











## 10.3 Ensaio/reagente

- Não abra a tampa do cartucho Xpert Xpress SARS-CoV2, exceto ao adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem no rótulo de código de barras do cartucho.
- Não utilize um cartucho que tenha uma etiqueta de código de barras danificada.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho Xpert Xpress SARS-CoV2 de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Cada pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade de derrame da amostra ou dos controlos, use luvas e absorva o derrame com toalhetes de papel. Em seguida, limpe minuciosamente a área contaminada com uma diluição a 10% de lixívia doméstica à base de cloro. Aguarde no mínimo dois minutos de tempo de contacto. Certifique-se de que a área de trabalho está seca antes de utilizar etanol a 70% desnaturalado para remover os resíduos de lixívia. Aguarde até que a superfície seque completamente antes de prosseguir. Em alternativa, siga os procedimentos padrão da sua instituição para casos de contaminação ou derrame. Para o equipamento, siga as recomendações do fabricante para a descontaminação do equipamento.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as linhas de orientação relativas ao manuseamento e eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde).

## 11 Perigos químicos<sup>5,6</sup>

**Palavra-sinal: ATENÇÃO**

### Advertências de perigo GHS da ONU

- Nocivo por ingestão.
- Pode ser nocivo em contacto com a pele.
- Causa irritação ocular.

### Recomendações de prudência GHS da ONU

#### Prevenção

- Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento.

#### Resposta

- Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
- Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
- 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.
- Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

## 12 Colheita, transporte e conservação de amostras

A recolha, a conservação e o transporte adequados das amostras são fundamentais para o desempenho deste teste. A recolha inadequada e o manuseamento e/ou o transporte desadequados das amostras poderão produzir resultados falsos. Consulte Secção 12.1. Procedimento de recolha de amostra de zaragatoa nasofaríngea, Secção 12.2. Procedimento de recolha com zaragatoa nasal, e Secção 12.3. Procedimento de colheita de lavado/aspirado nasal.

As amostras de exsudado nasofaríngeo ou nasal obtidas por zaragatoa e as amostras de lavado/aspirado nasal podem ser conservadas no meio de transporte viral ou em soro fisiológico, à temperatura ambiente (15 °C-30 °C) durante até 8 horas e refrigeradas (2 °C-8 °C) até 7 dias até o teste ser realizado nos sistemas de instrumentos GeneXpert.

Consulte as diretrizes da OMS: WHO Laboratory Biosafety Guidance Related to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19)).

## 12.1 Procedimento de recolha de amostra de zaragatoa nasofaríngea

Insira a zaragatoa em qualquer uma das narinas, passando-a até à nasofaringe posterior (ver Figura 1). Rode a zaragatoa, esfregando a nasofaringe várias vezes, com firmeza. Remova e coloque a zaragatoa dentro do tubo que contém 3 ml de meio de transporte viral ou 3 ml de soro fisiológico. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de recolha de amostra.



Figura 1: Colheita de amostra de zaragatoa nasofaríngea

## 12.2 Procedimento de recolha com zaragatoa nasal

1. Insira uma zaragatoa nasal 1 cm a 1,5 cm numa narina. Rode a zaragatoa no interior da narina durante 3 segundos enquanto aplica pressão com um dedo na parte de fora da narina (ver Figura 2).



Figura 2: Colheita com zaragatoa nasal para a primeira narina

2. Repita na outra narina com a mesma zaragatoa, aplicando pressão externa na parte de fora da outra narina (ver Figura 3). Para evitar a contaminação da amostra, não toque com a ponta da zaragatoa em qualquer outro local além da parte de dentro da narina.

**Figura 3: Colheita com zaragatoa nasal para a segunda narina**

3. Retire a zaragatoa e coloque-a no tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral ou 3 ml de soro fisiológico. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de recolha de amostra.

### 12.3 Procedimento de colheita de lavado/aspirado nasal

1. As amostras de lavado/aspirado nasal podem ser colhidas seguindo o procedimento padrão da instituição do utilizador. Deve também consultar as diretrizes da OMS relativas à recolha de amostras de lavado/aspirado nasal humano.  
[https://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/virology\\_laboratories\\_and\\_vaccines/guidelines\\_collection\\_h5n1\\_humans/en/](https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/virology_laboratories_and_vaccines/guidelines_collection_h5n1_humans/en/)
2. Utilize uma pipeta de transferência para transferir 600 µl da amostra de lavado/aspirado nasal não diluída para o tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral ou 3 ml de soro fisiológico e, em seguida, tape o tubo.

