

Aptima™ SARS-CoV-2/Flu Assay (Panther™ System)

Apenas para fins de diagnóstico *in vitro*

Exclusivamente para exportação dos EUA.

ÍNDICE

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes	6
Colheita e conservação de espécimes	7
Processamento de espécimes	8
Conservação de amostras	11
Transporte de espécimes	11
Panther System	12
Reagentes e materiais fornecidos	12
Materiais necessários, mas disponíveis em separado	13
Procedimento de teste no Panther System	14
Notas sobre o procedimento	17
Controlo de qualidade	19
Interpretação de resultados	19
Limitações	20
Desempenho do Panther SARS-CoV-2/Flu Assay	21
Bibliografia	27

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay é um teste de diagnóstico *in vitro* de sonda de ácido nucleico de amplificação do alvo destinado à detecção qualitativa e à diferenciação do RNA do vírus SARS-CoV-2, do vírus influenza A (Gripe A) e do vírus influenza B (Gripe B) isolado e purificado de esfregaço nasofaríngeo, orofaríngeo, nasal e do corneto médio ou espécimes de lavado/ aspirado nasofaríngeo e aspirado nasal obtidos de indivíduos com sinais e sintomas de uma infecção do trato respiratório ou que cumpram os critérios clínicos e/ou epidemiológicos para a COVID-19. Os sinais e sintomas clínicos de infecções respiratórias virais devido a SARS-CoV-2 e influenza podem ser semelhantes.

Os resultados destinam-se a identificar o RNA do SARS-CoV-2 e dos vírus da Gripe A e da Gripe B. O RNA do SARS-CoV-2 e dos vírus da Gripe A e da Gripe B é geralmente detetável em espécimes do trato respiratório superior durante a fase aguda da infecção. Os resultados positivos indicam a presença de RNA do SARS-CoV-2 e dos vírus da Gripe A ou B; é necessária correlação clínica com a história do paciente e outras informações de diagnóstico para determinar o estado infeccioso do paciente. Os resultados positivos não excluem infecção bacteriana ou coinfeção por outros vírus. O agente detetado pode não ser a causa definitiva da doença.

Os resultados negativos não excluem a presença de infecção por SARS-CoV-2, Gripe A ou Gripe B e não devem ser usados como o único fator para a tomada de decisões de gestão de pacientes. Os resultados negativos devem ser combinados com outras observações clínicas, história do paciente e informações epidemiológicas.

O Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay no Panther™ e Panther Fusion™ System destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório clínico com formação e com instruções e formação específicas sobre o funcionamento do Panther e Panther Fusion System e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

Resumo e explicação do teste

A influenza (gripe) e a COVID-19 são ambas doenças respiratórias contagiosas, mas são causadas por vírus diferentes. A COVID-19 é causada por infecção por um novo coronavírus (denominado SARS-CoV-2) e a gripe é causada por infecção por vírus influenza. Como alguns dos sintomas da gripe e da COVID-19 são semelhantes, poderá ser difícil distingui-las apenas com base nos sintomas.¹

A gripe é uma doença respiratória contagiosa causada por vírus influenza. Pode causar doença ligeira a grave. Os desfechos graves da infecção por gripe podem resultar em hospitalização ou morte. Algumas pessoas, como os idosos, crianças pequenas e pessoas com determinadas condições de saúde, apresentam um risco elevado de sofrerem complicações graves devido à gripe. Existem dois tipos principais de vírus da gripe: os tipos A e B. Os vírus da gripe A e B que se disseminam rotineiramente nas pessoas (vírus influenza humano) são responsáveis pelas epidemias sazonais de gripe todos os anos.²

Normalmente, os sinais e sintomas da gripe surgem de forma repentina. As pessoas que estão doentes com gripe podem ter febre ou sentir-se febris/com arrepios, tosse, garganta inflamada, rinorreia ou nariz entupido, dores musculares ou corporais, dores de cabeça, fadiga e algumas pessoas podem ter vômitos e diarreia, embora estes sejam mais frequentes nas crianças do que nos adultos.³

Os coronavírus são uma extensa família de vírus que podem causar doenças a animais ou a seres humanos. Nos seres humanos, diversos coronavírus são conhecidos por causarem infecções respiratórias variando desde a constipação comum até doenças mais graves, como Síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS) e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS). O coronavírus descoberto mais recentemente, o SARS-CoV-2, causa a doença por coronavírus associada, a COVID-19. Este novo vírus e a doença eram desconhecidos antes do surto, em Wuhan, China, em dezembro de 2019.³

As pessoas com COVID-19 têm relatado uma ampla variedade de sintomas, desde sintomas ligeiros até doença grave. Os sintomas podem surgir 2 a 14 dias após a exposição ao vírus. As pessoas com COVID-19 podem apresentar febre ou arrepios, tosse, falta de ar ou dificuldade em respirar, fadiga, dores musculares ou corporais, dores de cabeça, perda recente do paladar e do olfato, garganta inflamada, nariz congestionado ou rinorreia, náuseas ou vômitos e/ou diarreia.⁵

O vírus que causa a COVID-19 está a infetar pessoas e a transmitir-se facilmente de pessoa para pessoa. No dia 11 de março de 2020, o surto de COVID-19 foi caracterizado como uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS).^{3,5}

Princípios do procedimento

O Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay combina as tecnologias de captura do alvo, amplificação mediada por transcrição em tempo real (RT-TMA) e deteção em tempo real de produtos da amplificação utilizando torches marcados por fluorescência.

Os espécimes são colhidos e transferidos para os respetivos tubos de transporte de espécimes. As soluções de transporte desses tubos libertam o RNA alvo e impedem a respetiva degradação durante o armazenamento. Quando o Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay é efetuado no laboratório no Panther System, é adicionado um ácido nucleico do controlo interno (IC) a cada reação dos espécimes, e o IC juntamente com as moléculas do RNA alvo são isolados dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Utiliza-se um oligómero de captura individual para cada alvo. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas da sequência dos oligómeros de captura ligam-se a regiões específicas das moléculas alvo. O complexo oligómero de captura:alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo capturadas ligadas às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da reação da amplificação. Concluídos os passos de captura do alvo, os espécimes estão prontos para a amplificação.

