



Rx Only

cobas[®] Influenza A/B & RSV UC

**Teste qualitativo de ácidos nucleicos
para utilização com os cobas[®] 6800/8800 Systems**

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] Influenza A/B & RSV UC	P/N: 09233962190
cobas[®] Influenza A/B & RSV UC Control Kit	P/N: 09356525190
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	P/N: 09052011190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 07002238190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	7
Reagentes e controlos do cobas® Influenza A/B & RSV UC.....	7
Reagentes cobas omni para preparação da amostra	9
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes	10
Materiais adicionais necessários	11
Equipamentos e software necessários.....	11
Precauções e requisitos de manuseamento	12
Advertências e precauções	12
Manuseamento de reagentes	12
Boas práticas de laboratório.....	13
Colheita, transporte e armazenamento de amostras	13
Colheita de amostras	13
Transporte e armazenamento	14
Instruções de utilização	14
Notas do procedimento.....	14
Execução do cobas® Influenza A/B & RSV UC.....	14
Preparação da cassete de reagente	16
Preparação de amostras e controlos	17
Definir pedidos de teste.....	18
Resultados	19
Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	19
Interpretação dos resultados.....	19
Limitações do procedimento	20

Avaliação do desempenho não clínico	22
Características principais do desempenho	22
Limite de detecção (LoD).....	22
Precisão – intralaboratorial	23
Inclusividade.....	27
Especificidade analítica (reatividade cruzada e interferência de origem microbiana)	28
Substâncias interferentes.....	30
Co-infecção (interferência competitiva).....	31
Falha global do sistema	31
Avaliação do desempenho clínico	32
Informações adicionais	33
Características principais do teste.....	33
Símbolos	34
Assistência técnica	35
Fabricante e importador.....	35
Marcas comerciais e patentes	35
Direitos de autor.....	35
Bibliografia.....	36
Revisão do documento	38

Utilização prevista

O teste qualitativo de ácidos nucleicos cobas® Influenza A/B & RSV UC para utilização com o cobas omni Utility Channel nos cobas® 6800/8800 Systems, é um teste automatizado, multiplex, de reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) em tempo real, para a detecção qualitativa *in vitro* atempada e discriminação do ARN do vírus influenza A, vírus influenza B e vírus sincicial respiratório (RSV) em amostras de exsudados nasofaríngeos de pacientes com indícios e sintomas de infecção respiratória juntamente com fatores de risco clínicos e epidemiológicos. O teste destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico e diferenciação do influenza A, influenza B e RSV em seres humanos e não se destina a detetar o vírus influenza C.

Os resultados negativos não excluem a infecção pelo vírus influenza e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão do paciente. Por outro lado, resultados positivos não excluem a infecção bacteriana ou a co-infecção com outros vírus. O agente detetado pode não ser a causa precisa da doença.

O teste qualitativo de ácidos nucleicos cobas® Influenza A/B & RSV UC para utilização com o cobas omni Utility Channel nos cobas® 6800/8800 Systems destina-se a ser utilizado por profissionais num cenário de laboratório clínico.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

Influenza e infeções no trato respiratório inferior são causas de morbilidade e mortalidade significativas no mundo inteiro.¹⁻⁴ É estimado globalmente que o vírus Influenza cause mais de mil milhões de infeções e 500.000 mortes por ano, com a maior sobrecarga em lactentes e crianças pequenas, idosos e pessoas com condições de saúde tais como doenças pulmonares crónicas.^{3,4} O influenza dos tipos A e B podem causar epidemias humanas; no entanto, no caso da maioria das pandemias humanas, é atribuído ao tipo A o surgimento de novas estirpes e uma maior sobrecarga global da doença.^{3,4}

O vírus sincicial respiratório é uma das principais causas de infeções no trato respiratório inferior e de hospitalizações de lactentes e crianças, tendo a maioria das crianças tido uma infeção pelo RSV até aos 2 anos de idade.⁵⁻⁷ Em crianças com menos de 5 anos, estima-se que ocorram mais de 3 milhões de hospitalizações e mais de 100.000 de mortes globalmente devido a infeções por RSV no trato respiratório inferior.⁵ Mais recentemente, devido em parte a melhorias no diagnóstico, o RSV também tem sido associado a doenças e a encargos económicos substanciais com a saúde em adultos mais velhos.⁸

Para enfrentar esta sobrecarga substancial em pacientes vulneráveis, é necessário um diagnóstico eficaz e a diferenciação da infeção por influenza e por RSV dos outros agentes patogénicos respiratórios.⁹ Nos climas temperados dos hemisférios norte e sul, a sazonalidade global das epidemias de influenza e de RSV sobrepõem-se, com picos de ocorrência infecciosa nos respetivos meses de inverno.¹⁰ Além disso, os indícios e sintomas infecciosos do influenza e do RSV podem muitas vezes ser insuficientes para diagnosticar definitivamente ou distinguir clinicamente entre sintomas “tipo gripe” e “constipação vulgar”, tais como febre, tosse, congestionamento ou cansaço, que podem estar presentes em pacientes infetados com o vírus influenza ou o RSV, assim como em muitos outros agentes patogénicos respiratórios virais e bacterianos.⁹ Uma deteção rápida e precisa de infeções por influenza e RSV pode ajudar a indicar a utilização de medicamentos antivirais e a implementação de medidas de controlo da infeção; evitar a utilização inadequada de antibióticos; reduzir testes complementares e hospitalizações; e identificar mais cedo surtos locais da doença.⁹

Fundamentos dos testes de PCR

Diagnósticos tradicionais como testes de detecção rápida de antígeno para o vírus influenza e o RSV têm uma sensibilidade inferior aos métodos moleculares rápidos mais recentes.^{11, 12} Para possibilitar uma gestão médica rápida e um controlo eficaz da infeção, é necessária uma solução de diagnóstico rápida, precisa, de alto rendimento e de fácil utilização, para detetar o vírus influenza e o RSV em pacientes de risco de todas as idades com sintomas respiratórios agudos.¹³ Com base no respetivo desempenho clínico melhorado, os métodos de testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT), tais como a reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) em tempo real, têm-se tornado o método laboratorial preferido para a detecção do vírus influenza e o RSV, quando comparado com métodos com base em cultura, de elevado tempo de execução.^{14, 15}

Explicação do teste

O teste qualitativo de ácidos nucleicos cobas® Influenza A/B & RSV UC para utilização com o cobas omni Utility Channel nos cobas® 6800/8800 Systems, é um teste automatizado, multiplex, de reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) em tempo real, para a rápida detecção qualitativa *in vitro* e discriminação do ARN do vírus influenza A, vírus influenza B e vírus sincicial respiratório (RSV), em amostras de exsudados nasofaríngeos colhidas no Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT), no BD™ Universal Viral Transport System (UVT), ou equivalente. O Controlo Interno de ARN, utilizado para monitorizar todo o processo de preparação de amostras e a amplificação por PCR, é introduzido em cada amostra durante o processamento da amostra. Adicionalmente, o teste utiliza controlos externos (um controlo positivo de baixo título e um controlo negativo).

Princípios do procedimento

O cobas® Influenza A/B & RSV UC para utilização com o cobas omni Utility Channel, baseia-se na preparação da amostra 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 dos cobas® 6800/8800 Systems, que atribui resultados de teste a todos os testes. Os resultados podem ser examinados diretamente no ecrã do sistema ou impressos num relatório.

