

AdV/hMPV/RV Assay (Panther Fusion™ System)

Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.

Exclusivamente para exportação dos Estados Unidos.

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
Transporte de espécimes	8
Panther Fusion System	9
Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay ...	9
Materiais necessários mas disponíveis separadamente	10
Procedimento de Teste no Panther Fusion System	11
Notas processuais	12
Controlo de qualidade	12
Interpretação de resultados	13
Limitações	14
Desempenho do Panther Fusion System Assay	15
Desempenho clínico	15
Sensibilidade analítica	16
Reatividade	17
Especificidade analítica	19
Interferência competitiva	21
Interferência	22
Transmissão/Contaminação	23
Precisão do ensaio	23
Bibliografia	25

Informações gerais

Utilização prevista

O Panther Fusion™ AdV/hMPV/RV Assay é um exame de diagnóstico *in vitro* de PCR (RT-PCR) multiplex, em tempo real, para a detecção e diferenciação rápidas e qualitativas do adenovírus (AdV), metapneumovírus humano (hMPV) e rinovírus (RV). Os ácidos nucleicos são isolados e purificados a partir de espécimes de exsudado nasofaríngeo obtidos de pessoas que apresentam os sinais e sintomas de uma infecção do trato respiratório.

Este ensaio visa ajudar no diagnóstico diferencial de infecções em seres humanos pelo adenovírus, metapneumovírus humano e rinovírus. Os resultados negativos não excluem as infecções pelo adenovírus, metapneumovírus humano e rinovírus, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão. Este ensaio foi concebido para ser utilizado no Panther Fusion System.

Resumo e explicação do teste

Os vírus respiratórios são responsáveis por uma vasta gama de infecções graves do trato respiratório, incluindo a constipação comum, gripe e difteria, e representam a causa mais comum da contração de doenças graves nos Estados Unidos. A gravidade da doença pode ser especialmente alta em jovens, imunodeprimidos e idosos. O diagnóstico exato e atempado da causa das infecções do trato respiratório tem muitos benefícios. Estes incluem um melhor tratamento do paciente, assegurando um tratamento antiviral apropriado (por exemplo: o oseltamivir para a gripe), diminuindo o custo total dos cuidados, reduzindo a seleção de organismos resistentes a antibióticos devido ao uso excessivo e inadequado de antibióticos,¹ ajudando os profissionais de controlo de infeções a fornecer as medidas adequadas à minimização da propagação nosocomial, e fornecendo informações valiosas às autoridades de saúde pública sobre os vírus atualmente em circulação na comunidade.²

Os adenovírus são membros da família *Adenoviridae*, os quais são vírus icosaédricos de tamanho médio (90 a 100 nm), não encapsulados, com um DNA de cadeia dupla.³ Neste momento, nos seres humanos há mais de 50 tipos de adenovírus de sete espécies (A a G).⁴ Os adenovírus mais comuns causam doenças respiratórias, as quais podem variar desde a constipação normal à pneumonia, difteria, e bronquite.³ Dependendo do tipo, os adenovírus podem causar outras doenças, tais como gastroenterite, conjuntivite, cistite e, embora menos frequentemente, doenças neurológicas.³ As crianças e as pessoas com um sistema imunológico debilitado correm um alto risco de desenvolver doenças graves por causa de uma infeção pelo adenovírus.³ O adenovírus circula durante o ano inteiro e os surtos deste tipo de vírus são mais comuns no final do inverno, na primavera e no início do verão, mas podem ocorrer em qualquer estação.⁵

Depois da descoberta do hMPV em 2001, este vírus foi identificado no mundo inteiro. O hMPV é um agente patogénico respiratório comum, especialmente presente em bebés e crianças. Este vírus está associado às infeções do trato respiratório superior e inferior, e podem ser um fator desencadeante da asma.⁶ Os sintomas normalmente associados ao hMPV incluem tosse, febre, congestão nasal e falta de ar. Os sintomas clínicos da infeção pelo hMPV podem progredir para a bronquiolite ou pneumonia, e assemelham-se a outros vírus que causam infeções do trato respiratório superior e inferior. Estima-se que o período de incubação seja de 3 a 6 dias, e a duração média da doença pode variar consoante a gravidade, mas assemelha-se a outras

infecções respiratórias causadas por vírus.⁷ O ponto máximo de incidência do hMPV ocorre principalmente na primavera, em zonas temperadas.⁸

Membros da família Picornaviridae, os rinovírus são os agentes patogênicos causadores da maioria das infecções respiratórias virais, e estão associados às exacerbações agudas das doenças respiratórias, incluindo asma, sinusite, otite média, e doença pulmonar obstrutiva crônica.⁹ Um determinado número de estudos confirma que o rinovírus é a causa mais comum da "constipação comum" e afeta todas as faixas etárias.⁸ Os sintomas geralmente incluem inflamação da garganta, defluxo, tosse, espirros, olhos lacrimejantes, dores de cabeça e dores de corpo. A maioria das pessoas recupera num prazo de 7 a 10 dias.⁸ Os rinovírus circulam o ano inteiro e são mais frequentes na primavera e no inverno.⁸

Princípios do procedimento

O Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay envolve os seguintes passos: lise celular da amostra, captura de ácidos nucleicos e transferência da eluição, e uma RT-PCR multiplex em que os analitos são simultaneamente amplificados, detetados e diferenciados. A captura e eluição de ácidos nucleicos são feitas num tubo individual no Panther Fusion System. O eluído é transferido para o tubo de reação do Panther Fusion System que contém os reagentes de ensaio. A RT-PCR multiplex é depois realizada para os ácidos nucleicos eluídos no Panther Fusion System.