Os ensaios de amplificação do alvo baseiam-se na capacidade que os "primers" oligonucleótidos complementares têm de se hibridar especificamente e de permitir a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico do alvo e do IC. O Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay replica regiões específicas do RNA do SARS-CoV-2 e dos vírus da Gripe A e da Gripe B através de produtos intermediários do DNA. A deteção é conseguida utilizando torches de ácidos nucleicos de cadeia simples, presentes durante a amplificação do alvo, e que se

hibridam especificamente com o produto da amplificação em tempo real. Cada torch tem um fluoróforo e um agente de extinção. Quando o torch não é hibridado com o produto da amplificação, o agente de extinção fica em estreita proximidade com o fluoróforo e suprime a fluorescência. Quando o torch se liga ao produto da amplificação, o agente de extinção é ainda mais afastado do fluoróforo e emite um sinal num determinado comprimento de onda quando excitado por uma fonte de luz. À medida que uma maior quantidade de torches se hibrida com o produto da amplificação, é gerado um sinal de fluorescência mais elevado. Os fluoróforos associados aos alvos virais e aos alvos do IC emitem luz a diferentes comprimentos de onda, permitindo assim que estes alvos sejam distinguidos entre si. Os sinais fluorescentes gerados pela amplificação são medidos por fluorômetros e depois utilizados pelo sistema para gerar resultados qualitativos.

O Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay amplifica e deteta duas regiões conservadas do gene ORF1ab na mesma reação para o SARS-CoV-2, uma região do gene Matriz para a Gripe A e uma região do gene Matriz para a Gripe B. Para a detecção, ambos os alvos do gene do SARS-CoV-2 são reportados no canal fluorescente FAM, o alvo da Gripe A é reportado no canal fluorescente ROX e o alvo da Gripe B é reportado no canal fluorescente HEX do Panther System. As duas regiões do alvo do SARS-CoV-2 não são diferenciadas e a amplificação de qualquer uma ou de ambas as regiões leva a um sinal de RFU. Os resultados do ensaio de todos os alvos são determinados por fluorescência e "cut-offs" de emergência.

Advertências e precauções

- A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.
- B. Este procedimento só deve ser feito por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.
- C. Manuseie e processe todos os espécimes como potencialmente infecciosos, seguindo as práticas e os procedimentos laboratoriais básicos das boas práticas e procedimentos de microbiologia (GMPP). Consulte as Orientações de biossegurança laboratorial da Organização Mundial da Saúde (OMS) relacionadas com a doença por coronavírus (COVID-19): orientação provisória. [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).
- D. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando executar este ensaio. O diretor do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser feito por pessoal com a formação profissional adequada em manuseamento de materiais infecciosos.⁶
- E. Em caso de suspeita de infeção por SARS-CoV-2, Gripe A e/ou Gripe B com base nos critérios atuais de rastreio clínico recomendados pelas autoridades de saúde pública, os espécimes devem ser colhidos com precauções de controlo de infeções adequadas.
- F. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- G. Deve ser usado equipamento de proteção individual (EPI) adequado, conforme determinado por uma avaliação detalhada do risco, por todo o pessoal do laboratório que efetue a

colheita e manuseie espécimes de indivíduos que sejam suspeitos de estarem infetados por SARS-CoV-2, Gripe A e/ou Gripe B, ou conforme descrito nas Orientações de biossegurança laboratorial da OMS relacionadas com a doença por coronavírus (COVID-19): orientação provisória.

- H. Use luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave muito bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes.
- I. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o de acordo com os regulamentos locais, nacionais e internacionais aplicáveis.
- J. As datas de expiração listadas nos Tubos de lise de espécimes Panther Fusion, nos Tubos de lise de espécimes Hologic, no Kit de colheita multiteste Aptima, no Kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima e no Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic referem-se à transferência da amostra para o tubo e não ao teste da amostra. Os espécimes recolhidos/transferidos em qualquer data anterior a estas datas de expiração podem ser testados, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo adequado, mesmo que as datas de expiração tenham sido ultrapassadas.
- K. Mantenha as condições de armazenamento adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade dos mesmos. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- L. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente elevados de vírus ou outros organismos. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entrem em contacto uns com os outros e elimine os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.
- M. Não use os reagentes ou controlos depois da respetiva data de expiração.
- N. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* (página 6) e *Procedimento de teste no Panther System* (página 14) para obter mais informações.
- O. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaios. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther System verifica os níveis de reagentes.
- P. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Q. Não use materiais que possam conter tiocianato de guanidínio ou quaisquer materiais que contenham guanidínio no instrumento. Podem formar-se compostos altamente reativos e/ou tóxicos se forem combinados com hipoclorito de sódio.
- R. Alguns reagentes deste kit estão marcados com símbolos de risco e segurança.

Nota: As informações de comunicação de riscos refletem as classificações das Fichas de Dados de Segurança (FDS) da UE. Consulte a FDS específica da sua região, disponível na Biblioteca de fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet Library) em www.hologicsds.com, para obter informações sobre a comunicação dos perigos específica para a sua região.

Target Capture Reagent**EDTA 1-5%****LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%**

H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

P273 - Evitar a libertação para o ambiente

P280 - Usar protecção ocular/protecção facial

Promoter Reagent**MAGNESIUM CHLORIDE 35-40%**

H412 - Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros

P273 - Evitar a libertação para o ambiente

P280 - Usar protecção ocular/protecção facial

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (refrigerados):
- Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Reagente enzimático Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Reagente promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Controlo interno Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu
- B. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C:
- Solução de reconstituição da amplificação Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Solução de reconstituição enzimática Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Solução de reconstituição do reagente promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu
- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
- Reagente de captura do alvo Aptima SARS-CoV-2/Flu
 - Solução de lavagem Aptima
 - Tampão para o fluido de desativação Aptima
 - Reagente de óleo Aptima
- D. O reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR) permanece estável durante 30 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- E. Após a reconstituição, o reagente enzimático, o reagente de amplificação e o reagente promotor permanecem estáveis durante 30 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- F. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não usados após 30 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- G. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.

