



Rx Only

cobas[®] SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Teste de ácidos nucleicos para utilização no cobas[®] Liat[®] System

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] SARS-CoV-2 & Influenza A/B

P/N: 09211101190

cobas[®] SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit

P/N: 09211128190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	6
Reagentes e controlos do cobas ® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.....	6
Armazenamento e manuseamento de reagentes.....	9
Materiais adicionais necessários.....	10
Equipamentos e software necessários.....	10
Precauções e requisitos de manuseamento	11
Advertências e precauções	11
Colheita, transporte e armazenamento de amostras	12
Colheita de amostras.....	12
Transporte e armazenamento.....	12
Instruções de utilização	13
Notas do procedimento	13
Execução do cobas ® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.....	13
Procedimento de teste.....	14
Validação do lote do tubo de teste cobas ® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.....	15
Materiais necessários para a validação do lote.....	15
Preparar e testar a amostra de controlo negativo	15
Fluxo de trabalho da Validação do lote de tubos de teste	16
Prepare a amostra de controlo positivo do cobas ® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e continue com a validação do lote.....	18
Execução de corridas de controlo adicionais	22
Resultados	23
Controlo de qualidade e interpretação de resultados	23
Limitações do procedimento.....	25

Desempenho não clínico – SARS-CoV-2	26
Características principais do desempenho.....	26
Sensibilidade analítica.....	26
Reatividade/inclusividade	27
Reatividade cruzada – na análise <i>in silico</i>	27
Reatividade cruzada – testes laboratoriais a fresco	28
Reatividade cruzada com o SARS-CoV-1	28
Reatividade cruzada/interferência microbial com outros microorganismos.....	29
Co-infecção (inibição competitiva)	30
Avaliação do desempenho clínico – SARS-CoV-2.....	31
Avaliação do desempenho não clínico – Influenza A/B	34
Sensibilidade analítica.....	34
Reprodutibilidade.....	34
Reatividade/inclusividade	36
Reatividade cruzada	38
Micro-organismos interferentes.....	39
Substâncias interferentes	40
Estudos clínicos – Influenza A/B.....	41
Códigos de falha	43
Informações adicionais	44
Características principais do teste.....	44
Símbolos	45
Apoio técnico	46
Fabricante e importador	46
Marcas comerciais e patentes	46
Direitos de autor	46
Bibliografia	47
Revisão do documento	49

Utilização prevista

O teste de ácidos nucleicos cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para utilização com o cobas® Liat® System (cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B) é um teste automático de RT-PCR multiplex em tempo real destinado à rápida detecção qualitativa e diferenciação simultânea *in vitro* do ARN dos vírus SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B em amostras de exsudados nasofaríngeos e nasais colhidas por um profissional de saúde, e exsudados nasais colhidos com zaragatoa pelo próprio paciente (colhidos em contexto de saúde seguindo as instruções de um profissional de saúde) de indivíduos suspeitos de terem uma infecção viral respiratória.

cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B destina-se a ser utilizado na detecção simultânea rápida *in vitro* e diferenciação do ácido nucleico do SARS-CoV-2, vírus Influenza A e vírus Influenza B em amostras clínicas e não se destina a detetar vírus Influenza C. O ARN viral do SARS-CoV-2, do Influenza A e do Influenza B é geralmente detetável em amostras do trato respiratório durante a fase aguda da infecção. Resultados positivos são indicadores de infecção ativa, mas não excluem uma infecção bacteriana ou uma co-infecção com outros agentes patogénicos não detetados pelo teste. Para determinar o estado de infecção do paciente, é necessária a correlação clínica com o histórico do paciente e outras informações de diagnóstico. O agente detetado pode não ser a causa precisa da doença.

Resultados negativos não excluem a infecção pelo SARS-CoV-2, o influenza A e/ou o influenza B e não devem ser utilizados como a única base para o diagnóstico, tratamento ou outras decisões de gestão do paciente. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do paciente e/ou informações epidemiológicas.

O cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B destina-se a ser utilizado por profissionais de saúde ou operadores qualificados com experiência na utilização do cobas® Liat® System no point of care (PoC) ou num cenário de laboratório clínico.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

A doença por coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença respiratória causada por um novo coronavírus humano, designado por SARS-CoV-2 (coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2) pela Organização Mundial da Saúde (OMS).¹⁻³ A COVID-19 foi declarada uma emergência de saúde pública de envergadura internacional e é a primeira pandemia causada por coronavírus.^{4,5} No meio das preocupações globais com a COVID-19, os vírus da gripe A e gripe B continuam a circular e também causam doença respiratória aguda. A COVID-19 e a gripe são infeções potencialmente fatais que dão origem a morbilidade e mortalidade significativas no mundo inteiro.⁶

É importante um diagnóstico rápido e preciso e a diferenciação entre as infeções por SARS-CoV-2 e pelo Influenza em indivíduos dos quais se suspeita terem uma infeção respiratória. A sazonalidade da COVID-19 e da gripe sobrepõe-se, e as manifestações clínicas das duas doenças podem ser muito semelhantes, variando desde assintomáticas ou com sintomas de doença suave “do tipo gripe” (como febre, tosse, falta de ar ou mialgia) numa maioria de indivíduos, até uma doença muito mais grave que coloca a vida em risco.⁷⁻⁹ A implementação generalizada atual de testes rápidos no point of care (POC) para a influenza realça a importância de uma detecção imediata e precisa.¹⁰ A detecção rápida e precisa tanto do SARS-CoV-2 como do Influenza pode ajudar nas informações para tomadas de decisão médicas onde o tempo constitui um fator crítico, facilita as diligências para o controlo da infeção, promove a utilização eficiente de recursos, otimiza a utilização de terapias específicas e antimicrobianas, e reduz a necessidade de testes e procedimentos auxiliares.^{11, 12}

Explicação do teste

O teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B utiliza a tecnologia de reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) em tempo real, para detetar rapidamente (aproximadamente 20 minutos) e diferenciar entre os vírus SARS-CoV-2, Influenza A e Influenza B a partir de exsudados nasofaríngeos e nasais. A automatização, design compacto e interface de fácil utilização do **cobas**® Liat® System permite que o desempenho deste teste ocorra no POC ou num cenário de laboratório clínico.

Princípios do procedimento

O teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B é executado no **cobas**® Liat® Analyzer, que automatiza e integra a purificação da amostra, a amplificação dos ácidos nucleicos e a deteção da sequência alvo em amostras biológicas utilizando testes RT-PCR em tempo real. O teste tem como alvo a região não estrutural ORF1 a/b e o gene da proteína da nucleocápside, que são exclusivos do SARS-CoV-2, uma região bem conservada do gene da matriz do Influenza A, e o gene da proteína não estrutural do Influenza B. Também está incluído um Controlo Interno de Processo (CIP). O CIP está presente para controlar o processamento adequado do vírus alvo pelos passos de purificação de amostra, amplificação dos ácidos nucleicos e para monitorizar a presença de inibidores nos processos RT-PCR.

Reagentes e materiais

Os materiais fornecidos para o cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B encontram-se na Tabela 1 e na Tabela 2.

O manuseamento e armazenamento de reagentes encontra-se na Tabela 3. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se na Tabela 4 e na Tabela 5.

Para obter informações sobre os riscos do produto, consulte a secção **Reagentes e materiais** e a secção **Precauções e requisitos de manuseamento**.

Reagentes e controlos do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Todos os tubos de teste e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 3.

Tabela 1: cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B		
Conservar entre 2 e 8 °C 20 testes (P/N 09211101190) 2 embalagens de pipetas de transferência cobas® (12 pipetas/embalagem; P/N 09329676001) 1 cartão com código de barras do folheto informativo		
Reagentes no tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B	Ingredientes dos reagentes	Símbolo e advertência de segurança^a
cobas® Liat® Internal Process Control (Controlo Interno)	Tampão Tris, tween-80, glicol polietilénico, EDTA, < 0,001% de stock bacteriófago MS2 (inativado), 0,002% de ARN Portador, 0,01% de conservante ProClin® 300 ^b	EUH210 Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208 contém massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1). Pode desencadear uma reação alérgica.
Proteinase K	100% de proteinase K	N/A
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (Partículas magnéticas de vidro)	Partículas Magnéticas de Vidro	N/A

cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B		
Conservar entre 2 e 8 °C 20 testes (P/N 09211101190) 2 embalagens de pipetas de transferência cobas® (12 pipetas/embalagem; P/N 09329676001) 1 cartão com código de barras do folheto informativo		
Reagentes no tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B	Ingredientes dos reagentes	Símbolo e advertência de segurança^a
cobas® Liat® Lysis Buffer (Tampão de Lise)	Ácido cítrico, fosfato de sódio, 42,6% de tiocianato de guanidina ^b , 5% de glicol de decaetileno monododecil éter ^b , ditiotreitól	 <p>PERIGO</p> <p>H302 + H332 Nocivo por ingestão e por inalação.</p> <p>H314 Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.</p> <p>H412 Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.</p> <p>EUH032 Em contacto com ácidos liberta gás muito tóxico.</p> <p>P261 Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.</p> <p>P273 Evitar a libertação para o ambiente.</p> <p>P280 Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.</p> <p>P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água.</p> <p>P304 + P340 + P310 EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona com ar limpo e mantê-la numa posição que facilite a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 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. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico.</p> <p>593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Brij 35</p>
cobas® Liat® Wash Buffer (Tampão de Lavagem)	Glicina, fluoreto de potássio, 0,01% de conservante ProClin® 300	N/A
cobas® Liat® Elution Buffer (Tampão de Eluição)	Tremalose, tampão tris, sulfato de magnésio, albumina sérica bovina, 0,01% de conservante ProClin® 300 ^b	EUH210 Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208 contém massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1). Pode desencadear uma reação alérgica.

cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B		
Conservar entre 2 e 8 °C 20 testes (P/N 09211101190) 2 embalagens de pipetas de transferência cobas® (12 pipetas/embalagem; P/N 09329676001) 1 cartão com código de barras do folheto informativo		
Reagentes no tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B	Ingredientes dos reagentes	Símbolo e advertência de segurança^a
cobas® Liat® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Master Mix-1 (Mistura Principal 1)	Tween-80, tampão tris, tremalose, cloreto de potássio, albumina sérica bovina, dATP, dCTP, dGTP, dUTP, 0,01% de conservante ProClin® 300 ^b , < 0,001% de primers a jusante <i>do SARS-CoV-2, do Influenza A, do Influenza B</i> e do Controlo Interno de Processo	EUH210 Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208 contém massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1). Pode desencadear uma reação alérgica.
cobas® Liat® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Master Mix-2 (Mistura Principal 1)	Tween-80, tween-20, tampão tris, glicerol, cloreto de potássio, EDTA, ditiotreitol, < 0,01% de polimerase do Z05 com aptâmero, 0,23% MMLV de transcriptase reversa	N/A
cobas® Liat® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Master Mix-3 (Mistura Principal 1)	Tween-80, tampão tris, EDTA, tremalose, cloreto de potássio, albumina sérica bovina, < 0,001% de primers a jusante <i>do SARS-CoV-2, do Influenza A, do Influenza B</i> e do Controlo Interno, < 0,01% de sondas de marcação fluorescente <i>do SARS-CoV-2, do Influenza A, do Influenza B</i> e do Controlo Interno, 0,004% de Polimerase de ADN Taq DSC 2.0, 0,01% de conservante ProClin® 300 ^b	EUH210 Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208 contém massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1). Pode desencadear uma reação alérgica.

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

^b Substância ou mistura perigosa

Tabela 2: cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit

cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit			
Conservar entre 2 °C e 8 °C (P/N 09211128190) 11 pipetas de transferência 1 cartão do código de barras do kit de controlo			
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança^a
Controlo Positivo do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B SARS-CoV-2 (+) C (P/N 09212078001)	Tampão tris, EDTA, < 0,003% de Poli rA (sintético), < 0,01% ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo sequência SARS-CoV-2, < 0,05% de azida sódica	3 × 0,25 ml	N/A
Controlo Positivo do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B FLU A/B (+) C (P/N 07758448001)	Cloreto de magnésio, glicol polietilénico, albumina sérica bovina, tampão fosfato-salino, < 0,01% Poli rA, (sintético), 5% de stock de Influenza AH1 não infeccioso e 1% de stock de Influenza B não infeccioso (purificado de microrganismos e inativado quimicamente), < 0,01% de conservante ProClin® 300 ^b , vermelho de fenol	3 × 10 µl	 EUH210 Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208 contém massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1). Pode desencadear uma reação alérgica.
cobas® Dilution UTM UTM de diluição (-) C (P/N 08053669001)	N/A	3 × 0,3 ml	N/A

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

^b Substância ou mistura perigosa

Armazenamento e manuseamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 3.