Captura e eluição de ácidos nucleicos: Antes do processamento e realização de testes no Panther Fusion System, os espécimes são transferidos para um tubo de lise para espécimes que contém um meio de transporte de espécimes (STM), que lisa as partículas virais, liberta os ácidos nucleicos e os protege da degradação durante o armazenamento.

O Controlo Interno S (IC-S) é adicionado a cada espécime de teste e efetua o controlo através do Reagente de Captura S Panther Fusion (wFCR-S). O IC-S no reagente monitoriza o processamento, amplificação e deteção de espécimes.

Os oligonucleótidos de captura hibridizam-se com os ácidos nucleicos nos espécimes de teste. Os ácidos nucleicos hibridizados são depois separados do espécime num campo magnético.

Os passos de lavagem retiram componentes estranhos do tubo de reação. O passo de eluição, elui os ácidos nucleicos purificados. Durante o passo de captura e eluição dos ácidos nucleicos, os ácidos nucleicos são totalmente isolados dos espécimes.

Transferência de eluição e RT-PCR: Durante o passo de transferência da eluição, os ácidos nucleicos eluídos são transferidos para um tubo de reação Panther Fusion que já contém a mistura inicial reconstituída e óleo.

Para o RV e o hMPV, assim como para os alvos de controlo interno, a amplificação ocorre via RT-PCR. A transcriptase inversa gera cópias do DNA na sequência-alvo. Para o AdV, a amplificação do alvo ocorre por meio de PCR. Para todos os alvos, "primers" e sondas frontais e inversos específicos amplificam os alvos, enquanto simultaneamente detetam e discriminam múltiplos tipos-alvo através de PCR multiplex.

O Panther Fusion System compara o sinal de fluorescência a um "cut-off" predeterminado, para produzir um resultado qualitativo pela presença ou ausência do analito.




Os analitos e o canal utilizado para a sua detecção no Panther Fusion System estão resumidos na seguinte tabela.

Analito	Gene-alvo	Canal do instrumento
Adenovírus	Hexon	HEX
Metapneumovírus humano	Nucleocapsídeo	ROX
Rinovírus	5' UTR	FAM
Controlo interno	Não aplicável	RED677

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de Instruções do Panther Fusion System*.
- D. O Reagente Potenciador S Panther Fusion (FER-S) é corrosivo, nocivo por ingestão, e provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- E. Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.
- F. Trate todos os espécimes como se estes fossem infecciosos, utilizando procedimentos laboratoriais de segurança, tais como os descritos na secção de Biossegurança em Laboratórios de Microbiológica e Biomedicina do CDC/NIH, e no Documento M29 de Proteção de Funcionários de Laboratórios contra Infeções Contraídas durante o Trabalho do CLSI.
- G. Utilize somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- H. Utilize luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes.
- I. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com espécimes e reagentes, e de acordo com os regulamentos nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.
- J. As datas de validade listadas nos Tubos de Lise de Espécimes Panther Fusion referem-se à transferência de amostras para o tubo e não à realização de testes da amostra. Os espécimes colhidos/transferidos em qualquer data anterior a estas datas de validade podem ser analisados, desde que tenham sido transportados e preservados de acordo com o folheto informativo adequado, mesmo que as datas de validade tenham passado.
- K. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade dos mesmos. Não foi avaliada a estabilidade do espécime em condições de transporte, para além das recomendadas.

- 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 entram em contacto uns com os outros e de que deita fora os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.
- M. Não utilize os reagentes ou controlos depois da data de validade.
- 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 Fusion System* (página 11) para obter mais informações.
- O. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaios. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther Fusion System verifica os níveis de reagentes.
- P. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- Q. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser respeitados em conformidade com os regulamentos locais, regionais e/ou nacionais, ou requisitos de certificação, e os procedimentos normais de controlo de qualidade do seu laboratório. Referência ao documento C24-A3 do CLSI, *Controlo Estatístico de Qualidade para Medições Quantitativas: Princípios e definições*: Recomenda-se [Approved Guideline – Third Edition] ou outras diretrizes publicadas para o controlo de qualidade geral. Para obter mais informações sobre as práticas adequadas de controlo de qualidade, consulte: 42 CFR 493.1205.
- R. Não utilize o cartucho de ensaio se a bolsa de conservação perder o selo, ou se a película do cartucho de ensaio não estiver intacta. Contacte a Hologic em qualquer um dos casos.
- S. Não utilize os pacotes de fluidos se o selo de alumínio vazar. Contacte a Hologic se isto se verificar.
- T. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.

	Panther Fusion Oil <i>Polydimethylsiloxane 100%</i>
	Atenção H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave
	Panther Fusion Enhancer Reagent-S <i>Lithium Hydroxide Monohydrate 5-10%</i>
	Perigo H302 - Nocivo por ingestão H314 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção ocular/proteção facial P260 - Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis P303 + P361 + P353 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche P280 - Usar proteção ocular/proteção facial P305 + P351 + P338 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar P310 - Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico

Nota: para obter informações sobre quaisquer declarações de perigo e de precaução que possam estar associadas a estes reagentes, consulte a Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologic.com/sds.