Os ácidos nucleicos de amostras de pacientes e as moléculas adicionadas do ARN (RNA IC) do controlo interno são extraídas simultaneamente. O ácido nucleico é libertado ao adicionar protease e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os posteriores passos de lavagem, e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro magnéticas, com tampão de eluição, a elevada temperatura. Os controlos externos (positivo e negativo) são processados da mesma forma em cada execução do cobas® Influenza A/B & RSV UC.

O cobas® Influenza A/B & RSV UC contém primers e sondas do influenza A, influenza B e RSV, que são utilizados em combinação com o cobas omni Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2) e a cassette de 192 testes incluídos no cobas omni Utility Channel Reagent Kit. A cassette de 192 testes contém um controlo interno reconhecido por primers e sondas específicos incluídos no cobas omni Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2).

A amplificação seletiva dos ácidos nucleicos alvo do Influenza A e Influenza B da amostra é conseguida pela utilização de primers senso e anti-senso específicos do alvo para as proteínas 1 e 2 (M1/M2) da matriz para o influenza A e os genes da proteína de exportação nuclear (NEP)/proteína não-estrutural 1 (NS1) para o influenza B, respetivamente. Para o RSV,

a amplificação seletiva do ácido nucleico alvo da amostra é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos do alvo, para as sequências da proteína matriz do RSV. A amplificação seletiva do Controlo Interno de ARN é conseguida pela utilização de primers senso e anti-senso específicos de uma sequência não-competitiva que não têm qualquer homologia com os genomas do RSV ou do influenza. O alvo amplificado é detetado pela clivagem da sonda de oligonucleótido marcada com fluorescência. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação.

A mistura principal preparada do **cobas**® Influenza A/B & RSV UC contém sondas de deteção que são específicas do vírus influenza A, do vírus influenza B, do RSV e do ácido nucleico do Controlo Interno de ARN. As sondas de deteção do influenza A, do influenza B, do RSV e do Controlo Interno de ARN estão marcadas cada uma delas com corantes fluorescentes exclusivos, que atuam como um sinalizador. Cada sonda tem também um segundo corante, que atua como um supressor. Quando não ligados à sequência alvo, os sinais fluorescentes das sondas intactas são suprimidos pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização das sondas com o ADN alvo específico, em cadeia simples resulta na sua clivagem pela atividade exonuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Em cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas e o sinal cumulativo do corante sinalizador aumenta concomitantemente. Cada corante sinalizador é medido a comprimentos de onda definidos, o que permite a deteção e discriminação simultânea do alvo amplificado e do Controlo Interno de ARN. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicon). 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.

Reagentes e materiais

Os materiais fornecidos para o cobas® Influenza A/B & RSV encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 5 e na Tabela 9.

Para 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® Influenza A/B & RSV UC

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 5.

Tabela 1 cobas® Influenza A/B & RSV UC (primers e sondas)

Conservar entre 2 e 8 °C
Primers e sondas (P/N 09233962190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit 192 testes
INFLUENZA A/B & RSV UC PP (FluA/B-RSV)	Tampão TE, < 0,02% de primers senso e anti-senso do influenza A, < 0,02% de primers senso e anti-senso do influenza B, < 0,02% de primers senso e anti-senso do RSV, < 0,01% de sondas oligonucleotídicas de marcação fluorescente específicas do influenza A, influenza B, RSV e do Controlo Interno de ARN, < 0,1% de azida de sódio	1 × 0,65 ml

Tabela 2 cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit

Conservar entre 2 e 8 °C
(P/N 09356525190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit
INFLUENZA A/B & RSV UC (+) C (FluA/B-RSV (+) C)	< 0,001% de ADN (de plasmídeo) sintético do influenza A, ADN do influenza B e ADN do RSV em tampão tris, < 0,1% de azida de sódio, EDTA, < 0,002% de ARN de Poly rA (sintético)	16 ml (10 × 1,6 ml)

Tabela 3 cobas omni Utility Channel Reagent Kit (UC)

Conservar entre 2 e 8 °C

(P/N 09052011190)

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit de 192 testes
Cassete de 192 testes		
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina. Pode desencadear uma reação alérgica.	22,3 ml
Controlo interno de ARN (RNA-QS)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% estrutura de armored ARN contendo regiões de sequências específicas de primer e sondas (ARN não infeccioso em bacteriófago MS2), < 0,1% de azida de sódio	21,2 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml
Reagente Master Mix 1 (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida sódica	7,5 ml
Frasco vazio de R2 (R2 EV)	N/A	1
Frasco de Reagente 2 da Mistura Principal		
Reagente 2 da Mistura Principal do cobas omni Utility Channel (UC MMX-R2)	Tampão de tricina, acetato de potássio, < 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de primers senso e anti-senso de controlo interno, < 0,01% de sondas oligonucleotídicas de marcação fluorescente específicas para CI de ARN, < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D, < 0,1% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	19,6 ml (2 × 9,8 ml)

Tabela 4 cobas® Buffer Negative Control Kit**(BUF (-) C)**


Conservar entre 2 e 8 °C

(P/N 07002238190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tampão Tris, < 0,1% de azida de sódio, EDTA, < 0,002% de ARN de Poli-rA (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

Reagentes cobas omni para preparação da amostra

Tabela 5 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 sódica	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 sódica	4 × 875 ml	Não aplicável
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5% (p/v) de polidocanol***, 2% (p/v) de ditiotreitol***, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação. 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. 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 **cobas®** Influenza A/B & RSV UC. Consulte a lista dos materiais adicionais necessários (Tabela 8).

** 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 6 e Tabela 7.

Quando os reagentes não estiverem nos cobas® 6800/8800 Systems, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 6.

Tabela 6 Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® Influenza A/B & RSV UC ^a	2 a 8 °C
cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit	2 a 8 °C
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	2 a 8 °C
cobas® Buffer 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

^a A cassette de reagente preparada pode ser conservada durante até 30 dias entre 2 °C e 8 °C antes da primeira utilização. Após a primeira utilização, consulte as condições de manuseamento do cobas omni Utility Channel Reagent Kit na Tabela 7.

Os reagentes carregados nos cobas® 6800/8800 Systems são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. Os cobas® 6800/8800 Systems apenas permitem que os reagentes sejam utilizados se todas as condições indicadas na Tabela 7 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A Tabela 7 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes impostas pelos cobas® 6800/8800 Systems.

Tabela 7 Condições de manuseamento de reagentes impostas 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 omni Utility Channel Reagent Kit	Prazo não ultrapassado ^a	90 dias desde a primeira utilização	Máx. 40 corridas	Máx. 40 horas
cobas® Buffer Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado ^a	Não aplicável ^b	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado ^a	30 dias desde o carregamento ^c	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni MGP Reagent	Prazo não ultrapassado ^a	30 dias desde o carregamento ^c	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado ^a	30 dias desde o carregamento ^c	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Wash Reagent	Prazo não ultrapassado ^a	30 dias desde o carregamento ^c	Não aplicável	Não aplicável

^a Os reagentes não expiraram

^b Reagentes de utilização única

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

Materiais adicionais necessários

Tabela 8 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
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou Saco de resíduos sólidos com suporte de cartão e Kit modificado para a gaveta de resíduos sólidos	07435967001 e 07094361001 ou 08030073001 e 08387281001
Tubos secundários 13×75 cobas omni (opcional)	06438776001

Equipamentos e software necessários

O software **cobas®** 6800/8800 e o pacote de análise **cobas®** Influenza A/B & RSV UC deverão estar instalados no(s) equipamento(s). O servidor IG (Instrument Gateway) será fornecido com o sistema.

