

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

Instruções de Utilização

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

Apenas com receita médica

ÍNDICE

Informações gerais	2
Usado pretendido	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes	7
Colheita e conservação de espécimes	8
Processamento de espécimes	8
Sistema Panther	11
Reagentes e materiais fornecidos	11
Materiais necessários, mas disponíveis em separado	12
Procedimento de teste do sistema Panther	13
Notas sobre o procedimento	16
Controlo de qualidade	18
Interpretação de resultados	19
Limitações	19
Desempenho analítico	20
Sensibilidade analítica	20
Testes do painel de referência de SARS-CoV-2 da FDA	21
Reatividade – testes húmidos	21
Reatividade – análise <i>in silico</i>	22
Especificidade analítica e interferência microbiana	22
Interferência	24
Contaminação por transferência	25
Precisão do ensaio	25
Equivalência dos dispositivos de colheita	26
Reprodutibilidade	27
Desempenho clínico	28
Bibliografia	31
Informações de contacto e histórico de revisões	32

Informações gerais

Uso pretendido

O Aptima™ SARS-CoV-2 Assay é um teste de diagnóstico *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos destinado à detecção qualitativa de RNA de SARS-CoV-2, isolado e purificado de espécimes de esfregaços nasofaríngeos (NP) e nasais, obtidos de indivíduos com suspeita de infecção por COVID-19, que apresentem sinais e sintomas de infecção do trato respiratório.

Os resultados positivos indicam a presença de RNA do SARS-CoV-2, sendo necessária correlação clínica com o historial 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.

Os resultados negativos não excluem a presença de infecção por SARS-CoV-2 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, o historial do paciente e informações epidemiológicas.

O Aptima SARS-CoV-2 Assay nos sistemas Panther™ e Panther Fusion™ destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório clínico com instruções e formação específicas sobre o funcionamento dos sistemas Panther e Panther Fusion e sobre procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

Resumo e explicação do teste

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 a Síndrome Respiratória do Médio Oriente (MERS) e a 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 início do surto, em Wuhan, China, em dezembro de 2019.¹ 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.² No dia 11 de março de 2020, o surto de COVID-19 foi caracterizado como uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS).³ Mais de 760 milhões de casos e 6,9 milhões de mortes foram registados em todo o mundo desde dezembro de 2019, mas acredita-se que os números reais sejam ainda maiores.^{4,6}

Princípios do procedimento

O Aptima SARS-CoV-2 Assay combina as tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio cinético duplo (DKA).

As amostras biológicas são colhidas e transferidas para os respectivos tubos de transporte. As soluções de transporte desses tubos libertam o RNA alvo e impedem a respectiva degradação durante a conservação. Quando o Aptima SARS-CoV-2 Assay é efetuado no laboratório, as moléculas do RNA alvo são isoladas dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares de regiões específicas das moléculas-alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Um oligómero de captura separado é usado para cada alvo. Durante a etapa de hibridização, 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 ao reduzir a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Essa redução de temperatura permite que ocorra a hibridização entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de poli-desoxitimidina que se ligam de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas-alvo capturadas que se ligam a elas, são puxadas para o lado do recipiente de reação usando ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécimes residual que possa conter inibidores da reação de amplificação. Após as etapas de captura do alvo, as amostras biológicas estão prontas para a amplificação.

Os ensaios de amplificação de alvo são baseados na capacidade dos iniciadores de oligonucleotídeos complementares de anelar especificamente e permitir a amplificação enzimática das cadeias de ácido nucleico alvo. O Aptima SARS-CoV-2 Assay replica regiões específicas do RNA do vírus SARS-CoV-2. A detecção das sequências do produto da amplificação do RNA é alcançada com a hibridização do ácido nucleico. Sondas de ácido nucleico quimioluminescentes de cadeia simples, únicas e complementares de uma região de cada produto da amplificação alvo e produto da amplificação do Internal Control (IC), são marcadas com diferentes moléculas de éster de acridina (AE). As sondas marcadas com AE combinam com o produto da amplificação para formar híbridos estáveis. O Selection Reagent faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, eliminando a geração do sinal da sonda não hibridada. Durante a etapa de detecção, a luz emitida dos híbridos marcados é medida na forma de sinais de fótons num luminómetro, que, por sua vez, são relatados como Unidades relativas de luz (RLU). No DKA, diferenças nos perfis cinéticos das sondas marcadas permitem a distinção dos sinais; os perfis cinéticos são obtidos a partir das medições do débito de fótons durante o tempo de leitura de detecção. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal do IC apresenta uma cinética muito rápida e tem um tipo cinético de “sinal intermitente”. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal do SARS-CoV-2 é relativamente mais lenta e tem um tipo cinético de “sinal contínuo”. Os resultados do ensaio são determinados por um cutoff baseado no total de RLU e no tipo de curva cinética.

O Aptima SARS-CoV-2 Assay amplifica e deteta duas regiões conservadas do gene ORF1ab na mesma reação, utilizando o mesmo tipo cinético de “sinal contínuo”. As duas regiões não são diferenciadas e a amplificação de qualquer uma ou de ambas leva a um sinal de RLU. Os resultados do ensaio são determinados por um cutoff baseado no total de RLU e no tipo de curva cinética.

Advertências e precauções

- A. Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- B. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de Instruções do Sistema Panther/Panther Fusion*.
- C. Para uso profissional.

Relacionadas com o laboratório

- D. 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.
- E. 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)).
- F. As amostras biológicas podem ser infecciosas. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser realizado por pessoal com a formação profissional adequada no manuseamento de materiais infecciosos.⁶
- G. Em caso de suspeita de infeção por SARS-CoV-2 com base nos critérios atuais de rastreio clínico recomendados pelas autoridades de saúde pública, os espécimes devem ser colhidos com precauções adequadas de controlo de infeções.
- H. Utilize apenas artigos de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- I. Use equipamento de proteção individual adequado ao colher e manusear espécimes de indivíduos que sejam suspeitos de estarem infetados por SARS-CoV-2, conforme descrito nas Orientações provisórias de biossegurança laboratorial, dos CDC, para o manuseamento e processamento de espécimes associados ao novo coronavírus 2019 (2019-nCoV).
- J. Use luvas sem talco descartáveis, proteção ocular e bata de laboratório ao manusear as amostras biológicas e os reagentes. Lave bem as mãos após manusear as amostras biológicas e os reagentes.
- K. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o e de acordo com os regulamentos locais, nacionais e internacionais aplicáveis.
- L. Utilize as boas práticas padrão para os laboratórios moleculares, incluindo a monitorização ambiental. Consulte *Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o sistema Panther*.

Relacionadas com os espécimes



- M. As datas de validade indicadas nos Specimen Lysis Tube Panther Fusion e no Kit de Colheita RespDirect™ referem-se ao momento da transferência da amostra para o tubo e não ao teste da amostra em si. Os espécimes colhidos/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.
- N. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade da amostra biológica em condições de transporte diferentes das recomendadas não foi avaliada.
- O. Evite a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento das amostras biológicas. 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.

Relacionadas com o ensaio

- P. Não use os reagentes ou controlos depois da respetiva data de expiração.
- Q. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* (página 7) e *Procedimento de teste no sistema Panther* (página 13) para obter mais informações.
- R. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaio. Não ateste o nível dos reagentes ou fluidos; o sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.
- S. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- T. Não use materiais que possam conter tiocianato de guanidínio ou quaisquer materiais que contenham guanidínio no instrumento. Compostos altamente reativos e/ou tóxicos podem formar-se se combinados com hipoclorito de sódio.
- U. Um reagente deste kit está marcado com símbolos de risco e segurança.

