK
diagnostics



pacientes devem ser combinados com os seus sintomas clínicos, histórico médico, exames laboratoriais, entre outros. No caso de existirem, o agravamento de sintomas deverá ser seguido da realização de novo teste. Devido às diferenças de sensibilidade inerentes às técnicas, uma amostra pode ser positiva por PCR em tempo real e negativa por RT-LAMP. As características de desempenho foram obtidas com amostras clínicas que apresentavam um $Ct \leq 30$. Devem ser seguidas todas as instruções de utilização no que diz respeito à análise de resultados.

d. O teste permite a detecção de RNA do vírus SARS-CoV-2 presente até um limite de 10 cópias/μL. Os resultados positivos não excluem infecção por outros agentes bacterianos ou virais. Os resultados negativos não excluem a presença de infecção por SARS-CoV-2 tendo em conta a janela temporal em que o material genético do vírus é detetável, e deve ser combinado com outras informações clínicas e epidemiológicas do paciente para auxiliar o diagnóstico.

e. Podem ocorrer resultados falsos positivos devido a contaminações indevidas durante a preparação das amostras e preparação das misturas reacionais. O ensaio LAMP é particularmente suscetível à contaminação não intencional das reações ao abrir os tubos, especialmente com outras amostras antes da amplificação.

11. Características de Desempenho

Precisão: A precisão do kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP foi determinada com base na variabilidade intra-ensaio (variabilidade de amostras com a mesma concentração num ensaio), na variabilidade inter-ensaio (variabilidade devida à utilização de diversos equipamentos e operadores do mesmo laboratório) e na variabilidade inter-lote (variabilidade devida à utilização de diferentes lotes). A variabilidade total foi calculada através da combinação das três análises. Os dados de variabilidade são expressos através do desvio padrão e do coeficiente de variação, com base nos valores de tempo de positividade (T_p) e na observação colorimétrica. Foram realizados pelo menos seis replicados por amostra, utilizando diluições sucessivas do material de referência positivo em concentrações finais de 1×10^5 e 1×10^2 cópias/μL. Os coeficientes de variação médios globais dos valores de T_p para as três variabilidades analisadas são inferiores 10%.

Exatidão: A exatidão do kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP foi comparada com um kit comercial disponível baseado no método de referência para a determinação da presença de SARS-CoV-2 em amostras clínicas. Foram realizadas 155 análises com amostras nativas, das quais 74/77 positivas e 79/81 negativas, traduzindo-se numa sensibilidade de 96,1% e especificidade de 97,5%. Paralelamente, foram realizadas 134 análises a partir de RNA extraído, tendo-se detetado 67/68 positivos e 66/66 negativos, traduzindo-se numa sensibilidade de 98,6% e especificidade de 100%.

Reatividade cruzada (exclusividade): A especificidade do InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP é, em primeiro lugar, garantida através da seleção dos primers, assim como da otimização das condições reacionais. A exclusividade analítica foi avaliada por análise in silico usando sequências depositadas no GenBank de organismos patogénicos evolutivamente próximos do SARS-CoV-2 e de patogénicos que causam infeções com sintomas semelhantes ao SARS-CoV-2. Nenhuma reatividade cruzada in silico foi encontrada para os organismos da lista recomendada, tais como Coronavírus humano 229E, Adenovírus (e.g. C1 Ad. 71), Coronavírus humano OC43, Metapneumovírus humano (hMPV), Coronavírus humano HKU1, Vírus Parainfluenza 1-4, Coronavírus humano NL63, Gripe A, B & C, SARS-coronavírus, Enterovírus (e.g. EV68), MERS-coronavírus, Rhinovírus, *Chlamydia pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Bordetella pertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Pneumocystis jirovecii* (PJP), *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus salivarius*, *Staphylococcus aureus* e *Legionella pneumophila*. Paralelamente, foi realizada uma avaliação in vitro para a determinação da especificidade com um grupo controlo de patogénicos (não detetados pelo kit) que podem estar associados a amostras respiratórias clínicas. Nenhum dos agentes patogénicos testados apresentou reatividade cruzada, tais como Infectious Bronchitis Virus (D388 strain), Infectious

Bronchitis Virus (1/96 strain), Porcine circovirus 2, Porcine reproductive and respiratory syndrome (Leystad Virus - EU strain), Porcine reproductive and respiratory syndrome (VR-2332 - US strain), Infectious Bursal disease Virus (D78 strain), Infectious Bursal disease Virus (W2512 strain), Avian rhinotracheitis (ART), Infectious laryngotracheitis (ILT), Adenovirus, Escherichia coli (NCTC 9001), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Legionella pneumophila* (ATCC 33152), *Mycoplasma synoviae*, *Klebsiella pneumoniae* (MR35 isolate), Hepatovirus A (HAV) e Norovirus do Grupo I e II.

Especificidade analítica (inclusividade): O kit InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP foi desenhado para a detecção de sequências de RNA viral de SARS-CoV-2. O alinhamento das regiões genómicas utilizadas como alvos (Nsp3 e N), bem como as sequências dos primers, foi efetuado com todas as sequências de isolados clínicos de SARS-CoV-2 disponíveis na base de dados da NCBI GenBank à data de 27 de Maio de 2021, usando a ferramenta BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) de maneira a demonstrar a inclusividade estimada da detecção. Para ambos os genes alvo, obteve-se 100% de correspondência para todas as sequências testadas.