Tabela 9 Equipamentos

Equipamento	P/N
cobas® 6800 System (opção móvel)	05524245001 e 06379672001
cobas® 6800 System (fixo)	05524245001 e 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de abastecimento de amostras	06301037001
Instrument Gateway	06349595001
TWN3 Legic NFC USB (leitor/gravador RFID)	07450460001
PC externo com ligação remota fornecida pelo cliente	N/A
Impressora de códigos de barras	N/A

Para informações adicionais, consulte a Assistência ao utilizador e/ou o Guia do utilizador dos **cobas®** 6800/8800 Systems.

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.

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 de paciente 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.^{16,17} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do teste **cobas**® Influenza A/B & RSV UC e **cobas**® 6800/8800 Systems.
- 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 0,5% em água destilada ou desionizada (lixívia doméstica diluída a 1:10) ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- 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.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- 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.
- 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 sobre qualquer incidente grave que possa 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.
- Antes de os utilizar, inspecione visualmente as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, 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.

- O kit **cobas**® Influenza A/B & RSV UC, o **cobas**® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, o **cobas omni** Utility Channel Kit, o **cobas**® Buffer Negative Control Kit, o **cobas omni** MGP Reagent e o **cobas omni** Specimen Diluent contêm azida de sódio 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.
- 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**® Influenza A/B & RSV UC, kits **cobas**® Influenza A/B & RSV UC Control, kits **cobas omni** Utility Channel Reagent, kits **cobas**® Buffer Negative Control e reagentes **cobas omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- 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 0,5% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). 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 e armazenamento de amostras

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

Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Certifique-se de que as amostras atingem a temperatura ambiente antes de serem transferidas para um tubo secundário **cobas omni**.

Colheita de amostras

- As amostras nasofaríngeas devem ser colhidas de acordo com as técnicas de colheita padrão utilizando zaragatoas flocadas, e colocadas imediatamente em 3 ml de Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT), ou equivalente.
- Consulte as instruções de utilização dos dispositivos de colheita para informações sobre riscos.

Transporte e armazenamento

- O transporte de amostras colhidas deve cumprir as regulamentações aplicáveis ao transporte de agentes etiológicos.
- Após a colheita, as amostras podem ser conservadas em tubos primários durante até 48 horas entre 2 °C e 25 °C seguido de até 3 dias entre 2 °C e 8 °C e até 30 dias a ≤ -15 °C.
- As amostras mantêm-se estáveis até 3 ciclos de congelamento/descongelamento quando congeladas em tubos primários a uma temperatura ≤ -15 °C.

Instruções de utilização

Notas do procedimento

- O ensaio destina-se apenas para utilização com o **cobas**® UC_FluAB_RSV USAP ou o **cobas**® RSV USAP da Roche.
- Não utilize reagentes **cobas**® Influenza A/B & RSV UC, o **cobas**® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, o **cobas** **omni** Utility Channel Reagent Kit, o **cobas**® Buffer Negative Control Kit ou reagentes **cobas** **omni** depois dos respectivos prazos de validade.
- Utilize apenas os frascos de UC MMx-R2 fornecidos com a cassete de reagente.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Certifique-se de que as etiquetas de código de barras nos tubos de amostra estão visíveis através das aberturas laterais das racks de amostras. Para as especificações corretas dos códigos de barras e informações adicionais sobre o carregamento de tubos de amostra, consulte o Guia do Utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Para a manutenção adequada dos equipamentos, consulte a Assistência ao Utilizador e/ou o Guia do Utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

Execução do **cobas**® Influenza A/B & RSV UC

O **cobas**® Influenza A/B & RSV UC pode ser executado com um volume necessário mínimo de amostra de 0,6 ml no tubo secundário **cobas** **omni** para amostras colhidas em Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT) ou equivalente.

Figura 1 Procedimento do teste cobas® Influenza A/B & RSV UC

1	Iniciar sessão no sistema Premir “Iniciar” para preparar o sistema Pedir testes
2	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a cassete de reagente específica do teste• Carregar cassetes de controlo• Carregar pontas de pipetagem• Carregar placas de processamento• Carregar reagente MGP• Carregar placas de amplificação• Reabastecer diluente de amostras• Reabastecer reagente de lise• Reabastecer reagente de lavagem
3	Carregar amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a rack de amostras e as racks de pontas obstruídas no módulo de abastecimento de amostras• Confirmar que as amostras foram aceites no módulo de transferência
4	Iniciar a execução, seleccionando o botão “Iniciar manualmente” na interface do utilizador ou fazer com que se inicie automaticamente após 120 minutos ou se o batch estiver cheio
5	Rever e exportar os resultados
6	Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none">• Descarregar cassetes de controlo vazias• Esvaziar gaveta de placas de amplificação• Esvaziar recipiente de resíduos líquidos• Esvaziar recipiente de resíduos sólidos

Preparação da cassete de reagente

O PCR MMX R2 é preparado a partir da mistura de Master Mix Reagent 2 (UC-MMX-R2) e primers e sondas do cobas® Influenza A/B & RSV UC carregados na cassete de 192 testes do cobas omni Utility Channel Reagent Kit.

- Remova o Master Mix Reagent 2 (UC-MMX-R2, ver figura 1) do cobas omni Utility Channel Reagent Kit e os primers e sondas do cobas® Influenza A/B & RSV UC a partir das respectivas localizações de armazenamento entre 2 e 8 °C.
- Misture o UC-MMx-R2 no misturador de rolamento durante 5 minutos à temperatura ambiente.

Nota: se não estiver disponível um misturador de rolamento, inverta o frasco 20 vezes.

- Transfira 10 ml do reagente UC MMX-R2 para um tubo de polipropileno protegido da luz.

Nota: consulte a Assistência ao utilizador do cobas omni Utility Channel para detalhes sobre os passos da opção de transferência.

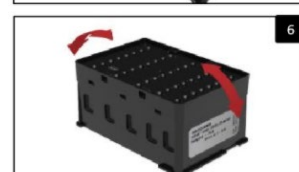
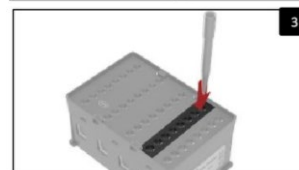
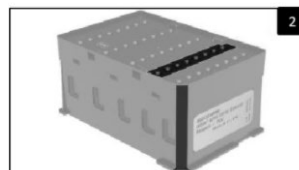
- Misture os primers e sondas do cobas® Influenza A/B & RSV UC invertendo-os 20 vezes.
- Adicione 0,600 ml dos primers e sondas do cobas® Influenza A/B & RSV UC (consultar a Tabela 1) para o tubo de polipropileno protegido da luz.
- Agite o tubo de polipropileno durante 5 minutos no misturador de rolamento.

Nota: se não estiver disponível um misturador de rolamento, inverta o frasco 20 vezes.



A cassete de reagente é preparada carregando a mistura de PCR na cassete de reagente a partir do cobas omni Utility Channel Reagent Kit.

- Posicione a cassete colocando a borda oblíqua para o canto inferior direito (ver figura 2).
Nota: a segunda linha a partir da direita contém o recipiente de MMX vazio.
- Coloque uma ponta de pipeta de 1 ml na linha 2 do orifício do septo superior (ver figura 3).
Nota: a ponta de pipeta permite que a pressão de ar no recipiente seja ajustada enquanto a mistura de PCR preparada é adicionada.
- Arranje uma pipeta repetidora com uma ponta de pipeta de 10 ml. Carregue a ponta de pipeta com 9,7 ml da mistura de PCR preparada.
- Insira a pipeta carregada no orifício do septo inferior da cassete de reagente. Perfure o septo com uma profundidade suficiente para evitar derrames na linha 2 (ver figura 4).
- Incline a cassete de reagente para um ângulo de 45° no sentido do comprimento a partir do fundo. Certifique-se de que a cassete é inclinada ao longo da borda em que a pipeta com a ponta de 10 ml está inserida (ver figura 5).
- Devagar e cuidadosamente pipete 9,7 ml da mistura de PCR preparada através do septo inferior para o recipiente vazio na linha 2 (ver figura 5). Se possível, dispense a mistura de PCR preparada num único movimento. Certifique-se de que é pipetado o volume correto de mistura de PCR preparada.
- Certifique-se de que não há nenhum fluido na ponta de pipeta de 1 ml e retire-a do septo.



Nota: se houver fluido na ponta, rode cuidadosamente a ponta da pipeta para libertar o fluido da ponta para que o mesmo volte para a cassette. Se ainda ficar fluido na ponta de 1 ml, efetue o seguinte: Utilizando uma pipeta repetidora com uma ponta de 10 ml, remova alguma da mistura de PCR pipetada do recipiente da cassette até que nenhum fluido fique na ponta de 1 ml. Devagar e cuidadosamente pipete qualquer fluido que haja na ponta de pipeta de 10 ml de volta para o recipiente. Quando ambas as pontas estiverem vazias, as mesmas podem ser retiradas da cassette.

- Incline vagarosamente a cassette de reagente 20 vezes para remover quaisquer bolhas de ar do recipiente acabado de encher (ver figura 6).
- Na etiqueta do **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit de 192 testes escreva o nome do teste (Influenza A/B & RSV UC), a data em que a cassette foi preparada, o número de lote dos primers e sondas usados dos kits de testes (P&P Mix Lot) e assinale a caixa de verificação “P&P Added” para confirmar que a mistura de primers e sondas foi adicionada.

A etiqueta RFID da cassette de reagente preparada do **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit é etiquetada da seguinte maneira:

- Abra a **cobas omni** Utility Channel Tool utilizando o ícone de iniciar da Roche Utility Channel Tool no ambiente de trabalho.
- Clique no botão “Open UC analysis package” (Abra o pacote de análise do UC) e selecione o ficheiro USAP.zip a partir da secção “Pacotes de análise específicos do UC recentemente utilizados” ou carregue o **cobas**® Flu AB_RSV USAP ou o **cobas**® RSV USAP através de “Open published UC analysis package to write on reagent cassette RFID tag” (Abra o pacote de análise do UC publicado para escrever na etiqueta RFID da cassette de reagente). No separador UCAP abre-se o ecrã Pacote de análise do UC.
- No painel Pacote de análise do UC, clique no botão “Reagent cassette” (Cassete de reagente).
- Introduza o número de lote do **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit no campo correspondente à ID do lote da cassette de reagente.
- Coloque o leitor/gravador RFID junto à etiqueta RFID da cassette de reagente do Utility Channel onde pretende escrever.
- Clique no botão “Write data on the RFID tag” (Escrever dados na etiqueta RFID) para escrever na etiqueta RFID.
- Carregue a cassette de reagente preparada nos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- A cassette de reagente preparada pode ser conservada durante até 30 dias entre 2 °C e 8 °C antes da primeira utilização. Após a primeira utilização, consulte as condições de manuseamento do **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit na Tabela 7.

Preparação de amostras e controlos

Um controlo positivo tem de ser executado como uma amostra em cada corrida e para cada nova cassette de reagente. Para garantir que cada batch de controlo contém um controlo positivo, recomenda-se que seja usada toda a cassette de reagente do **cobas omni** Utility Channel antes de carregar a nova cassette de reagente do **cobas omni** Utility Channel.

As amostras colhidas em Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT) ou equivalente têm de ser transferidas para um tubo secundário **cobas omni** antes de serem processadas nos **cobas**® 6800/8800 Systems. As amostras transferidas para tubos secundários **cobas omni** devem ser processadas utilizando a seleção de tipo de amostra “VTM”.

Proceda sempre com cuidado quando transferir amostras de um tubo de colheita primário para um tubo secundário.

Para manusear amostras, utilize pipetas com pontas com barreira para aerossóis ou de deslocamento positivo.

Utilize sempre uma nova ponta de pipeta para cada amostra.

Certifique-se de que as amostras atingem a temperatura ambiente antes de serem transferidas para um tubo secundário cobas omni.

Siga os passos que se seguem para transferir a amostra do paciente de um tubo de colheita primário para um tubo secundário **cobas omni**:

- Desaperte a tampa do tubo primário de amostra.
- Transfira 0,6 ml para o tubo secundário com código de barras preparado.
- Coloque o tubo secundário na rack. Feche a tampa do tubo primário de amostra.

Definir pedidos de teste

Crie um pedido de teste conforme descrito no Guia do utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

- No campo do tipo de amostra, selecione **VTM** a partir do menu pendente.
- Na região “Teste”, selecione o teste **UC_FluAB_RSV** ou “RSV” a partir do menu pendente.
- Na região “Volume”, certifique-se de que o volume é igual a **400 µl**.
- Guarde e execute o teste conforme descrito no Guia do utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

Para mais detalhes, consulte o Guia do utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

Resultados

Os **cobas**® 6800/8800 Systems detetam automaticamente o influenza A, o influenza B e o RSV para cada amostra e controlo processados individualmente, apresentando resultados individuais dos alvos das amostras e do controlo positivo, assim como a validade do teste e os resultados globais do controlo negativo.

Controlo de qualidade e validade dos resultados

- Com cada batch é necessário processar um **cobas**® Buffer Negative Control [BUF (-) C] e um **cobas**® Influenza A/B & RSV UC Control [FluA/B-RSV (+) C].
- No software **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios, verifique os alarmes e os resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- Todos os alarmes são descritos no Guia do Utilizador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- O batch é válido se nenhum alarme aparecer para o controlo negativo e se o controlo positivo for positivo para todos os alvos. Se o batch for inválido, repita os testes de todo o batch.

A validação dos resultados é efetuada automaticamente pelo software **cobas**® 6800/8800 com base no desempenho do controlo negativo. A validação do controlo positivo tem de ser efetuada pelo operador com base no desempenho do controlo positivo.

Para determinar esta validade, interprete os resultados dos controlos e do CI conforme descrito na Tabela 10 a seguir.

Tabela 10 Interpretação da validade da corrida e dos resultados

Validade	Controlo	Válido	Inválido	Validação
Execução	BUF (-) C	Indicado como "Valid" na coluna Resultado do teste	Indicado como "Invalid" na coluna Resultado do teste (todas as amostras da corrida têm de ser testadas novamente)	cobas ® 6800/8800 Systems
Execução	FluA/B-RSV (+) C	Valor de Ct indicado em cada coluna Alvo	Indicado como "Invalid" ou "Negative" em uma das colunas Alvo (2, 3 OU 4) (todas as amostras da corrida têm de ser testadas novamente)	Operador
Resultado da amostra	IC	Indicado como "Yes" na coluna Válido	Indicado como "No" na coluna Válido E Alvo 2, 3 E 4: Inválido (a amostra invalidada tem de ser testada novamente)	cobas ® 6800/8800 Systems

Interpretação dos resultados

Se a corrida e a amostra forem válidas, a interpretação do resultado para cada alvo baseia-se nos resultados fornecidos pelos **cobas**® 6800/8800 Systems e descritos na Tabela 11. É possível que surjam resultados inválidos para uma ou mais combinações de alvos, que são reportados especificamente para cada canal nos **cobas**® 6800/8800 Systems. Nestes casos, a amostra original deverá ser testada novamente para obter um resultado do alvo válido. Se o resultado do alvo ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.

