

Xpert Xpress[®] CoV-2/Flu/RSV *plus*

REF XP3COV2/FLU/RSV-10

Instruções de utilização

Para utilização com o sistema GeneXpert[®] com ecrã tátil com o Cepheid OS em execução

CE **IVD**

Declarações relativas a marcas registradas, patentes e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2022–2023 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2022–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações no Histórico de revisões.

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

1 Nome proprietário

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

2 Nome comum ou usual

Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

3 Utilização prevista

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*, conduzido no sistema GeneXpert com ecrã tátil com o Cepheid OS em execução (uma configuração de ecrã tátil da família do sistema do instrumento GeneXpert), é um teste de RT-PCR multiplex em tempo real destinado à deteção qualitativa e diferenciação simultâneas *in vitro* de ARN dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B e/ou vírus respiratório sincicial (RSV) em amostras de exsudado nasofaríngeo ou nasal anterior, colhidas de indivíduos com sinais e/ou sintomas de infeção viral respiratória.

O ARN de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e vírus respiratório sincicial que é identificado por intermédio deste teste é, de uma forma geral, detetável em amostras colhidas nas vias respiratórias superiores durante a fase aguda da infeção. Os resultados positivos são indicativos da presença do vírus identificado, mas não excluem infeção bacteriana ou coinfeção com outros agentes patogénicos não detetados pelo teste.

A correlação clínica com o histórico do doente e outras informações de diagnóstico são necessárias para determinar o estado da infeção do doente. O agente detetado pode não ser a causa definitiva da doença.

Os resultados negativos não excluem a infeção por SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e/ou vírus respiratório sincicial e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões sobre o tratamento dos doentes. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do doente e/ou informações epidemiológicas.

4 Resumo e explicação

A 31 de dezembro de 2019, foi inicialmente relatado à Organização Mundial de Saúde (OMS) um surto de uma doença respiratória de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan, na província de Hubei, China. ¹ As autoridades chinesas identificaram um novo coronavírus (2019-nCoV) que, entretanto, se espalhou a nível mundial, resultando numa pandemia da doença de coronavírus 2019 (COVID-19). A COVID-19 está associada a vários resultados clínicos, incluindo infeção assintomática, infeção ligeira das vias respiratórias superiores, doença respiratória inferior grave, incluindo pneumonia e falha respiratória e, nalguns casos, morte. O Comité Internacional da Taxonomia de Vírus (ICTV) renomeou o vírus de SARS-CoV-2.²

A gripe (Influenza) é uma infeção viral contagiosa do trato respiratório. A transmissão do vírus Influenza ocorre principalmente por gotículas aerossolizadas (ou seja, tosse ou espirros), atingindo normalmente o pico nos meses de inverno. Os sintomas frequentes incluem febre, arrepios, cefaleias, mal-estar, tosse e congestão dos seios nasais. Podem também ocorrer sintomas gastrointestinais (por ex. náuseas, vómitos ou diarreia), principalmente em crianças, mas são menos comuns. Os sintomas surgem geralmente no prazo de até dois dias após a exposição a um indivíduo infetado. Pode verificar-se o desenvolvimento de pneumonia como complicação após uma infeção gripal, causando um aumento da morbilidade e da mortalidade em populações de crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos.^{3,4}

Os vírus Influenza são classificados em tipos A, B e C, sendo que os dois primeiros causam a maioria das infeções em seres humanos. O vírus Influenza A (vírus da gripe A) é o tipo mais frequente de vírus Influenza em seres humanos e é geralmente responsável por epidemias de gripe sazonais e tem o potencial de causar pandemias. O vírus da gripe A também pode infetar animais como aves, suínos e equídeos. As infeções por Influenza B (vírus da gripe B) limitam-se, geralmente,

a seres humanos e causam epidemias menos frequentemente. ⁵ Os vírus da gripe A são subdivididos em subtipos com base em duas proteínas de superfície: a hemaglutinina (H) e a neuraminidase (N). A gripe sazonal é normalmente causada pelos subtipos de Influenza A: H1, H2, H3, N1 e N2.

O vírus respiratório sincicial, um membro da família *Pneumoviridae* (anteriormente *Paramyxoviridae*), composto por duas estirpes (subgrupos A e B), é igualmente responsável por uma doença contagiosa que afeta principalmente bebês, idosos e outros adultos imunocomprometidos (p. ex., doentes com doença pulmonar crônica ou submetidos a tratamento para condições que reduzem a robustez do seu sistema imunitário). ⁶ O vírus pode causar infecções das vias respiratórias superiores, como constipações, e infecções das vias respiratórias inferiores que se manifestam sob a forma de bronquiolite e pneumonia. ⁶ Aos dois anos de idade, a maioria das crianças já foi infetada pelo vírus respiratório sincicial, mas pelo facto de apenas se desenvolver uma imunidade fraca, tanto crianças como adultos podem ser reinfectados. ⁶ O vírus respiratório sincicial continua a ser, a nível mundial, a principal causa de hospitalizações de bebês. ⁷ Os sintomas aparecem quatro a seis dias após a infecção, que é normalmente autolimitada, e que dura aproximadamente uma a duas semanas em bebês. Em adultos, a infecção dura cerca de 5 dias e apresenta-se com sintomas semelhantes a uma constipação, como rinorreia, fadiga, cefaleias e febre. A época do vírus respiratório sincicial é habitualmente idêntica à do vírus Influenza, uma vez que as infecções começam a aumentar durante o outono e duram até ao início da primavera.^{5,6}

Os vírus SARS-CoV-2, Influenza e o vírus respiratório sincicial apresentam-se muitas vezes com sintomas clínicos semelhantes, dificultando a diferenciação clínica entre as infecções. ⁸ Programas de vigilância ativa, em conjunto com precauções de prevenção de infecções, são componentes importantes na prevenção da transmissão do SARS-CoV-2, influenza e vírus respiratório sincicial. O recurso a ensaios que produzem resultados rápidos para identificar os pacientes infetados por estes vírus pode ser um fator importante para o controlo eficaz, a escolha adequada do tratamento e a prevenção de surtos generalizados.

5 Princípio do procedimento

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus é um teste de diagnóstico *in vitro* automatizado para a deteção qualitativa e diferenciação simultâneas de ARN dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B e vírus respiratório sincicial mediante a utilização de PCR com transcrição reversa (RT-PCR). O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus é realizado no GeneXpert Instrument Systems. Os primers e as sondas do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foram concebidos para amplificar e detetar sequências únicas nos genes da nucleocápside (N) e do invólucro (E), e ARN-polimerase dependente de ARN (RdRP) do genoma do vírus SARS-CoV-2, na matriz (M) de gripe A, na polimerase básica (PB2) de gripe A, na proteína ácida (PA) de gripe A, na matriz (M) de gripe B, na proteína não estrutural (NS) de gripe B e nos genes da nucleocápside do vírus respiratório sincicial A e do vírus respiratório sincicial B.

Os GeneXpert Instrument Systems automatizam e integram a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real e RT-PCR. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um ecrã tátil e software pré-carregado para execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis de utilização única que contêm os reagentes para PCR/RT-PCR e onde decorre o processo de PCR/RT-PCR. Dado que os cartuchos são independentes, o risco de contaminação cruzada entre as amostras é minimizado. Para uma descrição completa dos sistemas, consulte o *GeneXpert System with Touchscreen Operator Manual*.

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus inclui reagentes para a deteção de ARN dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B e vírus respiratório sincicial em amostras de exsudado nasofaríngeo ou nasal anterior. Também estão incluídos no cartucho utilizado pelo instrumento GeneXpert um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC). O SPC está presente para controlar o processamento adequado da amostra e para monitorizar a presença de potencial(is) inibidor(es) na reação de RT-PCR. O SPC também garante que as condições da reação RT-PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes de RT-PCR são funcionais. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR e confirma que todos os componentes da reação estão presentes no cartucho, incluindo a monitorização da integridade da sonda e da estabilidade dos corantes.

A amostra é colhida e colocada num tubo para transporte contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT™. A amostra é rapidamente misturada invertendo o tubo de colheita cinco (5) vezes. Utilizando a pipeta de transferência, a amostra é transferida para a câmara de amostras do cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. O cartucho GeneXpert é carregado na plataforma do sistema do instrumento GeneXpert, que realiza o processamento da amostra automático, sem intervenção manual, e RT-PCR em tempo real para deteção de ARN viral.