Sensibilidade analítica e limite de deteção: O limite de deteção (LoD) foi determinado utilizando diluições sucessivas do material de referência preparado como descrito no ponto a. O material de referência positivo (quantificado por ddPCR) foi diluído sucessivamente, de tal forma que na diluição mais baixa (concentração mais alta, 1×10^5 cópias/μL) todos os resultados são positivos (para todos os genes alvo) e na diluição seguinte possam existir resultados positivos e resultados negativos. Na última diluição (concentração mais baixa, 1 cópias/μL é esperado que todos os resultados ou grande parte tenham resultados negativos. A determinação do LoD estimado foi realizada com três lotes de reagentes distintos, em pelo menos 20 replicados independentes de cada diluição. O LoD foi estabelecido como sendo de 10 cópias/μL, considerando um grau de confiança de 95%.

Reprodutibilidade: Foram realizados 7 replicados da diluição do material de referência interno positivo numa concentração de 1×10^5 cópias/μL, durante 2 dias consecutivos, em 2 equipamentos diferentes, com 2 lotes distintos e realizados por 2 operadores diferentes, num total de 56 observações e um coeficiente de variação médio global igual a 4,40%, demonstrando a reprodutibilidade do kit.

Rastreabilidade metrológica dos valores de calibradores e materiais de controlo: De acordo com a ISO 17511:2020, o material de referência disponibilizado no kit não carece de rastreabilidade metrológica. Este destina-se a ser usado apenas para fins de controlo de qualidade interno em laboratórios médicos e é fornecido com intervalos de valores aceitáveis sugeridos que não são metrologicamente rastreáveis a componentes do sistema de referência de ordem superior.

12. Referências

- [1] Norma 15/2020 da Direção Geral de Saúde. Disponível online em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-015202-0-de-24072020-pdf.aspx>
- [2] Comunicação da Comissão Europeia – Orientações sobre os testes de diagnóstico in vitro para a COVID-19 e respetivo desempenho (2020/C 122 1/01)
- [3] World Health Organization (WHO) - Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. Disponível online em <https://www.who.int/publications/item/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>
- [4] Avaliação rápida dos riscos: Pandemia da doença do coronavírus 2019 (COVID-19): aumento da transmissão na UE/EEE e UK – oitava atualização. Disponível online em <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/rapid-risk-assessment-coronavirus-di-sease-2019-covid-19-pandemic-eighth-update>
- [5] Thompson, Dorian; Lei, Y. (2020). Mini review: Recent progress in RT-LAMP enabled COVID-19 detection. *Sensors and Actuators Reports*, 2(1), doi: 10.1016/j.snr.2020.100017
- [6] Notomi, T., et al. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), doi: 10.1093/nar/28.12.e63



invitek.com

DE 802.03
22-05-2023

Instructions for use

InviScreen® SARS-CoV-2 RT-LAMP

INVITEK
diagnostics

INL
INTERNATIONAL IBERIAN
NANOTECHNOLOGY
LABORATORY

13. Tabela de Símbolos

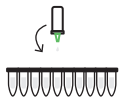
	Identificador único do dispositivo
	Dispositivo de diagnóstico médico in vitro
	Número de catálogo
	Código de lote
	Manter seco
	Controlo positivo
	Controlo negativo
	Limite de temperatura
	Consultar instruções para utilização
	Fabricante
	Usar até
	Suficiente para
	Marcação CE
	Manter fora do alcance da luz solar (Primer/Probe Mix)

I. Distribuição de Reações

- 1 DESCONGELAR OS REAGENTES DO KIT LENTAMENTE



ADICIONAR UMA GOTTA DO REACTION MIX EM CADA TUBO

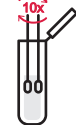


IIa. Preparação de Amostras - Amostra Nativa

- 2 RECOLHER UMA AMOSTRA DO TRATO RESPIRATÓRIO HUMANO



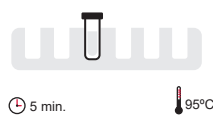
- 3 GIRAR A ZARAGATOA 10X



- 4 ADICIONAR UMA GOTTA DE STABILIZATION SOLUTION



- 5 INATIVAR A AMOSTRA

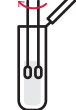


IIb. Preparação de Amostras - Extrato de RNA

- 2 RECOLHER UMA AMOSTRA DO TRATO RESPIRATÓRIO HUMANO

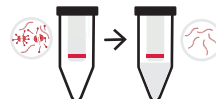


- 3 GIRAR A ZARAGATOA 10X



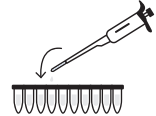
NÃO NECESSITA ADICIONAR STABILIZATION SOLUTION

- 5 EXTRAIR O RNA VIRAL



III. Transferência de Amostras

- 6 ADICIONAR 5 µL DE AMOSTRA A CADA TUBO REACIONAL



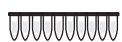
ADICIONAR 5 µL DE CONTROLOS POSITIVO E NEGATIVO



IV. Amplificação RT-LAMP

IVa. Método colorimétrico

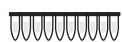
- 7 INCUBAR NUM TERMOBLOCO OU EQUIVALENTE



40 min. 65°C

IVb. Método fluorimétrico

- 7 INCUBAR NUM TERMOCICLADOR DE PCR EM TEMPO REAL

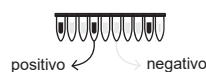


30 min. 65°C

V. Interpretação de Resultados

Va. Método colorimétrico

- 8 AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO DE COR A OLHO NU



Vb. Método fluorimétrico

- 8 DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE Tp