## 13 Procedimento

### 13.1 Preparação do cartucho

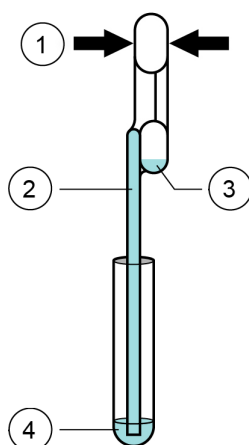
---

**Nota Importante:** Iniciar o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

---

1. Retire um cartucho da embalagem.
2. Verifique que o tubo de transporte da amostra está fechado.
3. Misture a amostra invertendo rapidamente 5 vezes o tubo de transporte da amostra. Abra a tampa do tubo para transporte da amostra.
4. Abra a tampa do cartucho.
5. Retire a pipeta de transferência da embalagem.
6. Aperte **totalmente o bolbo superior da pipeta de transferência até que o bolbo superior esteja totalmente plano**. Continue a manter o bolbo totalmente plano e coloque a ponta da pipeta no tubo para transporte da amostra (ver Pipeta de transferência).





Número	Descrição
1	Aperte aqui
2	Pipeta
3	Lâmpada do Reservatório de Transbordamento
4	Amostra

**Figura 4: Pipeta de transferência**

- Liberte o bolbo superior da pipeta para encher a pipeta antes de a remover do tubo. Depois de encher a pipeta, o excesso de amostra será visto no bolbo do reservatório de extravasamento da pipeta (ver Figura 4). Verifique que a pipeta não contém bolhas.
- Para transferir a amostra para o cartucho, volte a apertar completamente o bolbo superior da pipeta de transferência para esvaziar o conteúdo da pipeta (300 µl) para dentro da abertura grande (câmara de amostra) do cartucho, mostrada na Figura 5. Descarte a pipeta usada.



**Figura 5: Xpert Xpress SARS-CoV2 Cartucho (vista de cima)**

**Nota**

Tenha cuidado ao transferir o volume total de líquido para a câmara de amostra. Podem ocorrer resultados falsos negativos se não for adicionada amostra suficiente ao cartucho.

- Feche a tampa do cartucho.

## 13.2 Controlos externos

Os controlos externos descritos em Materiais necessários mas não fornecidos estão disponíveis, mas não são fornecidos e podem ser utilizados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, consoante aplicável.

Para executar um controlo utilizando o teste Xpert Xpress SARS-CoV2, execute os seguintes passos:

- Misture o controlo invertendo rapidamente cinco vezes o tubo de controlo externo.
- Abra a tampa do cartucho.
- Utilizando uma pipeta de transferência limpa, transfira uma carga da amostra de controlo externo (300 µl) para a grande abertura do cartucho, mostrada na Figura 5.

4. Feche a tampa do cartucho.

### 13.3 Iniciar o teste no sistema GeneXpert com ecrã tátil

**Importante** Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema contém módulos com o software clínico Cepheid OS versão 1.0 ou posterior e que o ficheiro de definição do ensaio Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi importado para o software.

**Importante** Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o sistema GeneXpert com ecrã tátil . Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert com ecrã tátil (GeneXpert System with Touchscreen Operator Manual)*.

**Nota** Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o sistema GeneXpert com ecrã tátil :
  - a) Ligue o instrumento GeneXpert II ou GeneXpert IV. O interruptor de alimentação situa-se na parte traseira do instrumento. Prima o interruptor para a posição **LIGAR (ON) (I)**.
  - b) Ligue o GeneXpert com ecrã tátil . O interruptor de alimentação situa-se na parte traseira do tátil . Prima o interruptor para a posição **LIGAR (ON) (I)**.
2. Inicie sessão no software clínico Cepheid OS utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Toque em **Novo teste (New Test)** no ecrã Início (Home).
4. Introduza a ID do paciente (Patient ID).
5. Toque em **CONTINUAR (CONTINUE)** e **CONFIRMAR (CONFIRM)**.
6. Introduza a ID da amostra (Sample ID).
7. Toque em **CONTINUAR (CONTINUE)** e **CONFIRMAR (CONFIRM)**.
8. Leia o código de barras do cartucho. Segure o cartucho a cerca de 10 cm (4 pol.) do leitor.

