



Rx Only

cobas[®] Zika

Para diagnóstico *in vitro*



cobas[®] Zika – 480	P/N: 09040676190
cobas[®] Zika Control Kit	P/N: 09040684190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	7
Reagentes e controlos do cobas® Zika	7
Reagentes cobas omni para preparação da amostra	10
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes	11
Materiais adicionais necessários.....	12
Equipamentos e software necessários.....	12
Precauções e requisitos de manuseamento	13
Advertências e precauções	13
Manuseamento de reagentes.....	14
Boas práticas de laboratório.....	14
Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras.....	15
Amostras de dadores vivos.....	15
Instruções de utilização	17
Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional)	17
Notas do procedimento	17
Execução do cobas® Zika	17
Resultados	18
Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	18
Interpretação dos resultados.....	18
Repetição de testes de amostras individuais	19
Limitações do procedimento	19
Avaliação do desempenho não clínico	20
Características principais de desempenho – amostras de dadores vivos.....	20
Limite de deteção (LoD)	20
Especificidade analítica	21
Deteção do vírus Zika ao LoD em amostras clínicas	23
Correlação.....	23
Falha global do sistema	24

Avaliação do desempenho clínico	25
Reprodutibilidade.....	25
Especificidade clínica.....	26
Avaliação de sensibilidade do cobas® Zika	26
Avaliação do rendimento e VPP do cobas® Zika num surto de Zika.....	27
Informações adicionais	28
Características principais do teste.....	28
Símbolos	29
Apoio técnico.....	30
Fabricante e importador.....	30
Marcas comerciais e patentes	30
Direitos de autor.....	30
Bibliografia	31
Revisão do documento	33

Utilização prevista

O teste cobas® Zika para utilização nos cobas® 6800 e cobas® 8800 Systems é um teste qualitativo de rastreio de ácidos nucleicos *in vitro* para a deteção direta do ARN do vírus Zika em plasma humano.

Este teste destina-se a ser utilizado como um teste de rastreio de amostras de dadores para a deteção de ARN do vírus Zika em amostras de plasma de dadores humanos, incluindo dadores de sangue total e componentes sanguíneos, e outros dadores vivos. Este teste destina-se também a ser utilizado para rastreio de dadores de órgãos e tecidos, quando as amostras de dador são obtidas enquanto o coração do dador ainda bate.

O plasma de todos os dadores pode ser rastreado como amostras individuais. Para dádivas de sangue total e componentes sanguíneos, as amostras de plasma podem ser testadas individualmente ou em pools constituídas por amostras individuais.

O teste não se destina a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico do vírus Zika.

Este teste não se destina a ser utilizado em amostras de sangue do cordão umbilical.

Este teste não se destina a ser utilizado em amostras cadavéricas de sangue.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

O vírus Zika é um arbovírus ARN envelopado, icosaédrico, de cadeia simples, que pertence à família *Flaviviridae* do género flavivírus. A família *Flaviviridae* inclui o vírus do Nilo Ocidental (WNV), vírus da dengue, vírus da febre amarela e cerca de 70 outros vírus.¹⁻⁴ O Zika parece estar estreitamente relacionado com o vírus Spondweni, que foi identificado na África do Sul.^{1,5}

O vírus Zika foi isolado pela primeira vez em 1947 de um macaco rhesus na floresta Zika do Uganda e foi subsequentemente identificado num mosquito *Aedes africanus* capturado nessa floresta.¹ Os primeiros três casos humanos foram relatados durante uma epidemia de icterícia no Leste da Nigéria, em 1954.¹ O vírus Zika foi identificado em vários países de África, Ásia, Oceano Pacífico e América do Sul.¹ Estudos genéticos revelaram que o vírus Zika evoluiu para três genótipos distintos: da África Ocidental, da África Oriental e da Ásia.⁶ Um grande surto no Brasil começou em maio de 2015, com estimativa de 440 000-1 300 000 casos identificados até o final de 2015.⁷ No início de janeiro de 2016, foram registados casos de vírus Zika autóctone em mais de 20 países e territórios do Caribe (incluindo Porto Rico, Guatemala e Ilhas Virgens Americanas), América Central e América do Sul.⁷ As amostras do surto de 2016 em Porto Rico e na Guatemala foram estirpes estreitamente relacionadas, isoladas do Brasil em 2015, todas dentro do genótipo asiático do vírus.⁶

O vírus Zika é transmitido aos humanos pela espécie de mosquito *Aedes*.¹ A *Aedes albopictus* foi descrita como um vetor potencial de Zika em 2007.^{5,7-10} O vírus Zika pode ser transmitido por transfusão.^{1,10-15} O Zika foi detetado em sêmen¹⁶ e foi relatado como sendo transmitido através de relações sexuais.¹⁶⁻²⁰ O Zika também pode ser transmitida por uma mulher grávida ao seu feto,²¹⁻²³ por uma mãe ao seu recém-nascido à nascença,^{1,23} e por exposição laboratorial.⁷

A transmissão através de transplante de órgãos e tecidos não foi documentada, mas é teoricamente possível.⁷ Foi detetado ARN do vírus Zika em leite materno, mas a transmissão através da amamentação não foi documentada.^{7,23}

Existem dados limitados sobre a prevalência do vírus Zika em dadores de sangue.¹ As análises moleculares realizadas durante o surto na Polinésia Francesa em 2013 são a principal fonte de dados.^{1,10} O risco de pessoas assintomáticas

doarem sangue suscita preocupação quanto à transmissão relacionada com a transfusão e isso ficou demonstrado no surto da Polinésia Francesa. Aí, 42 de 1505 (2,8%) doadores de sangue assintomáticos deram positivo por reação de polimerização em cadeia de transcrição reversa (RT-PCR) para Zika.^{1,10} Apenas 11 das 42 pessoas infetadas com Zika relataram “Síndrome de febre tipo a de Zika” 3 a 10 dias após terem doado sangue.^{1,18}