Observação: A comunicação de riscos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (SDS) da UE. Para obter informações de comunicação de perigo específicas da sua região, consulte a SDS específica da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, em www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações de perigos para a UE	
Reagente de amplificação	
HEPES 25 – 30%	
—	—
	H402 – Nocivo para os organismos aquáticos.
	H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.
	P273 – Evitar a libertação para o ambiente.
	P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

	<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 1 – 5%</i> <i>HEPES 1 – 5%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glicerina 20 – 25%</i> <i>Triton X-100 5 – 10%</i> <i>HEPES 1 – 5%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
	<p>Probe Reagent <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 35 – 40%</i> <i>Succinic Acid 10 – 15%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
 	<p>Selection Reagent <i>Ácido bórico 1 – 5%</i> <i>Triton X-100 1 – 5%</i> <i>Hidróxido de sódio <1%</i></p> <p>Perigo H315 – Provoca irritação cutânea. H360FD – Pode afetar a fertilidade. Pode afetar o nascituro.</p> <p>P264 – Lavar o rosto, as mãos e toda a pele exposta cuidadosamente após manuseamento. P280 – Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P302 + P352 – EM CASO DE CONTATO COM A PELE: lavar abundantemente com água e sabão. P321 – Tratamento específico (ver instruções de primeiros socorros suplementares no presente rótulo). P332 + P313 – Em caso de irritação cutânea: consulte um médico. P362 + P364 – Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P201 – Pedir instruções específicas antes da utilização. P202 – Não manuseie o produto antes de ter lido e percebido todas as precauções de segurança. P308 + P313 – EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: consulte um médico. P405 – Armazenar em local fechado à chave. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 5 – 10%</i> <i>EDTA 1 – 5%</i> <i>LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1 – 5%</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>

Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes

- A. A tabela seguinte apresenta as condições de conservação e de estabilidade dos reagentes e dos controlos.

Reagente	Conservação por abrir	Kit aberto (Reconstituído)	
		Conservação	Estabilidade
Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Internal Control	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2	2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution	2 °C a 30 °C	2 °C a 8 °C	30 dias
Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent	2 °C a 30 °C	2 °C a 30 °C	30 dias
Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	30 dias

- B. Se o Selection Reagent estiver armazenado num local refrigerado, deixe-o atingir a temperatura ambiente antes de o inserir no sistema Panther.
- C. O working Target Capture Reagent (wTCR) permanece estável durante 30 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- D. Após a reconstituição, o Enzyme Reagent, o reagente de amplificação e o Probe Reagent permanecem estáveis durante 30 dias quando conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- E. Descarte reagentes reconstituídos não utilizados e o wTCR após 30 dias ou após a data de validade do Lote Mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- F. Os controlos são estáveis até a data indicada nos frascos.
- G. Os reagentes conservados dentro do sistema Panther permanecem estáveis durante 120 horas.
- H. O Probe Reagent e o Probe Reagent reconstituído são fotossensíveis. Conserve os reagentes ao abrigo da luz. A estabilidade reconstituída especificada é baseada em 12 horas de exposição do Probe Reagent reconstituído a duas lâmpadas fluorescentes de 60 W, a uma distância de 43 cm (17 polegadas) e a temperatura inferior a 30 °C. A exposição à luz do Probe Reagent reconstituído deve ser limitada em conformidade.
- I. Ao aquecer à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer turvos ou conter precipitados. A turvação ou precipitação associadas aos controlos não afetam o desempenho dos mesmos. Os controlos podem ser usados independentemente de estarem transparentes ou turvos/com precipitados. Caso de pretenda utilizar controlos transparentes, a solubilização pode ser acelerada por meio da incubação a temperaturas próximas do limite superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

J. 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 Assay, isto inclui esfregaços NP e nasais, colhidos em meio de transporte viral (VTM/UTM) ou em meio de transporte de amostras melhorado (eSTM), utilizando o Kit de Colheita RespDirect.

Amostras – Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material a ser testado no sistema Panther, incluindo espécimes, espécimes transferidos para Specimen Lysis Tube Panther Fusion e controlos.

Observação: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as Precauções Universais.*

Observação: *Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de espécimes. Por exemplo, descarte os materiais usados sem passar por cima dos recipientes abertos.*

Colheita de espécimes

Colha os espécimes de esfregaços NP e nasais de acordo com a técnica padrão, usando uma zaragatoa com uma ponta de poliéster, raiona ou nylon. Coloque imediatamente o espécime da zaragatoa em 3 mL de VTM ou UTM. Esfregaços NP e nasais também podem ser colhidos com o Kit de Colheita RespDirect.

Os seguintes tipos de VTM/UTM foram verificados para uso com o Aptima SARS-CoV 2 Assay:

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

Processamento de espécimes

Processamento de espécimes com o Specimen Lysis Tube Panther Fusion

1. Antes de proceder à realização de testes no sistema Panther, transfira 500 µL do espécime colhido em UTM ou VTM para um Specimen Lysis Tube Panther Fusion.

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

Processamento de espécimes com o Tubo de Carga Direta Intensificada (Kit de Colheita RespDirect)

1. Depois de colher o espécime no Tubo de Carga Direta Intensificada (Kit de Colheita RespDirect), o espécime pode ser carregado no sistema Panther.

Observação: *Se observar coágulos, as amostras podem ser agitadas durante 5–10 minutos a 1.800 rpm num vórtex multitubos (ou na definição 5 no Cód. de Cat. 102160G).*

Em alternativa, os tubos individuais podem ser agitados manualmente durante 15 segundos, na velocidade máxima, num vórtex de bancada padrão.

Se as tampas tiverem sido perfuradas, volte a tapar os tubos com novas tampas perfuráveis antes de os colocar no vórtex.

Se for obtido um resultado CLT na repetição do teste, colha uma nova amostra.

Observação: *Ao testar espécimes congelados, permita que estes alcancem a temperatura ambiente antes de os carregar no sistema Panther.*

Observação: *Se o laboratório receber um Tubo de Carga Direta Intensificada (Kit de Colheita RespDirect) sem esfregaço ou com dois esfregaços, o espécime deve ser rejeitado.*

Conservação de espécimes

Conservação de espécimes com o Specimen Lysis Tube Panther

1. Após a colheita, os esfregaços NP e nasais em VTM/UTM podem ser conservados a 2 °C a 8 °C por um máximo de 96 horas antes da transferência para o Specimen Lysis Tube Panther Fusion. Os volumes de espécimes restantes podem ser conservados a ≤ -70 °C. Os ciclos de congelação/descongelação devem ser minimizados devido ao potencial de degradação da amostra.
2. As amostras no Specimen Lysis Tube Panther Fusion podem ser conservadas nas seguintes condições:
 - Entre 15 °C e 30 °C, até seis dias;
 - 2 °C a 8 °C, -20 °C e -70 °C até 3 meses. Os ciclos de congelação/descongelação devem ser minimizados devido a potencial degradação da amostra.
3. As amostras previamente testadas devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa ou com folha de alumínio.
4. Se as amostras analisadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, 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 destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de espécimes durante 5 minutos a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420 para levar todo o líquido para o fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

*Conservação de espécimes com o Tubo de Carga Direta Intensificada
(Kit de Colheita RespDirect)*

1. Os esfregaços NP e nasais podem ser conservados nas seguintes condições:
 - Entre 15 °C e 30 °C até 6 dias; ou
 - Entre 2 °C e 8 °C, -20 °C e -70 °C até 3 meses. Os ciclos de congelação/descongelação devem ser minimizados devido a potencial degradação da amostra.
2. As amostras previamente testadas 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, 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 destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de espécimes durante 5 minutos a 420 RCF para levar todo o líquido para o fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de espécimes, tal como descrito na secção *Colheita e conservação de espécimes* na página 8.

