

Flu A/B/RSV 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	7
Colheita e conservação de espécimes	8
Transporte de espécimes	9
Panther Fusion System	10
Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay . . .	10
Materiais necessários mas disponíveis separadamente	11
Procedimento de Teste no Panther Fusion System	12
Notas processuais	13
Controlo de qualidade	13
Interpretação de resultados	14
Limitações	15
Desempenho do Panther Fusion System Assay	16
Desempenho clínico	16
Sensibilidade analítica	17
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™ Flu A/B/RSV Assay é um exame de diagnóstico *in vitro* de PCR (RT-PCR) multiplex, em tempo real, para a deteção e diferenciação rápidas e qualitativas do vírus da gripe A, vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório (VSR). 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 infeção do trato respiratório.

Este ensaio visa ajudar no diagnóstico diferencial de infeções pelo vírus da gripe A, vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório em seres humanos, e não visa detetar infeções pelo vírus da gripe C. Os resultados negativos não excluem as infeções pelo vírus da gripe A, vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório, 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 infeções 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 infeções 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

A gripe é uma doença grave causada por uma infeção pelo vírus da gripe, principalmente dos tipos A e B.³ Os vírus da gripe A são classificados em subtipos com base nos dois principais antígenos proteicos superficiais: hemaglutinina (H) e neuraminidase (N).⁴ Os vírus da gripe B não são categorizados em subtipos.⁴ Os vírus da gripe sofrem constantes alterações genéticas, incluindo a alteração (mutação aleatória) e variação (reordenação genómica), gerando novas estirpes virais a cada ano, deixando a população humana vulnerável às alterações de estação. As epidemias ocorrem anualmente (tipicamente no inverno), e embora os tipos A e B circulem na população, o tipo A é geralmente predominante. A transmissão da gripe ocorre principalmente por via aérea, nomeadamente pela tosse ou por espirros. Em média, os sintomas surgem 1 a 2 dias depois da exposição, e incluem febre, calafrios, dores de cabeça, mal-estar, tosse e defluxo.

As complicações devido à gripe incluem a pneumonia, causando um aumento da morbidade e mortalidade na população pediátrica, idosa e imunodeprimida. A gripe ocorre a nível mundial, com uma taxa de incidência anual estimada em 5% a 10% em adultos e 20% a 30% em crianças. As doenças podem resultar em hospitalização e morte, principalmente entre grupos de alto risco (os mais jovens, idosos ou doentes crónicos). No mundo inteiro, estima-se que estas epidemias anuais causam cerca de 3 a 5 milhões de casos de doenças graves, e cerca de 250.000 a 500.000 mortes.⁵

O vírus sincicial respiratório (VSR) é uma das principais causas da contração de infecções respiratórias em bebês e crianças. Há 2 tipos de vírus sincicial respiratório (A e B), com base em variações proteicas superficiais e antigênicas.

A maioria das epidemias anuais (tipicamente durante o inverno) contém uma mistura dos tipos A e B, mas um subgrupo pode predominar durante uma determinada estação. A infecção pelo vírus sincicial respiratório pode causar uma doença respiratória grave entre todas as faixas etárias, mas é mais prevalente em populações pediátricas, idosas e imunodeprimidas. Anualmente nos Estados Unidos, a infecção pelo vírus sincicial respiratório tem sido associada a uma estimativa de 57.527 hospitalizações e 2,1 milhões de visitas ambulatoriais entre crianças com menos de 5 anos de idade, e 177.000 hospitalizações e 14.000 mortes entre adultos com mais de 65 anos de idade.⁶

Princípios do procedimento

O Panther Fusion Flu A/B/RSV 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 de espécimes que contém o meio de transporte de espécimes (STM) para lisar as células, libertar os ácidos nucleicos e os proteger 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.

A amplificação do alvo ocorre via RT-PCR. Uma transcriptase inversa gera uma cópia do DNA da sequência-alvo. Os "primers" e sondas frontais e inversos específicos do alvo amplificam os alvos, enquanto simultaneamente detetam e discriminam múltiplos tipos-alvo através de RT-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 deteção no Panther Fusion System estão resumidos na seguinte tabela.