6 Reagentes e Instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus Cartuchos com 10 tubos de reação integrados

- Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) 1 de cada por cartucho
- Reagente de lise 1,0 ml por cartucho
- Reagente de fixação 1,0 ml por cartucho
- Reagente de eluição 3,0 ml por cartucho
- Reagente de lavagem 0,4 ml por cartucho

Pipetas de transferência descartáveis 10-12 por kit

Folheto 1 por kit

- As instruções para localizar (e importar) o ADF e documentação, tal como o folheto informativo, encontram-se em www.cepheid.com

Instruções para consulta rápida 2 por kit

(para utilização apenas com o sistema GeneXpert Xpress)

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA), presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento

- Armazene os cartuchos Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus entre 2 °C e 28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilizar um cartucho molhado ou com fuga.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Zaragatoa de ponta estriada de nylon (Copan P/N 502CS01, 503CS01) ou equivalente
- Meio de transporte viral, 3 ml (Copan P/N 330C) ou equivalente
- Soro fisiológico a 0,85-0,9% (p/v), 3 ml
- Nasopharyngeal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/B-100, Copan P/N 305C) ou equivalente
- Nasal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/F-100, Copan P/N 346C) ou equivalente
- Instrumento GeneXpert, ecrã tátil com leitor de código de barras incorporado, manual do utilizador.
- SO Cepheid

9 Materiais disponíveis, mas não fornecidos

Estão disponíveis controlos externos sob forma de vírus inativados em ZeptoMetrix (Buffalo, Nova Iorque, EUA).

- Controlo positivo externo: N.º de catálogo NATFRC-6C (NATtrol Flu/VSR/SARS-CoV-2)
- Controlo negativo externo: N.º de catálogo NATCV9-6C (NATtrol Coxsackievirus A9)

Meio eNAT de colheita e preservação molecular de Copan Italy S.p.A. (Brescia, IT):

- Meio eNAT de colheita e preservação molecular, n.º de catálogo Copan 6U073S01
- Meio eNAT de colheita e preservação molecular, n.º de catálogo Copan 6U074S01

10 Declarações de atenção e precauções

10.1 Geral

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Os resultados positivos são indicativos da presença de ARN do vírus da gripe A, da gripe B, vírus respiratório sincicial e SARS-CoV-2.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber que amostras biológicas poderão ser infecciosas, todas devem ser manuseadas com precauções normais. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁹ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰
- Siga os procedimentos de segurança determinados pela sua instituição para trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- Consulte o folheto informativo de Copan eNAT® para informações de segurança e manuseamento.
- Evite o contacto direto entre o tiocianato de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos como ácidos e bases. Estas misturas podem libertar gás nocivo.
- 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 sua 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).

10.2 Amostras

- Manter condições de conservação adequadas durante o transporte da amostra, para assegurar a integridade da amostra (consulte a Secção 12, Colheita, transporte e conservação de amostras). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.

10.3 Ensaio/reagente

- Não abra a tampa do cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, 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.
- Não utilize os reagentes após a sua data de expiração.
- Cada cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus 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% desnatado 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. Relativamente ao equipamento, siga as recomendações do fabricante sobre a descontaminação do equipamento.

11 Perigos químicos^{11, 12}

- **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. Continue a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

12 Colheita, transporte e conservação de amostras

A colheita, a conservação e o transporte adequados das amostras são fundamentais para o desempenho deste teste. A colheita inadequada e o manuseamento e/ou o transporte desadequados das amostras poderão produzir resultados falsos. Consulte Secção 12.1 para informações sobre o procedimento de recolha nasofaríngea por zaragatoa, e Secção 12.2 para informações sobre o procedimento de recolha nasal anterior por zaragatoa. As amostras nasofaríngeas e nasais anteriores obtidas por zaragatoa podem ser conservadas à temperatura ambiente (15 °C-30 °C), por um período máximo de 48 horas, num meio de transporte viral, soro fisiológico ou eNAT, até que o teste seja realizado no GeneXpert Instrument Systems. Em alternativa, as amostras nasofaríngeas e nasais anteriores obtidas por zaragatoa podem ser refrigeradas (2 °C-8 °C) até sete dias, num meio de transporte viral ou em soro fisiológico e até seis dias em eNAT, até que o teste seja realizado no GeneXpert Instrument Systems.

As amostras recolhidas para soro fisiológico não devem ser congeladas. 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 colheita de amostra de zaragatoa nasofaríngea

1. Insira a zaragatoa em qualquer uma das narinas, passando-a até à nasofaringe posterior (ver Figura 1).



Figura 1. Colheita de amostra de zaragatoa nasofaríngea

2. Rode a zaragatoa, esfregando a nasofaringe várias vezes, com firmeza.
3. Retire a zaragatoa e coloque-a no tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT.
4. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de colheita de amostra.

12.2 Procedimento de colheita com zaragatoa nasal

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

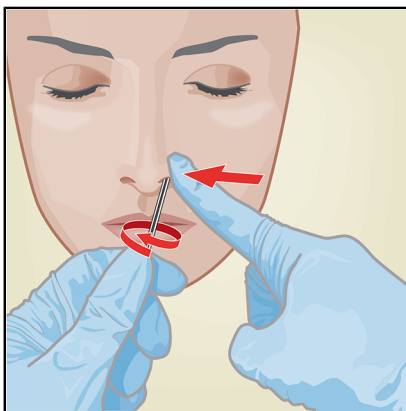


Figura 2. Colheita com zaragatoa nasal para a primeira narina

2. Repita na outra narina com a mesma zaragatoa, aplicando pressão externa no exterior 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.

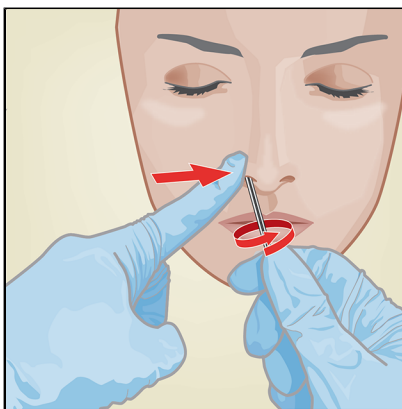


Figura 3. Colheita com zaragatoa nasal para a segunda narina

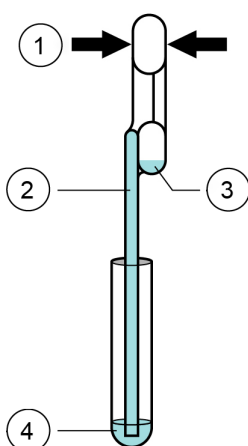
3. Retire a zaragatoa e coloque-a no tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de colheita de amostra.

13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

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 Figura 4).



| Número | Descrição |
|--------|---|
| 1 | Apertar aqui |
| 2 | Pipeta |
| 3 | Bolbo de reservatório de extravasamento |
| 4 | Amostra |

Figura 4. Pipeta de transferência

7. Mantenha a pipeta abaixo da superfície do líquido e liberte lentamente o bolbo superior da mesma para a encher de amostra antes de a remover do tubo. Não há problema se o líquido entrar no reservatório de extravasamento (ver Figura 4). Verifique que a pipeta não contém bolhas.

8. Para transferir a amostra para o cartucho, volte a apertar completamente o bolbo superior da pipeta até que esteja totalmente plano, para esvaziar o conteúdo da pipeta (300 µl) para dentro da abertura grande (câmara de amostra) do cartucho, mostrada em Figura 5. Poderá permanecer algum líquido no reservatório de extravasamento. Descarte a pipeta usada.



Figura 5. Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus 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 adicionado um volume de amostra suficiente ao cartucho.

9. Feche a tampa do cartucho.

13.2 Controlos externos

Os controlos externos descritos na Secção 9 estão disponíveis, mas não são fornecidos e devem ser utilizados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, consoante aplicável.

Para executar um controlo utilizando o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, execute os seguintes passos:

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

13.3 Starting the Test on the GeneXpert system with touchscreen

Importante Before you start the test, make sure that the system contains modules with Cepheid OS 1.2 or higher and that the Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus Assay Definition File is imported into the software.

Importante This section lists the default steps to operate the GeneXpert system with touchscreen. For detailed instructions, see the *GeneXpert System with Touchscreen Operator Manual*.

Nota The steps you follow may be different if the system administrator has changed the default workflow of the system.

1. Turn on the GeneXpert system with touchscreen:
 - a) Turn on the GeneXpert II or GeneXpert IV Instrument. The power switch is located on the back of the instrument. Press the switch to the **ON (I)** position.
 - b) Turn on the touchscreen. The power switch is located on the back of the pod. Press the switch to the **ON (I)** position.
2. Log on to the Cepheid OS Software using your username and password.
3. On the HOME screen, touch **NEW TEST**.
4. Enter a patient ID.

5. Touch **CONTINUE** and **CONFIRM**.
6. Enter a sample ID.
7. Touch **CONTINUE** and **CONFIRM**.
8. Scan cartridge barcode. Hold the cartridge about 10 cm (4 inches) away from the scanner.

Nota If the barcode on the Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus cartridge does not scan, then repeat the test with a new cartridge.