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

A. A seguinte tabela fornece os requisitos de conservação e manuseamento para este ensaio.

Reagente	Armazenamento não aberto	Estabilidade Dentro do instrumento/ Aberto ¹	Armazenamento aberto
Cartucho de Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay	2 °C a 8 °C	60 dias	2 °C a 8 °C ²
Reagente de Captura S Panther Fusion (FCR-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Reagente Potenciador S Panther Fusion (FER-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Controlo Interno S Panther Fusion (IC-S)	2 °C a 8 °C	(Em wFCR-S)	Não aplicável
Tampão de Eluição Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Óleo Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Tampão de Reconstituição I Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Controlo Positivo AdV/hMPV/RV Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco descartável	Não aplicável - descartável
Controlo Negativo Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco descartável	Não aplicável - descartável

Quando os reagentes forem retirados do Panther Fusion System, devolva-os imediatamente às respetivas temperaturas de conservação.

¹ A estabilidade de bordo começa no momento em que o reagente é colocado no Panther Fusion System, para o cartucho de Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay, FCR-S, FER-S e IC-S. A estabilidade de bordo para o Tampão de Reconstituição I Panther Fusion, Tampão de Eluição Panther Fusion e Reagente de Óleo Panther Fusion começa quando o reagente é usado pela primeira vez.

² Se for retirado do Panther Fusion System, conserve o cartucho de ensaio num recipiente hermético com dessecante, à temperatura de conservação recomendada.

- B. O Reagente de Captura S Panther Fusion e o Reagente Intensificador S Panther Fusion permanecem estáveis durante 60 dias quando são tapados e conservados a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Não refrigere.
- C. Descarte quaisquer reagentes não usados que ultrapassaram a sua estabilidade dentro do instrumento.
- D. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação dos reagentes.
- F. **Não congele os reagentes.**

Colheita e conservação de espécimes

Espécimes - O material clínico recolhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay, inclui-se espécimes de exsudado nasofaríngeo num meio de transporte viral (VTM).

Amostras - Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material para ser testado no Panther Fusion System, incluindo espécimes, espécimes transferidos para tubos de lise para espécimes Panther Fusion e controlos.

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

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

A. Os tipos de espécimes incluem espécimes de exsudado nasofaríngeo.

Colha os espécimes de exsudado nasofaríngeo de acordo com a técnica convencional, utilizando uma zaragatoa com ponta de poliéster, rayon e nylon. Coloque imediatamente o espécime de exsudado em 3 mL de meio de transporte viral (VTM).

Os seguintes tipos de meios de transporte viral foram verificados para uso.

- Formulações Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
- Meio de Transporte Universal Copan
- Meio de Transporte Viral Universal BD

B. Processamento de espécimes

1. Antes de proceder à realização de testes no Panther Fusion System, transfira o espécime* para o tubo de lise para espécimes Panther Fusion.

- Transfira 500 µL dos espécimes de exsudado nasofaríngeo para um tubo de lise para espécimes Panther Fusion.

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

2. Conservação de espécimes antes da análise

- a. Depois da colheita, os espécimes podem ser conservados entre 2 °C e 8 °C, até 96 horas, antes de serem transferidos para o tubo de lise para espécimes Panther Fusion. Os volumes de espécimes restantes podem ser conservados a ≤-70 °C.
- b. O espécime no tubo de lise de espécimes Panther Fusion pode ser armazenado mediante uma das seguintes condições:
 - entre 15 °C e 30 °C, até 6 dias, ou
 - entre 2 °C e 8 °C, até 3 meses.

Nota: *Recomenda-se que os espécimes transferidos para o tubo de lise para espécimes Panther Fusion sejam conservados tapados, em posição vertical, num suporte.*

C. Os espécimes no Panther Fusion System podem ser arquivados para testes adicionais posteriores.

D. Conservação de amostras depois da análise

1. As amostras já analisadas devem ser conservadas em posição vertical num suporte, mediante uma das seguintes condições:
 - entre 15 °C e 30 °C, até 6 dias, ou
 - entre 2 °C e 8 °C, até 3 meses.
2. As amostras devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.
3. Se as amostras analisadas tiverem que ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável nos tubos de espécimes. Se as amostras tiverem que ser expedidas para análise noutra local, as temperaturas recomendadas terão que ser mantidas. Antes de destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de transporte 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.

Transporte de espécimes

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

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

Panther Fusion System

O Panther Fusion System é um sistema de teste de ácidos nucleicos integrado, com todos os passos completamente automatizados para a realização de ensaios Panther Fusion, desde o processamento de amostras até à amplificação, deteção e redução de dados.

Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay

Embalagem do ensaio

Componentes ¹	Peça nº	Conservação
Cartuchos de Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay, 96 ensaios Cartucho de Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay, 12 testes, 8 por caixa	PRD-04330	2 °C a 8 °C
Controlo Interno S Panther Fusion, 960 testes Tubo de Controlo Interno S Panther Fusion, 4 por caixa	PRD-04332	2 °C a 8 °C
Controlos de Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay Tubo de Controlo Positivo AdV/hMPV/RV Panther Fusion, 5 por caixa Tubo de Controlo Negativo Panther Fusion, 5 por caixa	PRD-04338	2 °C a 8 °C
Reagente de Extração S Panther Fusion, 960 testes Frasco de Reagente de Captura S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa Frasco de Reagente Potenciador S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa	PRD-04331	15 °C a 30 °C
Tampão de Eluição Panther Fusion, 2.400 testes Embalagem do Tampão de Eluição Panther Fusion, 1.200 testes, 2 por caixa	PRD-04334	15 °C a 30 °C
Tampão de Reconstituição I Panther Fusion, 1.920 testes Conjunto de Tampão de Reconstituição I Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04333	15 °C a 30 °C
Reagente de Óleo Panther Fusion, 1.920 testes Conjunto de Reagente de Óleo Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04335	15 °C a 30 °C

¹ Os componentes também podem ser encomendados nos seguintes conjuntos:
o Kit de Fluidos Universal Panther Fusion, PRD-04430 contém 1 Óleo Panther Fusion e 1 Tampão de Eluição Panther Fusion.
A embalagem Fluidos do Ensaio I-S Panther Fusion PRD-04431 contém 2 unidades de Reagentes de Extração S Panther Fusion, 2 unidades de Controlo Interno S Panther Fusion e 1 unidade de Tampão de Reconstituição I Panther Fusion.

Artigos embalados individualmente

Artigos	Peça nº
Tubos de lise para espécimes Panther Fusion, 100 por saco	PRD-04339

Materiais necessários mas disponíveis separadamente

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

Material	Cód. nº
Sistema Panther	303095
Módulo Panther Fusion	ASY-09600
Kit de Fluidos de Ensaio Aptima (Solução de Lavagem Aptima, Tampão Aptima para o Fluido de Desativação, e Reagente de Óleo Aptima)	303014 (1.000 testes)
Unidades Multi-tubos (MTUs)	104772-02
Kit de Sacos de Resíduos Panther	902731
Tampa do Recipiente de Resíduos Panther	504405
Ou o Kit de Execução do Sistema Panther para ensaios em tempo real contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos e fluidos de ensaio	PRD-03455 (5.000 testes)
Ou o Kit de Execução do Sistema Panther (para executar ensaios TMA em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, detetores automáticos* e fluidos de ensaio	303096 (5.000 testes)
Tabuleiros de Tubos Panther Fusion, 1.008 testes, 18 por caixa	PRD-04000
Pontas Descartáveis para Manuseamento de Líquidos (LiHa), 1.000 µL	10612513 (Tecan)
Tampas perfuráveis Aptima (opcionais)	105668
Tampas não perfuráveis de substituição (opcionais)	103036A
Tampas de substituição para frascos de reagentes de extração	CL0040
Pontas e pipeta P1000, com encaixes hidrofóbicos	-
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 7% (0,7 M a 1,0 M) Nota: misture uma parte de lixívia com uma parte de água desionizada, para fazer uma solução operacional à base de lixívia [2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio].	-
Luvas descartáveis e isentas de pó	-

*Somente necessário para ensaios Panther Aptima TMA.

Procedimento de Teste no Panther Fusion System

Nota: Consulte o Manual de Instruções do Panther Fusion System para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

1. 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 desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas e absorventes indicados para bancadas de laboratórios, com forro de plástico.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada para preparar as amostras, utilizando o procedimento descrito no passo A.1.

B. Preparação do reagente

1. Retire os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S da conservação.
2. Abra os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S, e descarte as tampas. Abra a porta TCR na zona superior do Panther Fusion System.
3. Coloque os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S nas posições apropriadas, no carrossel TCR.
4. Feche a porta TCR.

Nota: O Panther Fusion System adiciona o IC-S ao FCR-S. Depois de adicionar o IC-S ao FCR-S, este será referido como wFCR-S (FCR-S operacional). Se o FCR-S e FER-S foram retirados do sistema, use novas tampas e conserve imediatamente de acordo com as condições de conservação adequadas.

C. Manuseamento de espécimes

Nota: Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção de Colheita e Conservação de Espécimes, antes de carregar espécimes no Panther Fusion System.

1. **Não coloque amostras no vórtex.**
2. Inspeccione os tubos de amostra 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 evitar um erro de processamento, assegure-se de adicionar um volume de amostra adequado ao tubo de lise para espécimes Panther Fusion. Quando 500 µL de espécime de exsudado nasofaríngeo são adicionados ao tubo de lise para espécimes Panther Fusion, há volume suficiente para executar 3 extrações de ácido nucleico.

D. Preparação do sistema

Para obter instruções sobre como configurar o Panther Fusion System, incluindo sobre como carregar espécimes, cartuchos de ensaio e fluidos universais, consulte o Manual de Instruções do Panther Fusion System.

Notas processuais

A. Controlos

1. O Controlo Positivo AdV/hMPV/RV Panther Fusion e o Controlo Negativo Panther Fusion podem ser carregados em qualquer posição de suporte, em qualquer zona de amostras, no Panther Fusion System.
2. Quando os tubos de controlo são pipetados e processados para o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay, estes permanecem ativos por até 30 dias (com a frequência de controlo configurada por um administrador), a menos que os resultados de controlo sejam inválidos ou um novo lote de cartuchos de ensaio seja carregado.
3. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez.
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.