Não congele os materiais indicados a seguir. Não abra a embalagem individual do tubo de teste até que o operador esteja pronto para executar o teste.

Tabela 3: Armazenamento e manuseamento de reagentes

Reagente	Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B	2 °C a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit	2 °C a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado

Materiais adicionais necessários

Tabela 4: Materiais necessários mas não fornecidos

Kit de colheita de amostras	P/N
Kits de colheita de exsudados nasofaríngeos: Zaragatoa de miniponta flexível FLOQSwab™ com Universal Transport Media™ (UTM®) da Copan Diagnostics OU Kit de colheita BD™ Universal Viral Transport (UVT) de 3 ml com uma zaragatoa flocada com miniponta flexível	305C 220531
Kits de colheita de exsudados nasais: Zaragatoa padrão FLOQSwab™ com Universal Transport Media™ (UTM®) da Copan Diagnostics OU Kit de colheita BD™ Universal Viral Transport (UVT) de 3 ml com uma zaragatoa flocada padrão Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®), sem esferas	306C 220528 3C047N
Thermo Fisher™ Scientific Remel™ M4RT Thermo Fisher™ Scientific Remel™ M4 Thermo Fisher™ Scientific Remel™ M5 Thermo Fisher™ Scientific Remel™ M6 Tubo Thermo Fisher™ Scientific Remel™ M4RT®, sem esferas	R12565, R12566, R12567 R12550 R12555 R12563, R12568, R12569 R12622, R12591

Equipamentos e software necessários

O cobas® Liat® System Software está instalado no(s) equipamento(s).

Tabela 5: Equipamentos e software necessários mas não fornecidos

Equipamento e software
cobas® Liat® Analyzer (P/N 07341920190) Incluindo o software do cobas® Liat® System (Core), versão 3.3 ou superior
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Assay Script v1.0 ou superior

Nota: para informações adicionais relacionadas com o **cobas®** Liat® Analyzer, consulte o Guia do utilizador do **cobas®** Liat® System.

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

- Para diagnóstico *in vitro*.
- Antes de utilizar o teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, o operador deverá ler atentamente as instruções de utilização (IFU) e o Guia do utilizador do **cobas**® Liat® System.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo as pipetas de transferência e tubos de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B usados como potenciais agentes infecciosos. Uma vez que muitas vezes é impossível determinar que amostras poderão estar infetadas, todas as amostras biológicas devem ser tratadas com precauções universais. Estão disponíveis diretivas para o manuseamento de amostras nos Centros de controlo e prevenção de doenças dos EUA, no Instituto de normas clínicas e de laboratório e na Organização Mundial da Saúde (OMS).¹³⁻¹⁷
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição relativamente a trabalhar com químicos e a manusear amostras biológicas.
- Se houver suspeita de infeção com um novo vírus de Influenza A com base em critérios atuais clínicos e epidemiológicos de rastreio recomendados pelas autoridades de saúde públicas, as amostras devem ser recolhidas utilizando precauções adequadas de controlo de infeções por novos vírus virulentos da gripe e enviadas para os departamentos de saúde locais para testes. Não deve ser tentada a cultura de vírus nestes casos, a não ser se estiver disponível uma instalação de nível de biossegurança 3 (BSL-3) para receber e fazer culturas de amostras.
- Não utilize um tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B danificado.
- Não utilize um tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B que tenha caído depois de retirado da respetiva bolsa de alumínio.
- Não abra a tampa do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B durante ou após a execução no **cobas**® Liat Analyzer.
- Para outras advertências, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação do Analisador **cobas**® Liat®, consulte o Guia do Utilizador do **cobas**® Liat® System.
- Elimine um tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, a pipeta e os tubos de amostras usados de acordo com as diretrizes de segurança da sua instituição relativas a materiais perigosos.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, *Safety Data Sheets*) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Devido à alta sensibilidade dos testes executados no **cobas**® Liat® Analyzer, a contaminação na área de trabalho de amostras positivas anteriores, poderá causar resultados falsos positivos. Manuseie as amostras de acordo com as boas práticas de laboratório. Limpe os equipamentos e as superfícies circundantes de acordo com as instruções fornecidas na secção de limpeza do Guia do utilizador do **cobas**® Liat® System. Se ocorrerem derrames no **cobas**® Liat® Analyzer, siga as instruções apropriadas de limpeza do Guia do utilizador do **cobas**® Liat® System.
- A colheita de amostras tem de ser realizada utilizando os tipos de zaragatoa recomendados. Uma colheita, armazenamento ou transporte de amostras inadequados ou incorretos poderá dar origem a resultados inválidos ou incorretos. NÃO utilize zaragatoas com ponta algodão ou de alginato de cálcio, ou zaragatoas com haste de madeira.
- Ao usar solução de soro fisiológico a 0,9%, certifique-se de que a altura da zaragatoa é adequada para a colheita e que a marca de pontuação não fica acima da altura do tubo de colheita.
- Certifique-se de que não há qualquer vestígio de fugas do tubo de colheita antes de realizar o teste.

- Utilize apenas as pipetas de transferência contidas na embalagem do teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e no kit de controlo de qualidade **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. A utilização de pipetas de transferência alternativas poderá originar resultados inválidos.
- É necessário observar boas práticas de laboratório e cumprir rigorosamente os procedimentos especificados neste documento de instruções de utilização. Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação de reagentes e pipetas, as luvas devem ser trocadas ao retirar pipetas de transferência da embalagem de pipetas de transferência **cobas**®, entre o manuseamento de amostras e o manuseamento do tubo de teste de **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e o **cobas**® SARS-CoV-2 Quality Control Kit.
- Depois de manusear amostras e reagente do kit, retire as luvas e lave muito bem as mãos.

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos. Não utilize zaragatoas com ponta algodão ou de alginato de cálcio, ou zaragatoas com haste de madeira.

Colheita de amostras

- Colha a amostra utilizando uma zaragatoa flocada esterilizada com ponta sintética (por ex. Dacron, nylon ou rayon), de acordo com as instruções aplicáveis do fabricante e/ou uma técnica de colheita padrão utilizando 3 ml de meio de transporte viral. Se os meios de transporte viral listados na Tabela 4 não estiverem disponíveis, pode ser usada alternativamente uma solução de soro fisiológico a 0,9%.
- Efetue a colheita de amostras de exsudados nasofaríngeos e nasais, seguindo a técnica de colheita padrão e coloque-as imediatamente em solução pré-medida de 3 ml de soro fisiológico a 0,9%.

Transporte e armazenamento

O transporte de amostras colhidas deve cumprir as regulamentações aplicáveis ao transporte de agentes etiológicos.

Transporte e teste as amostras logo que possível após a colheita.

- Se for necessário transporte, as amostras devem ser embaladas, expedidas e transportadas de acordo com as edição atual do Regulamento de Materiais Perigosos da Associação Internacional de Transportes Aéreos (IATA). Siga os regulamentos de expedição de substâncias biológicas UN 3373, de categoria B, quando enviar amostras potencialmente com vírus SARS-CoV-2 ou vírus da gripe. Armazene as amostras entre 2 e 8 °C e faça a expedição durante a noite num saco de gelo. Se uma amostra estiver congelada a ≤ -70 °C, faça a expedição durante a noite em gelo seco.
- Amostras transferidas para o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B devem ser executadas logo que possível no Analisador. Uma vez adicionada a amostra ao tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, pode ser conservada à temperatura ambiente durante 4 horas.
- Amostras colhidas em meio de transporte (UTM ou UVT, M4, M4RT, M5 e M6) podem ser conservadas durante um máximo de 4 horas à temperatura ambiente ou durante até 72 horas entre 2 e 8 °C, se não for possível testar imediatamente. O congelamento a -70 °C ou temperatura inferior (e transporte em gelo seco) é necessário para o armazenamento de amostras ou transporte se o teste for realizado para além de 72 horas após a colheita.
- As amostras colhidas em solução de soro fisiológico a 0,9% podem ser conservadas durante um máximo de 4 horas à temperatura ambiente ou durante até 72 horas entre 2 e 8 °C, se não for possível testar imediatamente.

Instruções de utilização

Notas do procedimento

- Não utilize o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e o **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit depois de expirados os respectivos prazos de validade.
- Não reutilize os tubos de teste e pipetas de transferência. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Para instruções detalhadas sobre o funcionamento e a limpeza de rotina dos equipamentos, consulte o Guia do utilizador do **cobas**® Liat® System.

Execução do **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Utilize a pipeta de transferência para carregar aproximadamente 0,2 ml da amostra para o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. O **cobas**® Liat® Analyzer ajustará o volume da amostra se for carregada amostra a mais.

Tome sempre as devidas precauções quando transferir amostras de um tubo de colheita de amostra para o tubo de teste.

*Para o manuseamento de amostras, utilize as pipetas de transferência da embalagem de pipetas de transferência **cobas**® incluídas no kit.*

*Use sempre luvas limpas quando retirar pipetas de transferência da embalagem de pipetas de transferência **cobas**®.*

*Volte a vedar a embalagem de pipetas de transferência **cobas**® imediatamente após retirar a(s) pipeta(s) necessária(s).*

*A embalagem de pipetas de transferência **cobas**® pode ser armazenada à temperatura ambiente a seguir à primeira remoção do kit.*

Utilize sempre uma nova pipeta de transferência para cada amostra.

O procedimento de teste é descrito detalhadamente no Guia do utilizador do **cobas**® Liat® System. A Figura 1 a seguir resume o procedimento.

Procedimento de teste

Figura 1: Procedimento do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Fluxo de trabalho da “Validação do lote”

1	Inicie o sistema e inicie sessão
2	Obtenha controlos e tubos de teste
3	No Menu de testes, selecione “Novo lote”
4	Efetue a leitura do código de barras no cartão de código de barras da ID, no folheto informativo
5	Efetue a leitura e execute o Controlo Negativo
6	Efetue a leitura e execute o Controlo Positivo

Fluxo de trabalho do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

1	Inicie o sistema e inicie sessão
2	Obtenha amostras e tubos de teste
3	A partir do menu principal, selecione “Executar teste”
4	Efetue a leitura do código de barras do tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
5	Efetue a leitura ou introduza a ID de amostra
6	Adicione a amostra ao tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, utilizando uma pipeta de transferência e volte a colocar a tampa no tubo
7	Efetue novamente a leitura do código de barras do tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
8	Inicie a corrida
9	Examine os resultados*
10	Descarregue e elimine o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B usado

* Para instruções detalhadas sobre o envio de resultados para o LIS, consulte o Guia do utilizador do cobas® Liat® System.

Validação do lote do tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Antes de utilizar um novo lote de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, deve ser executado o procedimento “Validação do lote” no cobas® Liat® Analyzer, para validar o lote de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no seu local de trabalho. O procedimento inclui a execução de uma amostra de Controlo Negativo e uma amostra de Controlo Positivo.

Nota: para instruções de operação detalhadas, consulte o Guia do utilizador do cobas® Liat® System.