O Zika é assintomático na maioria (estimado em 80%) dos casos.^{1,7,11,17} Quando é sintomático, o vírus Zika geralmente apresenta sinais e sintomas não específicos, como febre moderada, artralgia (pequenas articulações das mãos e pés), mialgia, dores de cabeça, dor retro-orbital, conjuntivite, dor abdominal e erupção cutânea maculopapular, frequentemente pruriginosa; também podem estar presentes edema e linfadenopatia.^{1,5} Uma ligação causal entre o Zika e a ocorrência de outros sintomas neurológicos graves, incluindo a síndrome de Guillain-Barré, ainda está sob investigação.^{5,15,23} A infecção com o Zika a qualquer momento durante a gravidez parece estar associada a desfechos adversos na gravidez, incluindo malformações congénitas, restrição de crescimento intrauterino e morte fetal.²⁴

Os sintomas surgem geralmente alguns dias após a picada de um mosquito infetado e duram, normalmente, entre 3 e 12 dias.^{5,14} O tratamento é geralmente paliativo, incluindo repouso, fluidos, acetaminofeno e anti-histamínicos.⁵ O Zika é de difícil distinção clínica de outros arbovírus, incluindo a febre de dengue, o chikungunya e o WNV.¹

Foram desenvolvidos testes serológicos (ensaio de imunoabsorção enzimática [ELISA] ou imunofluorescência) para o vírus Zika.¹ A reatividade cruzada com outros flavivírus, incluindo o de dengue ou a febre amarela, limita a utilidade de um teste de diagnóstico de anticorpos do IgM.¹ Além disso, os anticorpos podem não estar presentes na fase inicial da infecção, o que reduz ainda mais a adequação de um teste serológico para infecção aguda.⁵ O diagnóstico da infecção aguda pelo vírus Zika baseia-se principalmente na deteção do ARN viral de amostras por RT-PCR. O período vírico não foi estabelecido, mas crê-se que seja curto, com deteção direta do vírus nos primeiros 3 a 5 dias após o aparecimento dos sintomas.^{1,25,26} Num estudo, as concentrações do ARN viral estavam, aproximadamente, entre 900 e 729 000 cópias/ml.²⁵ Foi relatada uma viremia com o valor mais elevado de $8,1 \times 10^6$.¹⁴ A maioria das amostras positivas de Zika foram colhidas três dias ou menos após o aparecimento dos sintomas, embora uma amostra colhida no dia 11 após o aparecimento dos sintomas tivesse um título estimado de 339 000 cópias/ml.²⁵ Não existe atualmente uma vacina para o Zika.⁵

Fundamentos dos testes NAT

O vírus Zika pode transmitir-se por transfusão.^{1,10-15} Grande parte (cerca de 80%) das infeções de Zika são assintomáticas, pelo que os indivíduos infetados podem doar sangue.^{1,7,11,17} Uma vez que os doadores infetados podem não desenvolver uma doença relevante em termos clínicos ou podem permanecer assintomáticos, questionar os doadores de sangue sobre sintomas recentes que sugeriram uma infecção Zika não é eficaz na identificação de doadores infetados.

Tal como outras doenças infecciosas em que as dádivas de sangue são rastreadas, as dádivas de sangue têm de ser rastreadas com um teste sensível para detetar o ARN do Zika, de modo a que as unidades infetadas possam ser interditas e eliminadas. O teste **cobas**® Zika irá proporcionar uma nova capacidade para detetar o Zika ARN e, conseqüentemente, proporcionar uma proteção aumentada contra a infecção do Zika transmitida por transfusão para receptores de componentes ou produtos sanguíneos doados e continuará a melhorar ainda mais a segurança do abastecimento de sangue.

Explicação do teste

O **cobas**® Zika é um teste qualitativo que é executado no **cobas**® 6800 System e no **cobas**® 8800 System. O **cobas**® Zika permite a deteção simultânea de ARN do vírus Zika e do controlo interno num único teste de uma dádiva individual infetada ou um pool de plasma de dádivas individuais.

Princípios do procedimento

O **cobas**® Zika baseia-se na preparação de amostras totalmente automática (extração e purificação dos ácidos nucleicos) seguida de amplificação por PCR e detecção. Os **cobas**® 6800/8800 Systems são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é executada pelo software **cobas**® 6800/8800, que atribui resultados de teste a todos os testes, na forma de não reativos, reativos ou inválidos. Os resultados podem ser examinados diretamente no ecrã do sistema ou impressos num relatório.

As amostras devem ser testadas como amostras individuais ou, opcionalmente, podem ser testadas em pools constituídas por várias amostras. Caso se execute pooling, o software **cobas**® Synergy com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD poderão ser utilizados opcionalmente num passo pré-analítico.

Os ácidos nucleicos da amostra e as moléculas de Armored RNA do Controlo Interno (IC) adicionadas (que servem como controlo do processo de preparação da amostra e de amplificação/detecção) são extraídos simultaneamente. Adicionalmente, o teste utiliza dois controlos externos: um controlo positivo e um controlo negativo. Os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas magnéticas de vidro adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR (como a hemoglobina), são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem, e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva do ácido nucleico alvo da amostra de dador é conseguida através da utilização de primers diretos e reversos específicos do vírus que são selecionados de regiões altamente conservadas do ácido nucleico viral. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a transcrição reversa e para a amplificação. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicon).²⁷⁻²⁹ Quaisquer amplicons contaminantes de corridas de PCR anteriores são destruídos pela enzima AmpErase [uracil-N-glicosilase], que é incluída na mistura principal da PCR, quando aquecidos durante o primeiro passo do ciclo térmico. No entanto, os amplicons acabados de formar não são destruídos, uma vez que a enzima AmpErase fica inativada quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® Zika contém sondas de detecção específicas para o ácido nucleico do vírus Zika e do IC. As sondas de detecção específicas do vírus Zika e do IC estão marcadas com um de dois corantes fluorescentes únicos, que atua como um sinalizador. Cada sonda tem também um segundo corante, que atua como um supressor. Os dois corantes sinalizadores são medidos em comprimentos de onda definidos, permitindo assim a detecção e discriminação do alvo amplificado do vírus Zika e do IC.^{30,31} Quando não ligado à sequência alvo, o sinal fluorescente das sondas intactas é suprimido pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização das sondas para o alvo específico de cadeia simples de ADN resulta na clivagem, pela atividade nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Com cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas, aumentando concomitantemente o sinal cumulativo do corante sinalizador. Uma vez que os dois corantes sinalizadores específicos são medidos a comprimentos de onda definidos, é possível a detecção e discriminação simultânea do alvo amplificado do Zika e o IC.