- H. Os reagentes conservados dentro do Panther System permanecem estáveis durante 72 horas.
- I. O Reagente Promotor e o Reagente Promotor Reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz. A estabilidade reconstituída especificada baseia-se numa exposição de 12 horas do Reagente promotor reconstituído a duas lâmpadas fluorescentes de 60 W, a uma distância de 43 cm e a uma temperatura inferior a 30 °C. A exposição à luz do Reagente promotor reconstituído deve ser limitada em conformidade.
- J. Com o aquecimento à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer turvos ou apresentar precipitados. A turvação ou precipitação associada aos controlos não afeta o desempenho dos mesmos. Os controlos podem ser usados quer estejam limpos ou turvos/precipitados. Se quiser utilizar controlos limpos, a solubilização pode ser agilizada incubando-os no limite superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).
- K. Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

Espécimes - O material clínico colhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay, isto inclui espécimes de esfregaços nasofaríngeos, orofaríngeos, nasais e do corneto médio, ou colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e aspirado nasal num meio de transporte viral (VTM/UTM), soro fisiológico, Amies líquido ou meio de transporte de espécimes (STM).

Amostras - Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material a ser testado no Panther System, incluindo espécimes, espécimes transferidos para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion, Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida, Tubo de lise de espécimes personalizado, Tubo de transporte multiteste Aptima, Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic e controlos.

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.*

Nota: *Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de espécimes. Por exemplo, descarte o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

Colheita de espécimes de esfregaço

Recolha os espécimes de esfregaços nasofaríngeos, orofaríngeos, nasais e do corneto médio de acordo com a técnica padrão, usando uma zaragatoa com uma ponta de poliéster, raiona ou nylon. Coloque imediatamente o espécime de esfregaço em 3 ml de VTM ou UTM. Alternativamente, os espécimes de esfregaços podem ser adicionados a soro fisiológico, Amies líquido ou STM. O Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima pode ser utilizado para a colheita de amostras de esfregaços orofaríngeos, nasais e do corneto médio. O Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - CLASSIQSwab destina-se à colheita de amostras de esfregaços orofaríngeos e nasais. O Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - FLOQSwab destina-se à colheita de amostras de esfregaços do corneto médio e nasofaríngeos.

Depois da colheita, os espécimes colhidos em VTM/UTM, Amies líquido ou soro fisiológico podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C, até 96 horas, antes de transferir para o Tubo de lise de espécimes (isto é, Tubo de lise de espécimes Panther

Fusion, Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida ou Tubo de lise de espécimes personalizado) conforme descrito na secção de processamento de espécimes abaixo. Os volumes de espécimes restantes em VTM/UTM, Amies líquido ou soro fisiológico podem ser conservados a ≤ -70 °C.

Após a colheita, os espécimes no Tubo multitestado Aptima e no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 6 dias.

Nota: *Recomenda-se que os espécimes colhidos no Tubo multitestado Aptima e no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic sejam conservados tapados e em posição vertical num suporte.*

Podem ser utilizados os seguintes tipos de VTM/UTM.

- Formulações Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
- Meio de transporte universal Copan
- Meio de transporte de vírus universal BD

Nota: *Não use meios que possam conter tiocianato de guanidínio ou qualquer material que contenha guanidínio.*

Colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e de aspirado nasal

Efetue a colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e de aspirado nasal de acordo com as técnicas padrão.

Processamento de espécimes

Fluxo de trabalho com tampa utilizando o software Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion

- A. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime* colhido para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion.

***Nota:** *Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.*

Processamento dos espécimes colhidos com o Kit de colheita multitestado Aptima

- A. Depois de colocar o espécime colhido* no Tubo multitestado Aptima utilizando o Kit de colheita multitestado Aptima, não é necessário qualquer processamento adicional.

***Nota:** *Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.*

Fluxo de trabalho sem tampa utilizando o software de ensaio para tubos sem tampa Aptima SARS-CoV-2/Flu

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion

- A. Destape o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion com tampa perfurável. A tampa perfurável pode ser guardada ou pode ser utilizada uma tampa rígida de substituição no próximo passo.

- B. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion com tampa penetrável ou tampa rígida de substituição.
- C. Recomenda-se que volte a tapar o tubo e o inverta suavemente três vezes para garantir a inativação viral e uma mistura homogênea.
- D. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.
- E. Retire e descarte a tampa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeccione o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- F. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida

- A. Destape o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida e guarde a tampa.
- B. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime para o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida.
- C. Recomenda-se que volte a tapar o tubo e o inverta suavemente três vezes para garantir a inativação viral e uma mistura homogênea.
- D. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.
- E. Retire e descarte a tampa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeccione o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- F. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento de espécimes para espécimes colhidos com o Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - CLASSIQSwabs e o Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - FLOQSwabs

- A. Depois de colocar o espécime colhido* no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic utilizando, não é necessário qualquer processamento adicional.

***Nota:** Deixe o espécime alcançar a temperatura ambiente antes de o processar.

- B. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.

- C. Retire e descarte a tampa e a zaragatoa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeção o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: Se o esfregaço não tiver sido capturado pela tampa, volte a tapar o tubo para garantir que o esfregaço é capturado e removido do tubo. Os tubos com tampa de captura de carga direta com um esfregaço não devem ser carregados no Panther System.

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- D. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento de espécimes utilizando um Tubo de lise de espécimes personalizado

- A. Utilizando um tubo genérico esterilizado ou não esterilizado (não utilizado) feito de plástico de polipropileno ou material semelhante que tenha entre 12 e 13 mm de diâmetro exterior e 75 e 100 mm de altura, distribua em alíquotas 0,78 ml ± 0,07 ml de STM a granel no tubo utilizando uma pipeta ou um pipetador de repetição.