Materiais necessários para a validação do lote

Do kit de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B:

- Cartão do código de barras da ID do folheto informativo: contido no kit de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Este código de barras é específico do lote; verifique a correspondência entre o número do lote junto ao código de barras e o número do lote nos tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.
- 2 tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
- 2 pipetas de transferência

Do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit:

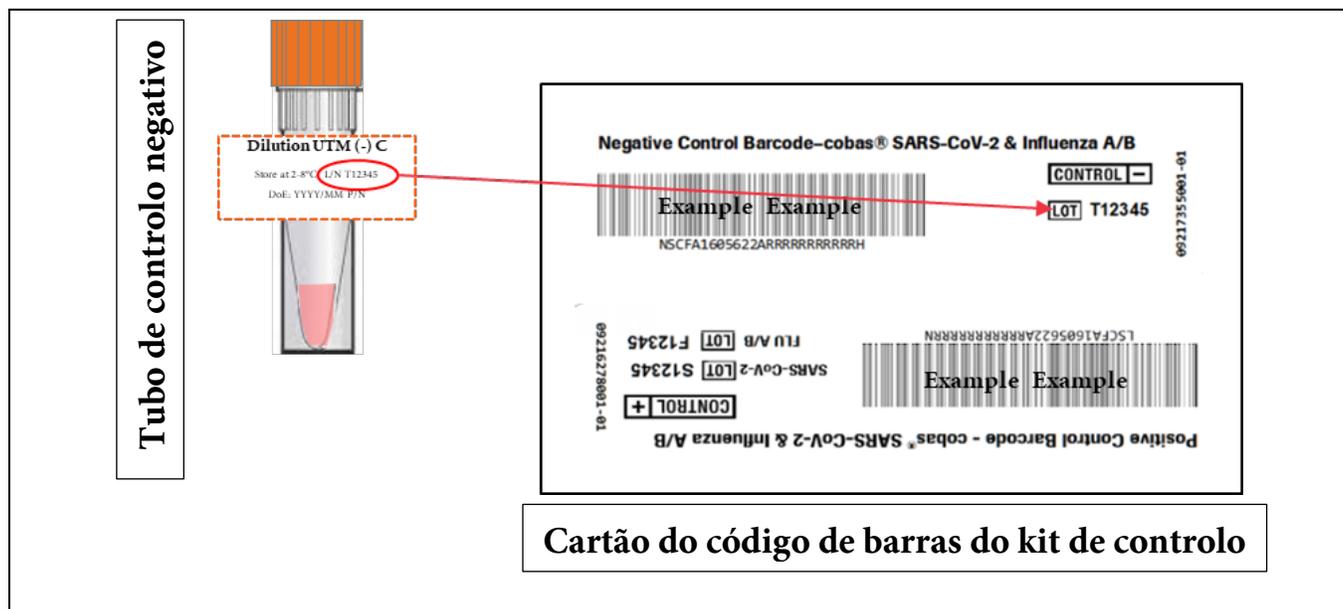
- Controlo negativo: Código de barras do controlo negativo (consulte o cartão do código de barras do kit de controlo), 1 tubo do UTM de diluição (utilizado como a amostra de controlo negativo)
- Controlo positivo: Código de barras do controlo positivo (consulte o cartão do código de barras do kit de controlo), 1 tubo de controlo positivo do cobas® SARS-CoV-2, 1 tubo de controlo positivo de cobas® Influenza A/B
- 1 pipeta de transferência

Preparar e testar a amostra de controlo negativo

Materiais necessários:

- Código de barras do folheto informativo no cartão de código de barras do folheto informativo contido no kit de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
- Código de barras do controlo negativo no cartão do código de barras do kit de controlo
- 1 tubo do UTM de diluição
- 1 tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B deste lote
- 1 pipeta de transferência

Nota: seguindo a Figura 2, verifique a correspondência entre o número do lote (L/N) da etiqueta do tubo do UTM de diluição e o número do lote (L07) da etiqueta do código de barras do controlo negativo no cartão do código de barras do kit de controlo e, em seguida, utilize o código de barras do controlo negativo (no cartão do código de barras do kit de controlo) como a ID da amostra quando executar a corrida de controlo negativo.

Figura 2: Diagrama esquemático ilustrando o cartão do código de barras do kit de controlo e do tubo de controlo negativo

Fluxo de trabalho da Validação do lote de tubos de teste

1. Prima o botão de ligar/desligar para ligar o **cobas®** Liat® Analyzer.
2. Selecione **Iniciar sessão** no ecrã do **cobas®** Liat® Analyzer.
3. Introduza o nome de utilizador quando este for pedido e selecione **OK**.
4. Introduza a palavra-passe de utilizador quando esta for pedida e selecione **OK**.

Nota: o sistema poderá solicitar ao utilizador que confirme que leu o Manual do utilizador (ou seja, o Guia do utilizador do **cobas®** Liat® System).

5. Selecione **Menu de testes** no menu principal do **cobas®** Liat® Analyzer.
6. Selecione **Novo lote** no fundo da lista.
7. Quando o sistema indicar **Ler ID folheto infor.**, selecione **Ler** e efetue a leitura do cartão de código de barras da ID no folheto informativo do **cobas®** SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Certifique-se de que a luz vermelha de leitura incide sobre todo o código de barras.

Nota: o sistema poderá solicitar ao utilizador que confirme que leu o manual de instruções.

8. Quando o sistema indicar **Ler ID controlo negativo**, selecione **Ler** e efetue a leitura do cartão de código de barras do Controlo Negativo incluído no kit de controlos. Certifique-se de que a luz vermelha de leitura incide sobre todo o código de barras. Em seguida, o **cobas®** Liat® Analyzer apresenta a mensagem **Adicionar controlo negativo e ler ID tubo**.
9. Segure um tubo de controlo negativo na vertical e bata suavemente numa superfície plana para recolher o líquido no fundo do tubo. Verifique visualmente se o UTM de diluição está reunido no fundo do tubo.
10. Abra a bolsa de alumínio de um tubo de teste **cobas®** SARS-CoV-2 & Influenza A/B (do lote a adicionar) e retire o seu conteúdo.

- Utilize a pipeta de transferência fornecida no **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Kit ou no kit de CQ para adicionar o controlo negativo ao tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Aperte firmemente o bolbo da pipeta até que o mesmo fique totalmente esvaziado, e depois insira a ponta da pipeta no líquido e aspire a amostra desaperando lentamente o bolbo.

Nota: *utilize apenas a pipeta de transferência fornecida no cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Kit ou no kit de CQ para transferir controlos e amostras para o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.*

- Retire cuidadosamente a tampa do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira a pipeta na abertura. Coloque a ponta da pipeta perto do fundo do segmento aberto.
- Aperte lentamente o bolbo para esvaziar o conteúdo da pipeta para dentro do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Evite criar bolhas na amostra. Não solte o bolbo da pipeta enquanto a pipeta ainda se encontrar no tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.

Nota: *não perfure o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ou o selo no fundo do compartimento de amostra. Se qualquer destes dois componentes ficar danificado, elimine o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e a pipeta de transferência e reinicie o procedimento de teste com um novo tubo de teste e pipeta cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.*

- Enrosque novamente a tampa do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Elimine a pipeta de transferência como material com risco biológico.
- Selecione **Ler** e coloque o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B na horizontal na mesa por debaixo do leitor de código de barras de modo que a luz vermelha de leitura incida sobre todo o código de barras. A porta de entrada de tubos no cimo do **cobas**® Liat® Analyzer abre-se automaticamente assim que o código de barras for lido.
- Remova o invólucro do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira imediatamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no **cobas**® Liat® Analyzer, até que o tubo encaixe no lugar com um estalido.

Nota: *o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B só encaixa num sentido – o lado sulcado do tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B deve ficar à esquerda e a tampa virada para cima.*

- Se o tubo não for inserido até que a porta feche, volte a efetuar a leitura do código de barras do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira novamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Após o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ter sido inserido adequadamente, o **cobas**® Liat® Analyzer fechará a porta automaticamente e iniciará o teste.
- Durante o teste, o **cobas**® Liat® Analyzer indica o estado da execução e uma estimativa de tempo restante. Uma vez concluído o teste, o **cobas**® Liat® apresenta a mensagem “Retire o tubo de teste lentamente e com cuidado.” e abre automaticamente a porta de entrada de tubos. Levante lentamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para fora do **cobas**® Liat® Analyzer. Elimine o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B usado como material com risco biológico.
- Se no fim da corrida aparecer a mensagem **Resultado de controlo negativo aceite.**, selecione **Confirmar**. Se o resultado for rejeitado, repita a execução do controlo negativo (passos 8 a 19). Se as execuções repetidas do controlo não produzirem os resultados esperados, contacte o representante local da Roche.
- Selecione **Confirmar** para prosseguir com o teste do controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no mesmo equipamento.

21. Prepare a amostra de controlo positivo conforme se segue.

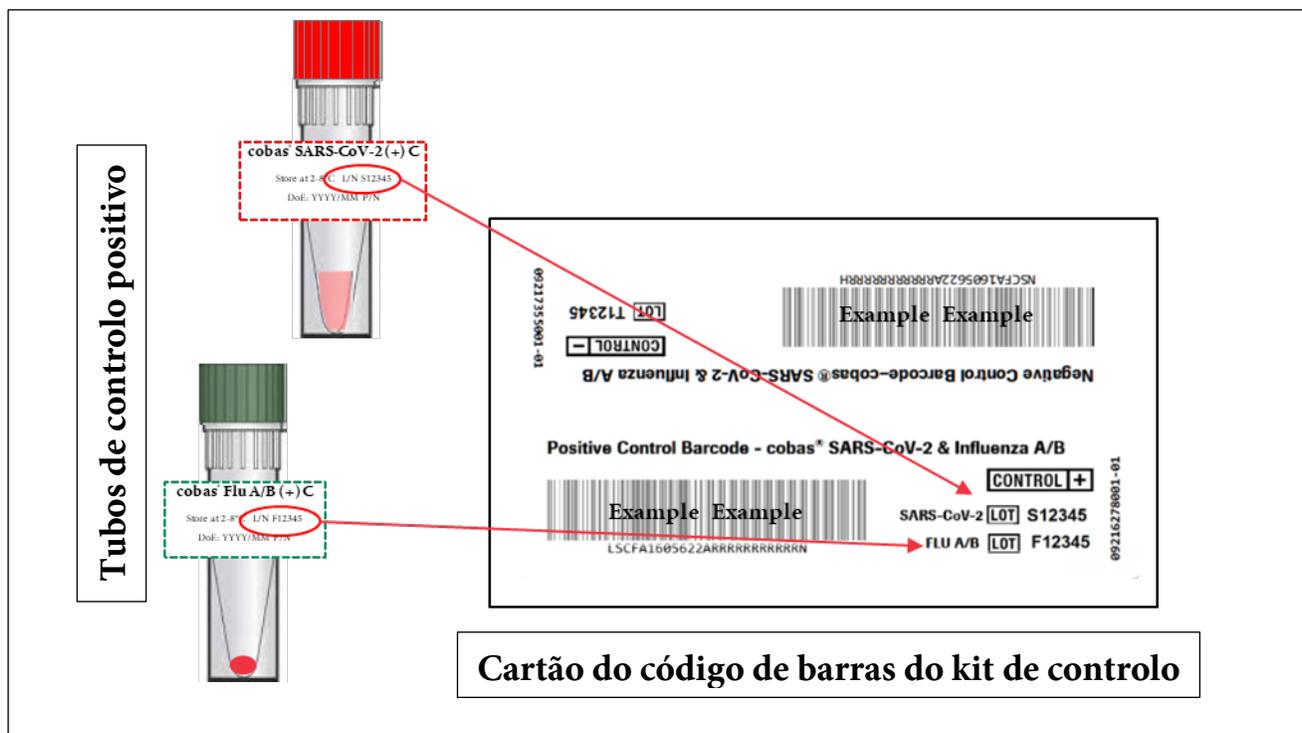
Prepare a amostra de controlo positivo do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e continue com a validação do lote

Materiais necessários:

- 1 pipeta de transferência (utilize apenas pipetas de transferência contidas no cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Kit ou no kit de Controlo de Qualidade)
- 1 controlo positivo do cobas® SARS-CoV-2
- 1 controlo positivo do cobas® Influenza A/B (sedimento composto de material do controlo positivo seco no fundo do tubo)

Nota: antes de ressuspender o controlo positivo, verifique a correspondência entre o número do lote (L/N) da etiqueta do tubo do controlo positivo do cobas® SARS-CoV-2 & cobas® Influenza A/B e o número do lote (LOT) da etiqueta do código de barras do controlo positivo no cartão do código de barras do kit de controlo, conforme indicado na Figura 3. Utilize o código de barras do controlo positivo (no cartão do código de barras do kit de controlo) como a ID da amostra, ao executar a corrida do controlo positivo.

Figura 3: Diagrama esquemático ilustrando o cartão do código de barras do kit de controlo e dos tubos de controlo negativo do cobas® SARS-CoV-2 & cobas® Influenza A/B



1. Depois de abrir a bolsa do controlo positivo do cobas® Influenza A/B, elimine o pacote de dessecante.
2. Depois de abrir a bolsa do controlo positivo do cobas® SARS-CoV-2, segure o tubo na vertical e bata suavemente numa superfície plana para recolher o líquido no fundo do frasco. Verifique visualmente que o líquido está reunido no fundo do tubo.