Reagentes e materiais

Reagentes e controlos do cobas® Zika

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

Tabela 1 cobas® Zika

cobas® Zika

Conservar entre 2 e 8 °C

Cassete de 480 testes (P/N 09040676190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit 480 testes
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase, glicerol EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina do <i>Bacillus subtilis</i> . Pode desencadear uma reação alérgica.	38 ml
Controlo Interno (IC)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de estrutura de Armored ARN de Controlo Interno (ARN não infeccioso encapsulado em bacteriófagos MS2), < 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida de sódio	38 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	38 ml
Reagente 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida de sódio	14,5 ml
Reagente Master Mix 2 de Zika (ZIKA MMX-R2)	Tampão de tricina, acetato de potássio, glicerol, 18% de sulfóxido de dimetilo, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,14% de dATP, dGTP, dCTP, dUTP, < 0,01% de primers ascendente e descendente do ZIKA, < 0,01% de primers senso e antissenso de controlo interno, < 0,01% de sondas com marcação fluorescente de ZIKA e controlo interno, < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida sódica	17,5 ml

Tabela 2 cobas® Zika Control Kit**cobas® Zika Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

(P/N 09040684190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo Positivo do Zika (Zika (+) C)	< 0,001% de ARN do Zika sintético (protegido) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, ARN do Zika não detetável por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ADVERTÊNCIA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.</p> <p>P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.</p> <p>P273: Evitar a libertação para o ambiente.</p> <p>P280: Usar luvas de proteção.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.</p> <p>P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).</p>

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

** Substância perigosa

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

(P/N 09051554190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo negativo de plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, ARN do Zika não detetável por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ADVERTÊNCIA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>P261: Evitar respirar as névoas ou vapores.</p> <p>P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.</p> <p>P280: Usar luvas de proteção.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.</p> <p>P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).</p>

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

** Substância perigosa

Reagentes cobas omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagentes **cobas omni** para preparação da amostra*

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	480 testes	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	4 x 875 ml	Não aplicável
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5% (p/v) de polidocanol***, 2% (p/v) de ditiotreitol***, citrato de sódio dihidratado	4 x 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 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. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

* Estes reagentes não estão incluídos no kit do teste **cobas® Zika**. Consulte a lista dos materiais adicionais necessários (Tabela 7).

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

*** Substância perigosa

Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5 e Tabela 6.

Quando os reagentes não estiverem nos cobas® 6800/8800 Systems, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

Tabela 5 Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® Zika - 480	2 a 8 °C
cobas® Zika Control Kit	2 a 8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas omni MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas omni Wash Reagent	15 a 30 °C

Os reagentes carregados nos cobas® 6800/8800 Systems são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema apenas permite que os reagentes sejam usados, se as condições indicadas na Tabela 6 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A Tabela 6 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes impostas pelos cobas® 6800/8800 Systems.

Tabela 6 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Prazo de validade do kit	Estabilidade do kit aberto	Número de corridas para as quais este kit pode ser usado	Estabilidade a bordo do equipamento (tempo acumulado a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas® Zika - 480	Prazo não ultrapassado	30 dias desde a primeira utilização	Máx. 20 corridas	Máx. 20 horas
cobas® Zika Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável ^a	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável ^a	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni MGP Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Wash Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável

^a Reagentes de utilização única

* O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado nos cobas® 6800/8800 Systems.

Materiais adicionais necessários

Tabela 7 Material e consumíveis para utilizar nos **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Tubos secundários 13 × 75 cobas omni (opcional)	06438776001
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou Saco de resíduos sólidos com suporte de cartão e kit de upgrade de gaveta	07435967001 e 07094361001 ou 08030073001 e 08387281001
Saco de resíduos sólidos com suporte de cartão (conjunto de 20)	08030073001
Reservatório de resíduos sólidos	07094361001

Equipamentos e software necessários

O software **cobas®** 6800/8800 e o pacote de análise **cobas®** Zika deverão estar instalados no(s) equipamento(s).

O servidor IG (Instrument Gateway) será fornecido com o sistema. O software **cobas®** Synergy pode ser instalado, se aplicável.

Tabela 8 Equipamentos

Equipamento	P/N
cobas® 6800 System (opção móvel)	06379672001
cobas® 6800 System (fixo)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de abastecimento de amostras	06301037001
Opção para pipetagem e pooling	P/N
Licença eletrónica do software cobas® Synergy (para cobas® 6800/8800 Systems)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Para informações adicionais, consulte a Assistência ao utilizador dos **cobas®** 6800/8800 Systems. Para mais informações sobre os tubos primários e secundários aceites nos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas®** Synergy.

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks para pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

09355936001-01PT

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste teste. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Todas as amostras deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.^{32, 33} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico, na utilização do **cobas® Zika** e dos **cobas® 6800/8800 Systems** e **Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD** com o software **cobas® Synergy**, se aplicável.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,6% em água destilada ou desionizada ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas® Zika Control Kit** e o **cobas® NHP Negative Control Kit** contêm plasma derivado do sangue humano. Os testes de plasma humano normal por métodos de PCR não apresentaram qualquer ARN do Zika detetável. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- Não congele sangue total.
- Recomenda-se a utilização de pipetas esterilizadas descartáveis e de pontas de pipetagem isentas de nucleases. Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- A disrupção das várias camadas célula-plasma ou a difusão do material após a centrifugação pode originar taxas de invalidade mais elevadas.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de derrame, não utilize esse material para testes.
- O **cobas omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- Os kits **cobas**® Zika, o **cobas omni** MGP Reagent e o **cobas omni** Specimen Diluent contém azida sódica como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas omni** Lysis Reagent, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de sódio (lixívia). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de kits **cobas**® Zika e reagentes **cobas omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos. Mude de luvas, caso fiquem contaminadas com amostra, controlo ou reagentes.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,6% em água desionizada ou destilada. Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas**® 6800/8800, siga as instruções indicadas na Assistência ao Utilizador e/ou do Guia do utilizador do **cobas**® 6800/8800 Systems para limpar e descontaminar adequadamente a superfície do(s) equipamento(s).

Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras

Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.

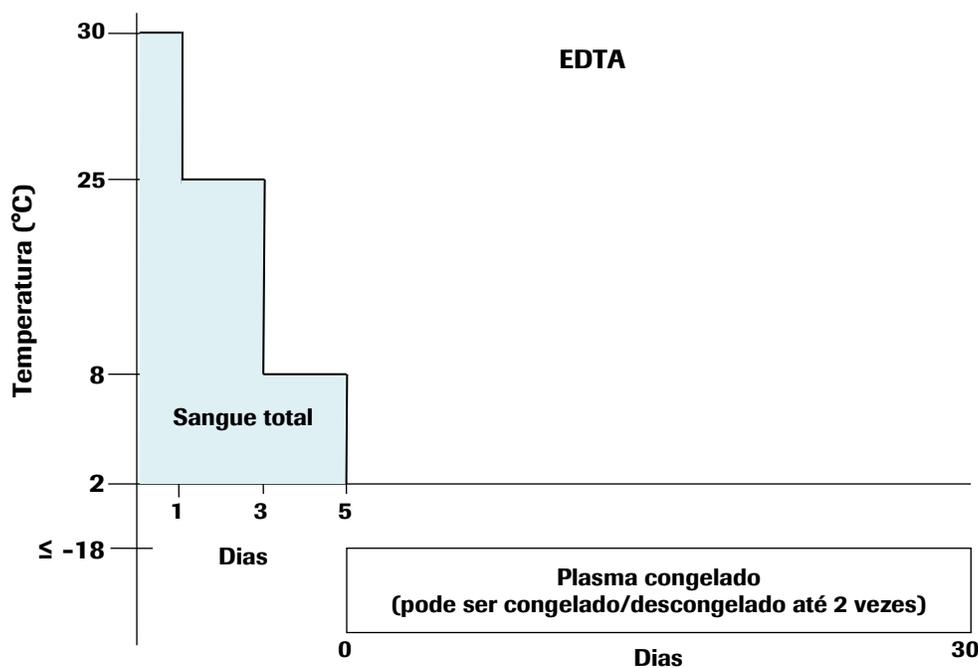
Armazene todas as amostras de dadores às temperaturas especificadas.

A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Amostras de dadores vivos

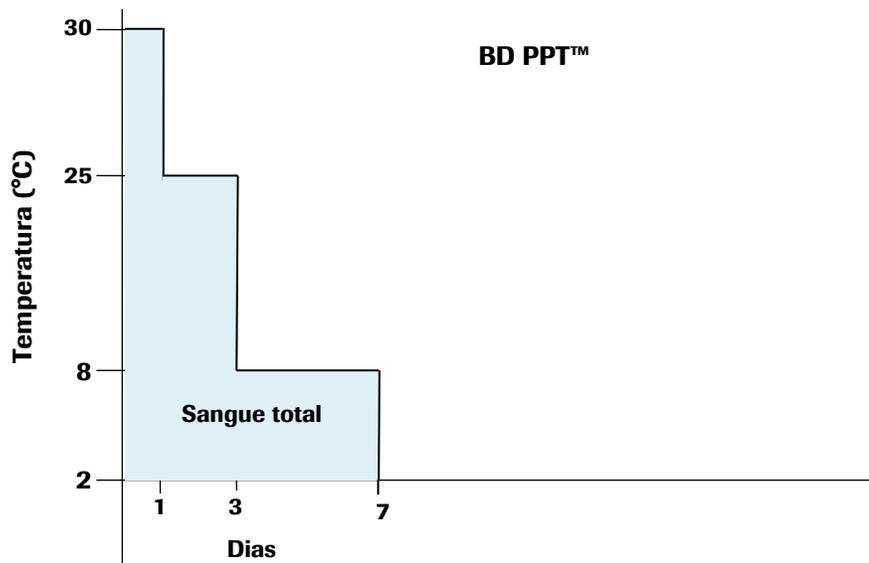
- Os tubos de plasma colhido com anticoagulante EDTA e tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) poderão ser usados com o cobas® Zika. Para o manuseamento e a centrifugação, siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra/sacos de colheita de amostras.
- O sangue colhido com anticoagulante EDTA pode ser armazenado durante um máximo de 5 dias nas seguintes condições:
 - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
 - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
- Além do indicado acima, as amostras são armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 30 dias a temperaturas ≤ -18 °C com dois ciclos de congelação/descongelação. Consulte a Figura 1.

Figura 1 Condições de armazenamento das amostras de dadores vivos colhidas com anticoagulante EDTA



- O sangue colhido com tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) pode ser armazenado até 7 dias nas seguintes condições:
 - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
 - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
- Além do indicado acima, as amostras são armazenadas a 2-8 °C. Consulte a Figura 2.

Figura 2 Condições de armazenamento das amostras de dadores vivos colhidas em BD PPT™



- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

Instruções de utilização

Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional)

O software **cobas® Synergy** com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD pode ser utilizado como um componente opcional dos **cobas® 6800/8800 Systems** para pipetagem e pooling automatizados de alíquotas de várias amostras primárias para uma amostra em pool. Para mais informações, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas® Synergy**.

Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do **cobas® Zika**, do **cobas® Zika Control Kit**, do **cobas® NHP Negative Control Kit** ou do **cobas omni** depois de expirados os respetivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Consulte a Assistência ao utilizador dos **cobas® 6800/8800 Systems** ou a Assistência ao utilizador do software **cobas® Synergy** para mais informações relativas aos procedimentos opcionais de pooling ou a manutenção adequada dos equipamentos, conforme aplicável.