Analito	Gene-alvo	Canal do instrumento
Vírus da gripe A	Matriz	FAM
Vírus sincicial respiratório A/B	Matriz	HEX
Vírus da gripe B	Matriz	ROX
Controlo interno	Não aplicável	RED677

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de Instruções do Panther Fusion System*.
- C. O Reagente Potenciador S Panther Fusion (FER-S) é corrosivo, nocivo por ingestão, e provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- D. 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.
- E. 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.
Nota: Se se suspeitar de uma infeção por um novo vírus da gripe A, com base nos atuais critérios de triagem clínicos e epidemiológicos, recomendados pelas autoridades de saúde pública, colha espécimes com precauções de controlo de infeções apropriadas para os novos vírus da gripe virulentos, e envie para o estado ou departamento local de saúde para testes. Nestes casos, não recorra ao meio de cultura viral, a menos que tenha um BSL 3+ (laboratório de biossegurança nível 3) disponível para a receção e cultura de espécimes.
- F. Utilize somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- G. 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.
- H. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com espécimes e reagentes, e de acordo com os regulamentos nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.
- I. As datas de validade listadas nos Tubos de Lise de Espécimes Panther Fusion referem-se à transferência de amostras para o tubo e não 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.

- J. 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.
- K. 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.
- L. Não utilize os reagentes ou controlos depois da data de validade.
- M. 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 Panther Fusion System* (página 12) para obter mais informações.
- N. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaios. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther Fusion System verifica os níveis de reagentes.
- O. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- P. 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.
- Q. 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.
- R. Não utilize os pacotes de fluidos se o selo de alumínio vazar. Contacte a Hologic se isto se verificar.
- S. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.

	<p>Panther Fusion Oil <i>Polydimethylsiloxane 100%</i></p>
	<p>Panther Fusion Enhancer Reagent-S <i>Lithium Hydroxide Monohydrate 5-10%</i></p>
	<p>Atenção H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave</p> <p>Perigo H302 - Nocivo por ingestão H314 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves</p> <p>P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/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</p>

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 Flu A/B/RSV 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 Estimulador 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 Gripe A/B/VSR 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 dentro do instrumento começa no momento em que o reagente é colocado no Panther Fusion System, para o cartucho de Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, FCR-S, FER-S e IC-S. Para o Tampão de Reconstituição I Panther Fusion, Tampão de Eluição Panther Fusion e Reagente de Óleo Panther Fusion, a estabilidade dentro do instrumento começa quando o conjunto de reagentes 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 Estimulador S Panther Fusion permanecem estáveis durante 60 dias quando são tapados e conservados a uma temperatura entre 15 °C e 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 Flu A/B/RSV Assay, isto inclui 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. Colheita de espécimes

Colha os espécimes de exsudado nasofaríngeo de acordo com a técnica convencional, utilizando uma zaragatoa com ponta de poliéster, rayon ou 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 uL 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 de 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. As amostras dentro do Panther Fusion System podem ser arquivadas 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 retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420, para levar todo o líquido ao fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

Transporte de espécimes

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

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 Panther Fusion Assays, desde o processamento de amostras até à amplificação, deteção e redução de dados.

Reagentes e Materiais Fornecidos para o Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay

Embalagem do ensaio

Componentes ¹	Peça nº	Conservação
Cartuchos de Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, 96 testes Cartucho de Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, 12 testes, 8 por caixa	PRD-04328	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 do Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay Tubo de Controlo Positivo da Gripe A/B/VSR Panther Fusion, 5 por caixa Tubo de Controlo Negativo Panther Fusion, 5 por caixa	PRD-04336	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 amostras, reagentes, cartuchos de ensaio e fluidos universais, consulte o *Manual de Instruções do Panther Fusion System*.