3. Utilize a pipeta de transferência fornecida para transferir aproximadamente 0,2 ml do líquido do controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2 para o tubo do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B.
 - a) Antes de adicionar o controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2, certifique-se de que o sedimento do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B se encontra no fundo do tubo. Não utilize o controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B se o sedimento não estiver visível antes da reidratação.
 - b) Aperte o bolbo da pipeta até que o mesmo fique completamente vazio. Mantendo o bolbo totalmente plano, insira a ponta da pipeta no líquido imediatamente abaixo da superfície do líquido, no tubo do controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2.
 - c) Lentamente, solte completamente o bolbo, mantendo a ponta da pipeta submersa. Poder-se-á ver o líquido a subir para dentro da pipeta. Depois de soltar completamente o bolbo, retire a pipeta do frasco de controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2. Um pequeno volume de líquido pode permanecer no tubo depois de soltar o bolbo completamente.
 - d) Insira a pipeta no tubo do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B até a ponta estar no fundo do tubo.
 - e) Aperte lentamente o bolbo para esvaziar o conteúdo da pipeta. Evite criar bolhas na amostra. Não solte o bolbo da pipeta.
 - f) Mantendo apertado o bolbo da pipeta, retire a mesma do tubo. Elimine o tubo do controlo positivo do **cobas**® SARS-CoV-2 e a pipeta de transferência de acordo com as diretrizes da sua instituição relativas à eliminação segura de materiais perigosos. Não reutilize pipetas de transferência.
 - g) Coloque a tampa do tubo de controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B. Segure o tubo do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B pela tampa e, com um movimento de pulso descendente, rápido e vigoroso, faça o líquido descer no tubo.
4. Deixe o tubo do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B repousar durante 5 minutos para iniciar a dissolução do material seco.
5. Depois do tubo de controlo positivo ter repousado durante 5 minutos, utilize outra pipeta de transferência do **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit para pipetar lentamente a amostra 10 vezes para cima e para baixo, para dissolver e misturar a amostra de controlo positivo. Evite criar bolhas. Coloque novamente a tampa do tubo do controlo positivo do **cobas**® Influenza A/B e elimine a pipeta de transferência como material com risco biológico.
6. De maneira semelhante, siga os passos **8 a 19** do fluxo de trabalho da **Validação do lote** com o controlo positivo ressuspendido do **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, em vez do controlo negativo.
7. Se no fim da corrida aparecer a mensagem **Resultado do controlo positivo aceite.**, seleccione **Confirmar** e seleccione **Anterior** para voltar para o menu principal. Se o resultado for rejeitado, repita o teste do Controlo Positivo do **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Se as execuções repetidas do controlo não produzirem os resultados esperados, contacte o representante local da Roche.
8. Seleccione **Menu de testes** para verificar se o novo lote foi adicionado.

Informações transferência de lotes de tubos de teste

Depois de concluído o fluxo de trabalho de “Validação do lote” num Analisador, utilize as Advanced Tools para transferir as informações do lote para os outros Analisadores do seu local de trabalho. Este procedimento permite que outros Analisadores utilizem este lote de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B sem ter de efetuar o procedimento “Validação do lote” em cada Analisador. Para detalhes da operação, consulte o Guia das Ferramentas Avançadas.

O cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B em testes de amostras clínicas

Materiais necessários para executar o cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

- Bolsa de alumínio do teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B que inclui o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
- 1 pipeta de transferência
- 1 amostra em meio de colheita

Procedimento

1. Certifique-se de que o cobas® Liat® Analyzer está ligado.
2. Selecione **Iniciar sessão** no ecrã do cobas® Liat® Analyzer.
3. Introduza o nome de utilizador quando este for pedido e selecione **OK**.
4. Introduza a palavra-passe de utilizador quando esta for pedida e selecione **OK**.

Nota: o sistema poderá solicitar ao utilizador que confirme que leu o Manual do utilizador (ou seja, o Guia do utilizador do cobas® Liat® System).

5. A partir do menu principal, selecione **Executar teste**.
6. Abra uma bolsa de tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e tire para fora o tubo de teste. Quando aparecer a mensagem **Ler ID de tubo Liat**, selecione **Ler** e coloque o tubo de teste SARS-CoV-2 & Influenza A/B na horizontal na mesa por debaixo do leitor de código de barras de modo que a luz vermelha de leitura incida sobre todo o código de barras.
7. Quando aparecer a mensagem **Ler ID de amostra**, selecione **Ler** para efetuar a leitura do código de barras da amostra. No caso do código de barras da amostra não poder ser lido, selecione **Introduzir** para introduzir manualmente a ID da amostra.
 - a. **Nota:** se a verificação do paciente estiver ativada, o Analisador indicará o estado da verificação.
 - i. Se a verificação do paciente for bem sucedida, o Analisador poderá solicitar a confirmação das informações introduzidas antes de prosseguir com a execução do teste.
 - ii. Se a verificação do paciente falhar, o Analisador poderá apresentar uma notificação a indicar que a verificação falhou:
 1. E poderá solicitar uma confirmação antes de prosseguir com a execução do teste ou
 2. Se não for possível continuar com a execução do teste, consulte o administrador do laboratório.

8. Retire cuidadosamente uma pipeta de transferência da embalagem de pipetas de transferência **cobas**®, evitando tocar nas outras pipetas da embalagem. Volte a vedar a embalagem.
9. Quando o sistema solicitar que adicione a amostra, utilize a pipeta de transferência fornecida no kit de teste para transferir a amostra. Aperte firmemente o bolbo da pipeta até que o mesmo fique totalmente esvaziado, e depois insira a ponta da pipeta no líquido e aspire a amostra despertando lentamente o bolbo.
10. Retire cuidadosamente a tampa do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira a pipeta na abertura. Coloque a ponta da pipeta perto do fundo do segmento aberto.
11. Aperte lentamente o bolbo para esvaziar o conteúdo da pipeta para dentro do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Não solte o bolbo da pipeta enquanto a pipeta ainda se encontrar no tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.

Nota: *não perfure o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ou o selo no fundo do compartimento de amostra. Se qualquer destes dois componentes ficar danificado, elimine o tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e a pipeta de transferência e reinicie o procedimento de teste com um novo tubo de teste e pipeta cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.*

12. Coloque novamente a tampa do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e elimine a pipeta de transferência como material com risco biológico.

Nota: *evite contaminar luvas, equipamentos e superfícies de trabalho com o conteúdo residual da pipeta.*

13. Selecione **Ler** e efetue novamente a leitura do código de barras do mesmo tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. A porta de entrada de tubos no cimo do **cobas**® Liat® Analyzer abre-se automaticamente.
14. Remova o invólucro do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira imediatamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no **cobas**® Liat® Analyzer, até que o tubo encaixe no lugar com um estalido.

Nota: *o tubo de teste SARS-CoV-2 & Influenza A/B só encaixa num sentido – o lado sulcado do tubo de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B deve ficar à esquerda e a tampa virada para cima.*

15. Se o tubo de teste não for inserido até que a porta feche, volte a efetuar a leitura do código de barras do tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e insira novamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Após o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ter sido inserido adequadamente, o **cobas**® Liat® Analyzer fechará a porta automaticamente e iniciará o teste.
16. Durante o teste, o **cobas**® Liat® Analyzer indica o estado da execução e uma estimativa de tempo restante. Uma vez concluído o teste, o **cobas**® Liat® Analyzer apresenta a mensagem “Retire o tubo de teste lentamente e com cuidado.” e abre automaticamente a porta de entrada de tubos. Levante lentamente o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para fora do **cobas**® Liat® Analyzer. Elimine o tubo de teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B usado como material com risco biológico.
17. Selecione **Relatório** para visualizar o relatório de resultados. Se aplicável, selecione **Imprimir** para imprimir o relatório.
18. Selecione **Anterior** e, em seguida, **Principal**, para regressar ao menu principal para efetuar o teste seguinte.

Execução de corridas de controlo adicionais

Em conformidade com os requisitos locais, estatais, federais e/ou de agências de acreditação, podem ser executadas corridas de controlos adicionais com um lote de tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B que já tenha sido adicionado através do fluxo de trabalho da “Validação do lote”. Utilize o kit de controlo de qualidade cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para utilização com o cobas® Liat® System para efetuar estas corridas.

Material necessário para as corridas de controlos adicionais

- Tubos de teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
- 1 pipeta de transferência
- Controlos positivos e/ou controlo negativo do cobas® Liat® SARS-CoV-2 & Influenza A/B
- Códigos de barras correspondentes dos controlos positivos e/ou controlo negativo do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B

Procedimento

Para executar corridas de controlo adicionais, utilize o procedimento descrito na secção “O cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B em testes de amostras clínicas”. No passo 7, certifique-se de que utiliza os códigos de barras de controlo incluídos no cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Control Kit para efetuar a leitura como código de barras da ID da amostra. A secção “Interpretação dos resultados” (da Tabela 6 à Tabela 8) apresenta a interpretação de resultados do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B quando são executados controlos positivos ou controlos negativos adicionais do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B. Se forem utilizados códigos de barras que não sejam os códigos de barras de controlos fornecidos, poderão ser originados resultados de controlo incorretos.

Resultados

Controlo de qualidade e interpretação de resultados

Tabela 6: Interpretação de resultados do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ao executar o procedimento “Validação do lote”

Indicação no cobas® Liat® Analyzer	Interpretação
Controlo negativo válido	Controlo negativo válido O controlo é negativo para a presença de ARN do SARS-CoV-2, do vírus Influenza tipo A e do vírus Influenza tipo B.
Controlo neg. invál. Repetir exec.	Controlo negativo inválido O resultado é inválido. O Controlo Negativo deve ser novamente testado para obter um resultado válido. Repita a corrida.
Controlo positivo válido	Controlo positivo válido O controlo é positivo para a presença de ARN do SARS-CoV-2, do vírus Influenza tipo A e do vírus Influenza tipo B.
Controlo pos. invál. Repetir exec.	Controlo positivo inválido O resultado é inválido. O Controlo Positivo deve ser novamente testado para obter um resultado válido. Repita a corrida.

Nota: se a corrida repetida for ainda inválida, contacte o representante local da Roche.

Tabela 7: Interpretação de resultados do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B ao executar uma amostra

Relatório de resultados		Interpretação
SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Não detetado	Teste negativo para SARS-CoV-2 (ARN de SARS-CoV-2 não detetado)
	SARS-CoV-2 Detetado	Teste positivo para SARS-CoV-2 (ARN de SARS-CoV-2 presente)
	SARS-CoV-2 Inválido	Não foi possível determinar a presença ou a ausência de SARS-CoV-2. Se clinicamente indicado, repita o teste com a mesma amostra ou, se possível, colha uma nova amostra para teste.
Influenza A	Influenza A Não detetado	Teste de Influenza A negativo (ARN de Influenza A não detetado)
	Influenza A Detetado	Teste de Influenza A positivo (ARN de Influenza A presente)
	Influenza A Inválido	Não foi possível determinar a presença ou a ausência do Influenza A. Se clinicamente indicado, repita o teste com a mesma amostra ou, se possível, colha uma nova amostra para teste.
Influenza B	Influenza B Não detetado	Teste de Influenza B negativo (ARN de Influenza B não detetado)
	Influenza B Detetado	Teste de Influenza B positivo (ARN de Influenza B presente)
	Influenza B Inválido	Não foi possível determinar a presença ou a ausência do Influenza B. Se clinicamente indicado, repita o teste com a mesma amostra ou, se possível, colha uma nova amostra para teste.
Teste inválido		Não foi possível determinar a presença ou a ausência do SARS-CoV-2, Influenza A e do Influenza B. Repita o teste com a mesma amostra ou, se possível, colha uma nova amostra para teste.
[Erro]. Teste anulado		Não foi possível determinar a presença ou a ausência do SARS-CoV-2, Influenza A e do Influenza B. Repita o teste com a mesma amostra ou, se possível, colha uma nova amostra para teste.

Tabela 8: Interpretação de resultados ao executar controlos adicionais depois de seguir o procedimento “Validação do lote”**Controlo positivo**

Indicação no cobas® Liat® Analyzer	Interpretação
Controlo positivo válido	Controlo positivo válido O controlo é positivo para a presença de ARN do SARS-CoV-2, do vírus Influenza do tipo A e do vírus Influenza do tipo B.
Controlo positivo inválido	Controlo positivo inválido O resultado é inválido. O Controlo Positivo deve ser novamente testado para obter um resultado válido. Repita a corrida.

Nota: se a corrida repetida for ainda inválida, contacte o representante local da Roche.

Controlo negativo

Indicação no cobas® Liat® Analyzer	Interpretação
Controlo negativo válido	Controlo negativo válido O controlo é negativo para a presença de ARN do vírus SARS-CoV-2, do vírus Influenza do tipo A e do vírus Influenza do tipo B.
Controlo negativo inválido	Controlo negativo inválido O resultado é inválido. O Controlo Negativo deve ser novamente testado para obter um resultado válido. Repita a corrida.

Nota: se a corrida repetida for ainda inválida, contacte o representante local da Roche.