**Nota** Se o código de barras no cartucho Xpert Xpress SARS-CoV-2 não for lido, repita o teste com um novo cartucho.

9. Após a leitura, toque em **CONFIRMAR (CONFIRM)**.
10. Se não tiver sessão iniciada, aparece o ecrã Introduzir credenciais para continuar (Enter Credentials to Continue). Introduza o seu nome de utilizador e a palavra-passe e toque em **Iniciar sessão (Login)**.
11. Aparece o ecrã Preparação do cartucho (Cartridge Preparation). Assista ao vídeo (se necessário) e prepare o cartucho se ainda não o tiver feito. Toque em **CONTINUAR (CONTINUE)**.
12. Carregue o cartucho preparado.
13. Abra a porta do módulo do instrumento abaixo da luz verde intermitente.
14. Coloque o cartucho no fundo do compartimento do módulo, com o rótulo virado para fora.

**Nota** Não desligue os instrumentos no interruptor nem da corrente elétrica com um teste em curso. Se desligar o instrumento GeneXpert ou o tátil no interruptor ou o desligar da corrente elétrica, o computador parará o teste.

15. Pressione a porta do módulo para fechá-la. A porta tranca-se, a luz verde intermitente muda para verde fixa e é apresentado o ecrã A carregar teste (Test Loading), seguido do ecrã Teste em execução (Test Running). Quando o teste é concluído, aparece o ecrã Teste concluído (Test Completed).
16. Retire o cartucho e elimine-o de acordo com as políticas de eliminação de resíduos perigosos da sua instituição.
17. Toque em **RELATÓRIO (REPORT)** para ver um relatório de teste.

## 14 Visualização e impressão de resultados

Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert System with Touchscreen Running Cepheid OS Operator Manual*.

---

---

## 15 Controlo de qualidade

### 15.1 Controlos internos

Cada cartucho inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

**Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC)** - Assegura que a amostra foi corretamente processada. O SPC verifica se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra, assegura que as condições da reação de PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes de PCR estão funcionais. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.

**Controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC)** — Antes do início da reação PCR, o Xpert Xpress SARS-CoV2 mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.

### 15.2 Controlos externos

Devem utilizar-se controlos externos de acordo com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

## 16 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados automaticamente pelo sistema GeneXpert Pod System e são mostrados claramente no ecrã Ver resultados (View Results). O teste Xpert Xpress SARS-CoV2 fornece resultados de teste com base na deteção de dois genes alvo, de acordo com os algoritmos mostrados na Tabela 1.

Tabela 1: Xpert Xpress SARS-CoV2 Resultados possíveis

Texto do resultado	N2	E	SPC
SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)	+	+/-	+/-
SARS-CoV-2 PRESUMÍVEL POS (SARS-CoV-2 PRESUMPTIVE POS)	-	+	+/-
SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE)	-	-	+
INVÁLIDO (INVALID)	-	-	-

Ver Tabela 2 para interpretar as declarações dos resultados de testes para o teste Xpert Xpress SARS-CoV2.

Tabela 2: Xpert Xpress SARS-CoV2 Resultados e interpretação

Resultado	Interpretação
<b>SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE)</b>	<p>São detetados alvos de ácidos nucleicos do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• O sinal de SARS-CoV-2 para o alvo do ácido nucleico N2 ou sinais para os alvos de ambos os ácidos nucleicos (N2 e E) tem um limiar de ciclo dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao mínimo definido.</li> <li>• SPC: NA; O SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo do coronavírus.</li> <li>• Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>SARS-CoV-2 PRESUMÍVEL POS (SARS-CoV-2 PRESUMPTIVE POS)</b>	<p>Podem estar presentes ácidos nucleicos do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019. O teste da amostra deve ser repetido de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 17.2. Em amostras com um resultado presumível positivo, podem ser realizados, para fins epidemiológicos ou de gestão clínica, testes confirmatórios adicionais, se for necessário diferenciar ente SARS-CoV-2 e SARS-CoV-1 ou outros Sarbecovirus, desconhecendo-se atualmente se infetam humanos. .</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• O sinal de SARS-CoV-2 apenas para o alvo do ácido nucleico E tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao mínimo definido.</li> <li>• SPC: NA; O SPC é ignorado devido à ocorrência da amplificação do alvo.</li> <li>• Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE)</b>	<p>Os alvos dos ácidos nucleicos do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019 não são detetados.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Os sinais de SARS-CoV-2 para os alvos de dois ácidos nucleicos (N2 e E) não têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior ao mínimo definido.</li> <li>• SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) acima do valor mínimo.</li> <li>• Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>