Notas processuais

A. Controlos

1. O Controlo Positivo Gripe A/B/RSV Panther Fusion e o Controlo Negativo Panther Fusion podem ser carregados em qualquer posição no suporte, em qualquer corredor na zona de amostras, no Panther Fusion System.
2. Quando os tubos de controlo são pipetados e processados para o Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay, estes permanecem ativos por e 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 as amostras que são positivas para a Gripe A, Gripe B e/ou VSR. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para alvos de Gripe A, Gripe B e VSR; as amostras que não cumprem este critério são comunicadas como inválidas. 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 da deteção da Gripe A, Gripe B e VSR são comunicados em separado. 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 da Gripe A	Resultado da Gripe B	Resultado do VSR	Resultado de IC	Interpretação
Neg	Neg	Neg	Válido	Gripe A, Gripe B e VSR não detetados.
POS	Neg	Neg	Válido	Gripe A detetada. Gripe B e VSR não detetados.
Neg	POS	Neg	Válido	Gripe B detetada. Gripe A e VSR não detetados.
Neg	Neg	POS	Válido	VSR detetado. Gripe A e Gripe B não detetados.
POS	POS	Neg	Válido	Gripe A e Gripe B detetados. VSR não detetado.
Neg	POS	POS	Válido	Gripe B e VSR detetados. Gripe A não detetada.
POS	Neg	POS	Válido	Gripe A e VSR detetados. Gripe B não detetada.
POS	POS	POS	Válido	Gripe A, Gripe B e VSR 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 vírus da gripe A, vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão.
- E. Este teste não diferencia os subtipos da gripe A (ou seja: H1N1, H3N2) ou os subgrupos do vírus sincicial respiratório (ou seja: A ou B); é necessária a realização de mais testes para diferenciar quaisquer subtipos específicos da gripe A, ou estirpes ou subgrupos específicos do vírus sincicial respiratório, em consulta com departamentos de saúde pública locais.
- F. 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

Espécimes de exsudado nasofaríngeo 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, foram diluídos 500 microlitros (µL) para um tubo de lise para espécimes, com 780 µL de meio de transporte de espécimes (STM), e uma única réplica foi analisada com o Panther Fusion Flu A/B/RSV 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 da gripe A, da gripe B e do VSR foram determinadas.

Um total de 716 espécimes de exsudado nasofaríngeo foi analisado 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 da gripe A, da gripe B e do VSR estão apresentadas.

Tabela 2: Resultados da Gripe A

Tipo de espécime	N	Gripe A+		Gripe A-		Sensibilidade ou concordância positiva CI de 95%	Especificidade ou concordância negativa CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion Gripe A +	Fusion Gripe A -	Fusion Gripe A +	Fusion Gripe A -			
Exsudado nasofaríngeo	716	331	4*	4**	377	98,8% 97,0 - 99,5%	99,0% 97,3 - 99,6%	98,9% 97,8 - 99,4%

* Dois dos quatro espécimes discordantes foram testados com um ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente. A gripe A não foi detetada em ambos os espécimes. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

** Os quatro espécimes discordantes foram testados com um ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente. A gripe A foi detetada em 3 dos 4 espécimes.

Tabela 3: Resultados da Gripe B

Tipo de espécime	N	Gripe B+		Gripe B-		Sensibilidade ou concordância positiva CI de 95%	Especificidade ou concordância negativa CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion Gripe B +	Fusion Gripe B -	Fusion Gripe B +	Fusion Gripe B -			
Exsudado nasofaríngeo	716	74	0	1*	641	100,0% 95,1 - 100,0%	99,8% 99,1 - 100,0%	99,9% 99,2 - 100,0%

* A gripe B foi detetada quando analisada com um ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente.

Tabela 4: Resultados do VSR

Tipo de espécime	N	VSR+		VSR-		Sensibilidade ou concordância positiva CI de 95%	Especificidade ou concordância negativa CI de 95%	Concordância geral CI de 95%
		Fusion VSR +	Fusion VSR -	Fusion VSR +	Fusion FSV -			
Exsudado nasofaríngeo	716	305	2*	4**	405	99,3% 97,7 - 99,8%	99,0% 97,5 - 99,6%	99,2% 98,2 - 99,6%

* Ambos os espécimes discordantes foram analisados com um ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente. O VSR não foi detetado.

** Dois dos quatro espécimes discordantes foram analisados com um ensaio RT-PCR, desenvolvido e validado internamente. O VSR foi detetado em ambos os espécimes. Os espécimes discordantes não analisados tinham volumes insuficientes.