Execução do **cobas® Zika**

O procedimento de teste está descrito ao pormenor na Assistência ao utilizador dos **cobas® 6800/8800 Systems** ou consulte a Assistência ao Utilizador do software **cobas® Synergy** para obter mais informações relativas aos procedimentos opcionais de pooling, conforme aplicável.

A Figura 3 a seguir resume o procedimento.

Figura 3 Procedimento do **cobas® Zika**

1	Pipetagem e pooling
2	Criar pedido
3	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Reabastecer reagente de lavagem, reagente de lise e diluente • Reabastecer placas de processamento e placas de amplificação • Reabastecer partículas de vidro magnéticas • Reabastecer reagentes específicos do teste • Reabastecer cassetes de controlo • Reabastecer racks de pontas • Substituir rack de pontas obstruídas
4	Iniciar corrida: <ul style="list-style-type: none"> • Carregar racks com amostras • Escolha o botão Start da interface
5	Rever e exportar os resultados
6	Descarregar consumíveis: <ul style="list-style-type: none"> • Retirar placas de amplificação do módulo analítico • Descarregar cassetes de controlo vazias • Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos • Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos

Resultados

Os **cobas**® 6800/8800 Systems detetam automaticamente o ARN do Zika das amostras e dos controlos simultaneamente.

Controlo de qualidade e validade dos resultados

- Um controlo negativo [(-) C] e um controlo positivo [ZIKA (+) C] são processados com cada batch.
- No software **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios, verifique os alarmes e os resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- O batch é válido se não aparecer nenhum alarme para ambos os controlos.

A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo software **cobas**® 6800/8800, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

Alarmes de controlos

Tabela 9 Alarmes de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Alarme	Resultado	Interpretação
(-) C	Q02	Invalid	Se o resultado do (-) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.
Controlo positivo	Alarme	Resultado	Interpretação
ZIKA (+) C	Q02	Invalid	Se o resultado do ZIKA (+) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.

Se o batch for inválido, repita os testes de todo o batch, incluindo todas as amostras e controlos.

Interpretação dos resultados

Para um batch válido, verifique cada uma das amostras individuais relativamente a alarmes no software **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido poderá incluir resultados de amostras válidos e inválidos consoante os alarmes obtidos individualmente nas amostras.
- Os resultados de amostras são válidos apenas se o respetivo controlo positivo e controlo negativo do batch correspondente forem válidos.

São detetados simultaneamente dois parâmetros para cada amostra: ZIKA e o Controlo Interno. Os resultados de amostra finais do teste **cobas**® Zika são indicados pelo software. Para além dos resultados gerais, será apresentado no software **cobas**® 6800/8800 o resultado alvo individual, que deverá ser interpretado da seguinte maneira:

Tabela 10 Interpretação dos resultados de amostras

Resultados alvo	Interpretação
ZIKA Non-Reactive	Nenhum sinal do alvo detetado para o ZIKA e sinal do IC detetado.
ZIKA Reactive	Sinal do alvo detetado para o ZIKA e sinal do IC poderá ter sido ou não detetado.
Invalid	Sinal do alvo e sinal do controlo interno (IC) não detetados.

Se utilizar o software **cobas**® Synergy, a revisão do cálculo do resultado final deverá ser feita através do software **cobas**® Synergy.

Repetição de testes de amostras individuais

Os tubos de amostra com um resultado final inválido para o alvo necessitam de repetição do teste.

Limitações do procedimento

- O **cobas**® Zika foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas**® Zika Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent e **cobas omni** Wash Reagent para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Não utilize plasma heparinizado com este teste, porque foi verificado que a heparina inibe a PCR.
- A deteção do ARN do Zika depende do número de partículas virais presentes na amostra e pode ser afetada pelos métodos de colheita de amostra, armazenamento e manuseamento, por fatores inerentes ao próprio doente (por ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou o estadio da infeção e o tamanho da pool.
- O teste **cobas**® Zika foi concebido para detetar o ARN do Zika em amostras de plasma, e o ARN do Zika pode persistir em determinados órgãos e tecidos, bem como em outros fluídos corporais, durante mais tempo do que o detetável em plasma.
- Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas do genoma viral abrangidas pelo **cobas**® Zika, podem afetar a ligação de primers e/ou sonda e resultar na não deteção da presença do vírus.
- 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. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos específicos.

Avaliação do desempenho não clínico

Características principais de desempenho – amostras de dadores vivos

Limite de detecção (LoD)

Padrão Secundário da Roche

O limite de detecção (LoD) do cobas® Zika foi determinado utilizando o padrão secundário ZIKV da Roche.

O padrão secundário ZIKV da Roche é um sobrenadante de culturas de vírus inativado por calor (estirpe MR766) e o título é calculado com base no fator de diluição do stock. O título armazenado foi fornecido pelo vendedor (BNI, Bernhard Nocht Institute, Hamburgo, Alemanha), e foi atribuído através de uma diluição em série do transcrito do ARN do ZIKV, cuja concentração foi determinada por absorbância fotométrica.

Para o padrão secundário ZIKV da Roche, foram preparadas, de forma independente, com plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (Zika), 3 séries de diluições do padrão viral. Cada série de diluições foi testada utilizando dois lotes diferentes de kits de teste cobas® Zika, com aproximadamente 95 réplicas por lote, num total de cerca de 190 réplicas por concentração. Para o vírus Zika, foi utilizada a análise PROBIT 95% (Tabela 11) e a análise PROBIT 50% (Tabela 12) nos dados combinados de todas as séries de diluições e todos os lotes de reagentes, para calcular o LoD, juntamente com os limites inferior e superior do intervalo de confiança de 95%. As taxas de reatividade observadas nos estudos do LoD para Zika estão resumidas na Tabela 13.