Resultado	Interpretação
<b>INVÁLIDO (INVALID)</b>	<p>O SPC não preenche os critérios de aceitação. A presença ou ausência de ácidos nucleicos-alvo do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste (Secção 17.2).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC: FALHOU (FAIL); os sinais de SPC e SARS-CoV-2 têm um Ct (limiar de ciclo) fora do intervalo válido e um endpoint (ponto final) inferior ao mínimo definido.</li> <li>• Verificação da sonda: APROVADO (PASS). Todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>
<b>ERRO (ERROR)</b>	<p>A presença ou ausência de ácidos nucleicos-alvo do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste (Secção 17.2).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Verificação da sonda: FALHOU (FAIL); um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam.<sup>1</sup></li> </ul> <p><sup>1</sup> Se a verificação da sonda for aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável, não foi adicionada amostra ou houve falha de um componente do sistema.</p>
<b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b>	<p>A presença ou ausência de ácidos nucleicos-alvo do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste (Secção 17.2). <b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b> indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>• Verificação da sonda: NA (não aplicável)</li> </ul>

O teste Xpert Xpress SARS-CoV2 inclui uma função de conclusão antecipada do ensaio (EAT — Early Assay Termination), que permite a apresentação precoce de resultados em amostras de título elevado se o sinal do ácido nucleico-alvo alcançar um limiar pré-determinado antes de os 45 ciclos de PCR completos serem concluídos. Quando os títulos de SARS-CoV-2 forem suficientemente altos para iniciar a função EAT, a curva de amplificação SPC pode não ser observada e os seus resultados podem não ser apresentados no relatório.

## 17 Repetição de um teste

### 17.1 Motivos para repetir o ensaio

Se algum dos resultados de teste mencionados a seguir ocorrer, repita o teste uma vez de acordo com as instruções na Secção 17.2, Procedimento de repetição de teste.

- Um resultado **PRESUMÍVEL POSIT. (PRESUMPTIVE POS)** indica que os ácidos nucleicos do novo coronavírus (SARS-CoV-2) de 2019 podem estar presentes. Apenas foi detetado um dos alvos do ácido nucleico do SARS-CoV-2 (gene E) enquanto o outro alvo de ácido nucleico de SARS-CoV-2 (gene N2) não foi detetado.
- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente, a PCR foi inibida ou a amostra não foi devidamente colhida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** pode dever-se, entre outras causas, a falha do controlo de verificação da sonda, falha de um componente do sistema, nenhuma amostra adicionada ou ultrapassagem dos limites máximos de pressão.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados recolhidos foram insuficientes. Por exemplo, o teste de integridade do cartucho falhou, o operador parou um teste que estava em curso ou ocorreu falha da energia elétrica.

Se o desempenho do controlo externo não for o esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a Cepheid para assistência.

## 17.2 Procedimento de repetição do teste

Para repetir um teste com resultado indeterminado (**INVÁLIDO (INVALID)**, **SEM RESULTADO (NO RESULT)**), ou **ERRO (ERROR)**, ou **PRESUMÍVEL POS. (PRESUMPTIVE POS)** utilize um novo cartucho.

Utilize a amostra restante no tubo do meio de transporte da amostra original ou de um novo tubo de controlo externo.

1. Calce um par de luvas limpo. Obtenha um novo cartucho Xpert Xpress SARS-CoV2 e uma nova pipeta de transferência.
2. Verifique que o tubo de transporte da amostra ou o tubo de controlo externo está fechado.
3. Misture a amostra invertendo rapidamente cinco vezes o tubo do meio de transporte da amostra ou o tubo de controlo externo. Abra a tampa do tubo para transporte da amostra ou do tubo de controlo externo.
4. Abra a tampa do cartucho.
5. Utilizando uma pipeta de transferência limpa (fornecida), transfira a amostra (de uma só vez) para a câmara de amostra com a abertura grande no cartucho.
6. Abra a tampa do cartucho.