Nota: Este passo deve ser realizado numa zona onde NÃO sejam processados espécimes de SARS-CoV-2, de Gripe A e de Gripe B.

Nota: Se os tubos forem preparados antes da utilização, volte a tapar o tubo e conserve-o entre 15 °C e 30 °C até ser utilizado no processamento de espécimes.

Nota: Quando o Tubo de lise de espécimes personalizado cheio é armazenado fechado, caso não tenham sido introduzidos contaminantes durante o enchimento do Tubo de lise de espécimes personalizado, o STM deverá permanecer estável até à data de validade fornecida para o STM.

Nota: Poderá haver um risco aumentado de contaminação se forem utilizados tubos (não usados) não esterilizados.

- B. Destape o Tubo de lise de espécimes personalizado com STM e guarde a tampa.
- C. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime para o Tubo de lise de espécimes personalizado com STM.
- D. Recomenda-se que volte a tapar o tubo de amostra e o inverta suavemente três vezes para garantir a inativação viral e uma mistura homogénea.
- E. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.
- F. Retire e descarte a tampa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeção o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- G. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento dos espécimes colhidos com o Kit de colheita multitestado Aptima

- A. Obtenha e siga as instruções para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion (Passo A), Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida (Passo A) ou Tubo de lise de espécimes personalizado (Passos A-B).
- B. Antes de proceder à realização dos testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime colhido do Tubo multitestado Aptima para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion, Tubo de lise de espécimes Hologic ou Tubo de lise de espécimes personalizado conforme descrito nas secções de processamento de espécimes acima.

Conservação de amostras

- A. As amostras dentro do Panther System podem ser arquivadas para testes adicionais posteriores.
- B. Conservação de amostras antes ou depois dos testes
 1. As amostras no Tubo multitestado Aptima, no Tubo de lise de espécimes Panther Fusion, no Tubo de lise de espécimes Hologic, no Tubo de lise de espécimes personalizado ou no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic devem ser conservadas no suporte em posição vertical, mediante as seguintes condições:
 - Entre 2 °C e 30 °C, até seis dias
 2. Para os fluxos de trabalho com tampa e sem tampa, as amostras retiradas devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.
 3. Se as amostras analisadas tiverem de ser congeladas ou expedidas:
 - Fluxos de trabalho com tampa
Retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável nos tubos de espécimes. Se as amostras tiverem de ser expedidas para análise noutra local, as temperaturas recomendadas terão de ser mantidas. Antes de retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420, para levar todo o líquido ao fundo do tubo. Evite salpicos e a contaminação cruzada.
 - Fluxos de trabalho sem tampa
Se as amostras tiverem de ser expedidas para análise noutra local, coloque uma nova tampa sólida no tubo de lise de espécimes, mantendo as temperaturas recomendadas. Antes de retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420, para levar todo o líquido ao fundo do tubo. Evite salpicos e a contaminação cruzada.
Nota: As tampas de tubos e os encaixes dos tubos de substituição não devem ser utilizados para tapar tubos para centrifugação, congelação ou transporte.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de espécimes, tal como descrito na secção de *Colheita e conservação de espécimes na página 7*.

Nota: Os espécimes devem ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.

Panther System

Os reagentes do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay para o Panther System estão indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay PRD-06815

250 testes (2 caixas)

Caixa refrigerada Aptima SARS-CoV-2/Flu (Caixa 1 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes
A	Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada com HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Reagente promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
IC	Controlo interno Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Ácidos nucleicos de RNA não infecciosos em solução tamponada.</i>	1 frasco

Caixa à temperatura ambiente Aptima SARS-CoV-2/Flu (Caixa 2 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 250 testes
AR	Solução de reconstituição da amplificação Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 27,7 ml
ER	Solução de reconstituição enzimática Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i>	1 x 11,1 ml
PROR	Solução de reconstituição do reagente promotor Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solução aquosa com conservantes.</i>	1 x 35,4 ml
TCR	Reagente de captura do alvo Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>Solução salina tamponada com fase sólida e ácidos nucleicos.</i>	1 x 54 ml
	Aros de reconstituição	3
	Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre	1 folha

Materiais necessários, mas disponíveis em separado

Nota: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

	<u>Cód. produto</u>
Panther System	303095
Kit de fluidos Aptima Assay <i>(Solução de lavagem Aptima, Tampão para o fluido de desativação Aptima e Reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
ou Kit de execução Panther <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i>	303096 (5000 testes)
Pontas, condutoras de 1000 µl, deteção de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de controlos Aptima SARS-CoV-2/Flu <i>PC - Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2/Flu. Ácido nucleico não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 ml</i> <i>NC - Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu. Solução tamponada com < 5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 ml</i>	PRD-06816
Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima	PRD-03546
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs	PRD-06951
Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs	PRD-06952
Kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina	301041
Tubos de lise de espécimes Panther Fusion, 100 por embalagem <i>o tubo contém 0,71 ml de STM com tampa perfurável</i>	PRD-04339
Tubos de lise de espécimes Hologic, 100 cada <i>o tubo contém 0,71 ml de STM com tampa rígida (para fluxo de trabalho sem tampa)</i>	PRD-06554
Tubos de lise de espécimes Hologic, 1200 cada <i>o tubo contém 0,71 ml de STM com tampa rígida (para fluxo de trabalho sem tampa)</i>	PRD-06660
Tampa rígida Hologic para utilização com PRD-06554*, 100 tampas por embalagem <i>*uma tampa de utilização única para o Tubo de lise de espécimes Hologic (apenas PRD-06554) depois dos testes como parte do fluxo de trabalho sem tampa</i>	PRD-06744

A. Preparação da área de trabalho

Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes e as amostras. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther System.