9. After scanning, touch **CONFIRM**.
10. If you are not logged in, the Enter Credentials to Continue screen appears. Enter your user name and password and touch **Login**.
11. The Cartridge Preparation screen appears. Watch video (if necessary) and prepare cartridge if you haven't already done so. Touch **CONTINUE**.
12. Load the prepared cartridge.
13. Open the instrument module door below the flashing green light.
14. Place the cartridge on the module bay floor with the cartridge label facing out.

Nota Do not turn off or unplug the instruments while a test is in progress. Turning off or unplugging the GeneXpert instrument or touchscreen will stop the test.

15. Press the module door closed. The door latches and the flashing green light turns solid green and the Test Loading screen appears, followed by the Test Running screen. When the test completes, the Test Completed screen appears.
16. Remove the cartridge and dispose of according to your institution's hazardous waste disposal guidelines.
17. Touch **REPORT** to view a test report.

13.4 Visualização e impressão de resultados

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

14 Controlo de qualidade

14.1 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 sistema GeneXpert 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.

14.2 Controlos externos

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

15 Interpretação dos Resultados

Os resultados são interpretados automaticamente pelo sistema GeneXpert e são mostrados claramente na janela **Ver resultados (View Results)**. O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus fornece resultados de teste com base na detecção dos respetivos genes alvo, de acordo com os algoritmos.

O formato dos resultados de teste apresentados irá variar consoante a escolha do utilizador de executar um teste Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus, Xpress SARS-CoV-2_Flu plus ou Xpress SARS-CoV-2_plus.

A Tabela 1 mostra os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus está selecionado.

Tabela 1. Resultados e interpretação possíveis de Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus

| Resultado | Interpretação |
|---|---|
| SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE) | <p>O ARN alvo do SARS-CoV-2 é detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> O sinal do SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo SARS-CoV-2. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE) | <p>É detetado ARN-alvo do vírus da gripe A.</p> <ul style="list-style-type: none"> O sinal do vírus da gripe A para o alvo ARN do vírus da gripe A1 ou gripe A2 ou os sinais de ambos os ARN-alvo têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do limiar definido SPC: NA; o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo do vírus da gripe A. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE) | <p>É detetado ARN-alvo do vírus da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O sinal do vírus da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido. SPC: NA; o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do vírus da gripe B ocorreu Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| VÍRUS SINCIAL RESPIRATÓRIO POSITIVO (RSV POSITIVE) | <p>O ARN-alvo do vírus sincial respiratório é detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> O sinal do vírus sincial respiratório tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido. SPC: NA; o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do vírus sincial respiratório ocorreu Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| NEGATIVO PARA SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 NEGATIVE); NEGATIVO PARA gripe A (Flu A NEGATIVE); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE); NEGATIVO PARA VSR (RSV NEGATIVE) | <p>Não é detetado o ARN alvo de SARS-CoV-2; não é detetado o ARN alvo da gripe A; não é detetado o ARN alvo da gripe B; não é detetado o ARN alvo do vírus sincial respiratório.</p> <ul style="list-style-type: none"> Os ARN-alvo de SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B e vírus sincial respiratório não são detetados. SPC: APROVADO; o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |

| Resultado | Interpretação |
|----------------------------------|--|
| INVÁLIDO (INVALID) | <p>SPC não cumpre os critérios de aceitação e todos os alvos não são detetados. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: FALHOU (FAIL); o SPC e os sinais de SARS-CoV-2, do vírus da gripe A e da gripe B e vírus sincicial respiratório têm um Ct (limiar de ciclo) fora do intervalo válido e um parâmetro de avaliação inferior ao mínimo definido • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| ERRO (ERROR) | <p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) • VSR: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: FALHOU (FAIL)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam <p>¹Se 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> |
| SEM RESULTADO (NO RESULT) | <p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) • VSR: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NA |

Se o SPC for negativo e os resultados de qualquer um dos alvos forem positivos, os resultados de todos os alvos são considerados válidos.

Se apenas um alvo viral for positivo, mas suspeitar de coinfeção com vários alvos, a amostra deve ser testada novamente com outro teste aprovado ou autorizado pela FDA, no caso de a coinfeção alterar o tratamento clínico.

A Tabela 2 mostra os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_Flu plus está selecionado.

Tabela 2. Resultados e interpretação possíveis de Xpress SARS-CoV-2_Flu plus

| Resultado | Interpretação |
|---|--|
| SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE) | <p>O ARN alvo do SARS-CoV-2 é detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O sinal do SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido • SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo SARS-CoV-2. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE) | <p>É detetado ARN-alvo do vírus da gripe A.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O sinal do vírus da gripe A para o alvo ARN do vírus da gripe A1 ou gripe A2 ou os sinais de ambos os ARN-alvo têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do limiar definido • SPC: NA; o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo do vírus da gripe A. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE) | <p>É detetado ARN-alvo do vírus da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O sinal do vírus da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido. • SPC: NA; o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do vírus da gripe B ocorreu • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| NEGATIVO PARA SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 NEGATIVE); NEGATIVO PARA gripe A (Flu A NEGATIVE); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE) | <p>Não é detetado o ARN alvo de SARS-CoV-2; não é detetado o ARN alvo da gripe A; não é detetado o ARN alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Os ARN-alvo dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A e da gripe B não são detetados. • SPC: APROVADO; o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| INVÁLIDO (INVALID) | <p>SPC não cumpre os critérios de aceitação e todos os alvos não são detetados. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC: FALHOU (FAIL); os sinais de SPC, de SARS-CoV-2, do vírus da gripe A e da gripe B têm um Ct (limiar de ciclo) fora do intervalo válido e um parâmetro de avaliação inferior ao mínimo definido. • Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |

| Resultado | Interpretação |
|----------------------------------|---|
| ERRO (ERROR) | <p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN-alvo dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A e da gripe B. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: FALHOU (FAIL)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam <p>¹ 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> |
| SEM RESULTADO (NO RESULT) | <p>Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN-alvo dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A e da gripe B. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda: NA |

Se o SPC for negativo e os resultados de qualquer um dos alvos forem positivos, os resultados de todos os alvos são considerados válidos.

Se apenas um alvo viral for positivo, mas suspeitar de coinfeção com vários alvos, a amostra deve ser testada novamente com outro teste aprovado ou autorizado pela FDA, no caso de a coinfeção alterar o tratamento clínico.

A Tabela 3 mostra os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_plus está selecionado.

Tabela 3. Resultados e interpretação possíveis de Xpress SARS-CoV-2_plus

| Resultado | Interpretação |
|--|---|
| SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE) | <p>O ARN alvo do SARS-CoV-2 é detetado.</p> <ul style="list-style-type: none"> O sinal do SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo definido SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo SARS-CoV-2. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| SARS-CoV-2 NEGATIVO | <p>Não é detetado o ARN alvo de SARS-CoV-2.</p> <ul style="list-style-type: none"> Não é detetado RNA-alvo de SARS-CoV-2. SPC: APROVADO; o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação acima do valor mínimo Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| INVÁLIDO (INVALID) | <p>SPC não cumpre os critérios de aceitação e SARS-CoV-2 não é detetado. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: FALHOU (FAIL); os sinais de SPC e SARS-CoV-2 têm um Ct (limiar de ciclo) fora do intervalo válido e um parâmetro de avaliação abaixo do valor mínimo definido. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados |
| ERRO (ERROR) | <p>Não é possível determinar a presença ou a ausência de ARN de SARS-CoV-2. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização.</p> <ul style="list-style-type: none"> SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: FALHOU (FAIL)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam <p>¹ 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> |
| SEM RESULTADO (NO RESULT) | <p>Não é possível determinar a presença ou a ausência de ARN de SARS-CoV-2. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste na Secção 16.2 das instruções de utilização. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> SARS-CoV-2: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: NA |

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus pode ser executado para detetar SARS-CoV-2, vírus da gripe e vírus sincicial respiratório, selecionando Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus a partir do menu Selecionar teste (Select Test); apenas SARS-CoV-2 e vírus da gripe, selecionando Xpress SARS-CoV-2_Flu plus ou apenas SARS-CoV-2, selecionando Xpress SARS-CoV-2_plus. O modo de teste Xpress SARS-CoV-2_plus inclui uma função de conclusão antecipada do ensaio (Early Assay Termination, EAT), que permite a apresentação precoce de resultados em amostras de titulação elevada se o sinal do alvo do SARS-CoV-2 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 de SPC pode não ser observada e os seus resultados podem não ser apresentados no relatório.

16 Repetição de um teste

16.1 Motivos para repetir o teste

Se algum dos resultados de teste mencionados a seguir ocorrer, repita o teste uma vez de acordo com as instruções na Secção 16.2, Procedimento de repetição de teste.