Observação: *As amostras biológicas devem ser transportadas em conformidade com os regulamentos de transporte nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.*

Sistema Panther

Os reagentes do Aptima SARS-CoV-2 Assay para o sistema Panther estão indicados abaixo. Os símbolos de identificação de reagentes também estão listados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do Aptima SARS-CoV-2 Assay PRD-07881

100 testes (2 caixas)

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

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 100 testes
A	Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada contendo <5% de agente de volume.</i>	1 frasco
E	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reagent <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo <10% de reagente de volume.</i>	1 frasco
P	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reagent <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo <5% de detergente.</i>	1 frasco
IC	Aptima SARS-CoV-2 Internal Control	1 frasco

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

Símbolo	Componente	Quantidade Kit de 100 testes
AR	Aptima SARS-CoV-2 Amplification Reconstitution Solution <i>Solução aquosa contendo conservantes.</i>	1 × 12,2 mL
ER	Aptima SARS-CoV-2 Enzyme Reconstitution Solution <i>Solução tamponada com HEPES contendo um surfactante e glicerol</i>	1 × 6,6 mL
PR	Aptima SARS-CoV-2 Probe Reconstitution Solution <i>Solução tamponada de succinato contendo <5% de detergente.</i>	1 × 15,7 mL
S	Aptima SARS-CoV-2 Selection Reagent <i>Solução tamponada de borato 600 mM contendo surfactante.</i>	1 × 45,0 mL
TCR	Aptima SARS-CoV-2 Target Capture Reagent <i>Solução salina tamponada com fase sólida e oligômeros de captura.</i>	1 × 27,0 mL
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do Lote Mestre	1 folha

Materiais necessários, mas disponíveis em separado

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

	<u>Código de Cat.</u>
Sistema Panther	303095
Atualização do Módulo Panther Fusion	PRD-04173
Sistema Panther Fusion	PRD-04172
Fluidos contínuos e resíduos do sistema Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de fluidos do Ensaio Aptima <i>(Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)</i>	303014 (1000 testes)
Kit Aptima Auto Detect	303013 (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 do ensaio e Auto Detects</i>	303096 (5000 testes)
Pontas, 1000 µl, com filtro, condutoras, detecção de líquido e descartáveis <i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
Kit de controlos Aptima SARS-CoV-2 <i>PC - Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2. Ácido nucleico não infeccioso numa solução tamponada contendo <5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 mL</i> <i>NC - Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2. Uma solução tamponada contendo <5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 mL</i>	PRD-07882
Kit de Colheita RespDirect, 50 por caixa	PRD-07403
Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes para esfregaços endocervicais e da uretra masculina	301041
Specimen Lysis Tube Panther Fusion, 100 por embalagem <i>o tubo contém 0,71 mL de STM com tampa perfurável</i>	PRD-04339
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvas descartáveis	—
Tampas não perfuráveis de substituição	504415
Tampas suplentes para os kits de 100 testes <i>Soluções de reconstituição para os Reagents de Amplification, Enzyme e Probe</i> <i>TCR e Selection Reagent</i>	— CL0041 (100 tampas) 501604 (100 tampas)

Materiais opcionais

	<u>Código de Cat.</u>
Intensificador de lixívia Hologic para limpeza <i>para a limpeza de rotina das superfícies e do equipamento</i>	302101
Agitador de tubos	—
Vórtex multitubos	102160G
Vórtex de bancada	—

Procedimento de teste do sistema Panther

Observação: Consulte o Manual de Instruções do Sistema Panther/Panther Fusion para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

Limpe as superfícies de trabalho nas quais os reagentes e as amostras serão preparados. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio em contacto com as superfícies por pelo menos 1 minuto e, em seguida, lave com água. Não deixe que a solução de hipoclorito de sódio seque. Cubra a superfície da bancada, sobre a qual os reagentes e amostras serão preparados, com protetores plásticos de bancada de laboratório absorventes e limpos.

B. Reconstituição/preparação de reagentes de um kit novo

Observação: A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de se iniciar qualquer trabalho no sistema Panther.

1. Antes do teste, os Reagents de Amplification, Enzyme e Probe devem ser reconstituídos, combinando o conteúdo dos frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição apropriada.
 - a. Permita que os reagentes liofilizados atinjam a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes da sua utilização.
 - b. Combine cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Antes de fixar o aro de reconstituição, certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente possuem rótulos com símbolos correspondentes.
 - c. Verifique os números do lote na folha de códigos de barras do Lote Mestre para garantir que os reagentes adequados estão emparelhados. Rotule as tampas dos frascos da solução de reconstituição.
 - d. Abra o frasco de vidro do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco de vidro (Figura 1, Passo 1).
 - e. Abra a solução de reconstituição correspondente e deixe a tampa numa superfície de trabalho coberta e limpa.
 - f. Enquanto segura o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada, insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).

- g. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
- h. Pegue nos frascos preparados e agite-os durante pelo menos 10 segundos. Evite formar espuma ao agitar o frasco (Figura 1, Passo 4).
- i. Para garantir que o reagente liofilizado se dissolva completamente, agite suavemente os frascos, mais uma vez, durante pelo menos 10 segundos e, em seguida, oscile ligeiramente a solução dentro do frasco de vidro para a frente e para trás, de modo a garantir uma mistura completa.
- j. Verifique visualmente se o reagente está completamente dissolvido, sem presença de pó, grumos ou linhas onduladas.
- k. Mais uma vez, incline lentamente os frascos preparados para permitir que toda a solução seja novamente drenada no frasco da solução de reconstituição (Figura 1, Passo 5).
- l. Remova o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
- m. Volte a tapar o frasco de plástico com a tampa rotulada correspondente ao reagente, previamente guardada, ou com uma tampa nova. Não utilize tampas trocadas. Registre as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
- n. Elimine o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).
- o. Misture bem cada reagente invertendo-o suavemente antes de ser colocado no sistema Panther.

Option: É permitida a mistura adicional dos Reagents de Amplification, Enzyme e Probe colocando os frascos de plástico tapados de novo num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinado durante um mínimo de 5 minutos. Certifique-se de que os Reagents são bem misturados.

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

Advertência: É necessário misturar os reagentes adequadamente para atingir os resultados esperados do ensaio.

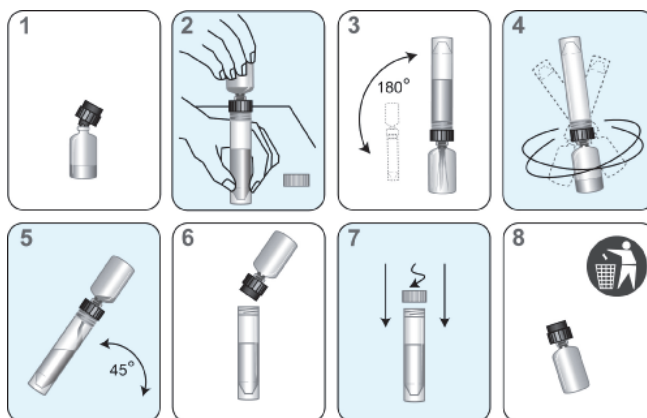


Figura 1. Processo de reconstituição no sistema Panther

2. Prepare o working Target Capture Reagent (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de IC.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na folha 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. Tape o frasco de TCR e agite a solução suavemente para misturar o conteúdo. Evite a formação de espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual no rótulo.
 - g. Deite fora o frasco de IC e a tampa.
3. Prepare o Selection Reagent
 - a. Verifique o número de lote no frasco de reagente para garantir que corresponda ao número de lote indicado na folha de códigos de barras do Lote Mestre.
 - b. Registe as iniciais do operador e a data atual no rótulo.