1. Para reconstituir os reagentes de amplificação, enzimático e promotor, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de rótulo correspondentes antes de inserir o aro de reconstituição.
 - b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - c. Abra o frasco do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 1).
 - d. Abra a solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - e. Coloque o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada e insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
 - f. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
 - g. Misture bem a solução no frasco de vidro por agitação (Figura 1, Passo 4).
 - h. Aguarde até que o reagente liofilizado passe para a solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de plástico.
 - i. Retire o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
 - j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
 - k. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimático e promotor utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

Advertência: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Panther System.

Advertência: É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.

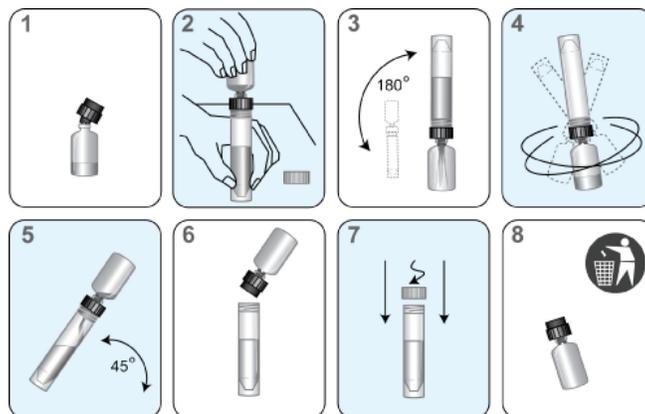


Figura 1. Processo de reconstituição no Panther System

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de IC.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de IC e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de IC.
 - e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
 - g. Deite fora o frasco de IC e a tampa.

Nota: Misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Os reagentes de amplificação, enzimático e promotor previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: Os reagentes podem ser colocados à temperatura ambiente colocando os reagentes de amplificação, enzimático e promotor reconstituídos num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 25 minutos.

2. Se o reagente promotor reconstituído contiver um precipitado que não regresse à solução à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente promotor pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o reagente promotor por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar para o sistema.

3. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes. Este passo não é necessário se os reagentes forem carregados no sistema diretamente após a mistura no agitador de tubos.
 4. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.
 5. *É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.*
- D. Manuseamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion
- Nota:** *Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção Colheita e conservação de espécimes, antes de carregar espécimes no Panther System.*
1. Inspeccione os tubos de amostras antes de colocá-los no suporte. Se um tubo de amostra tiver bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para transportar o conteúdo para o fundo.
- Nota:** *Para amostras transferidas para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion, para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo. Quando é adicionado o espécime colhido adequado ao tubo, há volume suficiente para executar três extrações de ácido nucleico.*
- E. Manuseamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida ou o Tubo de lise de espécimes personalizado
1. Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção *Colheita e conservação de espécimes*.
- Nota:** *Para amostras transferidas para o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida ou um Tubo de lise de espécimes personalizado, para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo. Quando é adicionado o espécime colhido adequado ao tubo, há volume suficiente para executar duas extrações de ácido nucleico.*
- Nota:** *Ao utilizar o software de ensaio para tubos sem tampa Aptima SARS-CoV-2/Flu, retire a tampa do controlo positivo e negativo antes de carregar no Panther System.*
- F. Preparação do sistema
1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/ Panther Fusion System* e das *Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
 2. Carregue as amostras.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software Aptima Assay para o Panther System, é necessário um par de controlos. Os controlos positivo e negativo Aptima SARS-CoV-2/Flu podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther System. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:

- a. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
2. Depois dos tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas a menos que:
 - a. Os resultados dos controlos sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
 3. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.
 4. A pipetagem do espécime do paciente começa quando se verifica uma das seguintes condições:
 - a. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
 - b. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
- B. Temperatura
- A temperatura ambiente definida situa-se entre 15 °C e 30 °C.
- C. Pó das luvas
- Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.
- D. Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o Panther System
- Existem vários fatores específicos de cada laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo o volume de testes, o fluxo de trabalho, a prevalência das doenças e diversas outras atividades laboratoriais. Estes fatores devem ser tidos em conta ao estabelecer a frequência de monitorização da contaminação. Devem estabelecer-se intervalos de monitorização da contaminação com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.
- Para monitorizar a contaminação do laboratório, pode realizar-se o procedimento seguinte com o kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima para espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina:
1. Rotule os tubos de transporte de zaragatoas com os números correspondentes às áreas a testar.
 2. Retire a zaragatoa de colheita do espécime (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de espécimes (STM) e recolha a amostra na área designada com um movimento circular.
 3. Insira imediatamente a zaragatoa no tubo de transporte.
 4. De forma cuidadosa, quebre a haste da zaragatoa na linha marcada; seja cuidadoso para evitar salpicar o conteúdo.
 5. Coloque a tampa do tubo de transporte de zaragatoas e aperte bem.
 6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje recolher amostras.
- E. Se os resultados forem positivos, consulte a secção *Interpretação de resultados*. Para obter mais informações de monitorização da contaminação específicas para o Panther System, contacte o suporte técnico da Hologic.

Controlo de qualidade

Um resultado de espécime ou execução poderá ser invalidado pelo Panther System se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente testados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, deve ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Deve ser testada uma réplica do controlo do ensaio negativo e do controlo do ensaio positivo sempre que é carregado um novo kit no Panther System ou quando o conjunto de controlos válidos atuais tiver expirado.

O Panther System está configurado para necessitar que os controlos de ensaio sejam executados num intervalo (especificado pelo administrador) de até 24 horas. O software do Panther System alerta o operador quando os controlos de ensaio são necessários e não começa novos testes até os controlos de ensaio terem sido carregados e o processamento ter sido inicializado.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos de ensaio são automaticamente verificados pelo Panther System. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar por uma série de verificações de validade no Panther System.

Se os controlos de ensaio passarem todas as verificações de validade, estes serão considerados como válidos para o intervalo de tempo especificado pelo administrador. Quando o intervalo de tempo passar, os controlos de ensaio serão expirados pelo Panther System, o que requer que um novo conjunto de controlos de ensaio seja testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos de ensaio falhar as verificações de validade, o Panther System irá automaticamente invalidar as amostras afetadas, e um novo conjunto de controlos de ensaio deverá ser testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra com o wTCR. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do Panther System. A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2 e/ou gripe. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para os alvos de SARS-CoV-2 e gripe; as amostras que não cumprem este critério são comunicadas como inválidas. Cada amostra com um resultado inválido deve ser analisada novamente.