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) do Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay foi determinada pela realização de testes a espécimes clínicos negativos da Gripe A/B/VSR agrupados, misturados com as seguintes culturas de vírus a várias concentrações: Quatro estirpes de Gripe A, duas estirpes de Gripe B, uma estirpe de VSR A e uma estirpe de VSR B. Doze réplicas foram testadas 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 testadas e identificadas como positivas, tal como resumido na tabela 5.

Tabela 5: Sensibilidade à zaragatoa da nasofaringe

Estirpe viral	Concentração de LoD
Gripe A/Califórnia/07/2009 (H1N1)	$1 \times 10^{-1,0}$ TCID ₅₀ /mL
Gripe A/Massachusetts/15/13 (H1N1)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /mL
Gripe A/Suíça/9715293/2013 (H3N2)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /mL
Gripe A/Victoria/361/2011 (H3N2)	$1 \times 10^{-1,5}$ TCID ₅₀ /mL
Gripe B/Brisbane/33/08	$1 \times 10^{-0,5}$ TCID ₅₀ /mL
Gripe B/Massachusetts/02/2012	$1 \times 10^{-2,0}$ TCID ₅₀ /mL
VSR A	$1 \times 10^{0,5}$ TCID ₅₀ /mL
VSR B	$1 \times 10^{0,0}$ TCID ₅₀ /mL

Reatividade

A reatividade do Panther Fusion Assay foi avaliada em função de várias estirpes da gripe A, da gripe B e do vírus sincicial respiratório. Estirpes virais foram testados em triplicado com cada um dos três lotes de reagentes, para um total combinado de 9 réplicas. Os vírus presentes em concentrações inferiores às analisadas quanto a reatividade podem não ser detetados pelo Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay.

Tabela 6: Resumo do teste (inclusive) de reatividade analítica

Descrição	Tipo	Concentração	Gripe A	Gripe B	VSR
A/Aichi/2/1968	Gripe A/H3N2	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Brasil/02/1999	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Brasil/1137/1999	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Brisbane/59/2007	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Califórnia/07/2009	Gripe A/H1N1	1x10 ⁻¹ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Costa Rica/07/1999	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Denver/1/57	Gripe A/H1N1	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/República Dominicana/7293/13	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Fujian/156/2000	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Geórgia/F32551/12 2009	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Havaí/15/2001	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Henan/8/2005	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Hiroshima/52/2005	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Hong Kong/218/2006	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Hong Kong/4801/2014	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Hong Kong/486/97 RNA	Gripe A/H5N1	16,4 ng/mL	+	-	-
A/Hong Kong/8/1968	Gripe A/H3N2	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Indiana/08/2011	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Japão/305/1957	Gripe A/H2N2	0,003 ug/mL	+	-	-
A/Jiangxi/160/2005	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Kentucky/2/2006	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Malaia/302/54	Gripe A/H1N1	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/México/4108/2009	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Minnesota/11/2010	Gripe A/H3N2	36 ng/mL	+	-	-
A/Nova Jersey/8/1976	Gripe A/H1N1	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Ohio/09SW1477/2009	Gripe A/H1N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Perth/16/2009	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Port Chalmers/1/1973	Gripe A/H3N2	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Puerto Rico/8/34	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Ilhas Salomão/03/2009	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Suíça/9715293/2013	Gripe A/H3N2	1x10 ^{-1,5} TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Taiwan/42/2006	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Victoria/3/1975	Gripe A/H3N2	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Vietname/1203 RNA	Gripe A/H5N1	0,27 ug/mL	+	-	-
A/WS/33	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
B/Brisbane/60/2008	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Flórida/2/2006 (Linhagem Yamagata)	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Flórida/7/2004	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Havaí/11/2005	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Havaí/33/2004	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-

Tabela 6: Resumo do teste (inclusive) de reatividade analítica (continuação)

Descrição	Tipo	Concentração	Gripe A	Gripe B	VSR
B/Lee/40	Gripe B	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Michigan/2/2006	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Panamá/45/90	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/Phuket/3073/2013 (Linhagem Victoria)	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
B/São Petersburgo/04/2006	Gripe B	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	+	-
VSR A/A2	VSR	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
VSR A/Long	VSR	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
VSR A/Vero	VSR	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	-	-	+
VSR B/9320	VSR	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+
VSR B/Wash/18537/62	VSR	2x10 ² TCID ₅₀ /mL	-	-	+