Controlo de qualidade

Uma execução ou resultado de amostra poderá ser invalidada pelo Panther Fusion System se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente analisados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, é necessário analisar um conjunto de controlos de ensaio. Uma réplica do ensaio de controlo negativo e do ensaio de controlo positivo deve ser analisada sempre que um novo lote de cartuchos de ensaio é carregado no Panther Fusion System, ou quando o atual conjunto de controlos válidos para um lote de cartuchos ativo perde a validade.

O Panther Fusion System está configurado para precisar que os controlos de ensaio sejam executados com um intervalo (especificado pelo administrador) de até 30 dias. O software do Panther Fusion System alerta o operador quando os controlos de ensaio são necessários e não inicializa 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 Fusion System. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar uma série de verificações de validade realizadas pelo Panther Fusion 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 passa, os controlos de ensaio são expirados pelo Panther Fusion System, e um novo conjunto de controlos de ensaio deve ser analisado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

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

Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra durante o processo de extração. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do Panther Fusion System. A deteção do controlo interno não é necessária para os espécimes que são positivos para AdV, hMPV e/ou RV. O controlo interno deve ser detetado em todos os espécimes que são negativos para alvos de AdV, hMPV e RV; os espécimes que não cumprem este critério são comunicados como inválidos. Cada amostra com um resultado inválido deve ser analisada novamente.

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

Interpretação de resultados

O Panther Fusion System determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. Os resultados para a deteção do AdV, hMPV e RV são apresentados separadamente. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido.

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

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado do AdV	Resultado do hMPV	Resultado do RV	Resultado de IC	Interpretação
Neg	Neg	Neg	Válido	AdV, hMPV e RV não detetados.
POS	Neg	Neg	Válido	AdV detetado. hMPV e RV não detetados.
Neg	POS	Neg	Válido	hMPV detetado. AdV e RV não detetados.
Neg	Neg	POS	Válido	RV detetado. AdV e hMPV não detetados.
POS	POS	Neg	Válido	AdV e hMPV detetados. RV não detetado.
Neg	POS	POS	Válido	hMPV e RV detetado. AdV não detetado.
POS	Neg	POS	Válido	AdV e RV detetado. hMPV não detetado.
POS	POS	POS	Válido	AdV, hMPV e RV detetados. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra.

Nota: o resultado POS será acompanhado por valores de limite de ciclos (Lc).

Limitações

- A. O uso deste ensaio está limitado a pessoal com formação profissional para efetuar este procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto pode causar resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, transporte, conservação e processamento adequados dos espécimes.
- C. A contaminação só pode ser evitada pela adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. Os resultados negativos não excluem as infeções pelo adenovírus, metapneumovírus humano ou rinovírus, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão.
- E. Existe o risco de resultados falsos positivos para hMPV ou AdV em amostras com elevado conteúdo viral de rinovirus. Caso se observem resultados duplamente positivos nos ensaios AdV/hMPV/RV do Panther Fusion, nos quais o resultado positivo RV tem um valor $Ct \leq 26$ com um sinal de RFU $\geq 28,000$ e o resultado positivo para hMPV e/ou AdV tem um valor $Ct \geq 39$, é possível que o resultado positivo para hMPV e/ou AdV seja falso positivo.
- F. Este exame não diferencia os subtipos do adenovírus (isto é: 1 a 58), os subtipos do metapneumovírus humano (isto é: A1, A2, B1, B2) ou as espécies de rinovírus (isto é: rinovírus A, rinovírus B ou rinovírus C); são necessários testes adicionais para diferenciar quaisquer subtipos de adenovírus específicos, subtipos de metapneumovírus humano ou espécies de rinovírus específicas, em consulta com os departamentos de saúde pública locais.
- G. Um resultado positivo indica a deteção de ácidos nucleicos do vírus em causa. Os ácidos nucleicos podem persistir mesmo depois do vírus deixar de ser viável.

Desempenho do Panther Fusion System Assay

Desempenho clínico

Exsudados nasofaríngeos retrospectivamente colhidos de pacientes norte-americanos - com resultados de exame de referência - foram usados nesta avaliação. Os resultados são apresentados nas tabelas 2, 3 e 4.

Para os espécimes de exsudado nasofaríngeo, 500 microlitros (µL) foram diluídos para um tubo de lise para espécimes Panther Fusion, com 780 µL de meio de transporte de espécimes (STM), e uma única réplica foi analisada com o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay. O resultado foi comparado a um resultado de teste de ácidos nucleicos (NAT), aprovado pela FDA. A sensibilidade e especificidade para a detecção de ácidos nucleicos do AdV, hMPV, e RV foram determinadas.

Um total de 546 espécimes de exsudado nasofaríngeo foi analisado com o Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay e com o Luminex xTAG® Respiratory Viral Panel, Luminex xTAG® Respiratory Viral Panel FAST v2 ou GenMark Dx eSensor Respiratory Viral Panel. A sensibilidade e especificidade para a detecção do AdV, hMPV e RV são apresentadas em relação aos espécimes de exsudado nasofaríngeo.