O Panther System foi concebido para verificar os processos com precisão, quando os procedimentos são feitos de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Interpretação de resultados

O Panther System determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo, sem teste ou inválido.

A Tabela 1 apresenta os possíveis resultados comunicados numa execução válida, incluindo a interpretação dos mesmos.

Tabela 1: Interpretação de resultados Aptima SARS-CoV-2/Flu

Resultado SARS-CoV-2	Resultado da Gripe A	Resultado da Gripe B	Resultado do IC	Interpretação
Negativo	Negativo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B não detetados.
Positivo	Negativo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2 detetado. Gripe A e Gripe B não detetadas.
Negativo	Positivo	Negativo	Válido	Gripe A detetada. SARS-CoV-2 e Gripe B não detetados.
Negativo	Negativo	Positivo	Válido	Gripe B detetada. SARS-CoV-2 e Gripe A não detetados.
Positivo	Positivo	Negativo	Válido	SARS-CoV-2 e Gripe A detetados. Gripe B não detetada.
Negativo	Positivo	Positivo	Válido	Gripe A e Gripe B detetadas. SARS-CoV-2 não detetado.
Positivo	Negativo	Positivo	Válido	SARS-CoV-2 e Gripe B detetados. Gripe A não detetada.
Positivo	Positivo	Positivo	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B detetados.
Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra.

Nota: O resultado positivo será acompanhado por valores TTime.

Nota: A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2, Gripe A e/ou Gripe B.

Nota: Os utilizadores apenas podem ocultar os resultados de Gripe A e/ou Gripe B, mas não os resultados de SARS-CoV-2. O resultado é mostrado como Sem teste se o analisado for ocultado no software.

Nota: Se for observado um resultado inválido devido a um erro de processamento do ensaio (sinalizador p) com uma amostra colhida diretamente para o meio de transporte de espécimes, considere colocar a amostra no vórtex durante, no mínimo, 5 minutos antes de repetir o teste.

Limitações

- A utilização deste ensaio está limitada ao pessoal que tem a formação profissional para tal. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode produzir resultados erróneos.
- A fiabilidade dos resultados depende da recolha, transporte, conservação e processamento adequados dos espécimes.
- A contaminação só pode ser evitada através da adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- Os resultados negativos não excluem a presença de infeções por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como o único fator para o tratamento ou para a tomada de outras decisões de gestão.
- Um resultado positivo indica a deteção de ácido nucleico do vírus em causa. O ácido nucleico pode persistir mesmo depois de o vírus deixar de ser viável.

Desempenho do Panther SARS-CoV-2/Flu Assay

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi determinada testando diluições em série de espécimes em VTM/UTM de esfregaços nasofaríngeos clínicos negativos agrupados enriquecidos com as seguintes culturas de vírus: 1 estirpe de SARS-CoV-2, 2 estirpes de Gripe A e 2 estirpes de Gripe B. Foram avaliadas dez réplicas de cada diluição em série de cada estirpe utilizando cada um de dois lotes de reagentes do ensaio. O LoD é definido como a concentração mais baixa à qual $\geq 95\%$ de todas as réplicas foram testadas e identificadas como positivas, tal como resumido na Tabela 2. Cada LoD específico do alvo foi confirmado testando 20 réplicas adicionais em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo com um lote de reagente. O LoD foi também confirmado em meios de colheita de esfregaços de matriz multiteste clínica negativa, matriz de soro fisiológico clínica negativa, meio de transporte de espécimes (STM) e meios de soro fisiológico.

Tabela 2: Sensibilidade analítica na matriz de VTM/UTM clínica

Estirpe viral	Concentração de LoD
SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	0,001 TCID ₅₀ /ml
Gripe A/Califórnia/07/2009 (H1N1)	0,03 TCID ₅₀ /ml
Gripe A/Suíça/9715293/2015 (H3N2)	0,003 TCID ₅₀ /ml
Gripe B/Brisbane/33/08 (linhagem Victoria)	0,01 TCID ₅₀ /ml
Gripe B/Massachusetts/02/2012 (linhagem Yamagata)	0,3 TCID ₅₀ /ml

Reatividade

A reatividade do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi avaliada em relação a múltiplas estirpes de Gripe A (H1N1 e H3N2) e múltiplas estirpes de Gripe B (linhagens Victoria e Yamagata). As estirpes virais foram testadas em triplicado com um lote de reagente. A Tabela 3 mostra a concentração mais baixa de cada estirpe na qual foi observada positividade de 100%. Foi também avaliado com o ensaio o Painel de influenza humano de 2020 dos CDC. As diluições de cada membro do painel foram avaliadas cinco vezes, com um mínimo de cinco réplicas, de acordo com o protocolo dos CDC. A Tabela 4 mostra a concentração mais baixa de cada membro do painel em que, pelo menos, uma réplica originou um resultado positivo.