Tabela 7: Resumo adicional do teste (inclusive) de reatividade analítica

Descrição	Tipo	Concentração	Gripe A	Gripe B	VSR
A/Galinha/Alemanha/N/49	Gripe A/H10N7	68 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Alberta/35/76	Gripe A/H1N1	1 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Chabarovsk/1610/1972	Gripe A/H3N8	1 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Checoslováquia/1956	Gripe A/H4N6	2,6 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Memphis/546/1974	Gripe A/H11N9	8 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Pensilvânia/10218/1984	Gripe A/H5N2	3 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Singapura/645/97	Gripe A/H5N3	2 ng/mL	+	-	-
A/Pato/Ucrânia/1963	Gripe A/H3N8	3 ng/mL	+	-	-
A/falcão-gerifalte/Washington/41088-6/2014	Gripe A/H5N8	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Marrecas arrebio/Washington/40964/2014	Gripe A/H5N2	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Porco suíno/NY/01/2009	Gripe A/H1N1	1x10 ² TCID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Porco Suíno/Iowa/2006	Gripe A/H1N1	1x10 ² CEID ₅₀ /mL	+	-	-
A/Peru/Massachusetts/3740/1965	Gripe A/H6N2	1 ng/mL	+	-	-
A/Peru/Ontário/6118/1968	Gripe A/H8N4	2 ng/mL	+	-	-
A/Peru/Wisconsin/1/1966	Gripe A/H9N2	23 ng/mL	+	-	-

Especificidade analítica

A especificidade analítica do Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay foi avaliada testando um painel de 52 organismos, consistindo de 25 virais, 26 bactericidas e 1 estirpe de fungo, representando agentes patogênicos respiratórios comuns, ou flora normalmente presente no trato respiratório. Bactérias e fungos foram testados 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 Flu A/B/RSV Assay foi de 100% para a gripe A, gripe B e VSR.

Tabela 8: Resultados de especificidade

Organismo	Concentração	Gripe A	Gripe B	VSR
Adenovirus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Adenovirus 7a	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁸ CFU/mL	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1x10 ⁵ CFU/mL	-	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i> (anteriormente chamado de <i>Chlamydia pneumoniae</i>)	1x10 ⁵ IFU/mL	-	-	-
Estirpe CMV AD 169	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coronavirus 229E	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Coxsackie B4	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coxsackie B5/10/2006	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>E. coli</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
EBV	1x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovirus 2	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovirus 3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovirus 6	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovirus 11	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Enterovirus 68	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Enterovirus 70	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Haemophilus Influenzae</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
hMPV Subtipo A2	1x10 ⁶ 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-4	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Estirpe Macintyre HSV-1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Estirpe HSV-2 Tipo 2G	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Measles/7/2000	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-

Tabela 8: Resultados de especificidade (continuação)

Organismo	Concentração	Gripe A	Gripe B	VSR
Vírus da papeira	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1x10 ¹⁰ cópias de rRNA/mL	-	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ¹⁰ cópias de rRNA/mL	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria gonorrhoea</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Vírus da poliomielite	1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Rinovírus 1A	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
<i>Tatlockia micdadei</i> (anteriormente chamado de <i>Legionella micdadei</i>)	1x10 ⁷ CFU/mL	-	-	-
Vírus da varicela zóster	1x10 ³ TCID ₅₀ /mL	-	-	-

Interferência competitiva

A interferência competitiva do Panther Fusion Flu A/B/RSV 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 (3 - 5X 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 tabela 9.

Tabela 9: Interferência competitiva

Condição	Alvo 1		Alvo 2		Gripe A	Gripe B	VSR
	Descrição	Concentração	Descrição	Concentração			
1	GRIPE A	3X de LoD	VSR	1.000X de LoD	+	-	+
2	GRIPE A	3X de LoD	GRIPE B	1.000X de LoD	+	+	-
3*	GRIPE B	5X de LoD	GRIPE A	1.000X de LoD	+	+	-
4	GRIPE B	3X de LoD	VSR	1.000X de LoD	-	+	+
5	VSR	3X de LoD	GRIPE A	1.000X de LoD	+	-	+
6	VSR	3X de LoD	GRIPE B	1.000X de LoD	-	+	+

*Quando esta combinação foi analisada com a gripe B a 3X de LoD, a taxa de detecção da gripe B era de 92,3%.