Os resultados de deteção dos influenza A/B & RSV e as respetivas interpretações são indicados a seguir (Tabela 11).

Tabela 11 Interpretação de resultados do cobas® Influenza A/B & RSV UC (Flu = influenza)

Alvo 2 (RSV)	Alvo 3 (Flu A)	Alvo 4 (Flu B)	Interpretação
RSV Negativo	Qualquer	Qualquer	O resultado do alvo do RSV é válido. O resultado do ARN do RSV não é detetado.
RSV Valor Ct	Qualquer	Qualquer	O resultado do alvo do RSV é válido. O resultado do ARN do RSV é detetado.
Inválido	Qualquer	Qualquer	O resultado do alvo do RSV é inválido. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.
Qualquer	Flu A Negativo	Qualquer	O resultado do alvo do Flu A é válido. O resultado do ARN do Flu A não é detetado.
Qualquer	Flu A Valor Ct	Qualquer	O resultado do alvo do Flu A é válido. O resultado do ARN do Flu A é detetado.
Qualquer	Inválido	Qualquer	O resultado do alvo do Flu A é inválido. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.
Qualquer	Qualquer	Flu B Negativo	O resultado do alvo do Flu B é válido. O resultado do ARN do Flu B não é detetado.
Qualquer	Qualquer	Flu B Valor Ct	O resultado do alvo do Flu B é válido. O resultado do ARN do Flu B é detetado.
Qualquer	Qualquer	Inválido	O resultado do alvo do Flu B é inválido. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.
Inválido	Inválido	Inválido	Nenhum dos resultados dos alvos são válidos. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.

Limitações do procedimento

- O cobas® Influenza A/B & RSV UC foi avaliado apenas para utilização em combinação com o cobas® Influenza A/B & RSV UC Control Kit, cobas® **omni** Utility Channel Reagent Kit, cobas® Buffer 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.
- O ensaio destina-se apenas para utilização com o cobas® UC_FluAB_RSV USAP ou o cobas® RSV USAP da Roche.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste é para ser utilizado na deteção de ARN do influenza A, influenza B e RSV em amostras de exsudados nasofaríngeos colhidas num Copan UTM-RT System (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport System (UVT) ou equivalente. Testar outros tipos de amostras com o cobas® Influenza A/B & RSV UC pode originar resultados imprecisos.
- A deteção de ARN do influenza A, influenza B e RSV poderá ser afetada pelos métodos de colheita de amostra, por fatores inerentes ao próprio paciente (por ex., idade, presença de sintomas) e/ou pela fase da infeção.
- Tal como em qualquer teste molecular, as mutações dentro das regiões alvo do cobas® Influenza A/B & RSV UC poderão afetar a ligação de primers e/ou sonda, inviabilizando a deteção da presença do vírus.
- Podem registar-se resultados falsos negativos ou inválidos devido a interferência. O controlo interno está incluído no teste cobas® Influenza A/B & RSV UC (no cobas® **omni** Utility Channel Reagent Kit) para ajudar a identificar as amostras que contêm substâncias passíveis de interferir com o isolamento do ácido nucleico e a amplificação por PCR.

- A adição da enzima AmpErase ao reagente de mistura principal do **cobas omni** Utility Channel permite a amplificação seletiva do ARN alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes, são necessárias boas práticas de laboratório e o cumprimento rigoroso dos procedimentos especificados no presente documento de Instruções de Utilização.

Avaliação do desempenho não clínico

Características principais do desempenho

Limite de detecção (LoD)

O estudo do limite de detecção (LoD) determina a concentração mínima detetável do influenza A, influenza B e RSV à qual 95% ou mais de todas (verdadeiro positivo) as réplicas são positivas no teste.

Para determinar o LoD, 6 vírus de cultura – 2 do influenza A, 2 do influenza B e 2 do RSV – foram diluídos em série numa matriz clínica simulada para criar 2 painéis de alvos co-formulados com uma estripe por vírus. Foram preparados em 3 dias 6 níveis de concentração com diluições em série de 2 vezes entre os níveis e testados com um total de 63 réplicas por concentração em 3 lotes de reagentes. Da Tabela 12 à Tabela 14 estão resumidos os valores de LoD estabelecidos.

Tabela 12 Resumo dos LoD para o Influenza A

Estirpe viral	Lote do kit	Probit a 95% [TCID ₅₀ /ml]	IC de 95% de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Taxa de positividade ≥ 95% [TCID ₅₀ /ml]	Ct médio a ≥ taxa de positividade de 95%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1) N.º Ref. 0810585CF Lote 323771	Lote 1	0,029	0,018–0,076	0,024	37,2
	Lote 2	0,017	0,011–0,38	0,024	37,1
	Lote 3	0,016	0,011–0,034	0,024	36,9
	Lote 1–3	0,020	0,015–0,031	0,024	37,1
A/Kansas/14/2017 (H3N2) N.º Ref. 0810586CF Lote 324412	Lote 1	0,56	0,39–1,05	0,50	37,3
	Lote 2	0,78	0,49–1,80	1,00	35,8
	Lote 3	0,52	0,37–0,98	0,50	37,5
	Lote 1–3	0,61	0,48–0,86	1,00	36,0

Tabela 13 Resumo dos LoD para o Influenza B

Estirpe viral	Lote do kit	Probit a 95% [TCID ₅₀ /ml]	IC de 95% de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Taxa de positividade ≥ 95% [TCID ₅₀ /ml]	Ct médio a ≥ taxa de positividade de 95%
B/Colorado/06/17 (linhagem Victoria) N.º Ref. 0810573CF Lote 323459	Lote 1	0,022	0,015–0,043	0,026	36,0
	Lote 2	0,020	0,013–0,045	0,026	35,6
	Lote 3	0,017	0,012–0,034	0,013	37,0
	Lote 1–3	0,020	0,015–0,028	0,026	35,9
B/Phuket/3073/13 (linhagem Yamagata) N.º Ref. 0810515CF Lote 324397	Lote 1	0,010	0,0062–0,022	0,010	36,1
	Lote 2	0,0054	0,0036–0,011	0,010	36,7
	Lote 3	0,0079	0,0052–0,017	0,010	36,5
	Lote 1–3	0,0077	0,0059–0,011	0,010	36,4

Tabela 14 Resumo dos LoD para o RSV

Estirpe viral	Lote do kit	Probit a 95% [TCID ₅₀ /ml]	IC de 95% de Probit [TCID ₅₀ /ml]	Taxa de positividade ≥ 95% [TCID ₅₀ /ml]	Ct médio a ≥ taxa de positividade de 95%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A) N.º Ref. 0810474CF Lote 317572 (sub-lote: 526637)	Lote 1	0,074	0,046–0,18	0,080	36,2
	Lote 2	0,11	0,067–0,28	0,080	36,5
	Lote 3	0,073	0,048–0,15	0,080	36,0
	Lote 1–3	0,085	0,063–0,13	0,080	36,2
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B) N.º Ref. 0810480CF Lote 318797 (sub-lote: 531071)	Lote 1	0,015	0,0098–0,033	0,020	36,8
	Lote 2	0,019	0,012–0,046	0,020	36,3
	Lote 3	0,014	0,0088–0,034	0,010	37,6
	Lote 1–3	0,016	0,012–0,024	0,020	36,5

Precisão – intralaboratorial

A precisão interna foi examinada utilizando 6 vírus de cultura – 2 do influenza A, 2 do influenza B e 2 do RSV – que foram diluídos em série numa matriz clínica simulada para criar 2 painéis de alvos co-formulados. Fontes de variabilidade foram examinadas com 2 painéis compostos por 3 níveis de concentração de aproximadamente 0,3 ×, 1 × e 3 × do LoD do cobas® Influenza A/B & RSV UC. Todos os membros do painel negativo tiveram resultados negativos ao longo do estudo.