Tabela 11 Resultados da análise PROBIT 95% sobre dados de LoD obtidos com padrões virais em plasma EDTA

Analito	Unidade de medida	LoD	Limite inferior do intervalo de confiança de 95%	Limite superior do intervalo de confiança de 95%
Zika	cp/ml	8,1	6,1	13,6
Zika	UI/ml*	16,2	12,1	27,1

* Na altura em que este estudo foi realizado, o padrão da OMS não estava disponível. Assim que houve disponibilidade, o padrão secundário da Roche foi titulado para o padrão da OMS e o fator de conversão foi determinado a ~2 UI/cp.

Tabela 12 Resultados da análise PROBIT 50% sobre dados de LoD obtidos com padrões virais em plasma EDTA

Analito	Unidade de medida	LoD	Limite inferior do intervalo de confiança de 95%	Limite superior do intervalo de confiança de 95%
Zika	cp/ml	2,2	1,5	2,8
Zika	UI/ml*	4,4	2,9	5,6

* Na altura em que este estudo foi realizado, o padrão da OMS não estava disponível. Assim que houve disponibilidade, o padrão secundário da Roche foi titulado para o padrão da OMS e o fator de conversão foi determinado a ~2 UI/cp.

Tabela 13 Resumo das taxas de reatividade para o Zika em plasma EDTA

Concentração de ARN do Zika (cp/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
16,0	190	190	100,0%	98,4%
12,0	188	190	98,9%	96,7%
8,0	180	189	95,2%	91,8%
4,0	135	189	71,4%	65,5%
2,0	94	190	49,5%	43,3%

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas® Zika** foi avaliada relativamente a reatividade cruzada com 12 microrganismos a 10^5 - 10^6 partículas, cópias ou PFU/ml, que incluía 11 isolados virais e 1 estirpe bacteriana (Tabela 14). Os microrganismos foram adicionados a plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (Zika), e analisados com e sem o vírus Zika adicionado a uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do **cobas® Zika**. Os microrganismos testados não apresentaram reação cruzada nem interferiram com o **cobas® Zika**.

Tabela 14 Microrganismos testados relativamente a especificidade analítica

Vírus	Bactérias
Vírus chikungunya	<i>Treponema pallidum</i>
Vírus do dengue Serótipo 1	-
Vírus do dengue Serótipo 2	-
Vírus do dengue Serótipo 3	-
Vírus do dengue Serótipo 4	-
Vírus da encefalite japonesa	-
Vírus da encefalite de Murray Valley	-
Vírus da encefalite de São Luís	-
Vírus Usutu	-
Vírus do Nilo Ocidental	-
Vírus da febre amarela	-

Amostras de plasma de cada um dos estados de doença (Tabela 15) foram testadas com e sem vírus Zika, adicionadas a uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do **cobas® Zika**. Estes estados de doença não apresentaram reação cruzada nem interferiram com o **cobas® Zika**.

Tabela 15 Amostras de estados de doença testadas relativamente a especificidade analítica

Agentes causadores de doença
Vírus da imunodeficiência humana
Vírus da hepatite B
Vírus da hepatite C

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Substâncias com interferência endógena

Amostras de plasma com níveis anormalmente elevados de triglicéridos (até 33,2 g/l), hemoglobina (até 2,9 g/l), bilirrubina não conjugada (até 0,28 g/l), albumina (até 61,4 g/l) ou ADN humano (até 0,002 g/l) foram analisadas com e sem vírus Zika, adicionados a uma concentração de $3 \times \text{LoD}$ do cobas® Zika. Amostras contendo estas substâncias endógenas não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do cobas® Zika.

Substâncias com interferência exógena

Foram testadas amostras de plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (Zika) contendo concentrações anormalmente altas de fármacos (Tabela 16) com e sem vírus Zika adicionado a uma concentração de $3 \times \text{LoD}$ do cobas® Zika. Estas substâncias exógenas não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do cobas® Zika.

Tabela 16 Concentrações de fármacos adicionados ao plasma EDTA

Nome do fármaco testado	Concentração
Acetaminofeno	1337 µmol/l
Ácido acetilsalicílico	3657 µmol/l
Ácido ascórbico	346 µmol/l
Atorvastatina	606 µg eq/l
Fluoxetina	11,3 µmol/l
Ibuprofeno	2450 µmol/l
Loratadina	0,8 µmol/l
Nadolol	3,9 µmol/l
Naproxeno	2192 µmol/l
Paroxetina	3,1 µmol/l
Fenilefrina HCL	496 µmol/l
Sertralina	2,0 µmol/l

Deteção do vírus Zika ao LoD em amostras clínicas

Cinco amostras positivas relativas a Zika NAT foram diluídas individualmente a ~13,6 cópias/ml (~1 × LoD) em unidades de plasma EDTA negativo em pool. Foram testadas vinte e uma réplicas para cada amostra diluída.

Todas as amostras Zika diluídas próximo a LoD eram reativas relativamente a Zika e tiveram resultados de controlo interno (IC) reativo (válido) quando testadas ao usar o teste cobas® Zika (Tabela 17).

Tabela 17 Deteção do vírus Zika ao LoD em amostras clínicas

Amostras	Concentração de ARN do Zika (cp/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
5 amostras positivas relativas a Zika NAT	13,6	105	105	100,0%	97,2%

Correlação

Avaliação do desempenho do cobas® Zika em comparação com o ensaio de vírus Zika Procleix

O desempenho do cobas® Zika e do ensaio de vírus Zika Procleix (Grifols Diagnostic Solutions, Inc.) foi comparado ao usar 100 amostras de plasma negativas Zika NAT e 99 amostras de plasma individuais positivas Zika NAT. As amostras positivas foram recolhidas de abril a outubro de 2016, 97 em Porto Rico e duas nos E.U.A.

As amostras negativas demonstraram uma especificidade de 100%, ao gerar 100 de 100 resultados não-reativos com ambos os métodos.

Para amostras positivas, ambos os métodos foram concordantes com base no teste de McNemar, indicando que o desempenho do cobas® Zika e do ensaio de vírus Zika Procleix é equivalente (Tabela 18).