- 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 foram recolhidos dados 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 assistência técnica da Cepheid.

16.2 Procedimento de repetição do teste

Para repetir um teste com resultado indeterminado (**INVÁLIDO [INVALID]**, **SEM RESULTADO [NO RESULT]** ou **ERRO [ERROR]**), 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 CoV-2/Flu/RSV plus e uma nova pipeta de transferência.
2. Verifique se o tubo de transporte da amostra ou o tubo de controlo externo está fechado.
3. Misture a amostra invertendo rapidamente 5 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. Fechar a tampa do cartucho.

17 Limitações

- O desempenho do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus só foi estabelecido em amostras nasofaríngeas e nasais anteriores obtidas por zaragatoa. A utilização do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus com outros tipos de amostra não foi avaliada e as características do desempenho são desconhecidas.
- O desempenho deste teste foi determinado com base na avaliação de um número limitado de amostras clínicas. O desempenho clínico não foi estabelecido em todas as variantes em circulação, mas prevê-se que reflita as variantes prevalentes em circulação no momento e na localização da avaliação clínica. O desempenho no momento do teste pode variar com base nas variantes em circulação, incluindo estirpes recém-emergentes de SARS-CoV-2 e respetiva prevalência, que se alteram ao longo do tempo.
- O desempenho deste dispositivo não foi avaliado numa população vacinada contra a COVID-19.
- Como com qualquer teste molecular, as mutações nas regiões-alvo do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus poderiam afetar a ligação do primer e/ou da sonda, resultando na falha em detetar a presença do vírus ou numa deteção menos previsível.
- Este teste não pode eliminar a possibilidade de doenças causadas por outros agentes patogénicos bacterianos ou virais.
- O desempenho deste teste foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Podem ocorrer resultados de teste errados devido a colheita de amostras incorreta, não efetuada de acordo com o procedimento recomendado para a colheita, o manuseamento e a conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras. Para se evitar resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Podem ocorrer resultados falsos negativos se o vírus estiver presente em níveis abaixo do limite de deteção analítico.
- Os resultados negativos não excluem a infeção por SARS-CoV-2, gripe ou vírus sincicial respiratório e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões sobre o tratamento dos doentes.

- Os resultados do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus devem ser correlacionados com a história clínica, os dados epidemiológicos e outros dados disponíveis para o médico que avalia o doente.
- O ácido nucleico viral pode persistir *in vivo*, independentemente da infeciosidade do vírus. A detecção do(s) analito(s)-alvo não implica que o(s) vírus correspondente(s) seja(m) infecioso(s), ou seja(m) o(s) agente(s) causador(es) dos sintomas clínicos.
- Este teste foi avaliado para utilização exclusiva com material de amostras humanas.
- Este é um teste qualitativo e não proporciona o valor quantitativo do organismo detetado presente.
- Este teste não foi avaliado para doentes sem sinais e sintomas de infecção do trato respiratório.
- Este teste não foi avaliado para monitorização do tratamento de infecção.
- Este teste não foi avaliado para rastreio de sangue ou de derivados de sangue quanto à presença dos vírus SARS-CoV-2, gripe ou vírus sincicial respiratório.
- O efeito das substâncias interferentes foi avaliado apenas para aquelas referidas na documentação. A interferência por substâncias além das que são descritas pode causar resultados falsos.
- Os resultados dos estudos analíticos com amostras coinfectadas manipuladas mostraram potencial de interferência competitiva dos vírus da gripe B ou vírus sincicial respiratório A em concentrações baixas (~3X LoD) quando a concentração do vírus da gripe A é $> 1,7e5$ cópias de ARN/ml ou $1,7e6$ cópias de ARN/ml, respetivamente. Para além disso, existe a possibilidade de interferência competitiva do vírus da gripe B em baixas concentrações (~3X LoD) quando a concentração do vírus SARS-CoV-2 é $> 1e5$ cópias ARN/ml.
- A reatividade cruzada com outros microrganismos do trato respiratório além daqueles aqui descritos pode levar a resultados falsos.
- A exposição recente de doentes a FluMist® ou a outras vacinas da gripe vivas atenuadas pode provocar resultados positivos incorretos.
- Zicam a 15% (p/v) pode interferir com a detecção de baixos níveis do vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório A.
- Como o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus não diferencia entre alvos génicos N2, RdRP e E, a presença de outros coronavírus da linhagem B, género *Betacoronavirus*, incluindo SARS-CoV, podem originar um resultado falso positivo. Nenhum destes outros coronavírus é conhecido por estar atualmente em circulação em populações humanas.
- Este teste não se destina a diferenciar os subgrupos do vírus sincicial respiratório, os subtipos do vírus da gripe A nem as linhagens do vírus da gripe B. Caso a diferenciação de estirpes e subtipos específicos de vírus sincicial respiratório ou gripe seja necessária, são necessários testes adicionais, consultando os departamentos de saúde pública estaduais ou locais.
- O desempenho não foi estabelecido com outros meios além de eNAT contendo tiocianato de guanidina (GTC).

18 Características do Desempenho

18.1 Avaliação clínica

O desempenho do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliado utilizando amostras clínicas de arquivo obtidas por zaragatoa nasofaríngea (NP) e nasal (NS) em meio de transporte viral ou meio de transporte universal. Foram selecionadas amostras arquivadas consecutivamente por data e por resultado de analito previamente conhecido. Um total de 279 amostras obtidas por zaragatoa nasofaríngea (NP) e 239 por zaragatoa nasal (NS) foram testadas com Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, lado a lado com um teste de RT-PCR para SARS-CoV-2 com a marcação CE e um teste influenza/VSR RT-PCR com a marcação CE, em modo cego e aleatorizado.

A concordância percentual positiva (PPA), a concordância percentual negativa (NPA) e a taxa de não determinados foram determinadas comparando os resultados do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus relativamente aos resultados de um teste RT-PCR de SARS-CoV-2 com marcação CE para o alvo SARS-CoV-2 e de um teste RT-PCR com marcação CE para os alvos da gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório, respetivamente.

Para amostras nasofaríngeas obtidas por zaragatoa, o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus demonstrou uma PPA e NPA de 100,0% e 100,0% para SARS-CoV-2, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe A, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe B, respetivamente, e 100,0% e 100,0% para o vírus sincicial respiratório, respetivamente (Tabela 4). A taxa inicial de indeterminados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi de 0,7% (2/279). Na repetição dos testes, ambas (2) as amostras apresentaram resultados válidos. A taxa final de não determinados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi de 0,0% (0/279).

Tabela 4. Resultados do desempenho de Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus utilizando amostras nasofaríngeas obtidas por zaragatoa

| Alvo | Número de amostras | VP | FP | VN | FN | CCP (IC de 95%) | CNP (IC de 95%) |
|------------|--------------------|----|----|-----|----|--------------------------|--------------------------|
| SARS-CoV-2 | 279 | 66 | 0 | 213 | 0 | 100,0% (94,5%-100,0%) | 100,0% (98,2%-100,0%) |
| Gripe A | 264 | 51 | 0 | 213 | 0 | 100,0% (93,0%-100,0%) | 100,0% (98,2%-100,0%) |
| Gripe B | 264 | 46 | 0 | 218 | 0 | 100,0% (92,3%-100,0%) | 100,0% (98,3%-100,0%) |
| VSR | 264 | 47 | 0 | 217 | 0 | 100,0% (92,4%-100,0%) | 100,0% (98,3%-100,0%) |

VP: Verdadeiro positivo; FP: Falso positivo; VN: Verdadeiro negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervalo de confiança

Para as amostras nasais obtidas por zaragatoa, o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus demonstrou uma PPA e NPA de 100,0% e 100,0% para o SARS-CoV-2, respetivamente; 100,0% e 99,5% para a gripe A, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe B, respetivamente, e 100,0% e 100,0% para o vírus sincicial respiratório, respetivamente (Tabela 5). A taxa inicial de indeterminados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi de 1,3% (3/240). Duas (2) das três (3) amostras produziram resultados válidos após a repetição do teste. Uma amostra não foi novamente testada devido ao volume insuficiente. A taxa final de não determinados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi de 0,4% (1/240).

Tabela 5. Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus Resultados do desempenho utilizando amostras de zaragatoas nasais (NS)

| Alvo | Número de amostras | VP | FP | VN | FN | CCP (IC de 95%) | CNP (IC de 95%) |
|------------|--------------------|----|----|-----|----|--------------------------|--------------------------|
| SARS-CoV-2 | 239 | 47 | 0 | 192 | 0 | 100,0% (92,4%-100,0%) | 100,0% (98,0%-100,0%) |
| Gripe A | 239 | 48 | 1 | 191 | 0 | 100,0% (92,6%-100,0%) | 99,5% (97,1%-99,9%) |
| Gripe B | 239 | 48 | 0 | 191 | 0 | 100,0% (92,6%-100,0%) | 100,0% (98,0%-100,0%) |
| VSR | 239 | 47 | 0 | 192 | 0 | 100,0% (92,4%-100,0%) | 100,0% (98,0%-100,0%) |

VP: Verdadeiro positivo; FP: Falso positivo; VN: Verdadeiro negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervalo de confiança

18.2 Sensibilidade analítica (limite de deteção)

A sensibilidade analítica do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi calculada primeiro utilizando dois lotes de reagentes através do teste de diluições limitantes de sete vírus respiratórios (NATrol SARS-CoV-2, gripe A H1, gripe A H3, gripe B linhagem Vitória, gripe B linhagem Yamagata, vírus sincicial respiratório A e vírus sincicial respiratório B) numa matriz agrupada negativa de amostras clínicas nasofaríngeas obtidas por zaragatoa, de acordo com as orientações do documento EP17-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Os valores estimados de LoD como determinados por análise de regressão Probit foram verificados utilizando dois lotes de reagentes Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Os valores de LoD verificados para os vírus testados estão resumidos em Tabela 6.

Tabela 6. Limite de detecção do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

| Vírus/estirpe | Concentração de LoD |
|-------------------------------|------------------------------|
| SARS-CoV-2 (USA_WA1/2020) | 138 cópias/ml |
| Influenza A/Idaho/07/2018 | 0,007 TCID ₅₀ /ml |
| Influenza A/Hong Kong/45/2019 | 0,44 UFF/ml |
| Influenza B/Washington/2/2019 | 12,9 CEID ₅₀ /ml |
| Influenza B/Wisconsin/10/2016 | 2,4 TCID ₅₀ /ml |
| VSR A/2/Australia/61 | 0,33 TCID ₅₀ /ml |
| VSR B/9320/MA/77 | 0,37 TCID ₅₀ /ml |

18.3 Reatividade analítica (inclusividade)

A inclusividade de Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada a 27 de setembro de 2021, utilizando a análise *in silico* dos amplicões do teste em relação a 2 685 478 sequências de SARS-CoV-2 disponíveis na base de dados genética GISAID para três alvos: E, N2 e RdRP.

Para a análise do alvo E, foram excluídas 3 818 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total para 2 681 660 sequências. Das 2 681 660 sequências GISAID, 2 667 594 (99,48%) eram uma correspondência exata ao amplicão do alvo E do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Foram observadas discordâncias de um nucleótido em 13 990 sequências e discordâncias de dois ou mais nucleótidos em 76 sequências. Das 76 sequências apresentando duas ou mais discordâncias, 43 delas continham 2 ou 3 discordâncias na região do primer direto; uma sequência continha 3 discordâncias na região primer reversa; e uma das sequências continha 2 discordâncias na região do primer direto e 2 discordâncias no primer reverso. Estas discordâncias duplas e triplas poderiam ter um impacto negativo no desempenho do teste.

Para a análise do alvo N2, foram excluídas 4 110 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total utilizado na avaliação para 2 681 368 sequências. Das 2 681 368 sequências GISAID, 2 608 487 (97,3%) eram uma correspondência exata com o amplicão do alvo N2 do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Em 70 212 sequências, foram observadas discordâncias de um nucleótido. Em 2 669 sequências, foram observadas duas ou três discordâncias. Das 31 sequências com três posições variantes, 5 sequências têm dois dos nucleótidos discordantes na região da sonda, e 5 sequências têm dois dos nucleótidos discordantes na região do primer reverso. Estas discordâncias duplas poderiam ter impacto na ligação da sonda ou do primer reverso. Não se prevê que alguma das outras discordâncias tenha um impacto negativo no desempenho do teste.

O RdRP é amplificado utilizando um conjunto de primer/sonda “semi-nested”; apenas o amplicão interior é utilizado para a análise *in silico*. Para análise do alvo RdRP, foram excluídas 1374 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total para 2 684 104 sequências. Das 2 684 104 sequências GISAID, 2 657 136 (99,0%) eram uma correspondência exata com o amplicão do alvo RdRP do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Foram observadas discordâncias de um nucleótido em 26 864 sequências, e discordâncias de dois ou mais nucleótidos em 77 sequências. Duas sequências apresentam 5 discordâncias, três situadas na região da sonda e duas na região do primer reverso; 20 sequências apresentam discordâncias de dois nucleótidos na região do primer direto ou da sonda. Estas discordâncias poderiam ter impacto na ligação da sonda ou do primer reverso. Não se prevê que alguma das outras discordâncias tenha um impacto negativo no desempenho do teste.

Além da análise *in silico* dos primers e sondas do SARS-CoV-2 quanto à inclusividade, a inclusividade do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada por testes práticos contra várias estirpes do SARS-CoV-2, vírus da gripe A H1N1 (sazonal antes de 2009), gripe A H1N1 (pandemia em 2009), gripe A H3N2 (sazonal), gripe A aviário (H5N1, H5N2, H6N2, H7N2, H7N3, H2N2, H7N9 e H9N2), gripe B (representando estirpes das linhagens Victoria e Yamagata) e subgrupos A e B do vírus sincicial respiratório (vírus sincicial respiratório A e vírus sincicial respiratório B), em níveis próximos do LoD analítico. Neste estudo, foi testado com o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus um total de 84 estirpes compostas por 5 estirpes do vírus SARS-CoV-2, 4 transcritos de ARN *in vitro* do vírus SARS-CoV-2 representativos de estirpes variantes, 69 estirpes do vírus influenza (48 da gripe A e 21 da gripe B) e 6 estirpes do vírus sincicial respiratório (4 vírus sincicial respiratório A e 2 vírus sincicial respiratório B). Foram testadas três réplicas para cada estirpe. Todas as estirpes de SARS-CoV-2, vírus da gripe e vírus sincicial respiratório testaram positivo nas três réplicas. Os resultados são apresentados em Tabela 7.

Tabela 7. Reatividade analítica (inclusividade) do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

| Vírus | Estirpe | Título testado | SARS-CoV-2 | Gripe A | Gripe B | VSR |
|-------------------------------|--|-------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| SARS-CoV-2 | NATrol SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 | 412 cópias/ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2/Hong Kong/VM20001061/2020 | 0,5 TCID ₅₀ /ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2/Italy-INMI1 | 4 TCID ₅₀ /ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2/South_Africa/KRISP-K005325/2020 | 0,2 TCID ₅₀ /ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2/England/204820464/2020 | 0,5 TCID ₅₀ /ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2 RNA USA/WA2/2020(C09) ^a | 100 cópias/ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2RNA/England/205041766/2020(C14) ^a | 100 cópias/ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2 RNA /England/MILK-9E05B3/2020 (C15) ^a | 200 cópias/ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| | SARS-CoV-2 RNA /Japan (Brazil)/IC-0564/2021 (C17) ^a | 100 cópias/ml | POS | NEG | NEG | NEG |
| Influenza A H1N1 (pré-2009) | A/swine/Iowa/15/30 | 30 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/WS/33 | 5,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/PR/8/34 | 20 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Mal/302/54 | 0,156 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Denver/1/57 | 10 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/New Jersey/8/76 | 5,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/New Caledonia/20/1999 | 0,10 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/New York/55/2004 | 30 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Solomon Island/3/2006 | 0,0159 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Taiwan/42/06 | 0,0159 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Brisbane/59/2007 | 0,060 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| A/Swine/NY/02/2009 | 20 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG | |
| Influenza A H1N1 (pand. 2009) | A/Colorado/14/2012 | 0,13 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Michigan/45/2015 | 100 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Iowa/53/2015 | 100 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Michigan/272/2017 | 1,0 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Idaho/07/2018 | 0,0159 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Wisconsin/505/2018 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Havai/66/2019 | 100 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |

| Vírus | Estirpe | Título testado | SARS-CoV-2 | Gripe A | Gripe B | VSR |
|----------------------------------|---|------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| | A/Indiana/02/2020 | NA ^b | NEG | POS | NEG | NEG |
| Influenza A H3N2 (sazonal) | A/Aichi/2/68 | 2,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Hong Kong/8/68 | 2,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Port Chalmers/1/73 | 100 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Hawaii/15/2001 | 100 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Wisconsin/67/05 ^c | 0,22 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Brisbane/10/2007 | 0,025 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Minnesota/11/2010 | 30 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Indiana/08/2011 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Texas/50/2012 | 0,050 TCID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Alaska/232/2015 | 20 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 | 20 CEID ₅₀ /ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Texas/71/2017 | 1,0 UFF/ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Kansas/14/2017 | 1,0 UFF/ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Wisconsin/04/2018 | 1,0 UFF/ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Arizona/45/2018 | 2,0 UFF/ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Hong Kong/45/2019 | 2,0 UFF/ml | NEG | POS | NEG | NEG |
| Influenza A aviária ^d | A/Mallard/NY/6750/78 (H2N2) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/duck/Hunan/795/2002 (H5N1) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Anhui/01/2005 (H5N1) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Japanese white eye/Hong Kong/1038/2006 (H5N1) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/mallard/WI/34/75 (H5N2) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/chicken/CA431/00 (H6N2) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/duck/LTC-10-82743 (H7N2) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/chicken/New Jersey/15086/3 (H7N3) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Anhui/1/2013 (H7N9) | 0,612 ng/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/Shanghai/1/2013 (H7N9) | NA ^e | NEG | POS | NEG | NEG |
| | A/chicken/Korea/38349-p96323/1996 (H9N2) | < 1 pg/μl | NEG | POS | NEG | NEG |
| Gripe B | B/Lee/40 | 1,0 UFP/ml | NEG | NEG | POS | NEG |

| Vírus | Estirpe | Título testado | SARS-CoV-2 | Gripe A | Gripe B | VSR |
|------------------------------|---|------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| | B/Allen/45 | 0,25 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/GL/1739/54 | 0,50 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Maryland/1/59 | 1,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Taiwan/2/62 | 1,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Hong Kong/5/72 | 1,0 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| Influenza B Victoria Lineage | B/Panama/45/90 | 1,0 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Malásia/2506/04 | 0,025 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Flórida/02/06 | 0,025 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Brisbane/60/2008 | 0,05 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Maryland/15/2016 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Colorado/6/2017 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Hawaii/01/2018 | 8,0 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Missouri/12/2018(NA D197E) | 10 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Washington/02/2019 | 60 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| Influenza B Yamagata Lineage | B/Florida/07/2004 | 0,50 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Flórida/04/06 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Wisconsin/01/2010 | 0,50 CEID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Wisconsin/10/2016 | 20 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Indiana/17/2017 | 10 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| | B/Oklahoma/10/2018 | 10 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | POS | NEG |
| VSR A | VSR-A/NY | 0,386 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |
| | VSR-A/WI-629.8.2/2007 | 0,50 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |
| | VSR-A/WI/629-11-1_2008 | 0,50 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |
| | Vírus sincicial respiratório-A, estirpe: 4/2015 Isolado n.º 1 | 0,25 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |
| VSR B | VSR-B/WV14617/85 | 0,10 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |
| | VSR-B-CH93(18)-18-01 | 0,10 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | POS |

^a Transcritos de ARN *in vitro*

^b O vírus A/Indiana/02/2020 não tinha titulação e foi diluído 100 000 vezes numa matriz de fundo simulada para ser testado.

^c Uma das três réplicas apresentou um resultado de ERRO. A execução foi repetida com êxito para obter três réplicas válidas.

^d Foi utilizado ARN viral purificado numa matriz de fundo simulada para os vírus da gripe A aviária, devido a regulamentos de biossegurança.

^e Os vírus da gripe A aviária (H7N9) inativados sem titulação viral foram diluídos 100 000 vezes numa matriz de fundo simulada e testados, devido a regulamentos de biossegurança.

18.4 Especificidade Analítica (exclusividade)

Foi realizada uma análise *in silico* de possíveis reações cruzadas com todos os microrganismos enumerados em Tabela 8, mapeando os primers e sondas do SARS-CoV-2 no teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus individualmente com as sequências descarregadas da base de dados GISAID. Os primers e sondas E não são específicos para SARS-CoV-2 e irão detectar coronavírus SARS humano e de morcego. Não é esperada qualquer reatividade cruzada não pretendida potencial com outros microrganismos indicados em Tabela 8 na análise *in silico*.

Tabela 8. Microrganismos analisados na análise *in silico* para o alvo do SARS-CoV-2

| 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 | Gripe B |
| Coronavírus MERS | Influenza C |
| Coronavírus de morcego | Enterovirus (p. ex., EV68) |
| | Vírus sincicial respiratório |
| | 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) |
| | <i>Parechovirus</i> |
| | <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>Streptococcus 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> |

Além da análise *in silico* dos primers e sondas do SARS-CoV-2 quanto à reatividade cruzada, a especificidade analítica do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada através de testes práticos de um painel de 48 microrganismos composto por 4 coronavírus humanos, 1 coronavírus MERS e 43 agentes patogénicos respiratórios comuns ou os potencialmente encontrados na nasofaringe. O painel foi testado em diferentes grupos de microrganismos; se um grupo tiver tido um resultado positivo, então cada membro do grupo foi testado individualmente. Foram testadas três réplicas de cada grupo. Uma amostra foi considerada negativa se todas as 3 réplicas foram negativas. As estirpes bacterianas e de leveduras foram testadas em concentrações $\geq 1 \times 10^6$ UFC/ml, com a exceção de *Chlamydia pneumoniae*, que foi testada em $1,2 \times 10^6$ UFI/ml, e *Lactobacillus reuteri*, que foi testado em 5×10^7 cópias/ml de ADN genómico. Os vírus foram testados em concentrações $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados em Tabela 9.

Tabela 9. Microrganismos respiratórios e coronavírus humanos testados, concentrações e resultados do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

| Estirpe | Concentração testada | SARS-CoV-2 | Gripe A | Gripe B | VSR |
|--------------------------------|-------------------------------|------------|---------|---------|-----|
| Controlo negativo | NA | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Controlo positivo | NA | POS | POS | POS | POS |
| Coronavírus humano NL63 | 1,17e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Coronavírus MERS | 1,17e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Coronavírus humano 229E | 1,21e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Coronavírus humano OC43 | 1,02e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Coronavírus humano HKU1 | 1,23e6 cópias/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Adenovírus tipo 1 | 4,07e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Adenovírus tipo 7 | 1,14e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Citomegalovírus | 1,0e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Ecovírus | 1,14e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Enterovírus | 2,80e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Vírus de Epstein Barr | 5,60e6 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| VHS | 1,97e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Metapneumovírus humano | 4,07e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Parainfluenza humana tipo 1 | 1,0e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Parainfluenza humana tipo 2 | 1,2e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Parainfluenza humana tipo 3 | 1,2e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Parainfluenza humana tipo 4 | 1,19e6 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Sarampo | 1,2e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Vírus da papeira | 1,2e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| Rinovírus tipo 1A | 1,0e5 TCID ₅₀ /ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 1,30e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Bordetella pertussis</i> | 6,40e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |

| Estirpe | Concentração testada | SARS-CoV-2 | Gripe A | Gripe B | VSR |
|--|----------------------|------------|---------|---------|-----|
| <i>Burkholderia cepacia</i> | 1,90e8 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Candida albicans</i> | 6,30e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Candida parapsilosis</i> | 1,45e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 1,73e8 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Corynebacterium sp.</i> | 1,27e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 5,87e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Escherichia coli</i> | 1,55e8 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 6,62e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Lactobacillus reuteri</i> | 5,0e7 cópias/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Legionella spp.</i> | 1,42e8 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Moraxella catarrhalis</i> | 2,46e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 2,7e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Neisseria meningitidis</i> | 4,2e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Neisseria mucosa</i> | 1,0e8 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Propionibacterium acnes</i> | 8,25e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1,05e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i> | 2,66e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 5,87e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 2,47e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | 1,75e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 2,26e7 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> | 9,0e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Streptococcus salivarius</i> | 4,19e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Streptococcus sanguinis</i> | 8,67e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> | 1,20e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (avirulenta) | 1,20e6 UFC/ml | NEG | NEG | NEG | NEG |

18.5 Interferência microbiana

A interferência microbiana do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus causada pela presença de estirpes bacterianas ou virais que podem ser encontradas em amostras do trato respiratório superior humano foi avaliada mediante teste de um painel de 10 microrganismos comensais, consistindo em 7 estirpes virais e 3 estirpes bacterianas. As amostras manipuladas consistiram nos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B, vírus sincicial respiratório A ou vírus sincicial respiratório B semeados em 3x o limite de detecção (LoD) numa matriz simulada de amostra nasofaríngea (NPS)/nasal (NS) obtida por zaragatoa na presença de adenovírus tipo 1C, coronavírus humano OC43, rinovírus tipo 1A, metapneumovírus humano, parainfluenza humano tipos 1, 2 e 3 (cada semeado em 1×10^5 unidades/ml), *Hemophilus influenzae* (semeado em 1×10^6 UFC/ml), *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus epidermidis* (cada um semeado em 1×10^7 UFC/ml).

Foram testadas réplicas de 8 amostras positivas para cada vírus-alvo (SARS-CoV-2, gripe A, gripe B, vírus sincicial respiratório A ou vírus sincicial respiratório B) e cada combinação de estirpes microbianas potencialmente interferentes. Para cada alvo, todas as 8 de 8 amostras das réplicas foram corretamente identificadas utilizando o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Não foi descrita interferência por estirpes virais ou bacterianas comensais.

