



SISTEMA DE DETECÇÃO DE COVID-19 POR MICROCHIP EM RT-PCR

A doença de coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença infecciosa causada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus 2(SARS-CoV-2), também conhecido como novo coronavírus de 2019 (2019-nCoV). Desde que a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o surto de coronavírus como pandêmico, há uma necessidade extrema de sua detecção com precisão, rapidez e economia. O método padrão de teste é a reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa em tempo real (RT-PCR) realizada em amostras respiratórias, como zaragatoa nasofaríngea ou orofarínge, saliva, aspirados do trato respiratório inferior, lavagem broncoalveolar e, lavagem/ aspiração nasofaríngea.

O Centro para Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (CDC) projetou ensaios de RT-PCR e publicou um protocolo para detecção de SARS-CoV-2. A Integrated DNA Technologies, Inc. (IDT) fornece primers-probes para os ensaios de 2019-nCoV.

Para obter rapidez, ótima relação custo-benefício, minimização do consumo de reagentes e diminuição de erros humanos, a Lumex Instruments desenvolveu um **Sistema de detecção de COVID-19 por Microchip em RT-PCR** que usa um kit de microchips pré-carregados com os primers e probes recomendados pelo CDC liofilizados no microchip para teste do SARS-CoV-2, como aplicação de uso apenas em pesquisa (RUO, research use only , em inglês). Os primer-probes N1 e N2 têm como alvo regiões do gene da nucleocápside SARS-CoV-2 (N) e HsRPP30 tem como alvo o gene da RNase P presente no genoma humano.

CARACTERÍSTICAS e BENEFÍCIOS:

- Os atuais ensaios de PCR em tempo real e os instrumentos de PCR consomem grande volume de reagentes (20 µl/reacção). O teste pode ser caro e sofrer um potencial gargalo no fornecimento de reagentes e consumíveis em caso de surtos de doenças.
- As principais vantagens do sistema de detecção de COVID-19 por Microchip em RT-PCR são o baixo consumo de reagente (1,2 µl/ reacção), análise rápida, transporte sob condições ambientais e simplificado processo de análise por PCR.
- O sistema de detecção de COVID-19 por Microchip em RT-PCR fornecerá detecção sensível, específica e rápida do RNA viral SARS-CoV-2 utilizando menos reagente.
- A facilidade de uso com reagentes liofilizados de PCR nos microchips melhorará significativamente a confiabilidade da análise em configurações de resposta rápida, reduzindo os erros associados ao operador.
- O sistema de detecção de COVID-19 por Microchip em RT-PCR - compacto e com baixo consumo de energia - está pronto para ser implantado como rede de ponto de análises.
- A detecção precoce de patógenos irá minimizar as perdas econômicas devido a surtos. Essa tecnologia ajudaria a manter a saúde pública e a melhorar a eficácia das medidas de quarentena. Os kits de microchip podem ser projetados para aplicações específicas de patógenos em surtos futuros.



PROGRAMA DE USO SIMPLIFICADO E INTUITIVO

Projetado para adquirir dados de PCR em tempo real e permite etapas de operação simplificadas. Oferece interpretação automática dos resultados, permite análise manual de dados e imprime relatório em conformidade com os requisitos da 21 CFR parte 11.

DETECÇÃO POR FLUORESCÊNCIA

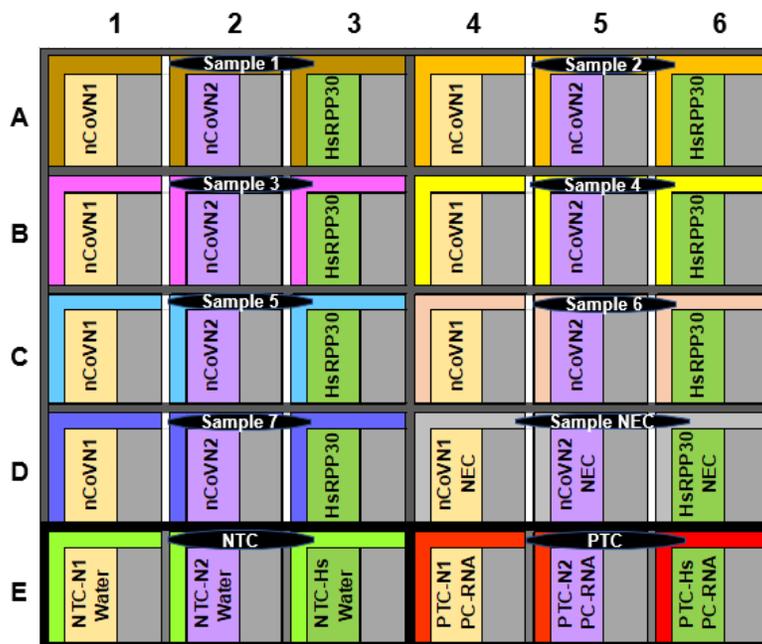
Dois canais de detecção do analisador AriaDNA relatam os seguintes painéis de destinos:

Canal 1 (FAM)	1. Gene SARS-CoV-2 N: N1;
---------------	---------------------------



	2. Gene SARS-CoV-2 N: N2, e 3. Gene humano RNase P: HsRPP30 (Controle Interno)
Canal 2 (Cy5)	Não empregado pelo kit

CONFIGURAÇÃO DO MICROCHIP



Panel de teste:

- nCoV N1 (SARS-CoV-2 N1)
- nCoV N2 (SARS-CoV-2 N2)
- HsRPP30 (Controle Interno)

Controls:

- NEC (Controle de extração negativa)
 - Executar NEC com a amostra
- PTC (Controle de padrão positivo)
 - Executar com SARS-CoV-2 RNA
- NTC (Sem controle de padrão)
 - Executar com água livre de nuclease

Número de amostras por chip:

- 7 amostras de pacientes

GRÁFICO DO FLUXO DE ANÁLISE

- 1. Microchips pré-carregados:** Exige uma compra separada dos seguintes kits para executar o teste:
 - a. Kit de extração de RNA:** Para a extração do RNA viral de amostras do trato respiratório superior (cotonetes/ swabs), use o Mini kit QIAamp Viral RNA, disponível em: <https://www.qiagen.com/ca/products/diagnostics-and-clinical-research/sample-processing/qiaamp-viral-rna-mini-kit/> ou o kit de purificação Norgen Biotek Total RNA Purification Kit, disponível em: <https://norgenbiotek.com/product/total-rna-purification-kit>
 - b. Solução de Master Mix:** Os master mixes Quantabio qScript™ XLT One-Step RT-qPCR ToughMix ou Promega GoTaq Probe 1-Step RT-qPCR System são recomendados. O consumo do Master Mix por amostra será reduzido 10 vezes em comparação com os volumes recomendados para o PCR convencional.
- 2. Procedimento de teste:** Misture o RNA extraído da amostra os reagentes requeridos e, em seguida, coloque esta mistura no microchip seguindo o procedimento do manual de instruções fornecido com os microchips. Em seguida, insira o microchip no analisador AriaDNA e execute a análise com um protocolo predefinido em um computador.
- 3. Taxa estimada de consumo de microchips:** 7 microchips por dia por instrumento (turno de trabalho de 8h), ou seja, 56 amostras por turno de trabalho. Uma quantidade razoável de pedido para 1 instrumento para 1 mês é 200 microchips (8 caixas). Quantidades maiores de microchips podem ser solicitadas, de acordo com a necessidade do cliente.

RESULTADOS

- Obtenha resultados de RT-PCR em tempo real e imprima o relatório em 50 minutos.
- Limite de detecção igual a $2,6 \times 10^2$ cópias em 1 mL de amostra.



Apenas para uso em pesquisa (RUO): Resultados positivos não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gerenciamento do paciente. Os resultados positivos são indicativos de infecção ativa com 2019-nCoV, desde que outras observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas estejam alinhadas com os resultados. Resultados positivos não descartam infecção bacteriana ou co-infecção com outros vírus. O agente detectado pode não ser a causa definitiva da doença. Os resultados negativos não impedem a infecção 2019-nCoV e não devem ser usados como única base para o tratamento ou outras decisões de gerenciamento de pacientes. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas.

As informações e especificações desta publicação estão sujeitas a alterações sem aviso prévio. Para obter informações mais específicas, entre em contato com o representante da Lumex Instruments pelo e-mail: sales@lumexinstruments.com