Tabela 2: Resultados do AdV

Tipo de espécime	N	AdV+		AdV-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion AdV +	Fusion AdV -	Fusion AdV +	Fusion AdV -			
Exsudado nasofaríngeo	546	175	3*	11**	357	98,3% 95,2 - 99,4%	97,0% 94,7 - 98,3%	97,4% 95,7 - 98,5%

* Dois dos três espécimes discordantes foram analisados com o ensaio aprovado pela FDA. O AdV não foi detectado em ambos os espécimes. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

** Seis dos onze espécimes discordantes foram analisados com o ensaio aprovado pela FDA. O AdV foi detectado em cinco espécimes. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

Tabela 3: Resultados do hMPV

Tipo de espécime	N	hMPV+		hMPV-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion hMPV +	Fusion hMPV -	Fusion hMPV +	Fusion hMPV -			
Exsudado nasofaríngeo	546	104	0	24*	418	100,0% 96,4 - 100,0%	94,6% 92,0 - 96,3%	95,6% 93,5 - 97,0%

* Dezanove dos 24 espécimes discordantes foram testados com o ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente. O hMPV foi detectado em quatro espécimes. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

Tabela 4: Resultados do RV

Tipo de espécime	N	RV+		RV-		Sensibilidade CI de 95%	Especificidade CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion RV +	Fusion RV -	Fusion RV +	Fusion RV -			
Exsudado nasofaríngeo	546	255	28*	12**	251	90,1% 86,1 - 93,1%	95,4% 92,2 - 97,4%	92,7% 90,2 - 94,6%

* Vinte e três dos 28 espécimes discordantes foram analisados com o ensaio de sequenciação bidirecional, desenvolvido e validado internamente. O RV não foi detetado em 16 das 23 analisadas. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

** Os 12 espécimes discordantes foram analisados com o ensaio de sequenciação bidirecional, desenvolvido e validado internamente. O RV foi detetado em nove espécimes.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção (LoD)) do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay para o tipo de espécime de exsudado nasofaríngeo foi determinada pela realização de testes a espécimes clínicos negativos de AdV/hMPV/RV agrupados, misturados com as seguintes culturas de vírus a várias concentrações: O adenovírus (1, 3, 4, 9, 12, 40), hMPV (A1, A2, B1, B2) e RV (A-18 e B-26). Pelo menos doze réplicas foram analisadas com cada um dos três lotes de reagentes, para um total combinado de 36 réplicas. Concentrações específicas de LoD foram verificadas ao analisar 20 réplicas adicionais, com um lote de reagentes. A sensibilidade analítica (LoD) é definida como a concentração mais baixa, à qual $\geq 95\%$ de todas as réplicas foram analisadas e identificadas como positivas, tal como resumido na seguinte tabela.

Tabela 5: Sensibilidade à zaraçatoa da nasofaringe

Estirpe viral	Concentração de LoD
Adenovírus 1 (Espécie C)	1x10 ⁰ TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 3 (Espécie B)	1x10 ⁰ TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 4 (Espécie E)	1x10 ⁻² TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 9 (Espécie D)	1x10 ^{-0,5} TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 12 (Espécie A)	1x10 ^{-0,5} TCID ₅₀ /mL
Adenovírus 40 (Espécie F)	1x10 ^{-1,5} TCID ₅₀ /mL
hMPV A1-16	1x10 ² TCID ₅₀ /mL
hMPV A2-20	1x10 ¹ TCID ₅₀ /mL
hMPV B1-3	1x10 ^{0,5} TCID ₅₀ /mL
hMPV B2-8	1x10 ⁰ TCID ₅₀ /mL
Rinovírus A-18	1x10 ^{-0,5} TCID ₅₀ /mL
Rinovírus B-26	1x10 ⁰ TCID ₅₀ /mL

Reatividade

A reatividade do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay foi avaliada contra múltiplas estirpes de AdV, hMPV e RV. A avaliação da reatividade simulada foi realizada *in silico* para os tipos que não estão disponíveis para teste. A reatividade foi prevista para o tipo 52-58 do AdV e para o tipo C do RV.

Tabela 6: Resultados da reatividade

Alvo	Descrição	Concentração	AdV	hMPV	RV
Adenovírus	AdV 1	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 2	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 3	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 4	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 5	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 6	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 7	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 8	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 9	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 10	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 11	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 12	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 13	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 14	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 15	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 16	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 17	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 19	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 20	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 21	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 22	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 23	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 24	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 25	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 26	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 27	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 28	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 29	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 30	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 31	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 32	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 33	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 34	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 35	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-

Tabela 6: Resultados da reatividade (continuação)

Alvo	Descrição	Concentração	AdV	hMPV	RV
Adenovírus	AdV 36	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 37	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 38	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 39	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 40	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 41	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 42	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 43	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 44	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 45	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 46	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 47	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 48	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 49	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
	AdV 50	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
AdV 51	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-	
Metapneumovírus humano	hMPV A1-16	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV A1-9	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV A2-20	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV A2-27	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV B1-3	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV B1-5	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV B2-18	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV B2-4	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
	hMPV B2-8	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	+	-
Rinovírus*	RV A1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A16	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A18	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A32	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A33	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A39	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A40	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A44	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A51	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A59	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A61	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A65	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+

Tabela 6: Resultados da reatividade (continuação)

Alvo	Descrição	Concentração	AdV	hMPV	RV
Rinovírus*	RV A76	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A78	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A89	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV A100	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B26	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B52	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B69	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B70	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B79	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
	RV B86	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+

* A avaliação da reatividade simulada realizada in silico previu a reatividade com várias estirpes do rinovírus C.