Limitações do procedimento

- O teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B foi avaliado apenas para utilização em combinação com o cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Quality Control Kit e o presente documento de instruções de utilização. Alterações a estes procedimentos podem alterar o desempenho do teste.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Não se prevê uma concordância de cem por cento entre os resultados, devido às diferenças anteriormente referidas entre tecnologias. Os utilizadores deverão seguir os seus próprios específicos procedimentos e políticas.
- Este teste destina-se a ser utilizado para a deteção de ARN do SARS-CoV-2, do Influenza A e do Influenza B em amostras de exsudados nasais e nasofaríngeos, colhidas num Copan UTM System (UTM) ou BD™ Universal Viral Transport System (UVT) ou num meio Thermo Fisher™ Scientific Remel™ ou solução de soro fisiológico a 0,9%. Testar outros tipos de amostra ou meio pode originar resultados imprecisos.
- Tal como sucede com outros testes, resultados negativos não excluem a infeção pelo SARS-CoV-2, Influenza A ou Influenza B e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão do paciente.
- Podem ocorrer resultados negativos falsos se a amostra for incorretamente recolhida, transportada ou manuseada, se houver ARN insuficiente para ser detetado, ou se um ou mais vírus alvos inibir a amplificação de outros alvos.
- Poderão ser obtidos resultados inválidos se o volume de amostra for insuficiente ou se as amostras contiverem substâncias inibidoras que impeçam a extração do ácido nucleico alvo e/ou a sua amplificação e deteção.
- Mutações dentro das regiões alvo do cobas® SARS-CoV-2, do Influenza A e do Influenza B, poderão afetar a ligação de primers e/ou sonda, inviabilizando a deteção da presença do vírus.

- Podem registrar-se resultados falsos negativos ou inválidos devido à interferência. O Controle Interno está incluído no **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B** para ajudar a identificar as amostras que contêm substâncias passíveis de interferir com o isolamento do ácido nucleico e a amplificação por PCR.
- Resultados de estudos analíticos mostram uma possível inibição competitiva do Influenza de título mais baixo em amostras com SARS-CoV-2 de título mais alto também presente. No caso de ser suspeita uma co-infecção e a detecção do Influenza pudesse alterar a gestão clínica, considere investigar melhor os resultados que sejam negativos para o Influenza.

Desempenho não clínico – SARS-CoV-2

Características principais do desempenho

O teste **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B** foi desenvolvido principalmente substituindo os primers e sondas do RSV pelos primers e sondas necessários para a detecção de alvos SARS-CoV-2 no teste existente **cobas® Influenza A/B & RSV**. Os estudos originais do teste **cobas® Influenza A/B & RSV** permanecem relevantes para o desempenho dos alvos Influenza A/B com o teste **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B**.

Sensibilidade analítica

Os estudos de limite de detecção (LoD) determinam a concentração mínima detetável do SARS-CoV-2, à qual todas (verdadeiro positivo) as replicações superiores ou igual a 95% do teste são positivas.

Para determinar o LoD do SARS-CoV-2, um vírus de cultura inativado pelo calor de um paciente dos EUA (USA-WA1/2020, número de lote 324047, 3,16E+06 TCID₅₀/ml, ZeptoMetrix, NY, USA) foi diluído em série numa matriz de exsudados nasofaríngeos negativos em pool. Foram testados 5 níveis de concentração com 20 réplicas, exceto o nível de concentração mais alto, que foi testado com 10 réplicas. Foram utilizados no estudo 3 lotes de tubos de teste (aproximadamente um número igual de réplicas por lote) e 2 séries de diluição independentes (número igual de réplicas por série de diluição).

Conforme indicado na Tabela 9, o nível de concentração com taxas de positividade observadas maiores ou iguais a 95%, foi de 0,012 TCID₅₀/ml (12 cópias/ml) para o SARS-CoV-2. Conforme indicado na Tabela 10, a taxa de positividade estimada de 95% por Probit, foi de 0,010 TCID₅₀/ml para o SARS-CoV-2.

Tabela 9: Determinação do LoD utilizando a estirpe USA-WA1/2020

Estirpe	Concentração [TCID ₅₀ /ml]	Concentração [cópias/ml]	Total de resultados válidos	Taxa de positividade [%]	Ct médio*
USA-WA1/2020 (Concentração de stock 3,16E+06 TCID ₅₀ /ml)	0,048	49	10	100	32,6
	0,024	24	20	100	33,5
	0,012	12	20	100	35,2
	0,006	6	20	70	35,9
	0,003	3	20	25	36,7

* Os cálculos incluem apenas resultados positivos.

Tabela 10: Taxas de positividade estimadas de 95% por Probit usando a estirpe USA-WA1/2020

Estirpe	Taxa de Positividade estimada de 95% por Probit [TCID ₅₀ /ml]
USA-WA1/2020 (Concentração de stock 3,16E+06 TCID ₅₀ /ml)	0,010 (IC de 95%: 0,007–0,018)

Reatividade/inclusividade

Análises *in silico* levaram à conclusão de que o cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B detetará todas as sequências do SARS-CoV-2 analisadas em bases de dados NCBI e GISAID, utilizando um design de alvo duplo (Tabela 11). Menos de 1,44% das sequências analisadas tiveram divergências não significativas no gene RdRp, das quais 100% tiveram uma correspondência perfeita no gene N. Por outro lado, menos de 0,69% das sequências analisadas tiveram divergências não significativas no gene N, das quais 100% tiveram uma correspondência perfeita no gene RdRp. Foi identificada 1 sequência que tinha 3 divergências perto da extremidade 5' da região de ligação da sonda do conjunto de detecção do gene N. Esta sequência teve 100% de correspondência perfeita para o conjunto de detecção do gene RdRp, pelo que não se espera nenhum impacto no desempenho do teste.

Tabela 11: Análise de inclusividade *in silico* do SARS-CoV-2

Alvo	Gene RdRp (ORF1ab)				Gene N			
	NCBI		GISAID		NCBI		GISAID	
Número de sequências	3552	100%	27350	100%	3342	100%	27175	100%
Sequências com mutação	51	1,44%	119	0,44%	23	0,69%	142	0,52%
Previstas sem detecção	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,004%

Reatividade cruzada – na análise *in silico*

Foram realizadas análises *in silico* para possíveis reações cruzadas com todos os organismos indicado na Tabela 12, fazendo o mapeamento dos primers e sondas do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B às sequências disponíveis das bases de dados NCBI. A tabela a seguir apresenta a percentagem de homologia de sequências que parcialmente foi alinhada com os primers alvo e sondas do SARS-CoV-2 N e do RdRp. Se qualquer um dos dois primers fossem mapeados para uma sequência de cadeias opostas com uma curta distância entre elas, as amplificações potenciais seriam assinaladas. Não é expectável uma potencial reatividade cruzada involuntária com base na presente análise *in silico*, exceto para o SARS-CoV-1, que foi testado adicionalmente conforme indicado na Tabela 13.

Tabela 12: Organismos com homologia para primers e sondas do SARS-CoV-2 N e do RdRp

Estirpe	Porcentagem de homologia para o N			Porcentagem de homologia para o RdRp		
	Primer senso	Sonda	Primer anti-senso	Primer senso	Sonda	Primer anti-senso
Coronavírus humano HKU1	-	-	-	-	-	81,50%
Coronavírus SARS (SARS-CoV-1)	100,00%	81,48%	94,74%	95,80%	87,50%	96,30%
Coronavírus MERS	80,00%	-	-	-	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	95,00%	-	-	-	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	80,00%	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	80,00%	-	-	-	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	-	-	83,30%	-	-
<i>Candida albicans</i>	90,00%	-	-	83,30%	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	85,00%	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus salivarius</i>	-	-	89,47%	-	-	-
Coronavírus humano 229E/OC43/NL63	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Adenovírus (por ex. ,C1 Ad. 71)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Metapneumovírus humano (hMPV)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Influenza A (todas as sequências disponíveis)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Influenza B (todas as sequências disponíveis)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Enterovírus (por ex., EV68)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Vírus sincicial respiratório (RSV)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
Rinovírus	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Bordetella pertussis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*			Não foi encontrado nenhum alinhamento*		

* Os primers e sondas de SARS-CoV-2 N e os alvos do RdRp foram confrontados com as sequências exclusivas com cutoff de identidade $\geq 80\%$. As identidades $\geq 80\%$ são apresentadas na tabela.

Reatividade cruzada – testes laboratoriais a fresco

Reatividade cruzada com o SARS-CoV-1

Foi avaliada a reatividade cruzada com o SARS-CoV-1, testando todo o vírus SARS-CoV-1 inativado. Foi diluído em UTM a $1,0E+05$ PFU/ml, SARS-CoV-1 de cultura de radiação gama (estirpe Urbani, número de lote 58542036, BEI Resources, VA, USA) em exsudados nasofaríngeos negativos em pool. Conforme indicado na Tabela 13, o SARS-CoV-1 não interferiu com o desempenho do teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.

Tabela 13: Reatividade cruzada do SARS-CoV-2 com o SARS-CoV-1

Concentração testada do SARS-CoV-1	cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B			
	SARS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	CIP
	Resultado	Resultado	Resultado	Ct
1,00E+05 PFU/ml	Não detetado	Não detetado	Não detetado	31,6

Reatividade cruzada/interferência microbiana com outros microorganismos

Foi avaliada a reatividade cruzada com outros microorganismos não SARS-CoV-2/Influenza relativamente a um painel composto por 24 microorganismos. As bactérias e a *Candida albicans* foram testadas a uma concentração $\geq 10^6$ unidades/ml. Os vírus foram testados em $\geq 10^5$ unidades/ml ou na concentração mais elevada disponível. Os exsudados nasofaríngeos negativos em pool em UTM com ou sem presença do SARS-CoV-2, Influenza A/B a $3 \times \text{LoD}$ foi utilizado como matrizes de amostra. Não foi observada qualquer reatividade cruzada ou interferência microbiana para os microorganismos nas concentrações testadas.

Tabela 14: Foram testados organismos e concentrações com potencial de reação cruzada

Organismos com potencial de reação cruzada	Concentração testada*
Adenovírus	1,00E+05
Coronavírus humano 229E	1,00E+05
Coronavírus humano HKU1	1,00E+05
Coronavírus humano OC43	1,00E+05
Enterovírus humano D	1,00E+05
Metapneumovírus humano 27	1,00E+05
Rinovírus humano B	1,00E+05
Coronavírus MERS	1,00E+05
Vírus da parainfluenza Tipo 1	1,00E+05
Vírus da parainfluenza Tipo 2	1,00E+05
Vírus da parainfluenza Tipo 3	1,00E+05
Vírus da parainfluenza Tipo 4A	1,00E+05
Vírus sincicial respiratório (estirpe A2)	1,00E+05
Coronavírus humano NL63	2,55E+04
<i>Bordetella pertussis</i>	1,00E+06
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,00E+06
<i>Legionella pneumophila</i>	1,00E+06
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,00E+06
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	7,90E+04
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5,00E+03

* EB/ml, CFU/ml, IU/ml, TCID₅₀/ml, partículas/ml, cópias/ml ou PFU/ml

Co-infecção (inibição competitiva)

Foi avaliada a inibição competitiva do teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B, efetuando uma série de experiências de diluição com amostras co-infetadas, com um alvo do painel a uma concentração alta e um ou mais outros alvos a concentrações baixas. O objetivo destas experiências era identificar as concentrações às quais a presença do alvo a concentração alta iria inibir a detecção de alvo(s) a concentração baixa devido a competição. As concentrações baixas foram definidas como sendo $\sim 3 \times \text{LoD}$. Os alvos a concentração alta foram definidos como títulos altos (Ct 20–24) ou títulos muito altos (Ct 12–16). As amostras foram testadas numa série de diluições até que alvos a concentração baixa foram detetados numa taxa acertos de 100%.

SARS-CoV-2 inativado (USA-WA1/2020), influenza A de cultura (Brisbane/59/07) e influenza B de cultura (Florida/04/06 e Colorado/06/2017) foram preparados numa matriz de amostra em pool negativa de exsudados nasofaríngeos eluídos em UTM. Foram testadas 3 réplicas por condição. As concentrações testadas em experiências de diluição em que a inibição competitiva deixou de ser observada, são indicadas em ID₅₀/ml e em cópias/ml.

Como o cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B deteta ácidos nucleicos, os títulos virais são também indicados em cópias/ml. A concentração de cada stock viral em cópias/ml foi quantificada utilizando a RT-ddPCR (PCR digital baseada em gotículas de transcriptase reversa), num teste uniplex de um só alvo, com primers PCR específicos do alvo e conjuntos de sondas concebidas para amplificar independentemente o influenza A, o influenza B ou o SARS-CoV-2 utilizando o One-Step RT-ddPCR Advanced Kit for Probes (Bio Rad, N.º Ref. 1864021).

O resumo dos resultados dos testes está indicado na tabela a seguir (Tabela 15). As concentrações altas de cada alvo indicadas a seguir referem-se a quando foi conseguida uma taxa de concordância de 100% com concentrações baixas do alvo a $3 \times \text{LoD}$.