Os testes foram efetuados para os seguintes componentes de variabilidade:

- variabilidade dia-a-dia durante 12 dias
- variabilidade de corrida-a-corrida
- variabilidade lote-a-lote utilizando 3 lotes de reagente diferentes do cobas® Influenza A/B & RSV UC
- variabilidade equipamento-a-equipamento utilizando 3 cobas® 6800/8800 Systems diferentes por 3 operadores

Foram testadas 24 réplicas com cada um dos 3 membros do painel para cada lote de reagente, para um total de 72 réplicas por alvo para todos os lotes de reagente. Os resultados da precisão foram avaliados calculando a percentagem de resultados de teste reativos a cada nível de concentração para cada um dos componentes de variabilidade analisados.

Foram calculados os limites dos intervalos de confiança bilaterais de 95% de cada taxa de reativos para cada um dos 3 níveis das diferentes estirpes do influenza A, influenza B e RSV, testados ao longo de 12 dias, 3 lotes de reagente e 3 cobas® 6800/8800 Systems/operadores. O cobas® Influenza A/B & RSV UC é reprodutível ao longo de vários dias, vários lotes de reagente e equipamentos/operadores. Os resultados da variabilidade lote-a-lote de reagente estão resumidos na Tabela 15 e Tabela 17.

Tabela 15 Resumo da precisão lote-a-lote de reagentes para o influenza A

Analito	Concentração	Lote de reagente	% de reativos (reativos/ réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança (IC) de 95%	Limite superior do intervalo de confiança (IC) de 95%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	1	83,3% (20/24)	62,6%	95,3%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	2	75,0% (18/24)	53,3%	90,2%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~0,3 × LoD	3	70,8% (17/24)	48,9%	87,4%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	1	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	1	66,7% (16/24)	44,7%	84,4%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	2	75,0% (18/24)	53,3%	90,2%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~0,3 × LoD	3	62,5% (15/24)	40,6%	81,2%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	1	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	2	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%

Tabela 16 Resumo da precisão lote-a-lote de reagentes para o influenza B

Analito	Concentração	Lote de reagente	% de reativos (reativos/ réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança (IC) de 95%	Limite superior do intervalo de confiança (IC) de 95%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~0,3 × LoD	1	79,2% (19/24)	57,8%	92,9%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~0,3 × LoD	2	83,3% (20/24)	62,6%	95,3%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~0,3 × LoD	3	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~1 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~1 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~0,3 × LoD	1	75,0% (18/24)	53,3%	90,2%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~0,3 × LoD	2	83,3% (20/24)	62,6%	95,3%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~0,3 × LoD	3	79,2% (19/24)	57,8%	92,9%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~1 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~1 × LoD	2	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
B/Phuket/3073/2013 (linhagem Yamagata)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%

Tabela 17 Resumo da precisão lote-a-lote de reagentes para o RSV

Analito	Concentração	Lote de reagente	% de reativos (reativos/ réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança (IC) de 95%	Limite superior do intervalo de confiança (IC) de 95%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~0,3 × LoD	1	75,0% (18/24)	53,3%	90,2%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~0,3 × LoD	2	75,0% (18/24)	53,3%	90,2%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~0,3 × LoD	3	83,3% (20/24)	62,6%	95,3%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~1 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~1 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
2/2015 Isolado n.º 2 (Tipo A)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~0,3 × LoD	1	79,2% (19/24)	57,8%	92,9%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~0,3 × LoD	2	66,7% (16/24)	44,7%	84,4%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~0,3 × LoD	3	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~1 × LoD	1	91,7% (22/24)	73,0%	99,0%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~1 × LoD	2	95,8% (23/24)	78,9%	99,9%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~1 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~3 × LoD	1	100% (24/24)	85,8%	100%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~3 × LoD	2	100% (24/24)	85,8%	100%
3/2015 Isolado n.º 2 (Tipo B)	~3 × LoD	3	100% (24/24)	85,8%	100%

Inclusividade

A inclusividade do cobas® Influenza A/B & RSV UC para a detecção do influenza A, influenza B e RSV foi confirmada testando 10 estripes do influenza A, 5 do influenza B e 9 do RSV. As concentrações mais baixas de analito alvo a que todas as 4 réplicas testadas foram positivas, estão indicadas na Tabela 18.

Tabela 18 Resumo da inclusividade

Alvo viral	Estirpe	Número de referência	Número de lote	Concentração mais baixa detetada
Influenza A	A/Canada/6294/09 (H1N1)	0810109CFJ	306161 (sub-lote: 511440)	0,010 TCID ₅₀ /ml
	A/California/07/09 (H1N1)	0810165CF	325194	0,055 TCID ₅₀ /ml
	A/Mexico/4108/09 (H1N1)	0810166CF	313217 (sub-lote: 514161)	0,0079 TCID ₅₀ /ml
	A/Singapore/63/04 (H1N1)	0810246CF	313221 (sub-lote: 514205)	2,72 TCID ₅₀ /ml
	A/Michigan/45/15 (H1N1)	0810538CF	321053 (sub-lote: 533618)	0,056 TCID ₅₀ /ml
	A/Texas/50/12 (H3N2)	0810238CF	325079	0,20 TCID ₅₀ /ml
	A/Perth/16/09 (H3N2)	0810251CF	325143	0,0072 TCID ₅₀ /ml
	A/Wisconsin/67/05 (H3N2)	0810252CF	325407	0,098 TCID ₅₀ /ml
	A/Switzerland/9715293/13 (H3N2)	0810511CF	325276	0,018 TCID ₅₀ /ml
	A/Hong Kong/4801/14 (H3N2)	0810526CF	325191	0,095 TCID ₅₀ /ml
Influenza B	B/Florida/78/2015 (linhagem Victoria)	VR-1931	70020870	0,23 TCID ₅₀ /ml
	B/Brisbane/60/08 (linhagem Victoria)	0810254CF	313257 (sub-lote: 513438)	0,0029 TCID ₅₀ /ml
	B/Alabama/2/17 (linhagem Victoria)	0810572CF	322548	0,022 TCID ₅₀ /ml
	B/Wisconsin/1/2010 (linhagem Yamagata)	VR-1883	70012127	0,20 CEID ₅₀ /ml
	B/Utah/9/14 (linhagem Yamagata)	0810516CF	323752	0,0039 TCID ₅₀ /ml
RSV	Longo (Tipo A)	VR-26PQ	70024412	0,79 TCID ₅₀ /ml
	2/2015 Isolado n.º 3 (Tipo A)	0810475CF	317870 (529910)	0,26 TCID ₅₀ /ml
	4/2015 Isolado n.º 1 (Tipo A)	0810481CF	322739 (534595)	0,058 TCID ₅₀ /ml
	ATCC-2012-10 (tipo B)	VR-1794	61635142	0,045 TCID ₅₀ /ml
	18537 (tipo B)	VR-1580PQ	70025292	2,49 TCID ₅₀ /ml
	9320 (tipo B)	VR-955	70030486	3,25 TCID ₅₀ /ml
	12/2014 Isolado n.º 1 (Tipo B)	0810450CF	318798 (531073)	0,0054 TCID ₅₀ /ml
	3/2015 Isolado n.º 1 (Tipo B)	0810479CF	325279	0,049 TCID ₅₀ /ml
	11/2014 Isolado n.º 2 (Tipo B)	0810451CF	318796 (531072)	0,036 TCID ₅₀ /ml