## 18 Limitações

- As características do desempenho deste teste só foram estabelecidas com os tipos de amostra indicados na secção “Utilização prevista”. Não se avaliou o desempenho deste ensaio com outros tipos de amostras.
- Pode ocorrer um resultado falso negativo se uma amostra não for adequadamente colhida, transportada ou manuseada. Os resultados falsos negativos também podem ocorrer se estiverem presentes na amostra números inadequados de microrganismos.
- Como com qualquer teste molecular, as mutações nas regiões alvo do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 poderiam afetar a ligação do primer e/ou da sonda, resultando em falha em detetar a presença do vírus.
- Este teste não pode eliminar a possibilidade de doenças causadas por outros agentes patogénicos bacterianos ou virais.

## 19 Características do desempenho

### 19.1 Avaliação clínica

O desempenho do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi avaliado utilizando amostras clínicas de arquivo obtidas por zaragatoa nasofaríngea (NP) em meio de transporte viral. Um total de 45 amostras de zaragatoa NP SARS-CoV-2 positivas e 45 amostras de zaragatoa NP SARS-CoV-2 negativas foram testadas com o Xpert Xpress SARS-CoV-2 de forma aleatorizada e em ocultação.

Todas as 45 amostras SARS-CoV-2 positivas e 30 das 45 amostras SARS-CoV-2 negativas foram colhidas durante a pandemia COVID-19 nos EUA e tinham sido previamente caracterizadas como positivas ou negativas para o SARS-CoV-2 por um teste EUA RT-PCR. Quinze das 45 amostras de zaragatoas NP SARS-CoV-2 negativas foram colhidas antes de dezembro de 2019 e espera-se que sejam negativas para o SARS-CoV-2.

A concordância percentual positiva (PPA — Positive Percent Agreement) e a concordância percentual negativa (NPA — Negative Percent Agreement) foram determinadas por comparação dos resultados do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 em relação aos resultados esperados. Os resultados destas 90 amostras clínicas de arquivo obtidas por zaragatoa NP são mostrados na Tabela 3. A PPA foi de 97,8% (IC de 95%: 88,4%-99,6%) e a NPA foi de 95,6% (IC de 95%: 85,2%-98,8%).

**Tabela 3: Xpert Xpress SARS-CoV2 Resultados de desempenho**

	Resultados esperados			
	Positivo	Negativo	Total	
Xpert Xpress SARS-CoV2	Positivo	44 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	46
	Negativo	1	43	44
	Total	45	45	90
PPA		97,8% (IC de 95%: 88,4%-99,6%)		

<b>NPA</b>	95,6% (IC de 95%: 85,2%–98,8%)
------------	--------------------------------

- a. Uma amostra foi apresentada como Presumível positiva para SARS-CoV-2 ("SARS-CoV-2 Presumptive Pos") no teste inicial, tendo produzido um teste Positivo para SARS-CoV-2 ("SARS-CoV-2 Positive") após repetição do teste.
- b. As duas amostras falso-positivas foram colhidas durante a pandemia de COVID-19.

## 20 Desempenho analítico

### 20.1 Sensibilidade analítica (limite de detecção)

Foram realizados estudos para determinar o limite de detecção analítico (LoD) do Xpert Xpress SARS-CoV-2. O LoD do Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi estabelecido utilizando um lote de reagente e diluições limitadoras de vírus SARS-CoV-2 vivo (USA\_WA1/2020) preparadas em meio de transporte viral e matriz clínica de exsudado nasofaríngeo (NP). O nível de concentração com taxas de sucesso iguais ou superiores a 95% no estudo de determinação do LoD foram de 0,0050 UFP/ml e 0,0200 UFP/ml para o alvo N2 e o alvo E, respectivamente (tabela 4). A verificação do LoD estimado foi realizada num lote de reagente em réplicas de 20 preparadas numa matriz clínica de exsudados nasofaríngeos (NP) agrupados. O LoD é a concentração mais baixa de amostras de vírus SARS-CoV-2 vivo (reportada como UFP/ml) que pode ser distinguida de forma reprodutível de amostras negativas  $\geq 95\%$  do tempo com 95% de confiança. O LoD previsto para o ensaio é de 0,0200 UFP/ml (tabela 4).