Tabela 15: Inibição competitiva – estudo de co-infecção simulada de alvos do influenza A, influenza B e SARS-CoV-2

Estripe do vírus utilizada para o alvo de concentração alta	Concentração alta do alvo testada			Concentração baixa do alvo ($3 \times \text{LoD}$) detetada com uma concentração alta do alvo presente					
				Influenza A		Influenza B		SARS-CoV-2	
	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	Valor de Ct médio	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	ID ₅₀ /ml	cópias/ml
A/Brisbane/59/07	1,40E+04	8,34E+08	12	NT	NT	1,20E-02	4,85E+02	3,60E-02	3,60E+01
B/Florida/04/06	2,00E+01	8,09E+05	21	3,00E-03	1,79E+02	NT	NT	3,60E-02	3,60E+01
B/Colorado/06/2017	7,00E+03	8,54E+05	20	NT	NT	NT	NT	3,60E-02	3,60E+01
SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	3,60E+01	3,65E+04	24	3,00E-03	1,79E+02	1,20E-02	4,85E+02	NT	NT

NT = não testada

Foram executados testes de inibição competitiva adicionais, ajustando as concentrações altas do alvo aos níveis observados em > 95% de amostras clínicas positivas para os alvos do influenza B e do SARS-CoV-2. Na presença destas concentrações muito altas do alvo, a detecção de alvos adicionais na amostra foi conseguida para o SARS-CoV-2 a 4,50E-01 ID₅₀/ml, para o influenza A a 8,00E-01 ID₅₀/ml e para o influenza B a 3,20E+00 ID₅₀/ml (Tabela 16).

Tabela 16: Inibição competitiva com concentrações muito altas do alvo – Estudo de co-infecção simulada de alvos do influenza A, influenza B e SARS-CoV-2

Estripe do vírus utilizada para o alvo de concentração muito alta	Concentração muito alta do alvo testada			Concentração do alvo detetada com uma concentração muito alta do alvo presente					
				Influenza A		Influenza B		SARS-CoV-2	
	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	Valor de Ct médio	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	ID ₅₀ /ml	cópias/ml	ID ₅₀ /ml	cópias/ml
B/Florida/04/06	1,00E+03	4,04E+07	15	NT	NT	NT	NT	4,50E-01	4,56E+02
B/Colorado/06/2017	3,20E+05	3,94E+07	15	NT	NT	NT	NT	4,50E-01	4,56E+02
SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	5,00E+03	5,07E+06	16	8,00E-01	4,77E+04	3,20E+00	1,29E+05	NT	NT

NT = não testada

Avaliação do desempenho clínico – SARS-CoV-2

O desempenho clínico do teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para a detecção de SARS-CoV-2 foi avaliada em separado utilizando amostras clínicas retrospectivas e prospectivas de indivíduos dos quais os respectivos prestadores de cuidados de saúde suspeitam terem uma infecção respiratória viral consistente com COVID-19.

Avaliação de desempenho clínico com amostras clínicas retrospectivas

O desempenho clínico do teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para a detecção do SARS-CoV-2 foi avaliado utilizando 56 amostras clínicas nasofaríngeas remanescentes conhecidas como positivas do SARS-CoV-2, e 231 amostras clínicas negativas colhidas antes da pandemia da COVID-19 (uma mistura de amostras de exsudados nasais e nasofaríngeos) em UTM de pacientes dos quais se suspeitava terem uma infecção respiratória. Foram efetuados testes em amostras clínicas retrospectivas com o **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e um teste RT-PCR SARS-CoV-2, autorizado pela FDA, altamente sensível, baseado em laboratório.

Conforme indicado na Tabela 17, todas as 56 amostras positivas do SARS-CoV-2 foram positivas tanto no teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no **cobas**® Liat® System, como no teste do comparativo.

Conforme indicado na Tabela 17, 229 amostras negativas válidas foram negativas para SARS-CoV-2 tanto pelo teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B como pelo teste do comparativo. 5 das 231 amostras clínicas negativas geraram um resultado inválido inicial com o teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B; 3 amostras que geraram resultados válidos em testes de repetição foram incluídas na análise, e 2 amostras que geraram resultados inválidos na repetição foram excluídas da análise, produzindo 229 amostras negativas válidas. Uma amostra negativa foi positiva do influenza A com o teste **cobas**® SARS-CoV-2 & Influenza A/B; este resultado foi confirmado com um teste de influenza molecular aprovado pela FDA.

Para amostras retrospectivas, os resultados da avaliação do desempenho clínico demonstraram uma concordância na percentagem de positivos de 100% e concordância na percentagem de negativos a 100%, conforme comparado com o teste do comparador.

Tabela 17: Comparação de desempenho clínico com um teste RT-PCR SARS-CoV-2 altamente sensível autorizado pela FDA – Amostras retrospectivas

		Teste do comparador SARS-CoV-2	
		Positivo	Negativo
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no cobas® Liat® System	Positivo	56	0
	Negativo	0	229*

* 2 amostras inválidas repetidas não foram incluídas na análise.

CPP 100% (IC de 95%: 93,6–100%)

CPN 100% (IC de 95%: 98,4–100%)

Avaliação de desempenho clínico com amostras clínicas prospectivas

O desempenho clínico do teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B para a detecção do SARS-CoV-2 foi avaliado com exsudado nasofaríngeo clínico emparelhado (NPS) e amostras de exsudado nasal (NS) colhidas prospectivamente em UTM de pacientes dos quais se suspeitava terem uma infecção respiratória; as amostras NS eram constituídas tanto por exsudados colhidos pelo profissional de saúde ou exsudados colhidos pelo próprio. Foram efetuados testes em amostras clínicas prospectivas com o teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e comparado com os resultados das amostras de exsudado nasofaríngeo (NPS) com um teste RT-PCR multiplex, autorizado pela FDA, altamente sensível, baseado em laboratório (método de referência).

Não foram detetadas coinfeções com o SARS-CoV-2 e influenza A/B. Nenhuma amostra nesta avaliação do desempenho testou positivo para influenza A ou influenza B no teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B.

Para as amostras prospectivas, foram incluídos 963 indivíduos neste estudo. Destes, 2 sujeitos não cumpriam os critérios de elegibilidade. Além disso, foram excluídas 26 amostras de exsudado nasofaríngeo devido a resultados em falta ou inválidos do analisador ou método de referência. Assim, determinou-se um total de 935 amostras de exsudado nasofaríngeo (NPS) a serem avaliadas tanto pelo cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e como pelo método de referência, e essas foram incluídas na análise de desempenho. Além disso, foi avaliado um total de 930 amostras NS emparelhadas para testes com cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e o método de referência.

Conforme indicado na tabela Tabela 18 para amostras prospectivas de exsudado nasofaríngeo (NPS), o teste cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B demonstrou uma concordância na percentagem de positivos a 95,2% e uma concordância de percentagem de negativos a 99,6%, comparado com o método de referência de detecção de SARS-CoV-2.

Tabela 18: Comparação do desempenho clínico com o método de referência – Amostras prospectivas de esfregaços nasofaríngeos

		Método de referência	
		Resultado do SARS-CoV-2	
		Positivo	Negativo
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no cobas® Liat® System	Positivo	79	3 ^a
	Negativo	4 ^a	849

CPP 95,2% (IC de 95%: 88,3–98,1%)

CPN 99,6% (IC de 95%: 99,0–99,9%)

^a Sete resultados discordantes entre amostras de exsudado nasofaríngeo testadas com **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B** e o método de referência apresentou valores de Ct tardios, que são indicativos de amostras de indivíduos com cargas virais próximas ou abaixo do limite de detecção de ambos os testes.

Conforme indicado na Tabela 19 para amostras NS prospectivas, o **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B** demonstrou uma concordância na percentagem de positivos de 96,4% e uma concordância na percentagem de negativos de 99,5% comparado com os resultados de amostras de exsudado nasofaríngeo emparelhados do método de referência para a detecção de SARS-CoV-2.

Tabela 19: Comparação do desempenho clínico com o método de referência – Amostras de NS prospectivas

		Método de referência	
		Resultado do SARS-CoV-2	
		Positivo	Negativo
cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B no cobas® Liat® System	Positivo	80	4 ^a
	Negativo	3 ^a	843

CPP 96,4% (IC de 95%: 89,9–98,8%)

CPN 99,5% (IC de 95%: 98,8–99,8%)

^a Sete resultados discordantes entre amostras de exsudado nasal e nasofaríngeo emparelhadas e testadas com **cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B** e o método de referência apresentou valores de Ct tardios, que são indicativos de amostras de indivíduos com cargas virais próximo ou abaixo do limite de detecção de ambos os testes.

Avaliação do desempenho não clínico – Influenza A/B

Sensibilidade analítica

O limite de detecção (LoD) foi avaliado utilizando 3 estirpes do Influenza A e 2 estirpes do Influenza B. O LoD foi determinado através de estudos de diluição limitada utilizando titulações destes vírus. Os vírus foram adicionados a uma matriz de amostra negativa de exsudado nasofaríngeo (NPS) em UTM. Foi determinado que o LoD era 2×10^{-3} – 2×10^{-2} TCID₅₀/ml para as estirpes do Influenza A e 2×10^{-3} – 4×10^{-3} TCID₅₀/ml para as estirpes do Influenza B (Tabela 20).

Tabela 20: Determinação do LoD para estirpes do Influenza A e do Influenza B

Estirpe do vírus	LoD (TCID ₅₀ /ml)
A/Brisbane/10/07	$2,0 \times 10^{-2}$
A/Brisbane/59/07	$2,0 \times 10^{-3}$
A/Nova Iorque/01/2009	$2,0 \times 10^{-2}$
B/Florida/04/06	$2,0 \times 10^{-3}$
B/Malásia/2506/04	$4,0 \times 10^{-3}$

Nota: a sensibilidade analítica do cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B foi avaliada e mostrou ser equivalente ao cobas® Influenza A/B & RSV utilizando os A/Brisbane/59/07 e B/Florida/04/06 de cultura (dados não indicados).

Reprodutibilidade

O estudo de reprodutibilidade avalia a variabilidade total do teste na detecção do Influenza A/B levando em conta os operadores, os centros de estudo, os dias dos testes, os Analisadores e os lotes de tubos de teste. A reprodutibilidade foi avaliada em 3 centros. 2 operadores em cada um dos 3 centros testaram um painel de reprodutibilidade com 10 membros em triplicado, em 5 dias diferentes, para um total de ~900 corridas (10 membros do painel \times 3 réplicas \times 2 operadores \times 5 dias \times 3 centros). Foram utilizados 9 Analisadores e 3 lotes de tubos de teste. O painel de reprodutibilidade abrange um negativo elevado, um positivo baixo e um positivo médio de cada Influenza A, e Influenza B, além de uma amostra negativa. Para um determinado vírus, o resultado previsto para o membro do painel negativo verdadeiro e altamente negativo é “Não detetado”, enquanto que o resultado previsto para o membro do painel positivo baixo e positivo moderado é “Detetado”.

A percentagem de concordância com o resultado esperado, o Ct médio e a %CV de Ct para cada centro são apresentados na Tabela 21 e na Tabela 22.

Tabela 21: Reprodutibilidade do Influenza A

Amostra	Local 1			Local 2			Local 3			Total	
	Concor- dância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concor- dância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concor- dância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concor- dância com resultado esperado	IC de 95%
Negativos	30/30	-	-	31/31	-	-	30/30	-	-	91/91 (100,0%)	96,0- 100,0%
Negativa alta para Influenza A*	29/30	37,0	-	30/30	-	-	29/30	35,7	-	88/90 (97,8%)	92,3- 99,4%
Positiva baixa para Influenza A*	30/30	32,7	2,9%	30/30	32,1	1,6%	30/30	32,3	1,6%	90/90 (100,0%)	95,9- 100,0%
Positiva moderada para Influenza A*	30/30	30,4	1,0%	30/30	30,0	1,2%	30/30	30,1	0,9%	90/90 (100,0%)	95,9- 100,0%
Negativa alta para Influenza B*	30/30	-	-	31/31	-	-	30/30	-	-	91/91 (100,0%)	96,0- 100,0%
Positiva baixa para Influenza B*	30/30	-	-	30/30	-	-	29/29 [†]	-	-	89/89 (100,0%)	95,9- 100,0%
Positiva moderada para Influenza B*	30/30	-	-	30/30	-	-	30/30	-	-	90/90 (100,0%)	95,9- 100,0%
Concordânci a total	209/210 (99,5%)			212/212 (100,0%)			208/209 (99,5%)			629/631 (99,7%)	98,9- 100,0%

[†] 1 de 30 réplicas positivas baixas para Influenza B geraram um resultado “Teste inválido. Repetir teste”, e não foi repetida.