Observação: *Misture bem invertendo suavemente todos os reagentes antes de os carregar no sistema. Evite a formação de espuma ao inverter os reagentes.*

C. Preparação de reagentes previamente reconstituídos

1. Os Reagents de Amplification, Enzyme e Probe previamente reconstituídos têm de atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Option: Os frascos de plástico tapados dos Reagents de Amplification, Enzyme e Probe reconstituídos podem ser colocados num agitador de tubos definido para uma velocidade moderada e inclinado durante um mínimo de 25 minutos para garantir que os Reagents alcançam a temperatura ambiente e são bem misturados.
2. Se o Probe Reagent 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 Probe Reagent pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o Probe Reagent por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar no sistema.
3. Misture bem invertendo suavemente cada reagente antes de os carregar no sistema. Evite a formação de espuma ao inverter os reagentes. Este passo não é necessário se os reagentes forem carregados no sistema diretamente após serem misturados no agitador de tubos.
4. Não encha os frascos do reagente até o topo. O sistema Panther reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.
5. *É necessário misturar os reagentes adequadamente para atingir os resultados esperados do ensaio.*

D. Manuseamento de amostras biológicas

Observação: Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção Colheita e conservação de espécimes, antes de carregar espécimes no sistema Panther.

1. Inspeccione os tubos de amostras antes de os colocar no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para levar o conteúdo para o fundo.

Observação: Para amostras transferidas para o Specimen Lysis Tube Panther Fusion, para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo. Quando o espécime colhido adequado é adicionado ao tubo, há volume suficiente para executar 3 extrações de ácido nucleico.

Observação: Para o Tubo de Carga Direta Intensificada (Kit de Colheita RespDirect), existe volume suficiente para executar 4 extrações de ácido nucleico.

E. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de Instruções do Sistema Panther/Panther Fusion* e das *Notas sobre o procedimento*. Use os suportes de reagentes e adaptadores de TCR de tamanho adequado.
2. Carregue as amostras.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software do Aptima Assay para o sistema Panther, é necessário um par de controlos. Os controlos positivo e negativo Aptima SARS-CoV-2 podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do sistema Panther. A pipetagem de amostras biológicas de pacientes iniciará quando uma das duas condições a seguir for atendida:
 - a. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
 - b. Resultados válidos para os controlos estão registados no sistema.
2. Depois de os tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes dos pacientes 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 reagentes do ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagentes do ensaio tenha excedido os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo Aptima pode ser testado uma vez. A tentativa de pipetar mais de uma vez a partir do tubo pode dar origem a erros de processamento.
4. A pipetagem do espécime do paciente começa quando se verifica uma das seguintes condições:
 - a. Resultados válidos para os controlos estão registados no sistema.
 - b. Um par de controlos está a ser processado no sistema.

B. Temperatura

Define-se temperatura ambiente como aquela entre 15 °C e 30 °C.

C. Talco para luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de talco nas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendado o uso de luvas sem talco.

D. Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o sistema Panther

Existem muitos fatores específicos do laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo o volume de testes, o fluxo de trabalho, a prevalência de doenças e várias outras atividades laboratoriais. Estes fatores devem ser levados em consideração ao estabelecer a frequência de monitorização da contaminação. Os intervalos para a monitorização da contaminação devem ser estabelecidos com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação do laboratório, pode realizar-se o procedimento seguinte com o kit unissexo Aptima de colheita de espécimes para esfregaços endocervicais e da uretra masculina:

1. Identifique os tubos de transporte de zaragatoas com os números correspondentes às áreas a serem testadas.
2. Retire a zaragatoa de colheita de espécimes (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de espécimes (STM) e colha a amostra na área designada com um movimento circular.
3. Insira a zaragatoa imediatamente no tubo de transporte.
4. Parta cuidadosamente a haste da zaragatoa na linha tracejada; tenha cuidado para não respingar o conteúdo.
5. Volte a colocar a tampa do tubo de transporte de zaragatoa, apertando bem.
6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje colher amostras.

E. Se os resultados forem positivos, consulte a secção *Interpretação de resultados*. Para mais informações sobre a monitorização da contaminação específicas do sistema Panther, contacte o suporte técnico da Hologic.

Controlo de qualidade

Um resultado de espécime ou uma execução poderão ser invalidados pelo sistema Panther se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos têm de ser novamente testados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, é necessário testar um conjunto de controlos do ensaio. É necessário testar uma réplica do controlo negativo do ensaio e do controlo positivo do ensaio sempre que é carregado um novo kit no sistema Panther ou quando o atual conjunto de controlos válidos tiver expirado.

O sistema Panther está configurado para necessitar que os controlos do ensaio sejam executados num intervalo (especificado pelo administrador) de até 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando os controlos do ensaio são necessários e não começa novos testes enquanto os controlos do ensaio não estiverem carregados e o processamento não tiver iniciado.

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

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

Se qualquer um dos controlos do ensaio falhar as verificações de validade, o sistema Panther invalida automaticamente as amostras afetadas e um novo conjunto de controlos do ensaio deverá ser testado antes de se iniciar novas amostras.

Internal Control

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

O sistema Panther 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 Sistema Panther/Panther Fusion*.

Interpretação de resultados

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

O primeiro resultado válido é o resultado que deve ser comunicado. As amostras com resultados inválidos devem ser novamente testadas. Se o resultado for inválido após a repetição do teste, deve ser colhido um novo espécime.

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

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado de SARS-CoV-2	Resultado de IC	Interpretação
Neg	Válido	SARS-CoV-2 não detetado.
POS	Válido	SARS-CoV-2 detetado.
Inválido	Inválido	Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra.

Observação: A deteção do Internal Control não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2.

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada ao pessoal que tem a formação profissional necessária para tal. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto pode produzir resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, transporte, conservação e processamento apropriados da amostra biológica.
- C. A contaminação só pode ser evitada pela adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. 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 analítico

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi determinada por meio da análise de diluições de uma matriz de esfregaços NP clínicos negativos processados em VTM/UTM, contaminada com o vírus SARS-CoV-2 cultivado e inativado (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281) e o Padrão Internacional da OMS para o SARS-CoV-2, NIBSC (20/146). Para o vírus cultivado, foram avaliadas dez réplicas de cada diluição em série para cada um de dois lotes de reagentes do ensaio em dois sistemas Panther. O limite de detecção (LoD) foi determinado como sendo 0,01 TCID₅₀/mL na amostra de ensaio (0,026 TCID₅₀/mL na amostra pura e não processada) e verificado por meio da testagem de, no mínimo, 20 réplicas adicionais com um lote de reagente do ensaio. Para o Padrão Internacional da OMS, foi testado um mínimo de 24 réplicas com cada um dos três lotes de reagentes utilizando a análise probit para cada lote e a confirmação foi feita com 24 réplicas adicionais utilizando um único lote. A concentração mais baixa à qual se observou ≥95% de detecção foi 87,5 UI/mL (224 UI/mL na amostra pura e não processada). A confirmação do LoD também foi efetuada com o Kit de Colheita RespDirect em 24 réplicas com um único lote de reagentes e observou-se ≥95% de detecção a 27,7 UI/mL.