18.6 Interferência competitiva

A interferência competitiva do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus causada por coinfeções foi avaliada testando individualmente amostras manipuladas de estirpes dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A e da gripe B e vírus sincicial respiratório a 3X LoD na presença de diferentes estirpes-alvo numa concentração mais elevada numa matriz de fundo simulada. A concentração em 3X LoD foi de 414 cópias/ml para SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020 inativada); 0,021 TCID₅₀/ml para Gripe A/Idaho/072018, 38,7 CEID₅₀/ml para Gripe B/Washington/2/2019; 0,99 TCID₅₀/ml para VSR A/2/Australia/61) e 1,11 TCID₅₀/ml para VSR B/9320/MA/77. As estirpes competitivas foram avaliadas em 10⁴ ou mais unidades de titulação (cópias/ml, TCID₅₀/ml, CEID₅₀/ml ou UFP/ml). A concentração correspondente de ARN (cópias/ml) para as estirpes do vírus da gripe e do vírus sincicial respiratório foi determinada por PCR digital em gotículas (ddPCR). Foram testadas réplicas de 3 para cada estirpe-alvo e cada combinação de estirpes competitivas. O vírus, em concentração elevada, não demonstra efeitos inibitórios competitivos se 3 das 3 réplicas para a estirpe-alvo apresentarem resultados positivos. Se os resultados apresentassem menos de 3 entre 3 réplicas positivas, a concentração do vírus competitivo era reduzida de 10 em 10 vezes, até que nenhuma interferência fosse observada. Abaixo encontra-se um resumo dos resultados:

Tabela 10. Resumo do estudo de interferência competitiva com vírus da gripe A em concentração elevada

| Vírus de teste em 3X LoD | Vírus interferente | Atribuições corretas (n.º/3) | | | |
|--------------------------|--------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | em 1,7e8 cópias de ARN/ml | em 1,7e7 cópias de ARN/ml | em 1,7e6 cópias de ARN/ml | em 1,7e5 cópias de ARN/ml |
| Gripe B | Gripe A | 0/3 | 0/3 | 2/3 | 3/3 |
| VSR A | | 0/3 | 0/3 | 3/3 | Não testado |
| VSR B | | 3/3 | Não testado | Não testado | Não testado |
| SARS-CoV-2 | | 3/3 | Não testado | Não testado | Não testado |

Tabela 11. Resumo do estudo de interferência competitiva com vírus da gripe B em concentração elevada

| Vírus de teste em 3X LoD | Vírus interferente | Atribuições corretas (n.º/3) em 1,4e5 cópias de ARN/ml |
|--------------------------|--------------------|--|
| Gripe A | Gripe B | 3/3 |
| VSR A | | 3/3 |
| VSR B | | 3/3 |
| SARS-CoV-2 | | 3/3 |

Tabela 12. Resumo do estudo de interferência competitiva com vírus sincicial respiratório A em concentração elevada

| Vírus de teste em 3X LoD | Vírus interferente | Atribuições corretas (n.º/3) em 4,6e6 cópias de ARN/ml |
|--------------------------|--------------------|--|
| Gripe A | VSR A | 3/3 |
| Gripe B | | 3/3 |
| SARS-CoV-2 | | 3/3 |

Tabela 13. Resumo do estudo de interferência competitiva com vírus sincicial respiratório B em concentração elevada

| Vírus de teste em 3X LoD | Vírus interferente | Atribuições corretas (n.º/3) em 1,9e5 cópias de ARN/ml |
|--------------------------|--------------------|--|
| Gripe A | VSR B | 3/3 |
| Gripe B | | 3/3 |
| SARS-CoV-2 | | 3/3 |

Tabela 14. Resumo do estudo de interferência competitiva com SARS-CoV-2 em concentração elevada

| Vírus de teste em 3X LoD | Vírus interferente | Atribuições corretas (n.º/3) | |
|--------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|
| | | em 1e6 cópias de ARN/ml | em 1e5 cópias de ARN/ml |
| Gripe A | SARS-CoV-2 | 3/3 | Não testado |
| Gripe B | | 1/3 | 3/3 |
| VSR A | | 3/3 | Não testado |
| VSR B | | 3/3 | Não testado |

O estudo demonstrou que a estirpe Flu A/Idaho/07/2018 inibiu a detecção do vírus da gripe B em 3X LoD em concentrações acima de 1,7e5 cópias de ARN/ml e inibiu a detecção de vírus sincicial respiratório A em 3X LoD em concentrações acima de 1,7e6 cópias de ARN/ml (Tabela 10). Para além disso, em concentrações acima de 1e5 cópias de ARN/ml, o SARS-CoV-2 inibiu a detecção do vírus da gripe B em 3X LoD (Tabela 14). Não foi observada outra interferência competitiva para as potenciais coinfeções testadas no estudo nas concentrações testadas.

18.7 Substâncias potencialmente interferentes

As substâncias que poderiam estar presentes na nasofaringe (ou introduzidas durante a colheita e o manuseamento de amostras) e interferir potencialmente com a detecção precisa de SARS-CoV-2, do vírus da gripe A e da gripe B e do vírus sincicial respiratório foram avaliadas com testes diretos no Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus.

As substâncias potencialmente interferentes na passagem nasal e na nasofaringe podem incluir, entre outras: sangue, secreções ou muco nasal e medicação para o nariz e a garganta utilizada no alívio da congestão, secura nasal, irritação ou sintomas de asma e alergia, bem como antibióticos e antivirais. As amostras positivas e negativas foram preparadas numa matriz simulada de amostras nasofaríngeas (NPS)/nasais (NS) obtidas por zaragatoa. Foram testadas amostras negativas (n=8) em presença de cada substância para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (sample processing control, SPC). As amostras positivas (N = 8) foram testadas por substância, com os vírus adicionados a 3X o LoD determinado para cada estirpe. As amostras positivas testadas com Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus incluíram uma estirpe SARS-CoV-2, uma estirpe da gripe A H1N1, uma estirpe da gripe A H3N2, uma estirpe da gripe B e duas estirpes de vírus sincicial respiratório (vírus sincicial respiratório A e vírus sincicial respiratório B). Os controlos foram amostras contaminadas com vírus em 3X LoD em matriz simulada de amostras nasofaríngeas (NPS) e nasais (NS) obtidas por zaragatoa que não continha nenhuma substância potencialmente interferente. As substâncias, com princípios ativos, que foram avaliadas são indicadas na Tabela 15.

Tabela 15. Substâncias que podem interferir testadas

| ID da substância | Substância/Classe | Substância/princípio ativo |
|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Sulfato de albuterol | Broncodilatador beta-adrenérgico | Sulfato de albuterol (5 mg/ml) |
| Afrin | Spray nasal | Oximetazolina, 0,05% |
| Meio de transporte universal BD | Meio de transporte | Meio de transporte universal BD |

| ID da substância | Substância/Classe | Substância/princípio ativo |
|--|---|--|
| Copan 3U045N.PH (zaragatoa/M Cepheid) | Meio de transporte | Copan 3U045N.PH (zaragatoa/M Cepheid) |
| Sangue | Sangue | Sangue (humano) |
| Spray nasal de propionato de fluticasona | Corticosteroide nasal | Propionato de fluticasona |
| Mentol | Pastilhas para a garganta, anestésico e analgésico oral | Benzocaína, mentol |
| Mucina | Mucina | Proteína mucina purificada (glândula submaxilar bovina ou suína) |
| Mupirocina | Antibiótico, pomada nasal | Mupirocina (20 mg/g = 2%) |
| PHNY | Gotas nasais | Fenilefrina, 1% |
| Soro fisiológico | Soro fisiológico em spray nasal | Cloreto de sódio (0,65%) |
| Remel M4RT | Meio de transporte | Remel M4RT |
| Remel M5 | Meio de transporte | Remel M5 |
| Tamiflu | Fármacos antivirais | Zanamivir |
| Tobramicina | Antibacteriano, sistêmico | Tobramicina |
| Zicam | Gel nasal | Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, enxofre (0,05%) |
| Zinco | Suplemento de zinco | Gluconato de zinco |

Os resultados do estudo (Tabela 16) demonstram que, para a maioria dos casos, 8 em 8 réplicas apresentaram resultados positivos para cada combinação de vírus e substância testada, não tendo sido observada interferência. Quando Zicam foi inicialmente testado na concentração de 15% p/v, foi observada interferência na detecção dos vírus da gripe B e vírus sincicial respiratório A. Contudo, quando Zicam foi testado na concentração de 7,5% p/v, não se observou interferência.