* Guidance for Industry and FDA Staff Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Influenza Viruses. Documento emitido a: 15 de julho de 2011

Tabela 22: Reprodutibilidade do Influenza B

Amostra	Local 1			Local 2			Local 3			Total	
	Concordância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concordância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concordância com resultado esperado	Ct médio	%CV de Ct	Concordância com resultado esperado	IC de 95%
Negativos	30/30	-	-	31/31	-	-	30/30	-	-	91/91 (100,0%)	96,0– 100,0%
Negativa alta para Influenza A*	30/30	-	-	30/30	-	-	30/30	-	-	90/90 (100,0%)	95,9– 100,0%
Positiva baixa para Influenza A*	30/30	-	-	30/30	-	-	30/30	-	-	90/90 (100,0%)	95,9– 100,0%
Positiva moderada para Influenza A*	30/30	-	-	30/30	-	-	30/30	-	-	90/90 (100,0%)	95,9– 100,0%
Negativa alta para Influenza B*	29/30	35,1	-	31/31	-	-	30/30	-	-	90/91 (98,9%)	94,0– 99,8%
Positiva baixa para Influenza B*	30/30	31,9	1,8%	30/30	31,6	1,4%	29/29 [†]	31,6	1,5%	89/89 (100,0%)	95,9– 100,0%
Positiva moderada para Influenza B*	30/30	30,8	1,3%	30/30	30,4	1,4%	30/30	30,5	1,3%	90/90 (100,0%)	95,9– 100,0%
Concordância total	209/210 (99,5%)			212/212 (100,0%)			208/209 (99,5%)			629/631 (99,7%)	98,9– 100,0%

[†] 1 de 30 réplicas positivas baixas para Influenza B geraram um resultado “Teste inválido. Repetir teste”, e a análise não foi repetida.

* Guidance for Industry and FDA Staff Establishing the Performance Characteristics of In Vitro Diagnostic Devices for the Detection or Detection and Differentiation of Influenza Viruses. Documento emitido a: 15 de julho de 2011

Reatividade/inclusividade

O estudo da reatividade avalia a capacidade de detetar as estirpes de Influenza que representam a diversidade temporal e geográfica. A reatividade/inclusividade foi avaliada com 28 estirpes de Influenza A e 15 estirpes de Influenza B. As estirpes de Influenza A incluíam 14 estirpes de Influenza A/H1 (incluindo 3 estirpes H1N1 pdm09), 12 estirpes de Influenza A/H3 (incluindo 1 estirpe H3N2v), 1 estirpe de Influenza A/H7N9 e 1 estirpe rearranjada de Influenza A/H5N1. As estirpes de Influenza B incluíam as da linhagem Victoria e as da linhagem Yamagata. Todas as estirpes foram detetadas às concentrações testadas (Tabela 23).

Tabela 23: Resultados dos testes das estirpes do Influenza A e do Influenza B

Estirpe do vírus	Tipo/Subtipo	Concentração de teste	Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
A/Aichi/2/68	Influenza A/H3N2	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Alice	Influenza A/H3N2	$5,0 \times 10^1$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Anhui/1/2013	Influenza A, H7N9 (linhagem euro-asiática)	$1,0 \times 10^3$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Brisbane/10/07	Influenza A/H3N2	$2,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Brisbane/59/07	Influenza A/H1N1	$2,0 \times 10^{-3}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Cambodia/X0810301/2013(H5N1)-PR8-IDCDC-RG34B	Rearranjo de Influenza A/H5N1	$2,5 \times 10^1$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Denver/1/57	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/FM/1/47	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/H3/Perth/16/09	Influenza A/H3N2	$2,5 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Hong Kong/8/68	Influenza A/H3N2	$1,0 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Indiana/8/2011	Influenza A/H3N2v	$5,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Mal/302/54	Influenza A/H1N1	$4,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/MRC2	Influenza A/H3	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Nova Caledónia/20/99	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^2$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/New Jersey/8/76	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^1$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Nova Iorque/01/2009	Influenza A/H1N1 pdm09	$2,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Nova Iorque/02/2009	Influenza A/H1N1 pdm09	$2,5 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Nova Iorque/03/2009	Influenza A/H1N1 pdm09	$2,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Port Chalmers/1/73	Influenza A/H3N2	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/PR/8/34	Influenza A/H1N1	$5,0 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Ilhas Salomão/3/2006	Influenza A/H1N1	$5,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Suína/1976/31	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^1$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Suína/Iowa/15/30	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Texas/50/2012	Influenza A/H3N2	$1,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Vitória/3/75	Influenza A/H3N2	$1,0 \times 10^2$ CEID ₅₀ /ml	+	-
A/Vitória/361/2011	Influenza A/H3N2	$2,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A>Weiss/43	Influenza A/H1N1	$1,0 \times 10^3$ TCID ₅₀ /ml	+	-
A/Wisconsin/67/05	Influenza A/H3N2	$5,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	+	-
B/Allen/45	Influenza B	$5,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Brisbane/60/2008	Influenza B (linhagem Victoria)	$1,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Florida/04/06	Influenza B (linhagem Yamagata)	$2,0 \times 10^{-3}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Florida/07/04	Influenza B (linhagem Yamagata)	$5,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/GL/1739/54	Influenza B	$2,0 \times 10^0$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/HongKong/5/72	Influenza B	$2,5 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Lee/40	Influenza B	$2,5 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Malásia/2506/04	Influenza B (linhagem Victoria)	$4,0 \times 10^{-3}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Maryland/1/59	Influenza B	$2,0 \times 10^{-2}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Mass/3/66	Influenza B	$1,0 \times 10^1$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Massachusetts/2/2012	Influenza B (linhagem Yamagata)	$5,0 \times 10^{-3}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Nevada/03/2011	Influenza B (linhagem Victoria)	$2,5 \times 10^{-1}$ CEID ₅₀ /ml	-	+

Estirpe do vírus	Tipo/Subtipo	Concentração de teste	Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
B/Taiwan/2/62	Influenza B	$2,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Texas/6/2011	Influenza B (linhagem Yamagata)	$1,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+
B/Wisconsin/1/2010	Influenza B (linhagem Yamagata)	$5,0 \times 10^{-1}$ TCID ₅₀ /ml	-	+

Reatividade cruzada

O estudo de reatividade cruzada avalia a possível reatividade cruzada com microrganismos não Influenza que possam estar presentes em amostras de exsudados nasofaríngeos. Foi avaliada a reatividade cruzada relativamente a um painel composto por ADN genómico humano e 35 microrganismos. As bactérias e a *Candida albicans* foram testadas a uma concentração $\geq 10^6$ CFU/ml. Os vírus foram testados em $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml ou na concentração mais elevada disponível. Não foi observada nenhuma reatividade cruzada do ADN genómico humano ou dos microrganismos às concentrações testadas (Tabela 24).

Tabela 24: Resultados de testes de reatividade cruzada do Influenza A/B

Microrganismo	Concentração de teste	Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
Adenovírus Tipo 1	$9,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Adenovírus Tipo 7	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Citomegalovírus	$4,5 \times 10^4$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Vírus de Epstein Barr	$2,5 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Vírus do herpes simples	$1,4 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Coronavírus humano 229E	$8,0 \times 10^3$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Coronavírus humano OC43	$8,0 \times 10^4$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Enterovírus humano 68	$1,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Metapneumovírus humano	$7,0 \times 10^3$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Parainfluenza humano tipo 1	$3,7 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Parainfluenza humano tipo 2	$7,5 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Parainfluenza humano tipo 3	$4,5 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Rinovírus humano tipo 1A	$8,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Sarampo	$8,0 \times 10^4$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Vírus da parotidite infecciosa	$8,0 \times 10^4$ TCID ₅₀ /ml	-	-
Vírus Varicella-Zoster	$4,4 \times 10^3$ TCID ₅₀ /ml	-	-
<i>Bordetella pertussis</i>	$2,2 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Candida albicans</i>	$4,2 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$8,0 \times 10^4$ TCID ₅₀ /ml	-	-
<i>Corynebacterium sp</i>	$3,6 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Escherichia coli</i>	$1,9 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Haemophilus influenzae</i>	$2,3 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Lactobacillus sp</i>	$1,9 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Legionella pneumophila</i>	$6,7 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Moraxella catarrhalis</i>	$2,5 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	$2,8 \times 10^6$ cópias/ml [†]	-	-
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	$2,9 \times 10^6$ cópias/ml [†]	-	-
<i>Neisseria elongata</i>	$2,0 \times 10^6$ CFU/ml	-	-
<i>Neisseria meningitidis</i>	$2,2 \times 10^6$ CFU/ml	-	-

Microrganismo	Concentração de teste	Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,3×10 ⁶ CFU/ml	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,4×10 ⁶ CFU/ml	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,9×10 ⁶ CFU/ml	-	-
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,8×10 ⁶ CFU/ml	-	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,5×10 ⁶ CFU/ml	-	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,3×10 ⁶ CFU/ml	-	-
ADN genómico humano	1,0×10 ⁴ cópias/ml	-	-

† O teste foi efetuado com ADN genómico, devido a dificuldades na propagação destas bactérias.

Micro-organismos interferentes

O estudo de microrganismos interferentes avalia se microrganismos não Influenza, que podem estar presentes em amostras de exsudados nasofaríngeos, podem interferir na deteção de Influenza A ou de Influenza B. O painel com ADN genómico humano e 35 microrganismos testados no estudo de reatividade cruzada foi testado relativamente a interferência potencial. As bactérias e a *Candida albicans* foram testadas a uma concentração $\geq 10^6$ CFU/ml e os vírus foram testados a uma concentração $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml, ou à concentração mais elevada disponível, na presença de 1 estirpe de Influenza A e 1 estirpe de Influenza B a $\sim 3 \times$ a concentração do limite de deteção (LoD) na matriz de amostra negativa de exsudado nasofaríngeo (NPS) em UTM. Os resultados revelaram que a presença de ADN genómico humano ou de microrganismos às concentrações testadas não interferiu com a deteção de Influenza A ou de Influenza B (Tabela 25).

Tabela 25: Resultados do estudo de microrganismos interferentes com o Influenza A/B

Microrganismo	Concentração de teste	1 estirpe de Influenza A e 1 estirpe de Influenza B a $\sim 3 \times$ LoD	
		Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
Adenovírus Tipo 1	9,0×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Adenovírus Tipo 7	1,4×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Citomegalovírus	4,5×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+	+
Vírus de Epstein Barr	2,5×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Vírus do herpes simples	1,4×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Coronavírus humano 229E	8,0×10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	+
Coronavírus humano OC43	8,0×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+	+
Enterovírus humano 68	1,0×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Metapneumovírus humano	7,0×10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	+
Parainfluenza humano tipo 1	3,7×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Parainfluenza humano tipo 2	7,5×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Parainfluenza humano tipo 3	4,5×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Rinovírus humano tipo 1A	8,0×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+	+
Sarampo	8,0×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+	+
Vírus da parotidite infecciosa	8,0×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+	+
Vírus Varicella-Zoster	4,4×10 ³ TCID ₅₀ /ml	+	+
<i>Bordetella pertussis</i>	2,2×10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Candida albicans</i>	4,2×10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	8,0×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+	+
<i>Corynebacterium sp</i>	3,6×10 ⁶ CFU/ml	+	+

Microrganismo	Concentração de teste	1 estirpe de Influenza A e 1 estirpe de Influenza B a ~3 × LoD	
		Resultado do Inf A	Resultado do Inf B
<i>Escherichia coli</i>	1,9 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	2,3 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Lactobacillus sp</i>	1,9 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Legionella pneumophila</i>	6,7 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2,5 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2,8 × 10 ⁶ cópias/ml [†]	+	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2,9 × 10 ⁶ cópias/ml [†]	+	+
<i>Neisseria elongata</i>	2,0 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Neisseria meningitidis</i>	2,2 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2,3 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,4 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,9 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,8 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,5 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,3 × 10 ⁶ CFU/ml	+	+
ADN genómico humano	1,0 × 10 ⁴ cópias/ml	+	+

[†] O teste foi efetuado com ADN genómico, devido a dificuldades na propagação destas bactérias.

Substâncias interferentes

Foram avaliadas substâncias potencialmente interferentes que podem encontrar-se em amostras respiratórias. As concentrações médica e/ou fisiologicamente relevantes de substâncias potencialmente interferentes foram testadas com 2 estirpes de Influenza A e 2 estirpes de Influenza B a ~3 × LoD. Conforme indicado na Tabela 26, as substâncias às concentrações testadas não interferiram na deteção do Influenza A e do Influenza B.