Tabela 3: Resumo da reatividade analítica das estirpes de Gripe A e Gripe B

Estirpe	Subtipo	Concentração (TCID ₅₀ /ml)	Concentração relativa ao LoD	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B
Influenza						
A/Massachusetts/15/13	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A/Taiwan/42/2006	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A/Henan/8/05	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A/Kentucky/2/06	Gripe A (H1N1)	0,3	10x LOD	-	+	-
A/Havai/15/01	Gripe A (H1N1)	3	100x LOD	-	+	-
A/Brisbane/59/2007	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A/Ilhas Salomão/03/06	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A1/Mal/302/54	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A1/Denver/1/57	Gripe A (H1N1)	0,9	30x LOD	-	+	-
Ohio/09SW1477/2009	Gripe A (H1N2)	0,3	10x LOD	-	+	-
Michigan/45/2015	Gripe A (H1N1)	0,09	3x LOD	-	+	-
A/Hiroshima/52/05	Gripe A (H3N2)	0,009	3x LOD	-	+	-
A/Victoria/3/75	Gripe A (H3N2)	9	3000x LOD	-	+	-
A/Brasil/1137/99	Gripe A (H3N2)	0,09	30x LOD	-	+	-
A/Hong Kong/8/68	Gripe A (H3N2)	0,9	300x LOD	-	+	-
A/Aichi/2/68	Gripe A (H3N2)	0,3	100x LOD	-	+	-
Indiana/08/2011	Gripe A (H3N2)	0,03	10x LOD	-	+	-
Perth/16/2009	Gripe A (H3N2)	0,009	3x LOD	-	+	-
A/Costa Rica/07/99	Gripe A (H3N2)	3	1000x LOD	-	+	-
Port Chalmers/1/73	Gripe A (H3N2)	0,3	100x LOD	-	+	-
Hong Kong/4801/2014	Gripe A (H3N2)	0,009	3x LOD	-	+	-
Texas/50/2012	Gripe A (H3N2)	0,009	3x LOD	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Gripe B (Victoria)	0,03	3x LOD	-	-	+
Alabama/2/17	Gripe B (Victoria)	0,03	3x LOD	-	-	+
Florida/78/2015	Gripe B (Victoria)	0,03	3x LOD	-	-	+
Colorado/06/2017	Gripe B (Victoria)	0,03	3x LOD	-	-	+
B/São Petersburgo/14/06	Gripe B (Yamagata)	0,9	3x LOD	-	-	+
Utah/9/14	Gripe B (Yamagata)	0,9	3x LOD	-	-	+
Wisconsin/1/2010	Gripe B (Yamagata)	0,9	3x LOD	-	-	+
Phuket/3073/2013	Gripe B (Yamagata)	0,9	3x LOD	-	-	+
B/Lee/40	Gripe B	3	N/A	-	-	+

Tabela 4: Painel de influenza humano de 2020 dos CDC

Vírus	Estirpe	Concentração reativa mínima (EID ₅₀ /ml)
Influenza A	A/Perth/16/2009 (H3N2)	1,02E+01
	A/Hong Kong/2671/2019 (H3N2)	8,10E-01
	A/Christ Church/16/2010 (H1N1 pdm)	1,62E+01
	A/Guangdong-maonan/1536/2019 pdm)	1,29E+00
Influenza B	B/Michigan/09/2011	8,13E-03
	B/Washington/02/2019	1,62E+00
	B/Texas/81/2016	2,04E-01
	B/Phuket/3073/2013	8,13E+00

Inclusividade

A inclusividade do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi avaliada utilizando análises *in silico* dos oligômeros de captura do alvo, "primers" de amplificação e "torches" de detecção do ensaio para os sistemas alvo de SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B em relação a sequências disponíveis nas bases de dados de genes NCBI e GISAID, a 30 de setembro de 2020. Todas as sequências com informação em falta ou ambígua foram removidas da análise para essa região alvo.

Para o SARS-CoV-2, houve 111 055 sequências avaliadas para a primeira região alvo, 110 932 sequências avaliadas para a segunda região alvo e 110 784 sequências com informação completa para ambas as regiões. A análise *in silico* demonstrou 100% de homologia com os oligômeros do ensaio de ambos os sistemas alvo em 96 883 (87,5%) das sequências avaliadas e 100% de homologia com os oligômeros do ensaio de, pelo menos, um sistema alvo para 110 743 (99,96%) das sequências. Não houve sequências avaliadas com não correspondências identificadas que se preveja possam afetar a ligação ou o desempenho do ensaio.

Para a Gripe A e a Gripe B, houve 79 898 e 28 146 sequências, respectivamente, desde 1 de janeiro de 2015, com informações correspondentes aos oligômeros das regiões alvo do ensaio. Das sequências disponíveis para a Gripe A, 38 700 (48,4%) demonstraram 100% de homologia com todos os oligômeros da região alvo. Das restantes 41 198 sequências, prevê-se a ligação de oligômeros em todas, menos em 687, para uma inclusividade total de 99,1% nas sequências avaliadas. Das sequências disponíveis para a Gripe B, 5867 (20,8%) demonstraram 100% de homologia com todos os oligômeros da região alvo. Das restantes 22 279 sequências, prevê-se a ligação de oligômeros em todas, menos em 22, para uma inclusividade total de 99,9% nas sequências avaliadas.

Especificidade analítica e interferência microbiana

A especificidade analítica do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi avaliada testando 37 micro-organismos representando agentes patogênicos respiratórios comuns ou espécies estreitamente relacionadas (Tabela 5). As bactérias foram testadas a 10⁶ CFU/ml e os vírus foram testados a 10⁵ TCID₅₀/ml, exceto indicação em contrário. Foram testados micro-organismos com e sem a presença dos vírus SARS-CoV-2, Gripe A (H1N1) e Gripe B (linhagem Victoria) em cultura, a concentrações de 3x LoD. A especificidade analítica do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi de 100% sem evidência de interferência microbiana de micro-organismos não alvo. Além dos testes

de micro-organismos, foi efetuada a análise BLAST *in silico* para avaliar a especificidade do ensaio em relação aos micro-organismos indicados na Tabela 5. A análise *in silico* não demonstrou reatividade cruzada provável com qualquer das 202 sequências da base de dados GenBank avaliadas.