Especificidade analítica

A especificidade analítica do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay foi avaliada ao analisar um painel de 64 organismos, consistindo de 30 virais, 32 bactericidas e 2 estirpes de fungos, representando agentes patogênicos respiratórios comuns, ou flora normalmente presente na nasofaringe. Bactérias e fungos foram analisados em concentrações de 10⁵ a 10⁸ CFU/mL ou IFU/mL, exceto quando indicado. Vírus foram testados em concentrações de 10³ a 10⁷ TCID₅₀/mL.

A especificidade analítica do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay foi de 100% para AdV, hMPV e RV.

Tabela 7: Resultados de especificidade

Organismo	Concentração	AdV	hMPV	RV
<i>Acinetobacter baumannii</i> 307-0294	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Bordetella parapertussis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Burkholderia cepacia</i> Z066	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Candida glabrata</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1x10 ⁵ CFU/mL	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁴ CFU/mL	-	-	-
Estirpe CMV AD 169	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coronavírus 229E	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coronavírus OC43	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1x10 ⁷ CFU ₅₀ /mL	-	-	-
Coxsackie B3	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coxsackie B4	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-

Tabela 7: Resultados de especificidade (continuação)

Organismo	Concentração	AdV	hMPV	RV
Coxsackie B5/10/2006	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus Coxsackie A10	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus Coxsackie A21	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>E. coli</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
EBV	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovírus 11	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovírus 2	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovírus 3	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovírus 6	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Enterovírus 68	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Enterovírus 70	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Haemophilus Influenzae	1x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
HPIV-1	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
HPIV-2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
HPIV-3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
HPIV-4a	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Estirpe Macintyre HSV-1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Estirpe HSV-2 Tipo 2G	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Gripe A (H1N1)	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Gripe A (H3N2)	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Gripe B	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Z048	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Measles/7/2000	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Vírus da papeira	1x10 ⁵ CFU/mL	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	5x10 ¹⁰ cópias de rRNA/mL	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	5x10 ⁹ cópias de rRNA/mL	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria meningitides</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Vírus da poliomielite 1	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-

Tabela 7: Resultados de especificidade (continuação)

Organismo	Concentração	AdV	hMPV	RV
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
VSR A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
VSR B	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Serratia marcescens</i> Z053	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (<i>Legionella micdadei</i>)	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Vírus da varicela zóster	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-

Interferência competitiva

A interferência competitiva do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay foi avaliada com uma matriz clínica simulada, com pares de vírus-alvo em duas concentrações diferentes. Uma das concentrações esteve próxima do limite de detecção (3X de LoD), enquanto a outra concentração esteve alta (1.000X de LoD). A presença de dois vírus em concentrações variáveis numa única amostra não exerceu nenhum efeito sobre a sensibilidade analítica (100% de detecção para ambos os alvos) na concentração indicada na seguinte tabela.

Tabela 8: Interferência competitiva

Condição	Alvo 1		Alvo 2		Resultado do AdV	Resultado do hMPV	Resultado do RV
	Descrição	Concentração	Descrição	Concentração			
1	AdV	3X de LoD	hMPV	1.000X de LoD	+	+	-
2	AdV	3X de LoD	RV	1.000X de LoD	+	-	+
3	hMPV	3X de LoD	AdV	1.000X de LoD	+	+	-
4	hMPV	3X de LoD	RV	1.000X de LoD	-	+	+
5	RV	3X de LoD	AdV	1.000X de LoD	+	-	+
6	RV	3X de LoD	hMPV	1.000X de LoD	-	+	+

Interferência

Mucina, sangue total e outras substâncias potencialmente interferentes (medicamentos vendidos mediante receita médica e produtos vendidos sem receita médica) que podem estar presentes nas amostras foram avaliadas no Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay. A quantidade clinicamente relevante das substâncias potencialmente interferentes foi adicionada à matriz clínica simulada e testada de forma não misturada e misturada com uma cultura de AdV, hMPV e RV nas suas respectivas concentrações (3X de LoD). As substâncias consistiam em sprays nasais (líquidos e em pó), comprimidos ingeríveis, pastilhas, e substâncias injetáveis e endógenas, tal como mostrado na Tabela 9.

Chegou-se à conclusão de que todas as substâncias testadas não exercem impacto sobre o desempenho do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay.

Tabela 9: Substâncias potencialmente interferentes

Tipo	Nome da substância	Ingrediente(s) ativos(s)	Concentração
Endógeno	Mucina	Proteína de mucina purificada	60 µg/mL
	Sangue humano	Sangue	2% v/v
Sprays nasais ou gotas	Neo-Syneprine®	Fenilefrina	15% v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15% v/v
	Salina	Cloreto de sódio	15% v/v
	Ventolin® HFA	Albuterol	15% v/v
Corticosteroides nasais	QVAR®, Beconase AQ	Beclometasona	5% v/v
	Dexacort	Dexametasona	5% v/v
	AEROSPAN®	Flunisolida	5% v/v
	Nasacort	Triancinolona	5% v/v
	Rhinocort	Budesonida	5% v/v
	Nasonex	Mometasona	5% v/v
	Flonase	Fluticasona	5% v/v
Gel nasal	Zicam® (Alívio de Alergias)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur	5% v/v
Pastilhas para a garganta	Pastilhas Cloracéticas para a Garganta	Benzocaína Mentol	0,63 mg/mL
Medicamentos antivirais	Relenza®	Zanamivir	3,3 mg/mL
	TamiFlu	Oseltamivir	25 mg/mL
	Rebitol	Ribavirina	20 mg/mL
Pomada nasal (antibiótico)	Crema Bactroban	Mupirocina	10 mg/mL
Sistémico (antibiótico)	Tobramicina	Tobramicina	4,0 µg/mL