Tabela 26: Resultados do estudo de substâncias interferentes com o Influenza A/B

Substância potencialmente interferente	Princípio ativo	Concentração
Mucina: glândula submaxilar bovina, tipo I-S	Proteína mucina purificada	5 mg/ml
Sangue	-	5% (v/v)
Spray nasal – Afrin	Oximetazolina	5% (v/v)
Corticosteroides nasais – Veramyst	Fluticasone	5% (v/v)
Gel nasal – Zicam	Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Luffa operculata, Sulphur	5% (v/v)
Pastilhas para a garganta, anestésico e analgésico via oral – Cepacol	Benzocaína, Mentol	5 mg/ml
Antibiótico, pomada nasal – Bactroban	Mupirocina	5 mg/ml
Fármaco antiviral – Relenza	Zanamivir	5 mg/ml
Fármaco antiviral – Tamiflu	Oseltamivir	7,5 mg/ml
Antimicrobiano, sistémico	Tobramicina	4 µg/ml

Estudos clínicos – Influenza A/B

O desempenho clínico do teste foi avaliado em 12 instituições de cuidados de saúde de CLIA Waived. Foram colhidas amostras prospectivas de exsudados nasofaríngeos (NPS) de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória nos EUA durante as épocas de gripe de 2013–2014 e 2014–2015, e foram testadas prospectivamente nos centros do estudo. Além disso, foram obtidas amostras retrospectivas de NPS de 2 laboratórios de referência e foram distribuídas e testadas em 3 dos 12 centros. As amostras retrospectivas foram englobadas no fluxo de trabalho diário destes locais de teste.

Cada amostra de paciente foi testada em relação a Influenza A/B e um teste PCR multiplex de transcriptase reversa em tempo-real (RT-PCR) de base laboratorial aprovado pela FDA (teste comparador). Os resultados para o Influenza A/B foram comparados com os resultados do teste comparador. Foram incluídas na análise de desempenho 1350 amostras prospectivas de exsudados nasofaríngeos (NPS) e 292 amostras retrospectivas de NPS.

Para as amostras prospectivas, foram incluídos 1421 indivíduos neste estudo. Destes, 41 amostras não cumpriam os critérios de elegibilidade. Além disso, foram excluídas 17 e 13 amostras devido a resultados inválidos, respetivamente do Analisador e do teste comparador. Assim, foram incluídas na análise de desempenho 1350 amostras prospectivas de exsudados nasofaríngeos (NPS) (Tabela 27 e Tabela 28). Comparado com o teste comparador, o teste demonstrou uma concordância de positivos de 98,3% e 95,2% para Influenza A e Influenza B, respetivamente, e uma concordância de negativos de 96,0% e 99,4% para Influenza A e Influenza B, respetivamente.

Tabela 27: Desempenho clínico com amostras prospectivas NPS – Influenza A

		Teste comparador				%	IC de 95%
		Positivos	Negativos	Total			
Liat	Positivos	172	47 ^a	219	Concordância de positivos	98,3%	(95,1–99,4%)
	Negativos	3	1128	1131	Concordância de negativos	96,0%	(94,7–97,0%)
	Total	175	1175	1350			

^a 41 amostras positivas pelo cobas® Influenza A/B e negativas por RT-PCR de base laboratorial, foram testadas por PCR/sequenciação. Destas, 18 foram positivas e 23 foram negativas por PCR/sequenciação.

Tabela 28: Desempenho clínico com amostras prospectivas NPS – Influenza B

		Teste comparador				%	IC de 95%
		Positivos	Negativos	Total			
Liat	Positivos	40	8 ^a	48	Concordância de positivos	95,2%	(84,2–98,7%)
	Negativos	2	1300	1302	Concordância de negativos	99,4%	(98,8–99,7%)
	Total	42	1308	1350			

^a 6 amostras positivas pelo cobas® Influenza A/B e negativas por RT-PCR de base laboratorial, foram testadas por PCR/sequenciação. Destas, 5 foram positivas e 1 foi negativa por PCR/sequenciação.

Para estudo retrospectivo, foram testadas 300 amostras em centros clínicos. Destas, 5 amostras do Sistema e 3 do teste comparador foram excluídas devido a resultados inválidos. Assim, foram incluídas na análise de desempenho 292 amostras retrospectivas de exsudados nasofaríngeos (NPS) (Tabela 29 e Tabela 30). Comparado com o teste comparador, foi demonstrada uma concordância de positivos de 98,7% e 99,0% para Influenza A e Influenza B, respetivamente, e uma concordância de negativos de 99,1% e 99,5% para Influenza A e Influenza B, respetivamente.

Tabela 29: Desempenho clínico com amostras retrospectivas NPS – Influenza A

		Teste comparador		
		Positivos	Negativos	Total
Liat	Positivos	76	2 ^a	78
	Negativos	1	213	214
Total		77	215	292

	%	IC de 95%
Concordância de positivos	98,7%	(93,0–99,8%)
Concordância de negativos	99,1%	(96,7–99,7%)

^a 1 amostra positiva pelo cobas® Influenza A/B e negativa por RT-PCR de base laboratorial, foi testada por PCR/sequenciação. Esta amostra foi negativa por PCR/sequenciação.

Tabela 30: Desempenho clínico com amostras retrospectivas NPS – Influenza B

		Teste comparador		
		Positivos	Negativos	Total
Liat	Positivos	97	1	98
	Negativos	1	193	194
Total		98	194	292

	%	IC de 95%
Concordância de positivos	99,0%	(94,4–99,8%)
Concordância de negativos	99,5%	(97,1–99,9%)

Durante o estudo clínico de testes de amostras prospetivas e retrospectivas, a taxa de inválidos inicial do teste foi de 1,8% (29/1656 amostras, IC de 95%: 1,2–2,5%). Destas 29 amostras com resultados inválidos iniciais, 5 amostras tiveram 2 corridas inválidas ou canceladas, 16 amostras tiveram 1 corrida inválida e não foram repetidas devido a indisponibilidade de amostras residuais, e 8 amostras tiveram uma corrida inválida inicial e um teste repetido de acordo com as instruções de utilização do produto produziu um resultado válido.

A seguir à adição de alvos do teste SARS-CoV-2, foi realizado um estudo utilizando amostras clínicas retrospectivas armazenadas, para demonstrar que a sensibilidade e inclusividade dos alvos do influenza A e B existentes não foram alterados. Para este estudo, foram testadas 11 amostras de exsudados nasofaríngeos de pacientes com infeção por influenza A (n = 5) ou influenza B (n = 6) confirmada, em paralelo com ambos os cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B e cobas® Influenza A/B & RSV. O painel do vírus da gripe humana CDC 2019, incluindo duas estripes adicionais do influenza A (estripe H1N1 Brisbane/02/2018 e estripe H3N2 Perth/16/2009) e duas estripes do influenza B (Victoria lineage Colorado/06/2017 e Yamagata lineage Phuket/3073/2013), foi também testado neste estudo. Os intervalos de Ct da amostra incluídos no estudo variaram entre 17,3 e 36,0. Concordância de ambos os scripts de teste com resultados esperados como 100% (15/15).

Códigos de falha

O relatório de resultados poderá conter códigos de falhas conforme descrito na Tabela 31, consoante as potenciais falhas da corrida. Em caso de dúvidas, entre em contacto com o representante da Assistência da Roche.

Tabela 31: Códigos de falhas e definições

Resumo de códigos de falhas			
Códigos de falha	Amostra	Controlo negativo	Controlo positivo
g0*	CIP fora do intervalo. Repita a corrida.	CIP fora do intervalo. Repita a corrida.	CIP fora do intervalo. Repita a corrida.
g1			
g2			
g3			
g4			
x4	Um ou mais alvos fora do intervalo. Repita a corrida.	N/A	N/A
FP	N/A	Um ou mais alvos fora do intervalo. Repita a corrida.	N/A
b1	N/A	N/A	Alvo fora do intervalo. Repita a corrida.
b2			
b4			
a1	N/A	N/A	Alvo fora do intervalo. Repita a corrida.
a2			
a4			
r1	N/A	N/A	Alvo fora do intervalo. Repita a corrida.
r2			
r3			
r4			

Nota: * O código de falha g0 não aparece para Controlo Positivo.

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Amostras de exsudados nasais e nasofaríngeos colhidas no Copan UTM System ou no BD™ UVT System ou Thermo Fisher™ Remel (M4®, M4RT®, M5®, M6®) e soro fisiológico a 0,9%.
Quantidade de amostra mínima necessária	Aproximadamente 0,2 ml
Duração do teste	Os resultados ficam disponíveis no prazo de aproximadamente 20 minutos após o carregamento da amostra no equipamento.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 32: Símbolos utilizados em rótulos de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Age/DOB Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes	 QS IU/PCR UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 SW Software auxiliar	 Dispositivo não para autotestes	 SN Número de série
 Assigned Range [copies/mL] Intervalo atribuído (cópias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 Site Centro
 Assigned Range [IU/mL] Intervalo atribuído (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedure Standard Procedimento padrão
 EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 STERILE EO Esterilizado com óxido de etileno
 BARCODE Folha de dados de códigos de barras	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Armazenar no escuro
 LOT Número do lote	 GTIN Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Risco biológico	 Importador	 TDF Ficheiro de definição de teste
 REF Referência de catálogo	 IVD Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado para cima
 Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedure UltraSensitive Procedimento ultrasensível
 Collect Date Data da colheita	 Homem	 UDI Identificação exclusiva do equipamento
 Consulte as instruções de utilização	 Fabricante	 ULR Limite superior do intervalo atribuído
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 CONTROL - Controlo negativo	 Urine Fill Line Linha de enchimento da urina
 CONTENT Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Rx Only Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.
 CONTROL Controlo	 Nome do paciente	 Prazo de validade
 Data do fabrico	 Número do paciente	
 Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes	 Abra aqui	
 Dispositivo para autotestes	 CONTROL + Controlo positivo	
 QS copies / PCR Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.		

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabela 33: Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabricado nos EUA

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

Consultar <http://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Direitos de autor

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Wolfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581:465-9. PMID: 32235945.
2. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020;395:507-13. PMID: 32007143.
3. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382:727-33. PMID: 31978945.
4. World Health Organization. WHO Director General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March, 2020. <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Situation Summary. Updated April 19, 2020. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/summary.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fsummary.html.
6. Faust JS, Del Rio C. Assessment of Deaths From COVID-19 and From Seasonal Influenza. *JAMA Intern Med*. 2020. PMID: 32407441.
7. Munster VJ, Koopmans M, van Doremalen N, van Riel D, de Wit E. A Novel Coronavirus Emerging in China - Key Questions for Impact Assessment. *N Engl J Med*. 2020;382:692-4. PMID: 31978293.
8. Ding Q, Lu P, Fan Y, Xia Y, Liu M. The clinical characteristics of pneumonia patients coinfecting with 2019 novel coronavirus and influenza virus in Wuhan, China. *J Med Virol*. 2020. PMID: 32196707.
9. Liang WH, Guan WJ, Li CC, et al. Clinical characteristics and outcomes of hospitalised patients with COVID-19 treated in Hubei (epicentre) and outside Hubei (non-epicentre): a nationwide analysis of China. *Eur Respir J*. 2020;55. PMID: 32269086.
10. Basile K, Kok J, Dwyer DE. Point-of-care diagnostics for respiratory viral infections. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018;18:75-83. PMID: 29251007.
11. Uyeki TM. Influenza. *Ann Intern Med*. 2017;167:ITC33-ITC48. PMID: 28869984.
12. Caliendo AM, Gilbert DN, Ginocchio CC, et al. Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. *Clin Infect Dis*. 2013;57 Suppl 3:S139-70. PMID: 24200831.
13. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Updated May 5, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>.

16. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Updated on May 11, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
17. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19): Interim Guidance. May 13, 2020. [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 3.0 04/2022	<p>Adicionada a secção Avaliação de desempenho clínico com amostras clínicas prospectivas e clarificadas as amostras utilizadas para a avaliação clínica com amostras retrospectivas.</p> <p>Removida a referência à versão de software 3.2.</p> <p>Atualizado o rodapé da tabela 12 para refletir o método de alinhamento utilizado.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Atualização para os atuais Operadores Económicos.</p> <p>Atualizada a secção Marcas comerciais e patentes.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 4.0 11/2022	<p>As pipetas de transferência incluídas no cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B Kit foram atualizadas para as embalagens de pipetas de transferência cobas® (P/N 09329676001).</p> <p>Adicionada indicação do local de fabrico.</p> <p>Secção Marcas comerciais e patentes atualizada, incluindo o link.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>