Tabela 5: Especificidade analítica e micro-organismos de interferência microbiana

Micro-organismo	Concentração	Micro-organismo	Concentração
Adenovírus	1,0E+06 TCID ₅₀ /ml	<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml
Enterovírus (por ex., EV68)	1,0E+04 TCID ₅₀ /ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+08 TCID ₅₀ /ml
Rinovírus	1,0E+04 TCID ₅₀ /ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+05 CFU/ml
Coronavírus humano 229E	1,0E+06 TCID ₅₀ /ml	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	1,0E+06 nuc/ml
Coronavírus humano HKU1	1,0E+06 c/ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
Coronavírus humano ¹ NL63	1,0E+03 TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Coronavírus humano OC43	1,0E+04 TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+04 CFU/ml
MERS-coronavírus	1,0E+03 TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
SARS-coronavírus ¹	1,0E+06 c/ml	<i>Streptococcus salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus parainfluenza 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Influenza A ³	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Vírus parainfluenza 2	1,0E+03 TCID ₅₀ /ml	Influenza B ³	1,0E+04 TCID ₅₀ /ml
Vírus parainfluenza 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus parainfluenza 4a	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1,0E+06 CFU/ml
Metapneumovírus humano (hMPV)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus sincicial respiratório	1,0E+04 TCID ₅₀ /ml	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml	<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,0E+05 CFU/ml	SARS-CoV-2 ³	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	30 espécimes em VTM/UTM de esfregaços nasofaríngeos clínicos negativos individuais ²	N/A

¹ Não estão prontamente disponíveis vírus em cultura e ácido nucleico purificado de genoma completo para coronavírus humano HKU1 e SARS-coronavírus. Utilizaram-se IVT de HKU1 e SARS-coronavírus correspondentes às regiões do gene ORF1ab alvo do ensaio para avaliar a reatividade cruzada e a interferência microbiana.

² Em vez da avaliação de lavado nasal humano agrupado, foram testados 30 espécimes de esfregaços nasofaríngeos clínicos negativos individuais em triplicado para representar a flora microbiana diversa do trato respiratório humano.

³ SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B são alvos do ensaio. A análise da reatividade cruzada apenas foi efetuada para os outros alvos.

Interferência competitiva

A interferência competitiva do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi avaliada utilizando pares de vírus alvo a concentrações baixas/altas em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo. O vírus a concentração baixa foi testado a 3x LoD, enquanto o vírus a concentração alta foi testado à concentração máxima permitida com base no título base. Os testes foram realizados utilizando uma estirpe viral de SARS-CoV-2, uma de Gripe A (H1N1) e uma de Gripe B (linhagem Victoria). A presença de dois vírus em concentrações baixas/altas

variáveis numa única amostra não exerceu nenhum efeito sobre a sensibilidade analítica (100% de detecção para ambos os alvos) nas concentrações indicadas na Tabela 6.

Tabela 6: Interferência competitiva

Condição	Alvo 1		Alvo 2		SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B
	Vírus	3x LoD Concentração (TCID ₅₀ /ml)	Vírus	Alta concentração (TCID ₅₀ /ml)			
1	SARS-CoV-2	0,003	Gripe A	3,16e4	+	+	-
2	SARS-CoV-2	0,003	Gripe B	1,17e4	+	-	+
3	Gripe A	0,09	SARS-CoV-2	1,4e1	+	+	-
4	Gripe A	0,09	Gripe B	1,17e1	-	+	+
5	Gripe B	0,03	SARS-CoV-2	1,4e4	+	-	+
6	Gripe B	0,03	Gripe A	3,16e3	-	+	+

Desempenho clínico

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2/Flu Assay foi avaliado em comparação com o Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay (Hologic, Inc) e o Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay (Hologic, Inc.) utilizando um painel de resíduos de espécimes nasofaríngeos clínicos colhidos de doentes com sinais e sintomas de infecção respiratória. Para a avaliação, foi testada com cada ensaio uma combinação de espécimes negativos, positivos a SARS-CoV-2, positivos a Gripe A e positivos a Gripe B.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) para SARS-CoV-2 foram calculadas em relação ao Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay como o resultado de referência, como mostra a Tabela 7. O ensaio mostrou percentagens de concordância positiva e negativa de 96,1% e 99,6%, respetivamente, para SARS-CoV-2.

Para a Gripe A e a Gripe B, a PPA e a NPA foram calculadas em relação ao Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay como o resultado de referência, como mostra a Tabela 8 para a Gripe A e a Tabela 9 para a Gripe B. O ensaio mostrou percentagens de concordância positiva e negativa de 100% e 99,2%, respetivamente, para Gripe A e de 100% e 100%, respetivamente, para Gripe B.

Tabela 7: Resultados de desempenho clínico para SARS-CoV-2

SARS-CoV-2		Resultado do Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Resultado do Aptima SARS/Flu	Positivo	49	1	50
	Negativo	2	247	249
	Total	51	248	299
Concordância positiva		96,1%	(86,8% - 98,9%)	
Concordância negativa		99,6%	(97,8% - 99,9%)	

Tabela 8: Resultados de desempenho clínico para Gripe A

Gripe A		Resultado do Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Resultado do Aptima SARS/Flu	Positivo	48	2	50
	Negativo	0	249	249
	Total	48	251	299
Concordância positiva		100%	(92,6% - 100%)	
Concordância negativa		99,2%	(97,1% - 99,8%)	

Tabela 9: Resultados de desempenho clínico para Gripe B

Gripe B		Resultado do Panther Fusion		
		Positivo	Negativo	Total
Resultado do Aptima SARS/Flu	Positivo	49	0	49
	Negativo	0	250	250
	Total	49	250	299
Concordância positiva		100%	(92,7% - 100%)	
Concordância negativa		100%	(98,5% - 100%)	

Bibliografia

1. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado em 7 de outubro de 2020.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/flu/about/index.html>. Consultado em 7 de outubro de 2020.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html>. Consultado em 7 de outubro de 2020.
4. **Organização Mundial da Saúde.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). <http://www.emro.who.int/health-topics/corona-virus/questions-and-answers.html>. Consultado em 7 de outubro de 2020.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado em 7 de outubro de 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Web site do CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultado em setembro de 2017.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EUA



Apoio ao Cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Suporte Técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para obter mais informações de contacto, visite: www.hologic.com.

Hologic, Aptima, Panther e Panther Fusion são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais patentes nos Estados Unidos, as quais estão identificadas em: www.hologic.com/patents.

©2021 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-22365-601 Rev. 001
2021-07