Tabela 18 Correlação de amostras positivas

Métodos		Amostra positiva de ZIKA
cobas® Zika	Ensaio de vírus Zika Procleix	Resultados
Não reativo	Não reativo	0
Reativo	Não reativo	0
Não reativo	Reativo	0
Reativo	Reativo	99
Total		99
Teste de McNemar, valor de p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		1,00

Falha global do sistema

A taxa de falha do sistema global do **cobas**® Zika foi determinada testando 100 réplicas de amostras de plasma negativo, às quais foi adicionado vírus Zika. Estas amostras foram testadas a uma concentração alvo de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ e a respetiva corrida foi executada em pools de 1 (não diluídas). O estudo foi realizado usando os **cobas**® 6800/8800 Systems com o software **cobas**® Synergy e o instrumento Hamilton Microlab® STAR IVD.

Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram reativas, originando uma taxa de falha do sistema global de 0,0%. O intervalo de confiança bilateral exato de 95% foi de 0% para o limite inferior e de 3,62% para o intervalo superior [0%: 3,62%].

Avaliação do desempenho clínico

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do **cobas**® Zika para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems foi estabelecida testando um painel de doze membros composto por três amostras de plasma negativas e três amostras positivas para o vírus Zika a três concentrações diferentes (aproximadamente $0,5 \times$, $1-2 \times$ e $3 \times$ o LoD do **cobas**® Zika).

Os operadores em cada um de três locais efetuaram testes durante cinco dias com cada um dos três lotes de reagentes **cobas**® Zika. Foram realizadas, por dia, duas execuções válidas do painel (ou seja, dois batches, cada batch composto por um painel e dois controlos independentes) para produzir até 270 testes por tipo de vírus de membro de painel a cada uma das três concentrações.

Todos os batches e resultados de teste válidos foram analisados através do cálculo da percentagem de resultados reativos para cada membro do painel (Tabela 19). Este estudo demonstrou que o **cobas**® Zika para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems mostra um desempenho reprodutível para detetar o vírus Zika em todas as variáveis avaliadas (lote, local, dia, batch e dentro do batch).

Tabela 19 Resultados de testes resumidos por local, lote, dia e batch (membros positivos do painel)

Concentração viral	Centro		Lote		Dia		Batch	
	ID	% resultados reativos	ID	% resultados reativos	ID	% resultados reativos	ID	% resultados reativos
~0,5 × LoD	1	82,2% (74/90)	1	74,4% (67/90)	1	74,1% (40/54)	1	78,5% (106/135)
	2	71,9% (64/89)	2	78,7% (70/89)	2	79,6% (43/54)	2	73,7% (98/133)
	3	74,2% (66/89)	3	75,3% (67/89)	3	79,6% (43/54)	-	-
	-	-	-	-	4	73,1% (38/52)	-	-
	-	-	-	-	5	74,1% (40/54)	-	-
1-2 × LoD	1	100,0% (89/89)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (89/89)	2	100,0% (53/53)	2	100,0% (134/134)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: nesta tabela, são apresentados resumos separados dos resultados de todas as réplicas para cada concentração de vírus de membro do painel para as variáveis de local, lote, dia e batch.

Especificidade clínica

A especificidade clínica do **cobas**® Zika foi avaliada ao testar amostras individuais de dádivas de sangue em cinco locais em laboratórios externos no E.U.A. Continental. Foram usados quatro lotes de reagente **cobas**® Zika diferentes no estudo. A especificidade clínica do **cobas**® Zika foi calculada como a percentagem (intervalo de confiança bilateral de 95%) de dádivas de Zika com estado de dádiva negativo, que tiveram resultados não reativos do **cobas**® Zika. Existiam 358 038 dádivas avaliáveis de testes individuais.

A Tabela 20 mostra o cálculo de especificidade clínica do teste **cobas**® Zika para as 358 024 dádivas de estado negativo avaliáveis de testes individuais. A especificidade clínica do **cobas**® Zika a partir de testes individuais foi de 99,997% (358 015/358 024; 95% CI: 99,995 a 99,999%). Foi observada nos resultados de amostras individuais uma taxa de inválidos de 0,09% devido a falhas de controlo interno ou a outros incidentes.

Tabela 20 Especificidade clínica do **cobas**® Zika – testes individuais (EUA)

Resultado do cobas ® Zika	Estado da dádiva de Zika*		Total
	Positivo	Negativo	
Reativo	14	9	23
Não reativo	0	358 015	358 015
Total	14	358 024	358 038
Especificidade clínica (IC de 95%**)	-	99,997% (99,995%, 99,999%)	-

* O estado da dádiva foi atribuído com base no padrão de reatividade dos testes observado na dádiva inicial (testes de índice inicial e adicional) e/ou com base em resultados do estudo de seguimento.

** Método exato de Clopper-Pearson.

Avaliação de sensibilidade do **cobas**® Zika

A avaliação de sensibilidade do **cobas**® Zika foi realizada usando 25 amostras clínicas positivas para Zika confirmadas num local de teste interno. O teste **cobas**® Zika detetou 100% (95% CI: 86,2 a 100%).

Deteção de Zika em dadores dos E.U.A. durante a epidemia de Zika de 2016-2017

O **cobas**® Zika foi primeiramente aplicado como uma aplicação de novo fármaco investigacional (IND) para testar dádivas de sangue recolhidas em Porto Rico (território dos E.U.A.) no início de abril de 2016. Durante o ensaio clínico como IND (abril de 2016 a 17 de março de 2018), foram recolhidas em Porto Rico 120 391 dádivas que puderam ser analisadas, das quais 340 foram determinadas como reativas confirmadas. De maio de 2016 a 17 de março de 2018, quando o ensaio clínico do **cobas**® Zika como IND terminou, tinham sido recolhidas em estados dos E.U.A. 4 830 623 dádivas suscetíveis de avaliação. Dessas 4 830 623 dádivas, 30 foram determinadas como positivas confirmadas.

Avaliação do rendimento e VPP do cobas® Zika num surto de Zika

Como IND, os testes de dádivas individuais nos E.U.A. Continental começou durante o surto de Zika em 2016 e identificou 14 (0,004%) amostras inicialmente reativas e confirmadas de 358 038 dádivas testadas. No mesmo período, os testes individuais como IND no território de E.U.A de Porto Rico identificaram 275 (0,74%) amostras inicialmente reativas e confirmadas de 37 041 dádivas avaliáveis testadas.