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 Flu A/B/RSV 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 Gripe A, Gripe B e VSR 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 10.

Chegou-se à conclusão de que todas as substâncias testadas não exercem impacto sobre o desempenho do Panther Fusion Flu A/B/RSV Assay.

Tabela 10: 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). Um total de nove execuções separadas - com amostras negativas e positivas colocadas num padrão de tabuleiro de xadrez - foram testadas com três instrumentos diferentes, para um total combinado de 449 amostras positivas e 449 amostras negativas. A taxa de transmissão foi de 0,4%.

Precisão do ensaio

A precisão do Panther Fusion Flu A/B/RSV 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 11, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados para cada alvo. A tabela 12 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 o Lc.

Tabela 11: Concordância percentual do resultado esperado

Alvo	Membro do painel	% Positivo	% Concordância (95% de CI)
Gripe A	Gripe A 3x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	Gripe A 1x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	Gripe A 0,01x de LoD	8,6% (14/162)	91,4% (86,0 - 94,8%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100%)
Gripe B	Gripe B 3x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	Gripe B 1x de LoD	94,4% (153/162)	94,4% (89,8 - 97,0%)
	Gripe B 0,01x de LoD	4,3% (7/162)	95,7% (91,4 - 97,9%)
	Negativo	0,6% (1/162)	99,4% (96,6 - 99,9%)
VSR	VSR 3x de LoD	100,0% (162/162)	100,0% (97,7 - 100%)
	VSR 1x de LoD	99,4% (161/162)	99,4% (96,6 - 99,9%)
	VSR 0,01x de LoD	4,9% (8/162)	95,1% (90,6 - 97,5%)
	Negativo	0,0% (0/162)	100,0% (97,7 - 100%)

Tabela 12: 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 (%)
Gripe A	Gripe A 3x de LoD	35,0	0,1	0,3	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,7	2,1	0,8	2,4
	Gripe A 1x de LoD	35,3	0,0	0,1	0,1	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,8	2,4	0,9	2,5
	Gripe A 0,01x de LoD	38,1	0,3	0,9	0,2	0,6	0,3	0,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,9	2,3	1,0	2,8
Gripe B	Gripe B 3x de LoD	36,5	0,0	0,1	0,1	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,3	0,7	1,9	0,7	2,0
	Gripe B 1x de LoD	38,0	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,1	0,4	0,8	2,1	0,8	2,2
	Gripe B 0,01x de LoD	39,4	0,3	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,5	1,3
VSR	VSR 3x de LoD	36,2	0,2	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	3,5	1,3	3,6
	VSR 1x de LoD	38,2	0,3	0,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,6	4,2	1,6	4,3
	VSR 0,01x de LoD	40,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,6	0,4	1,0	0,0	0,0	0,2	0,5	0,5	1,3
IC	Negativo	33,1	0,1	0,3	0,2	0,6	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,6	0,3	1,1	0,5	1,5

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. Couch, R.B. and Kasel, J.A. 1995. Influenza in *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. 7th Edition. 431-446.
4. Harper, S.A., Fukuda, K., Uyeki, T.M., Cox, N.J., and Bridges, C.B. 2005. Prevention and Control of Influenza. *MMWR*. 54(RR08):1-40.
5. World Health Organization. Influenza (Seasonal) Fact Sheet N° 211 March 2014. Centers for Disease Control and Prevention Web site. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>. Accessed October 2015.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory Syncytial Virus Circulation in the United States, July 2012-June 2014 *MMWR* 2014;62:141-4 Centers for Disease Control and Prevention Web site. www.cdc.gov/rsv/research/us-surveillance.html. Accessed October 2015.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

Apoio ao cliente: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
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.

©2017 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-16162-601 Rev. 001
2017-5