Especificidade analítica (reatividade cruzada e interferência de origem microbiana)

Para avaliar a especificidade analítica, um painel de 44 vírus, bactérias e fungos (incluindo os normalmente encontrados no trato respiratório) foi testado com o cobas® Influenza A/B & RSV UC. Os microrganismos indicados na Tabela 19 foram adicionados a concentrações de 1×10^5 unidades/ml para os vírus e 1×10^6 unidades/ml para os outros organismos, salvo indicação em contrário. Foram executados testes com cada organismo potencialmente interferente na ausência e na presença de alvos do influenza A, influenza B e RSV (adicionados coformulados a $\sim 3 \times$ o LoD – 0,060, 0,057 e 0,23 TCID₅₀/ml, respetivamente). Nenhum dos microrganismos interferiu com o desempenho do teste gerando resultados falsos positivos. A detecção de alvos do Influenza A, Influenza B e RSV não foi afetada na presença dos organismos testados. Foi avaliada *in silico* a potencial reatividade cruzada do Influenza C, *Leptospira interrogans*, *Chlamydia psittaci*, *Bacillus anthracis* e *Coxiella burnetii*. Com base em análises *in silico*, os organismos selecionados são altamente improváveis de interferir com o desempenho do cobas® Influenza A/B & RSV UC.

Tabela 19 Microrganismos testados relativamente a especificidade analítica/reatividade cruzada

Microrganismo	Concentração
Adenovírus	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	7,9E+04 TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,0E+06 CFU/ml
Citomegalovírus	1,0E+05 UI/ml
Vírus de Epstein Barr	1,0E+05 cp/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus do herpes simples tipo I	1,0E+05 cp/ml
Vírus do herpes simples tipo II	1,0E+05 cp/ml
Coronavírus humano 229E	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Coronavírus humano HKU1	1,0E+05 genoma cp/ml
Coronavírus humano NL63	2,5E+04 TCID ₅₀ /ml
Coronavírus humano OC43	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Enterovírus humano	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Metapneumovírus humano	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Rinovírus humano	1,0E+05 PFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella longbeachae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus do sarampo	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml

Microrganismo	Concentração
Coronavírus MERS	1,0E+05 cp/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus da parotidite infecciosa	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CCU/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus parainfluenza 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Vírus parainfluenza 2	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Vírus parainfluenza 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Vírus parainfluenza 4	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
Parechovirus	1,0E+05 U/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5,0E+03 organismos/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
Coronavírus SARS	1,0E+05 PFU/ml
SARS-CoV-2 (inativado pelo calor)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
Vírus da varicela-zoster	1,0E+05 cp/ml

Substâncias interferentes

Foi avaliado o efeito de substâncias exógenas que podem ser segregadas em amostras respiratórias (Tabela 20). Foram testadas todas as substâncias potencialmente interferentes a níveis iguais ou acima dos clinicamente relevantes em matriz clínica simulada negativa estabilizada em UTM™ na ausência e na presença de alvos do influenza A, influenza B e RSV (adicionados coformulados a $\sim 3 \times \text{LoD}$ – 0,060, 0,057 e 0,23 TCID₅₀/ml, respetivamente).

Nenhuma das substâncias interferiu com o desempenho do teste gerando resultados falsos negativos ou falsos positivos. Nenhuma das substâncias interferiu com o desempenho do teste gerando resultados inválidos.

Tabela 20 Lista de substâncias exógenas testadas relativamente a interferência

Substância	Concentração
Oximetazolina	0,011 mg/ml
Budesonida	0,039 mg/ml
Propionato de fluticasona	0,167 mg/ml
Luffa operculata, Thryallis glauca	2,14 mg/ml
Histaminum, enxofre	1,072 mg/ml
Benzocaína	5,0 mg/ml
Mentol	1,2 mg/ml
Glicerina	10,31 mg/ml
Fenol	0,47 mg/ml
Lidocaína	2,68 mg/ml
Mupirocina	0,2 mg/ml
Zanamivir	0,0015 mg/ml
Oseltamivir	0,0073 mg/ml
Tobramicina	0,018 mg/ml

Adicionalmente, foi testada a FluMist® Quadrivalent, uma vacina viva quadrivalente para administração por spray intranasal, contendo duas estripes do vírus da vacina contra o Influenza A e outras duas contra o Influenza B (Tabela 21) em matriz clínica simulada negativa estabilizada em UTM™ na ausência e na presença de alvos do Influenza A, Influenza B e RSV (adicionados coformulados a $\sim 3 \times \text{LoD}$ – 0,060, 0,057 e 0,23 TCID₅₀/ml, respetivamente). Conforme previsto, o cobas® Influenza A/B & RSV UC, ao testar somente a FluMist® Quadrivalent, gerou resultados positivos para os alvos do Influenza A e do Influenza B e resultados negativos para os alvos do RSV, e gerou resultados todos positivos para os alvos dos influenza A, influenza B e RSV quando suplementarmente adicionados com níveis baixos dos influenza A, influenza B e RSV coformulados.

Tabela 21 FluMist® Quadrivalent testada relativamente a interferência

Produto	Substância	Concentração
FluMist® Quadrivalent (vacina viva contra Influenza, intranasal)	Vírus da gripe A A/Hawaii/6 6/20 19 (H1N1) vivo antígeno (atenuado)	1336620,81 ffu/ml
	Vírus da gripe A A/Hong Kong/26 71/20 19 (H3N2) vivo antígeno (atenuado)	
	Vírus da gripe B B/Phuket/30 73/20 13 vivo antígeno (atenuado)	
	Vírus da gripe B B/Washington/0 2/20 19 vivo antígeno (atenuado)	

Foram testadas, relativamente a interferência, substâncias endógenas que podem estar presentes em amostras respiratórias (Tabela 22). Foram testadas todas as substâncias potencialmente interferentes a níveis iguais ou acima dos clinicamente relevantes em matriz clínica simulada negativa estabilizada em UTM™ na ausência e na presença de alvos do influenza A, influenza B e RSV (adicionados coformulados a $\sim 3 \times \text{LoD} - 0,060, 0,057$ e $0,23 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$, respetivamente).

As substâncias endógenas testadas mostraram não interferir com o desempenho do teste a níveis iguais ou acima dos clinicamente relevantes, com exceção da mucina, que mostrou interferir a nível acima do relevante medicamento (0,4%).¹⁸ No entanto, não foi observada interferência com concentrações de mucina abaixo do relevante medicamento (Tabela 22).

Tabela 22 Lista de substâncias endógenas testadas relativamente a interferência

Substância	Concentração sem interferência
Mucina	0,3% (p/v)
Sangue total humano	3,0% (v/v)

Co-infecção (interferência competitiva)

Para avaliar a potencial interferência competitiva entre amostras do Influenza A, do Influenza B e do RSV, foram testadas amostras em réplicas de 5, em que concentrações baixas (aproximadamente $3 \times \text{LoD}$) de dois alvos foram misturadas com concentrações muito altas ($1,0\text{E}+05 \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$) do terceiro alvo. Nenhum dos alvos presentes a concentração muito alta interferiu com a deteção dos níveis baixos dos outros dois alvos.

Falha global do sistema

A taxa de falha global do sistema foi avaliada testando 100 amostras de matriz clínica simulada co-adicionada com uma estripe do influenza A (A/Brisbane/02/2018 (H1N1)), uma estripe do influenza B (B/Colorado/06/2017 (linhagem Victoria)) e uma estripe do RSV (2/2015 Isolado n.º 2 (tipo A)) para uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do alvo respetivo. Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o Influenza A,

o Influenza B e o RSV, originando uma taxa de falha global do sistema de 0%, com um intervalo de confiança de 95% superior unilateral de 3,0%.

Avaliação do desempenho clínico

O desempenho do cobas® Influenza A/B & RSV UC foi avaliado em comparação com o cobas® Influenza A/B & RSV num laboratório externo utilizando amostras arquivadas de exsudados nasofaríngeos (NPS) de pacientes com indícios e sintomas de uma infecção respiratória, colhidas em UTM® ou em UVT. As amostras clínicas foram colhidas por técnicos qualificados, de acordo com o folheto informativo do dispositivo de colheita.

O estudo de avaliação clínico incluiu um total de 377 amostras de NPS com resultados válidos.

Conforme indicado na Tabela 23, o cobas® Influenza A/B & RSV UC demonstrou alta percentagem de concordância com o teste comparador para a deteção dos influenza A, influenza B e RSV.

Tabela 23 Comparação do cobas® Influenza A/B & RSV UC com o cobas® Influenza A/B & RSV para utilização no cobas® Liat® System

Vírus	Número de amostras	Resultados do teste				Estatísticas de concordâncias		
		Concordância de positivos (N)	Discordância de positivos (N)	Concordância de negativos (N)	Discordância de negativos (N)	Parâmetro de concordância	Concordância na percentagem (%)	IC de 95% (LCI, LCS)*
Influenza A	377	91	6	280	0	CPP	100,0%	(95,9%, 100,0%)
						CPN	97,9%	(95,5%, 99,0%)
Influenza B	377	85	4	287	1	CPP	98,8%	(93,7%, 99,8%)
						CPN	98,6%	(96,5%, 99,5%)
RSV	377	98	2	277	0	CPP	100,0%	(96,2%, 100,0%)
						CPN	99,3%	(97,4%, 99,8%)

CPP = concordância na percentagem de positivos

CPN = concordância na percentagem de negativos

IC = Intervalo de confiança, LCI = Limite de confiança inferior, LCS = Limite de confiança superior

* O Intervalo de confiança é calculado utilizando o método Wilson's Score

Foram observados resultados discordantes entre o teste cobas® Influenza A/B & RSV UC e o método comparador em 13 amostras. Em 12 destas amostras, o cobas® Influenza A/B & RSV UC detetou mais 6 vírus influenza A, mais 4 vírus influenza B e mais 2 amostras positivas de RSV, quando comparado com o cobas® Influenza A/B & RSV para utilização no cobas® Liat® System. Com exceção de uma amostra, todas essas amostras tinham um valor de Ct perto ou abaixo do LoD do respetivo agente patogénico. A análise pós-PCR dos amplicons destas amostras positivas discordantes confirmaram a presença do influenza A, do influenza B e do RSV, respetivamente. Uma das 13 amostras foi positiva apenas pelo teste comparador. Testes adicionais mostraram positividade para o influenza B tanto pelo teste cobas® Influenza A/B & RSV UC como pelo teste comparador, com valores de Ct perto do LoD de ambos os testes.

Informações adicionais

Características principais do teste





















































Tipo de amostra	Amostras de exsudados nasofaríngeos colhidas no Copan UTM-RT® System ou no BD™ UVT System, ou equivalente
Quantidade de amostra mínima necessária	0,6 ml*
Volume de processamento de amostras	0,4 ml
Duração do teste	Os resultados ficam disponíveis em menos de 3,5 horas após o carregamento da amostra no sistema.

* Volume morto de 0,2 ml identificado para os tubos Secundários **cobas omni**. Outros tubos compatíveis com o **cobas**® 6800/8800 Systems (consultar o Guia de Assistência ao Utilizador) podem ter um volume morto diferente e necessitar de mais ou menos volume mínimo.

Símbolos

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

Tabela 24 Símbolos utilizados em etiquetas 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	 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.	

Assistência técnica

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 25 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://www.roche-diagnostics.us/patents>

Direitos de autor

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Infect Dis.* 2018;18:1191-210. PMID: 30243584.
2. Forum of International Respiratory Societies. The Global Impact of Respiratory Disease – Second Edition. Sheffield, European Respiratory Society. 2017. Accessed: 17 June 2021. https://www.who.int/gard/publications/The_Global_Impact_of_Respiratory_Disease.pdf.
3. Ghebrehewet S, MacPherson P, Ho A. Influenza. *BMJ.* 2016;355:i6258. PMID: 27927672.
4. Recommendations for Prevention and Control of Influenza in Children, 2018-2019. *Pediatrics.* 2018;142. PMID: 30177511.
5. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet.* 2017;390:946-58. PMID: 28689664.
6. Heikkinen T, Ojala E, Waris M. Clinical and Socioeconomic Burden of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children. *J Infect Dis.* 2017;215:17-23. PMID: 27738052.
7. Smith DK, Seales S, Budzik C. Respiratory Syncytial Virus Bronchiolitis in Children. *Am Fam Physician.* 2017;95:94-9. PMID: 28084708.
8. Ackerson B, Tseng HF, Sy LS, et al. Severe Morbidity and Mortality Associated With Respiratory Syncytial Virus Versus Influenza Infection in Hospitalized Older Adults. *Clin Infect Dis.* 2019;69:197-203. PMID: 30452608.
9. Uyeki TM, Bernstein HH, Bradley JS, et al. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 Update on Diagnosis, Treatment, Chemoprophylaxis, and Institutional Outbreak Management of Seasonal Influenza. *Clin Infect Dis.* 2019;68:895-902. PMID: 30834445.
10. Bloom-Feshbach K, Alonso WJ, Charu V, et al. Latitudinal variations in seasonal activity of influenza and respiratory syncytial virus (RSV): a global comparative review. *PLoS One.* 2013;8:e54445. PMID: 23457451.
11. Chartrand C, Tremblay N, Renaud C, Papenburg J. Diagnostic Accuracy of Rapid Antigen Detection Tests for Respiratory Syncytial Virus Infection: Systematic Review and Meta-analysis. *J Clin Microbiol.* 2015;53:3738-49. PMID: 26354816.
12. Merckx J, Wali R, Schiller I, et al. Diagnostic Accuracy of Novel and Traditional Rapid Tests for Influenza Infection Compared With Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ann Intern Med.* 2017;167:394-409. PMID: 28869986.
13. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S, et al. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clin Infect Dis.* 2018;67:e1-e94. PMID: 29955859.
14. Azar MM, Landry ML. Detection of Influenza A and B Viruses and Respiratory Syncytial Virus by Use of Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA)-Waived Point-of-Care Assays: a Paradigm Shift to Molecular Tests. *J Clin Microbiol.* 2018;56. PMID: 29695519.

15. Vos LM, Bruning AHL, Reitsma JB, et al. Rapid Molecular Tests for Influenza, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses: A Systematic Review of Diagnostic Accuracy and Clinical Impact Studies. *Clin Infect Dis*. 2019;69:1243-53. PMID: 30689772.
16. 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.
17. 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.
18. Bose ME, McCaul KC, Mei H, et al. Simulated Respiratory Secretion for Use in the Development of Influenza Diagnostic Assays. *PLoS One*. 2016;11:e0166800. PMID: 27870895.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 1.0 06/2021	Primeira publicação.
Doc Rev. 2.0 11/2021	Alteração do nome de FluAB_RSV USAP para UC_FluAB_RSV. Atualizada a página de símbolos harmonizados. Atualização para os atuais Operadores Económicos. Se tiver quaisquer questões, contacte o representante local da Roche.