O valor preditivo de positivos (VPP) do **cobas**® Zika ficou demonstrado pela confirmação de amostras reativas com um NAT alternativo e/ou a presença de IgM anti-Zika e/ou reatividade **cobas**® Zika por inscrição num estudo de seguimento. Nos E.U.A. Continental, uma área de baixa prevalência durante o surto de Zika, entre 23 amostras de dadores de sangue inicialmente reativas, 14 foram confirmadas como positivas, dando origem a um VPP de 60,9% (95% CI: 38,5 a 80,3%). Durante o mesmo período, no território dos E.U. de Porto Rico, uma área de elevada prevalência, entre as 286 dádivas de sangue inicialmente reativas, 275 foram confirmadas como positivas, dando origem a um VPP de 96,2% (95% CI: 93,2 a 98,1%).

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Plasma
Quantidade de amostra necessária	1000 µl*
Quantidade de amostra processada	850 µl

* Os tubos utilizados para os testes podem ter volumes mortos diferentes e poderão precisar de mais ou menos volume mínimo. Para mais informações, contacte o representante local da assistência da Roche.

Símbolos

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

Age/DOB Idade ou data de nascimento



Software auxiliar

Assigned Range [copies/mL] Intervalo atribuído (cópias/ml)

Assigned Range [IU/mL] Intervalo atribuído (UI/ml)



Representante autorizado na Comunidade Europeia



Folha de dados de códigos de barras



Número do lote



Risco biológico



Referência de catálogo



Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Collect Date Data da colheita



Consulte as instruções de utilização

Conteúdo suficiente para <n> testes



Conteúdo do kit



Controlo



Data do fabrico



Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes



Dispositivo para autotestes



Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes



Dispositivo não para autotestes



Distribuidor
(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)



Não reutilizar



Mulher



Apenas para avaliação do desempenho IVD



Global Trade Item Number



Importador



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Limite inferior do intervalo atribuído



Homem



Fabricante



Controlo negativo



Não esterilizado



Nome do paciente



Número do paciente



Abra aqui



Controlo positivo



Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.



UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.



Número de série



Centro



Procedimento padrão



Esterilizado com óxido de etileno



Armazenar no escuro



Limite de temperatura



Ficheiro de definição de teste



Este lado para cima



Procedimento ultrasensível



Identificação exclusiva do equipamento



Limite superior do intervalo atribuído



Linha de enchimento da urina

Rx Only
Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.



Prazo de validade

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 21 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

Consulte <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Direitos de autor

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Marano G, Pupella S, Vaglio S, et al. Zika virus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine. *Blood Transfus.* 2016;14:95-100.
2. Stramer SL. Current perspectives in transfusion-transmitted infectious diseases: emerging and re-emerging infections. *ISBT Sci Ser.* 2014;9:30-6.
3. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, et al. Phylogeny of the genus Flavivirus. *J Virol.* 1998;72:73-83.
4. Baronti C, Piorkowski G, Charrel RN, et al. Complete coding sequence of zika virus from a French polynesia outbreak in 2013. *Genome Announc.* 2014;2.
5. Ios S, Mallet HP, Leparc Goffart I, et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect.* 2014;44:302-7.
6. Lanciotti RS, Lambert AJ, Holodniy M, et al. Phylogeny of Zika Virus in Western Hemisphere, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:933-5.
7. Hennessey M, Fischer M, Staples JE. Zika Virus Spreads to New Areas - Region of the Americas, May 2015-January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:55-8.
8. Hayes EB. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1347-50.
9. Grard G, Caron M, Mombo IM, et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)--2007: a new threat from *Aedes albopictus*? *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2681.
10. Musso D, Nhan T, Robin E, et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014;19.
11. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536-43.
12. Boadle A. Brazil reports Zika infection from blood transfusions. Reuters.com. Updated: 4 February 2016; Accessed: 20 March 2023. www.reuters.com/article/us-health-zika-brazil-blood-idUSKCN0VD22N.
13. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Zika Virus Home: Prevention and Transmission. Accessed: 20 March 2023. <https://www.cdc.gov/zika/prevention/index.html>.
14. U.S. FDA. Guidance for industry: Revised Recommendations for Reducing the Risk of Zika Virus Transmission by Blood and Blood Components. Published: 6 July 2018; Accessed 20 March 2023. <https://www.fda.gov/news-events/fda-brief/fda-announces-revised-guidance-testing-donated-blood-and-blood-components-zika-virus>.
15. Oehler E, Watrin L, Larre P, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome—case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill.* 2014;19.
16. Musso D, Roche C, Robin E, et al. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:359-61.
17. Oster AM, Brooks JT, Stryker JE, et al. Interim Guidelines for Prevention of Sexual Transmission of Zika Virus - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:120-1.
18. Foy BD, Kobylinski KC, Chilson Foy JL, et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:880-2.

19. Dallas County Health & Human Services. DCHHS reports first three Zika virus cases. One case acquired through sexual transmission. Published: February 2016; Accessed: 20 March 2023. <https://www.dallascounty.org/Assets/uploads/docs/hhs/zika/February2016Newsletter.pdf>.
20. McNeil D, Tavernise S. Zika infection transmitted by sex reported in Texas. NY Times. Published: 2 February 2016; Accessed: 20 March 2023. <https://www.nytimes.com/2016/02/03/health/zika-sex-transmission-texas.html>.
21. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:59-62.
22. Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, et al. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47:6-7.
23. Besnard M, Laster S, Teissier A, et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill*. 2014;19.
24. Mlakar J, Korva M, Tul N, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*. 2016;374:951-8.
25. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1232-9.
26. Balm MN, Lee CK, Lee HK, et al. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. *J Med Virol*. 2012;84:1501-5.
27. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
28. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, et al. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
29. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
30. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, et al. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
31. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
32. 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.
33. 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.

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 1.0 06/2023	Primeira publicação