A sensibilidade analítica do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi também avaliada utilizando material de referência de três fornecedores externos. Foram efetuadas diluições em série dos materiais de ácido nucleico em STM e foram testadas 20 ou mais réplicas em cada nível utilizando cada um de dois lotes de reagentes do ensaio em dois sistemas Panther. O nível de diluição mais baixo que resultou em ≥95% de detecção para os materiais de referência foi de 83 cópias/mL (212,5 cópias/mL na amostra pura e não processada), conforme listado na Tabela 2.

Tabela 2: Avaliação da sensibilidade analítica de material de referência comercial

Fornecedor	Nome	N.º de referência	N.º de lote	Sensibilidade analítica
ZeptoMetrix	Controlo de execução externo SARS-CoV-2	NATSARS(COV2)-ERC	324332	83 cópias/mL
SeraCare	AccuPlex Material de referência SARS-Cov-2	0505-0126	10483977	83 cópias/mL
Exact Diagnostic	Padrão SARS-CoV-2	COV019	20033001	83 cópias/mL

Testes do painel de referência de SARS-CoV-2 da FDA

A avaliação da sensibilidade e da reatividade cruzada com MERS-CoV foi realizada utilizando material de referência (T1), amostras em ocultação e um protocolo padrão fornecido pela FDA. O estudo incluiu um estudo exploratório e um estudo confirmatório para o LoD. Os testes de amostras em ocultação foram usados para estabelecer a especificidade e confirmar o LoD. O estudo foi realizado no sistema Panther totalmente automatizado. Os resultados estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3: Resumo dos resultados de confirmação do LoD usando o painel de referência de SARS-CoV-2 da FDA

Materiais de referência fornecidos pela FDA	Tipo de espécime	LoD do produto	Reatividade cruzada
SARS-CoV-2	Esfregaços NP em VTM/UTM	600 NDU/mL	N/A
MERS-CoV		N/A	ND

NDU/mL = Unidades detetáveis de RNA por NAAT/mL.

N/A = Não aplicável.

ND = Não detetado.

Reatividade – testes húmidos

A reatividade do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi determinada através da testagem de estirpes virais numa matriz de esfregaços NP clínicos negativos processados em VTM/UTM. Cada estirpe foi testada em triplicado a 3x o LoD com um lote de reagentes. Para as estirpes não detetadas a 3x o LoD, foram realizados testes adicionais a concentrações mais elevadas até ser observada positividade de 100%. A Tabela 4 apresenta a concentração mais baixa de cada estirpe na qual foi observada positividade de 100%.

Tabela 4: Resumo da reatividade analítica para SARS-CoV-2

Descrição	Concentração
USA-WA1/2020*	0,03 TCID ₅₀ /mL
USA-CA1/2020	0,03 TCID ₅₀ /mL
USA-AZ1/2020	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
USA-WI1/2020	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/OR-OHSU-PHL00037/2021 B.1.1.7	0,03 TCID ₅₀ /mL
Uganda/MUWRP-20200195568/2020 A.23.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/PHC658/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP05285/2021 B.1.617.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/CA/VRLC009/2021 B.1.427	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/CA/VRLC012/2021 P.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP03056/2021 B.1.525	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/CA-Stanford-15_S02/2021 B.1.617.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
Peru/un-CDC-2-4069945/2021 C.37	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP20874/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/GA-EHC-2811C/2021 B.1.1.529	0,03 TCID ₅₀ /mL

Tabela 4: Resumo da reatividade analítica para SARS-CoV-2 (continuação)

Descrição	Concentração
EUA/MD-HP30386/2022 BA.4	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/COR-22-063113/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /mL
África do Sul/CERI-KRISP-K040013/2022 BA.5	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP38861/2022 BQ.1.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP40900/2022 XBB.1.5	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP47865/2023 XXB.2.3	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP46933/2023 EG.1.2	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP47946/2023 EG.5.1	0,03 TCID ₅₀ /mL
EUA/CA-Stanford-139_S35/2023 XBB.1.9	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
EUA/CA-Stanford-139_S23/2023 XBB.1.16	0,10 ¹ TCID ₅₀ /mL
EUA/MI-UM-10052670540/2023 BA.2.86	0,10 ² TCID ₅₀ /mL
EUA/Nova York-PV96109/2023 JN.1	0,15 ¹ TCID ₅₀ /mL
EUA/MD-HP49152/2023 HV.1	0,015 TCID ₅₀ /mL

* Estirpe utilizada para estabelecer o LoD.

¹ A análise *in silico* demonstrou 100% de homologia com as regiões da amplificação. A deterioração do stock de vírus ou erro na quantificação de TCID₅₀/mL pode ter afetado a concentração a uma detecção de 100%.

² A análise *in silico* identificou uma única incompatibilidade no oligo da sonda para uma região. Devido à localização desta incompatibilidade e à homologia de 100% na segunda região, não se prevê impacto na detecção.

A deterioração do stock de vírus ou erro na quantificação de TCID₅₀/mL pode ter afetado a concentração a uma detecção de 100%.

Reatividade – análise *in silico*

A inclusividade do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada utilizando análises *in silico* dos oligómeros de captura do alvo, iniciadores de amplificação e sondas de detecção do ensaio para os sistemas-alvo de SARS-CoV-2, em relação às sequências disponíveis nas bases de dados de genes NCBI e GISAID. Todas as sequências com informação em falta ou ambígua foram removidas da análise para essa região. Com base na análise *in silico* das sequências GISAID e NCBI disponíveis para SARS-CoV-2 (amostragem aleatória de 10% de 16.553.661 sequências até 31 de julho de 2023 e todas as 508.436 sequências de 1 de agosto de 2023 a 31 de janeiro de 2024), prevê-se que o Aptima SARS-CoV-2 Assay detete 99,98% (2.136.815/2.137.175 sequências) de todas as sequências avaliadas.

As sequências avaliadas incluíram linhagens e variantes de preocupação (VOC) ou variantes em investigação (VUI) que podem ter propriedades epidemiológicas, imunológicas ou patogênicas importantes da perspectiva da saúde pública. Prevê-se que todas as linhagens e variantes de interesse para a saúde pública identificadas até 31 de janeiro de 2024 sejam detetadas; as novas sequências e variantes continuarão a ser monitorizadas quanto a impactos na detecção pelo Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Especificidade analítica e interferência microbiana

A especificidade analítica (reatividade cruzada) e a interferência microbiana com o Aptima SARS-CoV-2 Assay foram avaliadas na presença de organismos estreitamente relacionados e não visados. Foram testados painéis compostos por 48 organismos (Tabela 5) numa matriz de esfregaços NP clínicos negativos processados em VTM/UTM na ausência ou presença de

3x o LoD de SARS-CoV-2. As bactérias foram testadas a 10^6 UFC/mL e os vírus foram testados a 10^5 TCID₅₀/mL, exceto indicação em contrário. Não foi observada qualquer reação cruzada ou interferência microbiana em nenhum dos 48 organismos testados com o Aptima SARS-CoV-2 Assay nas concentrações indicadas. A análise *in silico* de reatividade cruzada de 112 sequências do GenBank avaliadas previu ausência de reatividade cruzada e de interferência microbiana.