Tabela 16. Valores de Ct médios para alvos Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus testados na presença de substâncias potencialmente interferentes

| Substância | Concentração testada | Número de resultados corretos/número testado | | | | | |
|--|----------------------|--|----------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | SARS-CoV-2/ USA-WA-1 | Influenza A/ Idaho/07/2018 | H3N2 gripe A/ Hong Kong/ 45/2019 | Vírus da gripe B/ Washington /02/2019 | VSR A/2/ Austrália/61 | VSR B/9320/ MA/77 |
| Matriz de zaragatoa nasofaríngea (NPS)/ nasal (NS) simulada de controlo (nenhuma substância) | 100% (v/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Afrin | 15% (v/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Sulfato de albuterol | 0,83 mg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Meio de transporte universal BD | NA | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Sangue | 2% (v/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Zaragatoa Copan M | NA | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |

| Substância | Concentração testada | Número de resultados corretos/número testado | | | | | |
|--|----------------------|--|----------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-------------------|
| | | SARS-CoV-2/ USA-WA-1 | Influenza A/ Idaho/07/2018 | H3N2 gripe A/ Hong Kong/ 45/2019 | Vírus da gripe B/ Washington /02/2019 | VSR A/2/ Austrália/61 | VSR B/9320/ MA/77 |
| Spray nasal de propionato de fluticasona | 5 µg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Mentol | 1,7 mg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Mucina | 0,1% (p/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Mupirocina | 10 mg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| PHNY | 15% (v/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Remel M4RT | NA | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Remel M5 | NA | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Soro fisiológico | 15% (v/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Tamiflu | 7,5 mg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Tobramicina | 4 µg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| Zicam | 15% (p/v) | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 5/8 ^a | 7/8 ^b | 8/8 |
| Zinco | 0,1 µg/ml | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |

^a Com Zicam 15% (p/v), foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre o Ct da média do controlo e o Ct da média do teste. Os testes foram repetidos com Zicam 7,5% (p/v), não se tendo observado diferença clinicamente significativa entre o Ct do vírus da gripe B da média do controlo e o Ct do vírus da gripe B da média do teste.

^b Com Zicam 15% (p/v), foi observada uma diferença estatisticamente significativa entre o Ct da média do controlo e o Ct da média do teste. Os testes foram repetidos com Zicam 7,5% (p/v), não se tendo observado diferença estatisticamente significativa entre o Ct do vírus sincicial respiratório A da média do controlo e o Ct do vírus sincicial respiratório A da média do teste.

18.8 Contaminação por transferência (carry-over)

Foi realizado um estudo para avaliar se os cartuchos de teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência (carry-over) de amostras e amplicões, testando uma amostra negativa imediatamente após o teste de amostra positiva muito alta no mesmo módulo GeneXpert. A amostra negativa utilizada neste estudo consistiu numa matriz simulada de amostra nasofaríngea/nasal obtida por zaragatoa e a amostra positiva consistiu em concentrações elevadas do vírus da gripe B e do SARS-CoV-2 (Flu B/Wisconsin/10/2016 em 1,0e6 TCID₅₀/ml e SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 inativado em 1e4 cópias/ml) semeados em matriz nasofaríngea (NPS)/nasal (NS) obtida por zaragatoa negativa. A amostra negativa foi testada num módulo GeneXpert no início do estudo. Após o teste inicial da amostra negativa, foi processada imediatamente a seguir no mesmo módulo GeneXpert uma amostra muito positiva seguida por outra amostra negativa. Este processo foi repetido, pelo menos, 20 vezes no mesmo módulo, perfazendo 20 amostras positivas e 21 negativas para o módulo. O estudo foi repetido utilizando um segundo módulo GeneXpert para um total de 40 amostras positivas e 42 amostras negativas. Todas as 40 amostras positivas foram corretamente apresentadas como **SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE); Gripe A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Gripe B POSITIVO (Flu B POSITIVO)** ou **VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO NEGATIVO (RSV NEGATIVE)**. Todas as 42 amostras negativas foram corretamente apresentadas como **SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Gripe A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Gripe B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE)** ou **VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO NEGATIVO (RSV NEGATIVE)** com o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Não foi observada contaminação por transferência de amostras ou amplicões neste estudo.

18.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi estabelecida em três locais utilizando um painel de 9 membros, incluindo uma amostra negativa, quatro positivas baixas (~1,5X LoD) e quatro positivas moderadas (~3X LoD). A amostra negativa consistiu numa matriz simulada sem microrganismo alvo ou ARN alvo. As amostras positivas foram amostras manipuladas numa matriz simulada, utilizando NATrol SARS-CoV-2 (ZeptoMetrix) inativado e culturas virais de Influenza A/Idaho/07/2018, Influenza B/Wisconsin/10/2016 e VSR B/Wash/18537/62.

Os testes foram realizados ao longo de seis (6) dias, utilizando três (3) lotes de Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus em três (3) locais participantes 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 réplicas = 144 observações por membro de painel). Os resultados do estudo são resumidos na Tabela 17.

Tabela 17. Resumo dos resultados da reprodutibilidade - % de concordância

| Amostra | Local 1 | | | Local 2 | | | Centro 3 | | | % concordância total [IC de 95%] |
|------------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|-----------------------------------|
| | Op. 1 | Op. 2 | Local | Op. 1 | Op. 2 | Local | Op. 1 | Op. 2 | Local | |
| Negativo | 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) [97,4-100,0] |
| SARS-CoV-2 Pos. baixo | 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) [97,4-100,0] |
| SARS-CoV-2 Pos. mod. | 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) [97,4-100,0] |
| Gripe A Pos. baixo | 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) [97,4-100,0] |
| Gripe A Pos. mod. | 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) [97,4-100,0] |
| Gripe B Pos. baixo | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 95,8% 23/24 | 95,8% 23/24 | 95,8% 46/48 | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 98,6% (142/144) [95,1-99,6] |
| Gripe B Pos. mod. | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 100% 23/23 | 95,8% 23/24 | 97,9% 46/47 | 99,3% (142/143) [96,1-99,9] |
| VSR Pos. baixo | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 95,8% 23/24 | 100% 24/24 | 97,9% 47/48 | 100% 24/24 | 100% 24/24 | 100% 48/48 | 99,3% (143/144) [96,2-99,9] |
| VSR Pos. mod. | 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) [97,4-100,0] |

19 Referências

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. Acesso em 9 de fevereiro de 2020.
2. bioRxiv. (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>). Acesso em 3 de março de 2020.
3. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis.* 2006;194:S98-110.
4. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro.* 2000;38:1552-1558.
5. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>. Acesso em 19 de maio de 2016.
6. <http://www.cdc.gov/RSV/index.html>. Acesso em 14 de março de 2013.
7. Acero-Bedoya, S., Wozniak, P. S., Sánchez, P. J., Ramilo, O., & Mejias, A. (2019). Recent trends in RSV immunoprophylaxis: clinical implications for the infant. *American journal of perinatology*, 36(S 02), S63-S67.
8. Solomon, D. A., Sherman, A. C., & Kanjilal, S. (2020). Influenza in the COVID-19 Era. *Jama*, 324(13), 1342-1343.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (consultar a última edição). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a última edição).
11. 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.
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de março de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

20 Locais das sedes da Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

21 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

Assistência técnica nos Estados Unidos

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



















Assistência técnica em França

Telefone: + 33 563 825 319 E-mail: 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.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

22 Tabela de símbolos

| Símbolo | Significado |
|---|---|
|  | Número de catálogo |
|  | Marcação CE – Conformidade Europeia |
|  | Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Não utilizar mais de uma vez |
|  | Código do lote |
|  | Consultar as instruções de utilização |
|  | Cuidado |
|  | Fabricante |
|  | País de fabrico |
|  | Contém suficiente para <i>n</i> testes |
|  | Controlo |
|  | Prazo de validade |
|  | Limites de temperatura |
|  | Riscos biológicos |
|  | Para utilização apenas com receita médica |
|  | Mandatário na Comunidade Europeia |
|  | Mandatário na Suíça |
|  | Importador |



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefone: + 33 563 825 300

Fax: + 33 563 825 301



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



23 Histórico de revisões

Descrição das Alterações: 302-7967, Rev. A para a Rev. B

Finalidade: Atualização das Instruções de utilização devido à alteração no Algoritmo do ADF

| Secção | Descrição da alteração |
|--------|--|
| 15 | Interpretação dos Resultados: Atualização das Tabelas 1 e 2 para conciliar a interpretação dos resultados com a alteração no Algoritmo do ADF. |
| 18.1 | Especificação da taxa inicial de indeterminados e adição da taxa final de indeterminados. |
| 18.7 | Atualização das substâncias potencialmente interferentes, para correção de: Anefrin para Afrin. |
| 23 | Atualização da secção Histórico de revisões. |