**Tabela 4: Determinação do LoD utilizando a estirpe USA WA1/2020**

Estirpe	Concentração (UFP/ml)	Resultados válidos totais	Taxa de sucesso (%)		Ct médio	
			Alvo N2	Alvo E	Alvo N2	Alvo E
Vírus SARS-CoV-2 (USA_WA1/2020)	0,0200	20	100	95,0	38,3	36,4
	0,0050	22	95,5	68,2	40,5	39,1
	0,0025	22	90,9	36,4	41,5	39,6
	0,0010	22	50,0	18,2	42,0	42,0
	0,0005	22	45,5	18,2	41,7	41,5
	0,0003	22	18,2	4,5	42,1	44,9
	0,0001	22	9,1	0	42,9	NA
	0	0	0	0	NA	NA

### 20.2 Reatividade analítica (inclusividade)

A inclusividade do Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi avaliada utilizando a análise in silico dos primers e sondas do ensaio em relação a 36 863 sequências do SARS-CoV-2 disponíveis na base de dados de genes GISAID para dois alvos, E e N2.

Para o alvo E, foram excluídas 142 sequências correspondentes devido a códigos de ambiguidade, que reduziram o total para 36 721 sequências. O Xpert Xpress SARS-CoV-2 teve 99,4% de correspondência com as sequências, com exceção de 187 sequências que tiveram uma única não correspondência e de 18 sequências com não correspondências adicionais. Das 18 sequências com não correspondências adicionais, uma sequência continha 2 não correspondências na região do primer direto, 3 sequências continham uma lacuna de 5 nucleótidos, 2 sequências continham múltiplas não correspondências na extremidade 3' do amplicão e 12 sequências continham um dinucleótido "AA", mas que se situa entre os oligonucleótidos utilizados no ensaio. Não se prevê que alguma destas não correspondências afete o desempenho do ensaio.

Para o alvo N2, foram excluídas 132 sequências correspondentes devido a códigos de ambiguidade, que reduziram o total para 36 731 sequências. O Xpert Xpress SARS-CoV-2 teve 98,9% de correspondência com as sequências, com exceção de 262 sequências que tiveram uma única não correspondência e 1 sequência que continha 3 não correspondências. Não se prevê que alguma destas não correspondências tenha um impacto negativo no desempenho do ensaio.

## 20.3 Especificidade analítica (exclusividade)

Foi realizada uma análise *in silico* de possíveis reações cruzadas com todos os microrganismos enumerados na tabela 5 utilizando primers e sondas de mapeamento no teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 individualmente às sequências descarregadas da base de dados GISAID. Os primers e sondas E não são específicos para SARS-CoV-2 e irão detetar coronavírus SARS humano e de morcego. Não é esperada qualquer reatividade cruzada potencial com outros microrganismos indicados na tabela 5 na análise *in silico*.

**Tabela 5: Xpert Xpress SARS-CoV-2 Microrganismos utilizados para a especificidade analítica**

Microrganismos da mesma família genética	Microrganismos de grande prioridade
Coronavírus humano 229E	Adenovírus (p. ex., C1 Ad. 71)
Coronavírus humano OC43	Metapneumovírus humano (hMPV)
Coronavírus humano HKU1	Vírus da parainfluenza humana 1-4
Coronavírus humano NL63	Gripe A
Coronavírus SARS	Influenza B
Coronavírus MERS	Influenza C
Coronavírus de morcego	Enterovirus (p. ex., EV68)
	Vírus respiratório sincicial
	Rinovírus
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Bordetella pertussis</i>
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)
	Parechovírus
	<i>Candida albicans</i>
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	<i>Legionella não-pneumophila</i>
	<i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	<i>Neisseria elongata</i> e <i>N. meningitidis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Staphylococcus salivarius</i>
	<i>Leptospira</i>
	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Coxiella burnetii</i> (Febre Q)



Microrganismos da mesma família genética	Microrganismos de grande prioridade
	<i>Staphylococcus aureus</i>

## 20.4 Substâncias que interferem

Foram realizados estudos sobre substâncias que podem interferir para testes anteriores de Xpert Flu/RSV desenvolvidos para o sistema GeneXpert, incluindo testes Xpert Xpress Flu/RSV e Xpert Flu/RSV XC e não foram observadas interferências nestes estudos. Não foram realizados testes suplementares para avaliação de substâncias que podem interferir com o teste Xpert Xpress SARS-CoV-2. O teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 utiliza métodos convencionais comprovados de extração de ácidos nucleicos que são utilizados com os testes Xpert Xpress Flu/RSV e Xpert Flu/RSV XC. Para além disso, os testes Xpert Flu/RSV são validados para utilização com os mesmos tipos de amostras, zaragoas nasofaríngeas e/ou amostras de lavados/aspirados nasais, como o teste Xpert Xpress SARS-CoV-2. Por conseguinte, não se prevê interferências no ensaio dessas substâncias no teste Xpert Xpress SARS-CoV-2.