Transmissão/Contaminação

O estudo da transmissão/contaminação cruzada foi realizado com amostras negativas, alternadamente colocadas entre amostras positivas altas e analisadas. As amostras positivas altas foram preparadas através da mistura (mais de 10.000X de LoD). Nove execuções separadas - com espécimes negativas e positivas, colocadas num padrão de tabuleiro de xadrez - foram analisadas com três instrumentos diferentes, para um total combinado de 449 espécimes positivas e 450 espécimes negativas. A taxa de transmissão foi de 0,2%.

Precisão do ensaio

A precisão do Panther Fusion AdV/hMPV/RV Assay foi avaliada com um painel de 7 membros. O painel foi testado por três operadores, em duas execuções separadas por dia, utilizando três lotes de reagentes em três sistemas Panther Fusion, durante 45 dias.

Os membros do painel estão descritos na tabela 10, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados para cada alvo. A tabela 11 apresenta a análise da média e variabilidade entre instrumentos, entre lotes de reagentes, entre operadores, entre dias, entre execuções e intraexecuções, e geral (total) para Lc.

Tabela 10: Concordância Percentual e Descrição do Painel

Alvo	Membro do painel	% Positivo	% Concordância total (95% de CI)
AdV	AdV 3x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	AdV 1x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	AdV 0,01x de LoD	10,6% (17/161)	89,4% (83,7 - 93,3%)
	Negativo	0,6% (1/162)	99,4% (96,6 - 99,9%)
hMPV	hMPV 3x de LoD	100,0% (160/160)	100,0% (97,7 - 100%)
	hMPV 1x de LoD	100,0% (161/161)	100,0% (97,7 - 100%)
	hMPV 0,01x de LoD	17,9% (29/162)	82,1% (75,5 - 87,2%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100,0%)
RV	RV 3x de LoD	100,0% (161/161)	100,0% (97,7 - 100%)
	RV 1x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	RV 0,01x de LoD	1,9% (3/160)	98,1% (94,6 - 99,4%)
	Negativo	0,6% (1/162)	99,4% (96,6 - 99,9%)

Tabela 11: Variabilidade do sinal

Alvo	Membro do painel	Média do Lc	Entre instrumentos		Entre lotes de reagentes		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Intraexecuções		Total	
			DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
AdV	AdV 3x de LoD	33,5	0,1	0,4	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,7	0,4	1,2	0,5	1,5
	AdV 1x de LoD	35,2	0,2	0,6	0,0	0,0	0,0	0,2	0,1	0,3	0,3	0,8	0,5	1,5	0,6	1,9
	AdV 0,01x de LoD	40,4	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	2,4	0,7	1,9	1,3	3,2
hMPV	hMPV 3x de LoD	33,5	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,8	0,8	2,4	0,8	2,5
	hMPV 1x de LoD	35,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,7	2,0	0,7	2,0
	hMPV 0,01x de LoD	40,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,7	0,5	1,4	1,2	3,1	1,4	3,5
RV	RV 3x de LoD	32,5	0,1	0,5	0,1	0,3	0,0	0,1	0,0	0,0	0,3	1,0	0,6	2,0	0,7	2,4
	RV 1x de LoD	33,8	0,1	0,5	0,1	0,5	0,0	0,0	0,1	0,4	0,0	0,0	0,8	2,6	0,9	2,8
	RV 0,01x de LoD	40,6	1,9	4,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	1,6	2,0	5,0
IC	Negativo	30,7	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,6	0,5	1,7	0,5	1,8

Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. National Respiratory and Enteric Virus Surveillance System. Centers for Disease Control and Prevention Web site. <http://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/>. Accessed October, 2015.
2. Kahn, J.S. 2006. Epidemiology of human metapneumovirus. Clin. Microbiol. Rev. 19:546-557.
3. <http://www.cdc.gov/adenovirus/hcp/clinical-overview.html>. Accessed June 2016.
4. Martin, Malcolm A.; Knipe, David M.; Fields, Bernard N.; Howley, Peter M.; Griffin, Diane; Lamb, Robert (2007). Fields' virology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. p. 2395.
5. <http://www.cdc.gov/adenovirus/outbreaks.html>. Accessed June 2016.
6. Kahn, J.S., Epidemiology of human metapneumovirus. Clin Microbiol Rev, 2006. 19(3): p. 546-57.
7. <http://www.cdc.gov/surveillance/nrevss/hmpv/clinical.html>. Accessed June 2016.
8. Park, J. Y., Yun, K. W., Lim, J. W., Lee, M. K., Lim, I. S., and Choi, E. S. (2016) Clinical and genetic features of human metapneumovirus infection in children. Pediatrics International, 58: 22–26. doi: 10.1111/ped.12782.
9. Anzueto, A. and M.S. Niederman. 2003. Diagnosis and treatment of rhinovirus respiratory infections. Chest 123:1664-1672.



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

Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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.

A Hologic e a Panther Fusion são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

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

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais das patentes dos EUA identificadas em www.hologic.com/patents.

©2017-2019 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-16164-601 Rev. 004
2019-10