Tabela 5: Especificidade analítica e micro-organismos de interferência microbiana do Aptima SARS-CoV-2

Micro-organismo	Concentração ¹	Micro-organismo	Concentração ¹
Adenovírus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Aspergillus fumigatus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Adenovírus 7a	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Bordetella parapertussis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Estirpe CMV AD 169	5x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
EBV	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Enterovírus tipo 71	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus humano 229E	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus humano OC43	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus humano HKU1 ²	1x10 ⁶ cópias/mL	<i>Fusobacterium necrophorum</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus humano NL63	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Metapneumovírus humano (hMPV)	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Influenza A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Influenza B	2x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus do Sarampo	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus MERS	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Papeira	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus parainfluenza 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus parainfluenza 2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus parainfluenza 3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus parainfluenza 4	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	1x10 ⁶ núcleos/mL
Vírus sincicial respiratório	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Rinovírus	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Coronavírus SARS ²	1x10 ⁶ cópias/mL	<i>Staphylococcus epidermis</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Vírus da varicela zóster	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
Lavado nasal humano agrupado ³ - para representar flora microbiana diversa do trato respiratório humano	N/A	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ UFC/mL
		<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ UFC/mL

¹ UFC = Unidades formadoras de colônias; TCID₅₀ = Dose infecciosa de cultura do tecido mediana

² Não estão prontamente disponíveis vírus em cultura e ácido nucleico purificado de genoma completo para coronavírus humano HKU1 e coronavírus SARS. Utilizaram-se IVTs (transcrições *in vitro*) de HKU1 e coronavírus SARS correspondentes às regiões do gene ORF1ab alvo do ensaio para avaliar a reatividade cruzada e a interferência microbiana.

³ Em vez da avaliação de lavado nasal humano agrupado, foram realizados testes a 30 espécimes de esfregaços NP clínicos negativos individuais para representar a flora microbiana diversa do trato respiratório humano.

Interferência

As substâncias endógenas e exógenas interferentes (mucina, sangue total, potenciais medicamentos e medicamentos de venda livre) que possam estar presentes nas amostras foram avaliadas no Aptima SARS-CoV-2 Assay. Concentrações clinicamente relevantes de substâncias potencialmente interferentes foram adicionadas à matriz de esfregaços NP clínicos negativos agrupados em VTM/UTM e testadas na ausência e presença de vírus SARS-CoV-2 inativado a 3x o LoD. As substâncias e concentrações são apresentadas na Tabela 6.

Não se observou qualquer impacto no desempenho do Aptima SARS-CoV-2 Assay para nenhuma das substâncias na concentração testada.

Tabela 6: Substâncias potencialmente interferentes

Tipo de substância	Nome da substância	Ingrediente(s) ativos(s)	Maior concentração de teste*
Endógena	Mucina	Proteína de mucina purificada	60 µg/mL
	Sangue (humano)	N/A	2% v/v
Sprays ou gotas nasais	Neo-Syneprine®	Fenilefrina	15% v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15% v/v
	Soro fisiológico	Cloreto de sódio	15% v/v
	Ventolin HFA ²	Albuterol	45 ng/mL
	QVAR® Beconase AQ ²	Beclometasona	15 ng/mL
Corticosteroides nasais	Dexacort ²	Dexametasona	12 µg/mL
	Flonase	Fluticasona	5% v/v
	Nasacort	Triancinolona	5% v/v
	Rhinocort	Budesonida	5% v/v
	Nasonex ²	Mometasona	0,5 ng/mL
	AEROSPAN® ²	Flunisolida	9,9 µg/mL
Gel nasal	Zicam® (Alívio da alergia)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, Enxofre	5% v/v
Pastilhas para a garganta	Cepacol Extraforte	Benzocaina, Mentol	0,7 mg/mL
	Pastilha para garganta Cold-Eeze	Gluconato de zinco	0,7 mg/mL
Medicamentos antivirais	Relenza® ²	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu ²	Oseltamivir	399 ng/mL
	Virazole ²	Ribavirina	10,5 µg/mL
Antibiótico (pomada nasal)	Crema Bactroban ²	Mupirocina	1,6 µg/mL
Antibacteriana, sistêmica	Tobramicina ²	Tobramicina	33,1 µg/mL
Controlo de solventes	Água	N/A	5% v/v
	Dimetilsulfóxido (DMSO)	N/A	5% v/v

¹ v/v: volume por volume

² Ingrediente ativo testado, não substância

Contaminação por transferência

A taxa de contaminação por transferência do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada testando painéis de alta titulação contendo o vírus SARS-CoV-2 numa matriz de esfregaços NP clínicos negativos em VTM/UTM, contaminada a 100 TCID₅₀/mL (10.000 vezes o LoD do ensaio). Os painéis positivos foram testados num padrão quadriculado, alternando com painéis negativos. Os testes consistiram em 588 resultados válidos (positivos e negativos) em três sistemas Panther. O Aptima SARS-CoV-2 Assay apresentou uma taxa de transferência de 0% (0/294).

Precisão do ensaio

A precisão no laboratório do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada com um painel de 4 membros composto por vírus em matriz de esfregaços NP clínicos negativos em VTM/UTM. O painel de 4 membros incluía um painel Negativo, um painel Negativo Alto (0,1x o LoD), um painel Positivo Baixo (1x o LoD) e um painel Positivo Moderado (5x o LoD). Os painéis foram testados por dois operadores, utilizando três lotes de reagentes em três sistemas Panther, ao longo de seis dias. Foram realizadas duas execuções por operador por dia, num total de 36 execuções. Cada um dos quatro painéis foi testado em três réplicas por execução, totalizando 108 réplicas por painel.

A concordância com os resultados esperados foi de 100% nos membros Negativo, Positivo Baixo e Positivo Moderado. O membro de painel Negativo Alto estava 10 vezes abaixo do LoD do ensaio, pelo que se esperava uma mistura de resultados positivos e negativos. Este painel apresentou 68/108 (63%) resultados positivos. A concordância com os resultados esperados para todos os quatro painéis é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7: Concordância dos resultados do Aptima SARS-CoV-2 Assay com os resultados esperados

Descrição do painel	Composição do painel	Conc. do painel TCID ₅₀ /mL	Resultado esperado	N.º de positivos	N.º de testados	Média kRLU	Concordância com o esperado (IC de 95%)
Negativo	N/A	N/A	Negativo	0	108	289	100% (96,6–100)
Negativo Alto	0,1xLoD	0,001	N/A	68	108	627	N/A
Positivo Baixo	1,0xLoD	0,01	Positivo	108	108	1131	100% (96,6–100)
Positivo Moderado	5,0xLoD	0,05	Positivo	108	108	1147	100% (96,6–100)

A variabilidade total do sinal do SARS-CoV-2 — medida como %CV — variou de 2,75% a 3,84% nos painéis Negativo, Positivo Baixo e Positivo Moderado. Para as fontes de variação, os seis fatores avaliados apresentaram valores de %CV <3,0%, conforme demonstrado na Tabela 8. O membro de painel Negativo Alto está 10 vezes abaixo do LoD do ensaio, e o %CV para este painel prevê-se ser superior ao dos outros. A maior fonte de variabilidade para este painel foi a variabilidade intra-execução.

Tabela 8: Variabilidade do sinal kRLU do Aptima SARS-CoV-2 Assay por membro do painel

Painel	Entre dias		Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre execuções		Intra-execuções		Total	
	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Negativo	0,91	0,31	4,97	1,72	0,0	0,0	4,04	1,40	0,0	0,0	6,75	2,33	9,35	3,23
Negativo Alto*	30,45	4,85	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	244,08	38,91	245,97	39,21
Positivo Baixo	6,46	0,57	6,74	0,60	0,0	0,0	28,10	2,48	0,0	0,0	31,77	2,81	43,43	3,84
Positivo Moderado	8,53	0,74	5,59	0,49	0,0	0,0	22,98	2,00	11,06	0,96	15,59	1,36	31,59	2,75

* O painel foi construído 10 vezes abaixo do LoD do ensaio. Espera-se maior variabilidade neste painel.

Observação: Se a variabilidade de alguns fatores for numericamente negativa, o DP e o CV são apresentados como 0,0.

Equivalência dos dispositivos de colheita

A equivalência entre os espécimes NP colhidos em VTM/UTM e os espécimes de esfregaços NP e nasais colhidos com o RespDirect (eSTM) foi avaliada testando espécimes individuais negativos e painéis simulados preparados com amostras clínicas emparelhadas, colhidas em pacientes com sintomas de infecção respiratória ou em triagem para SARS-CoV-2. Os painéis simulados foram preparados adicionando SARS-CoV-2 a espécimes NP e a espécimes nasais emparelhados de doadores individuais apenas para RespDirect, em concentrações de 2x e 5x o LoD.

Os resultados dos painéis negativos e simulados demonstraram sensibilidade e especificidade comparáveis entre os dois dispositivos de colheita (Tabela 9).

Tabela 9: Resultados de painéis negativos e simulados compostos por espécimes clínicos emparelhados de doadores individuais (esfregaços NP para VTM/UTM e esfregaços NP/nasais para RespDirect), colhidos com cada dispositivo de colheita e contaminados com SARS-CoV-2

Analito	Concentração da amostra	N.º por dispositivo de colheita	VTM/UTM-nasofaríngeos % de positivos	RespDirect-nasofaríngeos % de positivos	RespDirect-nasais % de positivos
Nenhum (amostra negativa)	0	150	0	0	0
SARS-CoV-2	2x o LoD	50	100	100	100
	5x o LoD	50	100	100	100

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada em três centros nos EUA usando um membro de painel negativo e dois membros de painel positivos. Fizeram-se testes com um lote de reagentes de ensaio e seis operadores (dois em cada instalação clínica). Em cada centro, o teste foi realizado durante pelo menos cinco dias. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel.

Um membro de painel negativo foi criado utilizando espécimes de esfregaços NP clínicos negativos agrupados em VTM/UTM, processados em STM (ou seja, matriz negativa). Os membros de painel positivos foram criados pela adição de concentrações de vírus SARS-CoV-2 inativado, correspondentes a 1-2x o LoD (positivo baixo) ou 3-5x o LoD (positivo moderado), na matriz negativa.

A concordância com os resultados esperados foi de 100% para todos os membros de painel. A variabilidade total do sinal do SARS-CoV-2, medida como %CV, foi $\leq 7,93\%$ (DP menor ou igual a 91,35) para todos os membros de painel positivos (Tabela 10).

Tabela 10: Variabilidade do sinal kRLU do Aptima SARS-CoV-2 Assay por membro de painel

Descrição do painel	N	Média kRLU	Entre centros		Entre operadores/ execuções ¹		Entre dias		Intra-execuições		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Negativo	90	286,0	27,04	9,45	25,42	8,89	0,45	0,16	6,55	2,29	37,69	13,18
SARS-CoV-2 Pos Baixo	90	1152,2	67,79	5,88	15,16	1,32	25,06	2,18	53,77	4,67	91,35	7,93
SARS-CoV-2 Pos Mod	90	1163,7	77,30	6,64	36,60	3,15	4,10	0,35	26,67	2,29	89,68	7,71

CV = coeficiente de variação, Mod = moderado, Pos = positivo, kRLU = unidade de luz relativa $\times 1000$, DP = desvio padrão.

¹ A variação Entre operadores pode ser confundida com a variação Entre execuções; por isso, as estimativas de variação Entre operadores e Entre execuções são combinadas na categoria "Entre operadores/execuções".

Desempenho clínico

Foram realizados dois estudos clínicos. O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi estimado em espécimes NP colhidos prospetivamente no Estudo Clínico 1 e em esfregaços nasais colhidos prospetivamente no Estudo Clínico 2.

Estudo Clínico 1: Estudo clínico prospetivo - espécimes de esfregaços nasofaríngeos

Este estudo foi realizado para demonstrar as características de desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay em espécimes de esfregaços NP. Foi realizado um estudo multicêntrico prospetivo utilizando espécimes remanescentes de esfregaços NP de indivíduos do sexo masculino e feminino de todas as idades, que apresentavam sinais e/ou sintomas de infecção respiratória compatíveis com COVID-19, vírus da gripe ou RSV. Quatro hospitais pediátricos/de adolescentes, privados e/ou universitários nos EUA participaram, fornecendo prospetivamente espécimes remanescentes de esfregaços NP conservados em meio de transporte viral (VTM). Estes espécimes foram testados em três centros nos EUA com o Aptima SARS-CoV-2 Assay.

O Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto ao desempenho para SARS-CoV-2 comparando os seus resultados em espécimes NP em UTM/VTM com um algoritmo composto de comparação (CCA) que consistia em dois testes moleculares SARS-CoV-2 altamente sensíveis autorizados pela FDA dos EUA e num ensaio PCR validado seguido de sequenciação bidirecional (PCR/BDS). Um resultado final do CCA era atribuído quando dois dos três resultados dos testes comparadores estavam em concordância.

Dos 1646 espécimes inscritos durante o estudo, 300 foram colhidos entre junho e julho de 2020, enquanto os restantes 1346 foram colhidos entre janeiro e abril de 2023. Um total de 1646 espécimes de esfregaços NP foram testados em execuções válidas do Aptima SARS-CoV-2 Assay, incluindo 9 (0,5%) com resultados iniciais inválidos. Após o novo teste, todos os 1646 espécimes apresentaram resultados finais válidos. O conjunto final de dados consistiu em 1495 espécimes de esfregaços NP avaliáveis, incluindo 1195 (79,9%) testados frescos e 300 (20,1%) testados após congelação; 149 espécimes NP foram excluídos da análise devido a manuseamento incorreto nos centros.

As informações demográficas dos 1495 indivíduos avaliáveis encontram-se na Tabela 11.

Tabela 11: Resumo das características demográficas dos participantes avaliáveis com espécimes de esfregaços NP colhidos prospetivamente

Total		1495
Sexo	Feminino	842 (56,3%)
	Masculino	651 (43,5%)
	Desconhecido	2 (0,1%)
Idade (anos)	Média	33,3
	Mediana	29,0
	Intervalo	0 – 98
	<5	270 (18,1%)
	5 – 21	373 (24,9%)
	22 – 59	499 (33,4%)
	≥60	353 (23,6%)

O desempenho do Aptima SARS-CoV-2 Assay com amostras prospectivas de esfregaços NP está resumido na Tabela 12. A Percentagem de Concordância Positiva (PPA) foi calculada como $100\% \times (VP / (VP + FN))$. Verdadeiro positivo (VP) indica que tanto o Aptima SARS-CoV-2 Assay como o algoritmo composto de comparação (CCA) apresentaram resultado positivo para SARS-CoV-2, e falso negativo (FN) indica que o resultado do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi negativo enquanto o CCA foi positivo. A Percentagem de Concordância Negativa (NPA) foi calculada como $100\% \times (VN / (VN + FP))$. Verdadeiro negativo (VN) indica que tanto o Aptima SARS-CoV-2 Assay como o CCA apresentaram resultados negativos, e falso positivo (FP) indica que o resultado do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi positivo enquanto o CCA foi negativo. Espécimes NP com resultados discordantes passaram por testes adicionais com um teste molecular SARS-CoV-2 autorizado pela FDA dos EUA, quando o volume da amostra permitiu.

Tabela 12: Desempenho do Aptima SARS-CoV-2 Assay com espécimes de esfregaços NP

Tipo de espécime de esfregaço NP	Percentagem de concordância positiva			Percentagem de concordância negativa		
	VP/(VP+FN)	%	IC de 95% ¹	VN/(FP+VN)	%	IC de 95% ¹
Fresco ²	80/82	97,6	91,5–99,3	1107/1113	99,5	98,8–99,8
Congelado ²	44/48	91,7	80,4–96,7	251/252	99,6	97,8–99,9
Global	124/130 ³	95,4	90,3–97,9	1358/1365 ⁴	99,5	98,9–99,8

IC = intervalo de confiança, FN = falso negativo, FP = falso positivo, VN = verdadeiro negativo, VP = verdadeiro positivo.

¹ IC da pontuação.

² Todas as amostras frescas foram colhidas em 2023. Todas as amostras congeladas foram colhidas em 2020.

³ Um (1) espécime com resultado falso negativo testou negativo para SARS-CoV-2 com um teste molecular SARS-CoV-2 autorizado pela FDA dos EUA, enquanto 4 testaram positivo e 1 teve resultado inconclusivo com o mesmo ensaio. Todas as 6 amostras apresentaram valores altos de Ct nos testes comparadores (Ct \geq 30,3) e no ensaio de resolução discordante (Ct \geq 30,29), sugerindo cargas virais baixas de SARS-CoV-2.

⁴ Um (1) espécime com resultado falso positivo testou positivo para SARS-CoV-2 com um teste molecular SARS-CoV-2 autorizado pela FDA dos EUA, enquanto 5 testaram negativo e 1 não teve resultado com o mesmo ensaio.

Estudo Clínico 2: Estudo clínico prospectivo - espécimes de esfregaços nasais

Este estudo foi realizado para demonstrar as características de desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay em espécimes de esfregaços nasais. O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado utilizando espécimes de esfregaços nasais colhidos num estudo clínico prospectivo multicêntrico. Indivíduos do sexo masculino e feminino, de todas as idades, apresentando sinais e/ou sintomas de infecção respiratória compatíveis com COVID-19, vírus da gripe ou RSV, foram incluídos em nove centros clínicos nos EUA, com diversidade geográfica e étnica, durante a temporada de infecções respiratórias de 2022–2023. Foram colhidos prospectivamente dois espécimes de esfregaços nasais de cada participante (num ambiente clínico): um espécime colhido por um profissional de saúde utilizando uma zaragatoa sintética floculada e conservada em UTM/VTM; um espécime colhido pelo próprio participante ou pelo profissional de saúde utilizando uma zaragatoa sintética floculada e conservada em UTM/VTM ou utilizando o esfregaço RespDirect e conservada num tubo de captura direta contendo eSTM (Kit de Colheita RespDirect).

O Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado quanto ao desempenho para SARS-CoV-2 comparando os seus resultados em espécimes nasais em UTM/VTM ou eSTM com um algoritmo composto de comparação (CCA) que consistia em dois testes moleculares SARS-CoV-2 altamente sensíveis autorizados pela FDA dos EUA e num ensaio PCR validado seguido de sequenciação bidirecional (PCR/BDS). Um resultado final do CCA era atribuído quando dois dos três resultados dos testes comparadores estavam em concordância.

Dos 2301 participantes incluídos, seis não preencheram os critérios de elegibilidade e foram retirados. Um total de 2241 espécimes em UTM/VTM e eSTM de 2295 participantes não retirados foram testados em ensaios válidos do Aptima SARS-CoV-2 Assay, incluindo 23 (1,0%) com resultados inicialmente inválidos. Após o novo teste, 13 espécimes apresentaram resultados válidos e 10 apresentaram resultados finais inválidos, totalizando 2231 (99,6%) espécimes com resultados finais válidos. Outros 118 participantes não puderam ser avaliados devido à retirada de espécimes, resultados Aptima ausentes/inválidos ou resultado desconhecido do CCA, ficando 2177 participantes avaliáveis para as análises de desempenho, incluindo 1159 com espécimes de esfregaços nasais avaliáveis em UTM/VTM e 1018 com espécimes de esfregaços nasais avaliáveis em eSTM.

As informações demográficas dos 2177 indivíduos avaliáveis encontram-se na Tabela 13.

Tabela 13: Resumo das características demográficas dos participantes com espécimes de esfregaços nasais colhidos prospectivamente

Total		2177
Sexo	Feminino	1287 (59,1%)
	Masculino	890 (40,9%)
Idade (anos)	Média	40,7
	Mediana	40,0
	Intervalo	0 – 90
Situação de vacinação contra COVID-19	Totalmente vacinado	1451 (66,7%)
	Parcialmente vacinado	106 (4,9%)
	Não vacinado	601 (27,6%)
	Desconhecido	19 (0,9%)
Número de dias desde o início dos sintomas	Média	4,6
	Mediana	3,0
	Intervalo	0 – 60

O desempenho do Aptima SARS-CoV-2 Assay com amostras prospectivas de esfregaços nasais está resumido na Tabela 14. A concordância percentual de PPA e NPA foi calculada conforme descrito no Estudo Clínico 1.

Tabela 14: Desempenho do Aptima SARS-CoV-2 Assay com espécimes de esfregaços nasais

Tipo de espécime de esfregaço nasal	Percentagem de concordância positiva			Percentagem de concordância negativa		
	VP/ (VP+FN)	%	IC de 95% ¹	VN/ (FP+VN)	%	IC de 95% ¹
UTM/VTM	138/143	96,5	92,1–98,5	992/1016	97,6	96,5–98,4
RespDirect eSTM	108/108	100	96,6–100	892/910	98,0	96,9–98,7
Global	246/251	98,0	95,4–99,1	1884/1926	97,8	97,1–98,4

IC = intervalo de confiança, eSTM = meio de transporte de espécimes melhorado, FN = falso negativo, FP = falso positivo, VN = verdadeiro negativo, VP = verdadeiro positivo, UTM/VTM = meio de transporte universal/viral.

¹ IC da pontuação.

Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/locs/2020/outbreak-of-2019-novel-coronavirus-2019-ncov-in-wuhan-china.html>. Consultado a 24 de fevereiro de 2025.
2. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/covid/signs-symptoms/index.html>. Consultado a 24 de fevereiro de 2025.
3. Cucinotta D. and Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed.* 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397.
4. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>. Consultado a 24 de fevereiro de 2025.
5. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19). <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=o>. Consultado a 24 de fevereiro de 2025.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Site do CLSI https://www.cdc.gov/niosh/healthcare/respiratory-protection/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/niosh/npptl/hospresptoolkit/hazardeval.html. Consultado a 24 de fevereiro de 2025.

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para suporte técnico específico do país e endereço de e-mail e número de telefone do serviço de atendimento ao cliente, visite www.hologic.com/support.

Os incidentes graves relacionados com o dispositivo ocorridos na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o doente se encontra estabelecido.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion, RespDirect e logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos EUA e/ou noutros países. Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou várias patentes nos EUA, as quais podem ser consultadas em www.hologic.com/patents.

©2017-2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-32201-601 Rev. 001
2025-09

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-32201-601 Rev. 001	Setembro de 2025	• Versão inicial