## 20.5 Estudo de contaminação por transferência

Foram realizados estudos por transferência (carry-over) para testes Xpert anteriores desenvolvidos para o sistema GeneXpert, incluindo o Xpert® Xpress Flu/RSV, e não foi observada contaminação devido a transferência. Não foram realizados testes suplementares para contaminação por transferência para o Xpert Xpress SARS-CoV-2. Para minimizar a contaminação teste a teste, as amostras e fluidos incluindo amplicões, estão contidos dentro dos cartuchos descartáveis de utilização única. O design do cartucho autónomo impede que o instrumento GeneXpert entre em contacto com quaisquer fluidos dentro do cartucho. O manuseamento preciso do fluido dentro do cartucho fechado é conduzido pela seringa e pela válvula, comandado pelo ficheiro de definição do ensaio (ADF) e automatizado pelo instrumento GeneXpert. Não é necessário qualquer passo de pipetagem manual à exceção da adição da amostra ao cartucho pelo utilizador, antes de o cartucho ser colocado no instrumento. Uma vez adicionada a amostra ao cartucho a tampa é fechada. Desse modo, o design do instrumento e do cartucho são um sistema fechado que minimiza o potencial de transferência.

## 21 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Xpert Xpress SARS-CoV-2 foi estabelecida em três locais utilizando um painel de cinco membros, incluindo uma amostra negativa, duas positivas baixas (~1,5x LoD) e duas positivas moderadas (~3x LoD). A amostra negativa consistiu numa matriz simulada sem microrganismo alvo ou ARN alvo. As amostras positivas eram amostras manipuladas numa matriz simulada utilizando material de referência AccuPlex™ SARS-CoV-2 (direcionado para os genes N2 e E) ou a estirpe inativada SARS-CoV Urbani (direcionada para o gene E).

Os testes foram conduzidos ao longo de seis (6) dias utilizando três (3) lotes de cartuchos Xpert Xpress SARS-CoV-2 em três (3) locais de participação cada um com dois (2) operadores para produzir um total de 144 observações por membro do painel (3 locais x 2 operadores x 3 lotes x 2 dias/lote x 2 execuções x 2 repetições = 144 observações por membro de painel). Os resultados do estudo são resumidos na Tabela 7.

**Tabela 6: Resumo dos resultados de reprodutibilidade  
- % de concordância por local/operador do estudo**

ID da amostra	Local 1			Local 2			Local 3			% de concordância total <sup>a</sup> por amostra
	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	
<b>Negativo</b>	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
<b>SARS-CoV-2 Posit. baixo</b>	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	95.8% (23/24)	97.9% (47/48)	95.8% (23/24)	100% (24/24)	97.9% (47/48)	98,6% (142/144)
<b>SARS-CoV-2 Posit. mod.</b>	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
<b>SARS-CoV-2 Posit. baixo</b>	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)
<b>SARS-CoV-2 Posit. mod.</b>	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (48/48)	100% (144/144)

ID da amostra	Local 1			Local 2			Local 3			% de concordância total <sup>a</sup> por amostra
	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	
a. A concordância foi calculada como a percentagem de resultados observados em concordância com os resultados esperados										

## 22 Referências

- Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. Acesso em 9 de fevereiro de 2020.
- bioRxiv. (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>). Acesso em 3 de março de 2020.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (consultar a edição mais recente). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a edição mais recente).
- REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 16 de Dezembro de 2008 relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
- Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

## 23 Locais das sedes da Cepheid

### Sede corporativa

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

Telefone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192

[www.cepheid.com](http://www.cepheid.com)

### Sede europeia

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

Telefone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301

[www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com)

## 24 Assistência técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

**Estados Unidos da América**
















Telefone: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

**França**

Telefone: +33 563 825 319 Email: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

**25 Tabela de símbolos**

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código de lote
	Marcação CE – Conformidade Europeia
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para $n$ testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos