



Rx Only

cobas[®] SARS-CoV-2

Teste qualitativo para utilização no cobas[®] 6800/8800 Systems

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] SARS-CoV-2 - 192T

P/N: 09175431190

cobas[®] SARS-CoV-2 - 480T

P/N: 09343733190

cobas[®] SARS-CoV-2 Control Kit

P/N: 09175440190

cobas[®] 6800/8800 Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	6
Reagentes e controlos do cobas ® SARS-CoV-2	6
Reagentes cobas omni para preparação da amostra.....	8
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes	9
Materiais adicionais necessários.....	10
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.....	14
Colheita de amostras.....	14
Colheita de amostra de exsudado nasal (das narinas anteriores) – colhida por zaragatoa pelo médico ou pelo próprio paciente <i>in loco</i>	15
Transporte e armazenamento	16
Instruções de utilização	17
Notas do procedimento	17
Execução do cobas ® SARS-CoV-2.....	17
Amostras colhidas no cobas ® PCR Media, soro fisiológico a 0,9%, UTM-RT ou UVT	17
Amostras colhidas utilizando o cobas ® PCR Media Uni ou Dual Swab Sample Kit, ou o cobas ® PCR Media juntamente com o cobas ® Uni Swab 100 Kit	18
Pooling de amostra para o teste do SARS-CoV-2	19
Métodos de pooling.....	19
Relatórios de pool e testes de seguimento	20
cobas ® SARS-CoV-2 procedimento	21

Resultados	22
Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	22
Interpretação dos resultados.....	23
cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.2.....	23
cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.3 ou superior	23
Interpretação dos resultados.....	24
Limitações do procedimento	26
Utilização do pooling com base na prevalência.....	27
Avaliação do desempenho não clínico	28
Características principais do desempenho.....	28
Sensibilidade analítica	28
Reatividade cruzada.....	29
Equivalência do tipo de amostra.....	32
Equivalência de matrizes – UTM-RT e cobas® PCR Media	32
Equivalência de matrizes – UTM-RT e soro fisiológico a 0,9%	33
Desempenho em pools de amostras.....	34
Avaliação do desempenho clínico	36
Desempenho clínico com amostras de indivíduos suspeitos de terem COVID-19	37
Desempenho clínico com amostras de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19	38
Informações adicionais	39
Características principais do teste.....	39
Símbolos	40
Assistência técnica.....	42
Fabricante e distribuidores.....	42
Marcas comerciais e patentes	42
Direitos de autor.....	42
Bibliografia	43
Revisão do documento	44

Utilização prevista

O cobas® SARS-CoV-2 para utilização com os cobas® 6800/8800 Systems é um teste de RT-PCR em tempo real, destinado à deteção qualitativa de ácidos nucleicos do SARS-CoV-2 em amostras de exsudados nasais (das narinas anteriores) colhidos com zaragatoa pelo próprio paciente (colhidos no local) seguindo as instruções de um profissional de saúde, e em amostras de exsudados nasais, nasofaríngeos e orofaríngeos colhidas por um profissional de saúde de quaisquer indivíduos, incluindo indivíduos dos quais os respetivos prestadores de cuidados de saúde suspeitam de terem COVID-19 e de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19.

Este teste destina-se também à deteção qualitativa de ácidos nucleicos do SARS-CoV-2 de amostras em pool que contenham até, inclusive seis amostras individuais de amostras de exsudados nasais colhidas em zaragatoa pelo próprio seguindo as instruções de um profissional de saúde (colhidos *in loco*), ou amostras de exsudados nasais, nasofaríngeos ou orofaríngeos colhidos por um profissional de saúde. Os resultados negativos de amostras em pool devem ser tratados como presumíveis e, se forem inconsistentes com sinais e sintomas clínicos ou necessário para a gestão de pacientes, as amostras em pool devem ser testadas individualmente. As amostras incluídas em pools com um resultado positivo ou presumível positivo têm de ser testadas individualmente antes de se reportar um resultado. As amostras com baixas concentrações de ARN do SARS-CoV-2 poderão não ser detetadas em pools de amostras devido à diminuição de sensibilidade dos testes em pool.

Os resultados são para a deteção de ARN do SARS-CoV-2. O ARN do SARS-CoV-2 é geralmente detetável em amostras das vias respiratórias durante a fase aguda da infeção. Resultados positivos são indicadores de deteção de ARN do SARS-CoV-2, mas podem não representar a presença de ARN do SARS-CoV-2; para determinar o estado de infeção do paciente, é necessária a correlação clínica com o histórico do paciente e outras informações de diagnóstico. Resultados positivos não excluem a infeção bacteriana ou a co-infeção com outros vírus.

Os resultados negativos não excluem a infeção pelo SARS-CoV-2 e não devem ser usados como a única base para decisões de gestão do paciente. Os resultados negativos têm de ser combinados com observações clínicas, histórico do paciente e informações epidemiológicas.

O cobas® SARS-CoV-2 destina-se a ser utilizado por técnicos de laboratórios clínicos com formação e instrução específica sobre técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

Resumo e explicação do teste

Explicação do teste

O cobas® SARS-CoV-2 é um teste qualitativo para utilização no cobas® 6800 System e no cobas® 8800 System para a deteção de ARN do novo coronavírus 2019 (SARS-CoV-2) em amostras de zaragatoas com exsudados nasais, nasofaríngeos e orofaríngeos, individuais ou em pool, colhidas em Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport System (UVT), cobas® PCR Media ou em soro fisiológico a 0,9%.

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® SARS-CoV-2 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 cobas® 6800/8800, que atribui um resultados 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® SARS-CoV-2.

A amplificação seletiva dos ácidos nucleicos alvo a partir da amostra é conseguida pela utilização de primers senso e antissenso específicos do alvo para a região não estrutural ORF1 a/b, que é exclusiva do SARS-CoV-2. Adicionalmente, uma região conservada do gene E da proteína estrutural de envelope, foi escolhida para a detecção do pan-Sarbecovirus. Os conjuntos de detecção pan-Sarbecovirus irão igualmente detetar o vírus SARS-CoV-2.

A amplificação seletiva do Controlo Interno de ARN é conseguida através da utilização de primers senso e antissenso específicos de uma sequência não-competitiva que não têm qualquer homologia com o genoma do coronavírus. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação.

A mistura principal do cobas® SARS-CoV-2 contém sondas de detecção específicas para o tipo de coronavírus SARS-CoV-2, para membros do subgénero Sarbecovirus e para o ácido nucleico do Controlo Interno de ARN. As sondas de detecção do coronavírus e do Controlo Interno de ARN estão marcadas com corantes fluorescentes únicos, 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 detecção e discriminação simultânea do alvo amplificado do coronavírus 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® SARS-CoV-2 encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 7, Tabela 8 e na Tabela 9.

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

Reagentes e controlos do cobas® SARS-CoV-2

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

Tabela 1 cobas® SARS-CoV-2

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	
		192 testes	480 testes
cobas® SARS-CoV-2 Conservar entre 2 e 8 °C Cassete de 192 testes (P/N 09175431190) Cassete de 480 testes (P/N 09343733190)			
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase, glicerol EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina. Pode desencadear uma reação alérgica.	22,3 ml	38 ml
Controlo interno de ARN (RNA IC)	Tampão Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% padrão de quantificação de armored ARN sem Sarbecovirus contendo regiões de sequências específicas de primer e sondas (ARN não infeccioso em bacteriófago MS2), < 0,1% de azida sódica	21,2 ml	38 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml	38 ml
Reagente 1 da Mistura Principal (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida sódica	7,5 ml	14,5 ml
Reagente 2 da Mistura Principal SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 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 antissenso do SARS-CoV-2 e do Sarbecovirus, < 0,01% primers senso e antissenso do Controlo Interno, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do SARS-CoV-2, Sarbecovirus e do Controlo Interno de ARN < 0,01% aptâmero oligonucleotídico, < 0,1% de polimerase do ADN Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida sódica	9,7 ml	17,5 ml

Tabela 2 cobas® SARS-CoV-2 Control Kit

cobas® SARS-CoV-2 Control Kit		
Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 09175440190)		
Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit
Controlo Positivo de SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 (+)C)	Tampão Tris, < 0,05% de azida sódica, < 0,005% EDTA, < 0,003% Poly rA, < 0,01% ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo a sequência SARS-CoV-2, < 0,01% ADN de plasmídeo não infeccioso (de origem microbiana) contendo a sequência pan-Sarbecovirus	16 ml (16 × 1 ml)

Tabela 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit		
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 4 Reagentes **cobas omni** para preparação da amostra

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade e 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 ditiotreitól***, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação. H314: Provoca queimaduras graves e lesões oculares. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. 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. 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®** SARS-CoV-2. 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® SARS-CoV-2 – 192T	2 a 8 °C
cobas® SARS-CoV-2 – 480T	2 a 8 °C
cobas® SARS-CoV-2 Control 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

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 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 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® SARS-CoV-2 – 192T	Data não ultrapassada ¹	90 dias desde a primeira utilização ¹	Máx. 40 corridas ¹	Máx. 40 horas ¹
cobas® SARS-CoV-2 – 480T	Data não ultrapassada ¹	90 dias desde a primeira utilização ¹	Máx. 20 corridas ¹	Máx. 20 horas ¹
cobas® SARS-CoV-2 Control Kit	Data não ultrapassada ¹	Não aplicável ²	Não aplicável	Máx. 8 horas ¹
cobas® Buffer Negative Control Kit	Data não ultrapassada	Não aplicável ²	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento ³	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni MGP Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento ³	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento ³	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Wash Reagent	Data não ultrapassada	30 dias desde o carregamento ³	Não aplicável	Não aplicável

¹ O desempenho não foi determinado para ciclos e tempo de utilização recomendados, mas baseia-se em reagentes similares utilizados no mesmo sistema.

² Reagentes de utilização única.

³ 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
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
Tubos secundários 13×75 cobas omni (opcional)	06438776001
cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (opcional)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050*. **	03143449001
RD5 RACK – rack RD padrão 0001-0050 LR*. **	11902997001

* Para utilizar o **cobas®** SARS-CoV-2 são necessárias racks MPA de 16 mm e RD5. Contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks de pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

** A rack MPA de 16 mm é a rack indicada para utilização com tubos **cobas®** PCR Media. Se forem utilizadas racks RD5, os tubos de amostra devem ser cheios com um volume de entrada de amostra não inferior ao mínimo recomendado. Os tubos ficam alojados numa posição superior na rack RD5 por causa da junta de borracha no fundo da posição de cada tubo. Por conseguinte, é possível que ao utilizar racks RD5, o sistema possa aceitar tubos com um volume de entrada de amostra inferior ao mínimo, causando posteriormente erros de pipetagem durante a corrida.

Tabela 8 Kits alternativos de colheita de amostras utilizados com o **cobas®** SARS-CoV-2

Kit de colheita	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit	07958021190
Kit de 100 tubos cobas® PCR Media	06466281190
cobas® Uni Swab 100 Kit	09205098190

Equipamentos e software necessários

O software **cobas**® 6800/8800 e o pacote de análise **cobas**® SARS-CoV-2 terão de ser 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
Gateway do equipamento	06349595001

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

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks de 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.

- Para diagnóstico *in vitro*.
- Resultados positivos são indicativos da presença de ARN do SARS-CoV-2.
- Todas as amostras de pacientes devem ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas laboratoriais, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.^{1,2} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do **cobas**® SARS-CoV-2 e dos **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.
- **Algumas amostras positivas poderão não ser detetadas quando diluídas e testadas em pools.** A concentração de ARN do SARS-CoV-2 é reduzida quando uma amostra positiva é colocada em pool com outras amostras e a redução corresponde inversamente ao tamanho do pool. Por exemplo, se houver apenas uma amostra positiva num pool de 6, a concentração na amostra original teria de ser 6 vezes o limite de deteção do ensaio para que a concentração no pool esteja no limite de deteção.

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.

- O kit **cobas**® SARS-CoV-2, o **cobas**® SARS-CoV-2 Positive Control 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 a contaminação, as luvas têm de ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento dos **cobas**® SARS-CoV-2 kits, **cobas**® SARS-CoV-2 Control kit, **cobas**® Buffer Negative Control kit e de 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 controles tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.

Colheita de amostras

Consultando a tabela a seguir, certifique-se de que é utilizado o dispositivo de colheita correto com o tipo de amostra apropriado:

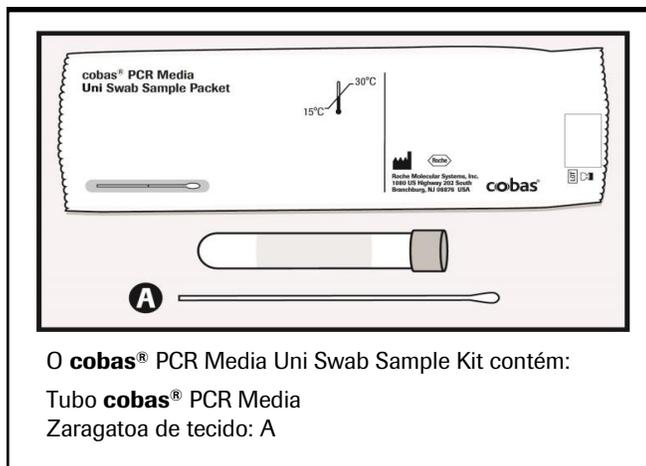
Tabela 10 Panorâmica de dispositivos de colheita e tipos de amostra

Dispositivo de colheita	Tipo de Amostra		
	Nasofaríngea	Orofaríngea	Nasal
Copan Universal Transport Media (UTM-RT)	√	√	√
BD™ Universal Viral Transport (UVT)	√	√	√
cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit			√
cobas ® Uni Swab 100 Kit			√
cobas ® PCR Media Dual Swab Sample Kit			√
cobas ® PCR Media Kit (e kit de 100 tubos de PCR Media)			√
Soro fisiológico a 0,9%			√

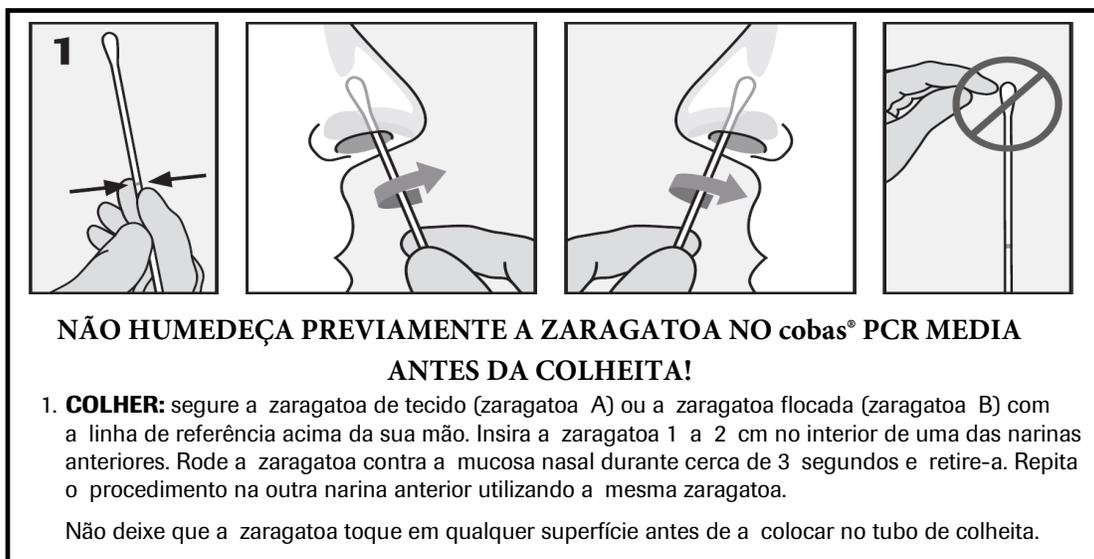
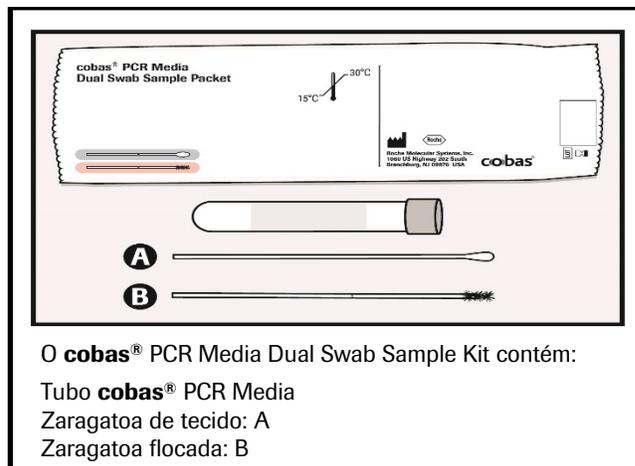
- Efetue a colheita de amostras nasais, nasofaríngeas e orofaríngeas de acordo com as técnicas padrão de colheita, utilizando zaragatoas flocadas ou com pontas de poliéster, e coloque-as imediatamente em 3 ml de Copan Universal Transport Medium (UTM-RT) ou BD™ Universal Viral Transport (UVT).
- Efetue a colheita de amostras nasais de acordo com as técnicas padrão de colheita, utilizando zaragatoas flocadas ou com pontas de poliéster, e coloque-as imediatamente num tubo de **cobas**® PCR Media do **cobas**® PCR Media Kit (P/N 06466281190).
- Efetue a colheita de amostras nasais utilizando o **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit (P/N 07958030190) ou o **cobas**® PCR Media Dual Swab Sample Kit (P/N 07958021190) de acordo com as instruções indicadas a seguir.
- Consulte as instruções de utilização dos dispositivos de colheita para informações sobre riscos.

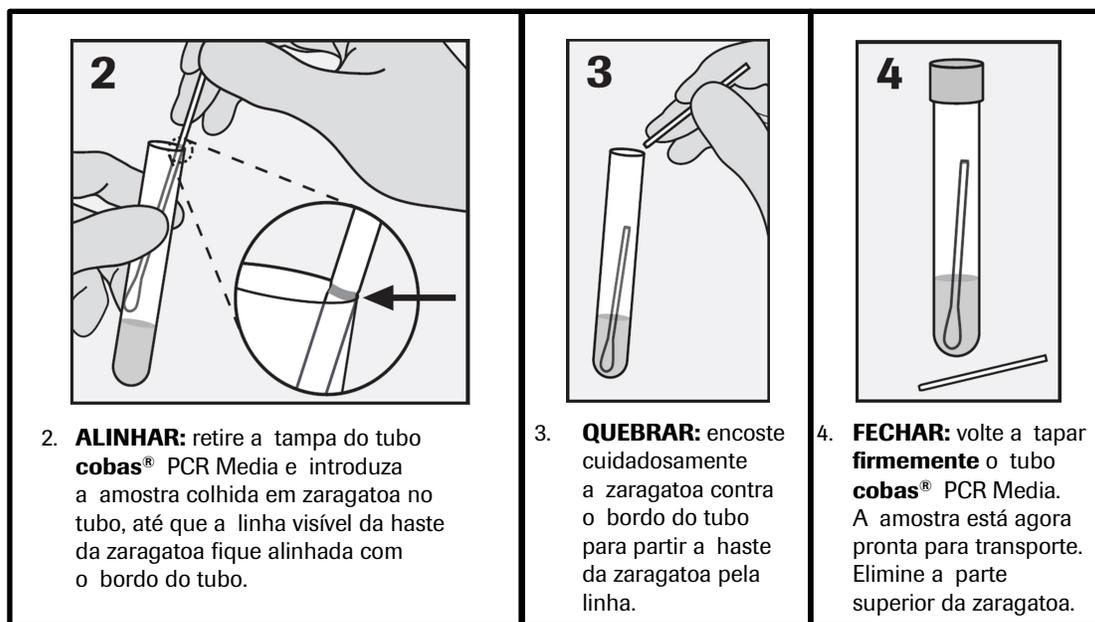
Colheita de amostra de exsudado nasal (das narinas anteriores) – colhida por zaragatoa pelo médico ou pelo próprio paciente *in loco*

ADVERTÊNCIA: NÃO HUMEDEÇA PREVIAMENTE A ZARAGATOA NO cobas® PCR MEDIA ANTES DA COLHEITA!



OU





- Efetue a colheita de amostras nasais de acordo com as técnicas padrão de colheita, utilizando zaragatoas flocadas ou com pontas de poliéster, e coloque-as imediatamente em 3 ml de soro fisiológico a 0,9%.

Transporte e armazenamento

- O transporte de amostras colhidas deve cumprir as regulamentações aplicáveis ao transporte de agentes etiológicos.
- Transporte e armazene as amostras colhidas em **cobas**® PCR Media ou em soro fisiológico a 0,9%, conforme se segue:
 - Após a colheita, as amostras em **cobas**® PCR Media ou em soro fisiológico a 0,9% deverão ser armazenadas entre 2 e 8 °C e processadas no prazo de 48 horas.
- A estabilidade das amostras ao utilizar o **cobas**® SARS-CoV-2 não foi determinada para temperaturas e tempo recomendados, mas baseia-se nos dados de viabilidade de testes de vírus similares nos sistemas UTM-RT ou UVT, conforme indicado abaixo nas Instruções de Utilização do Copan UTM-RT System:
 - Após a colheita, a amostra deve ser conservada entre 2 a 25 °C e processada no prazo de 48 horas.
 - Caso a entrega e o processamento excedam as 48 horas, as amostras devem ser transportadas em gelo seco e, uma vez no laboratório, congeladas a -70 °C ou ainda inferior.

Instruções de utilização

Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do **cobas**® SARS-CoV-2, do **cobas**® SARS-CoV-2 Control Kit, do **cobas**® Buffer 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.
- 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**® SARS-CoV-2

O **cobas**® SARS-CoV-2 pode ser executado com um volume 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), **cobas**® PCR Media ou em soro fisiológico a 0,9%. As amostras colhidas utilizando o **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit ou o **cobas**® PCR Media Dual Swab Sample Kit podem ser executadas no seu tubo de recolha primário, com um volume mínimo de amostra de 1,0 ml.

Amostras colhidas no **cobas**® PCR Media, soro fisiológico a 0,9%, UTM-RT ou UVT

As amostras colhidas em Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT), **cobas**® PCR Media ou soro fisiológico a 0,9% têm de ser transferidas para um tubo secundário **cobas** **omni** antes de serem processadas nos **cobas**® 6800/8800 Systems. As amostras transferidas para os tubos secundários **cobas** **omni** devem ser processadas utilizando a seleção de tipo de amostra “Swab” na interface de utilizador (IU) do **cobas**® SARS-CoV-2, conforme descrito na Tabela 11.

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 principal do tubo de amostra.
- Levante a tampa e qualquer zaragatoa anexada para permitir que uma pipeta seja inserida no tubo de amostra.
- Transfira 0,6 ml para o tubo secundário com código de barras preparado.
- Coloque o tubo secundário na rack. Feche a tampa principal do tubo de amostra.

Amostras colhidas utilizando o cobas® PCR Media Uni ou Dual Swab Sample Kit, ou o cobas® PCR Media juntamente com o cobas® Uni Swab 100 Kit

As amostras colhidas utilizando o cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit ou o cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, ou o cobas® PCR Media juntamente com o cobas® Uni Swab 100 Kit, devem estar sem tampa e podem ser carregadas diretamente em racks para processamento nos cobas® 6800/8800 Systems. Não é necessário transferir para um tubo secundário. Os tubos cobas® PCR Media ficam colocados na MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (P/N 03143449001) e podem ser processados com a zaragatoa que ficou no tubo. As amostras colhidas utilizando o cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit ou o cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit, ou o cobas® PCR Media juntamente com o cobas® Uni Swab 100 Kit, devem ser processadas selecionando o tipo de amostra “cobas® PCR Media swab” na interface de utilizador (IU) do cobas® SARS-CoV-2, conforme descrito na Tabela 11.

Uma amostra colhida adequadamente deverá ter uma única zaragatoa com a haste quebrada pela linha a tracejado. As hastes de zaragatoas que forem quebradas acima da linha a tracejado ficarão mais compridas que o normal e também poderão ser dobradas para caber dentro do tubo de cobas® PCR Media. Isto poderá criar uma obstrução no sistema de pipetagem, o que poderá causar a perda de amostra, de resultados de teste e/ou danos mecânicos no equipamento. Se uma zaragatoa tiver uma haste quebrada incorretamente, remova-a antes do processamento de amostra nos cobas® 6800/8800 Systems. Tome cuidado ao eliminar as zaragatoas; para evitar contaminação, evite derramar ou tocar com as zaragatoas noutras superfícies durante a eliminação.

Amostras em tubos primários cobas® PCR Media, sem zaragatoa ou com duas zaragatoas, não foram colhidas de acordo com as instruções descritas nas IFU dos respetivos kits e não deverão ser testadas. Se a amostra contendo duas zaragatoas nos tubos primários cobas® PCR Media tiver de ser testada, transferir 0,6 ml para dentro do tubo secundário com código de barras preparado.

Ocasionalmente, as amostras de esfregaços contêm muco excessivo que poderá provocar um erro de pipetagem (por ex., um coágulo ou outra obstrução) nos cobas® 6800/8800 Systems. Antes de testar novamente as amostras que apresentavam coágulos durante o processamento inicial, remova e elimine a zaragatoa, e coloque a tampa e agite fortemente estas amostras durante 30 segundos para dispersar o muco em excesso.

As amostras com zaragatoas podem ser processadas duas vezes nos cobas® 6800/8800 Systems enquanto a zaragatoa se encontrar no tubo de colheita. Se forem necessários testes adicionais, ou se o primeiro teste falhar devido a erro de pipetagem de amostra (por ex., um coágulo ou outra obstrução), a zaragatoa deverá ser removida e o líquido restante deverá ter um volume mínimo de 1,0 ml.

Tabela 11 Seleção de tipo de amostra na interface de utilizador do cobas® SARS-CoV-2

Kit de colheita/tipo de matriz	Volume mínimo (ml) Tubo de processamento	Processar como tipo de amostra
Copan Universal Transport Medium BD™ Universal Viral Transport Soro fisiológico a 0,9% cobas® PCR Media Kit	0,6 ml Tubo secundário cobas omni	Swab (Zaragatoa)
cobas® PCR Media Uni ou Dual Swab Sample Kit cobas® PCR Media Kit juntamente com o cobas® Uni Swab 100 Kit	1,0 ml Tubo primário	cobas® PCR Media swab (Zaragatoa cobas® PCR Media)

Pooling de amostra para o teste do SARS-CoV-2

Os pools de até, inclusive, 6 amostras podem ser testados com o cobas® SARS-CoV-2. O tamanho do pool implementado pelo laboratório deverá ser baseado nos ganhos de eficiência necessários, a taxa de positividade do SARS-CoV-2 na população de teste e os riscos potenciais dos testes em pools. A combinação de múltiplos tipos de amostra num pool não foi validada.

Quando a disponibilidade de recursos é suficiente para satisfazer a procura, recomenda-se que os laboratórios considerem se os riscos de redução de sensibilidade de teste com o pooling superam os benefícios da conservação de recursos.

- Utilize um processo que assegure a rastreabilidade entre as ID de amostras individuais e as ID de pool.
- Para reduzir a potencial contaminação dos cobas® 6800/8800 Systems, não transfira amostras para os tubos secundários enquanto as amostras estão nas racks Roche de 5 posições (RD5 e/ou MPA).
- Garanta as técnicas adequadas de manuseamento de amostras para reduzir o risco de contaminação cruzada em pools e amostras originais de pacientes.

Métodos de pooling

1. Identifique um tubo secundário para pooling, marcado de forma inequívoca.
2. Associe as amostras a serem colocadas em pool à identificação do tubo de pool, utilizando uma folha de cálculo de pooling ou um sistema de controlo de amostras validado.
3. A Roche sugere a utilização de Câmaras de Biossegurança ou outras medidas de segurança aprovadas durante o manuseamento de amostras (ou seja, a transferência de amostras para o tubo secundário).
4. Para o pooling manual, recomenda-se trabalhar apenas com amostras de um pool de cada vez.
5. Garanta que cada amostra tem volume suficiente para a construção do pool e quaisquer possíveis testes de resolução (desconstrução do pool) que poderão ser necessários. Exemplo: para pools de 6, é necessário um volume mínimo de 100 µl (para pool) mais 600 µl (para resolução) para um volume de amostra mínimo de 700 µL disponível antes do pooling (Tabela 12).

Tabela 12 Volumes mínimos de amostra para pooling

Tamanho do pool	Volume necessário para o pool (ml)	Volume necessário para teste de resolução (ml)	Volume mínimo necessário antes do pooling (ml)
6	0,100	0,600	0,700
5	0,120	0,600	0,720
4	0,150	0,600	0,750
3	0,200	0,600	0,800
2	0,300	0,600	0,900

6. Utilizando uma micropipeta calibrada com uma ponta de pipeta nova para cada amostra, pipete cuidadosamente cada amostra individual associada a esse pool para o tubo secundário adequado para preparar o pool.
7. Garanta a mistura completa após a adição de todas as amostras para o tubo secundário (ou seja, através da pipetagem para cima e para baixo). Tenha cuidado para evitar a criação de bolhas, espuma ou aerossóis ao misturar.

8. Para o pooling manual, recomenda-se comparar visualmente o volume de amostra em pool no tubo secundário com um tubo secundário que contenha o volume-alvo de pool. Se o nível do tubo de pooling for inferior ou superior ao volume de pool padrão, o pool preparado manualmente deverá ser eliminado e preparado de novo.
9. Processe as amostras em pool conforme descrito na Figura 1.

Relatórios de pool e testes de seguimento

A interpretação dos resultados do pool é a mesma que para resultados individuais conforme descrito na secção

Interpretação dos resultados.

- Se o resultado do pool for negativo, então cada amostra constituinte está indicada como negativa. O relatório de resultado deverá incluir um comentário foi utilizado o pooling durante o teste. Consulte a secção **Avisos e precauções** para informações adicionais relativas à redução de sensibilidade de testes em pool.
- Se o resultado do pool for positivo ou presumível positivo, cada uma das amostras constituintes têm de ser testadas novamente como uma amostra individual separada. Utilize o sistema de controlo definido pelo laboratório para assegurar que são testadas as amostras individuais corretas. Os resultados de teste individuais superam o resultado de pool.

cobas® SARS-CoV-2 procedimento

O procedimento de teste é descrito detalhadamente na Assistência ao Utilizador e/ou Guia do Utilizador dos cobas® 6800/8800 Systems. A Figura 1 a seguir resume o procedimento.

Figura 1 cobas® SARS-CoV-2 procedimento

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 corrida, premindo o botão “Iniciar manualmente” na interface do utilizador ou deixando que se inicie automaticamente passados 120 minutos ou quando 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

Resultados

O cobas® 6800/8800 Systems deteta automaticamente o SARS-CoV-2, para cada controlo e amostra individualmente processada ou colocada em pool, apresentando resultados individuais dos alvos, para as amostras, bem como a validade do teste e os resultados gerais dos controlos.

Controlo de qualidade e validade dos resultados

- Em cada batch são processados um cobas® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e um [SARS-CoV-2 (+)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 não aparecer nenhum alarme para quaisquer controlos. Se o batch for inválido, repita os testes de todo o batch.

A validação dos resultados é feita automaticamente pelo software cobas® 6800/8800, com base no desempenho do controlo positivo e negativo.

Interpretação dos resultados

cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.2

Os exemplos de apresentação de resultados cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.2 são apresentados na Figura 2.

Figura 2 Exemplo de apresentação de resultados do cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.2

Teste	ID de amostra	Válido*	Alarmes	Tipo de amostra	Resultado global*	Alvo 1	Alvo 2
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_01	Yes		Swab	Negative	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_C1	No	Y40T	Swab	Invalid	Invalid	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B1	Yes		Swab	Reactive	Negative	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B2	Yes		Swab	Positive	Positive	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_D1	Yes		Swab	Negative	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A6	Yes		Swab	Reactive	Positive	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_E1	No	C01H2	Swab	Invalid	Positive	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A2	No	C01H1	Swab	Invalid	Invalid	Positive
SARS-CoV-2	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
SARS-CoV-2	C161420284093009580264	Yes		SARS-CoV-2 (+) C	Valid	Valid	Valid

* As colunas “Válido” e “Resultado global” não são aplicáveis a resultados de amostras do cobas® SARS-CoV-2. Os valores indicados nestas colunas não são aplicáveis e não têm impacto na validade dos resultados indicados nas colunas individuais de resultados alvo. Para obter instruções específicas sobre a interpretação de resultados do teste, consulte a Tabela 13, interpretação de resultados do cobas® SARS-CoV-2.

cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.3 ou superior

Os exemplos de apresentação de resultados cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.3 ou superior são apresentados na Figura 3.

Figura 3 Exemplo de apresentação de resultados do cobas® SARS-CoV-2 com o software do sistema v1.3 ou superior

Teste	ID de amostra	Válido*	Alarmes	Tipo de amostra	Resultado global*	Alvo 1	Alvo 2
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_01	NA		Swab	NA	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_C1	NA	Y40T	Swab	NA	Invalid	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B1	NA		Swab	NA	Negative	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_B2	NA		Swab	NA	Positive	Positive
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_D1	NA		Swab	NA	Negative	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A6	NA		Swab	NA	Positive	Negative
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_E1	NA	C01H2	Swab	NA	Positive	Invalid
SARS-CoV-2 400 µL	Swab_A2	NA	C01H1	Swab	NA	Invalid	Positive
SARS-CoV-2	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
SARS-CoV-2	C161420284093009580264	Yes		SARS-CoV-2 (+) C	Valid	Valid	Valid

* As colunas “Válido” e “Resultado global” não são aplicáveis a resultados de amostras do cobas® SARS-CoV-2. Os valores indicados nestas colunas não são aplicáveis e não têm impacto na validade dos resultados indicados nas colunas individuais de resultados alvo. Para obter instruções específicas sobre a interpretação de resultados do teste, consulte a Tabela 13, interpretação de resultados do cobas® SARS-CoV-2.

Interpretação dos resultados

A seguinte interpretação dos resultados aplica-se às versões de software 1.2 do cobas® 6800/8800 e 1.3, ou superior, do cobas® 6800/8800.

Para um batch válido, verifique todas as 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 pode incluir resultados válidos e inválidos.
- **As colunas “Válido” e “Resultado global” não são aplicáveis a resultados de amostras do cobas® SARS-CoV-2. Os valores indicados nestas colunas não são aplicáveis e não têm impacto na validade dos resultados indicados nas colunas individuais de resultados alvo.**
- É possível que surjam resultados inválidos para uma ou mais combinações de alvos, que são reportados especificamente para cada canal.
- Os resultados deste teste só deverão ser interpretados em conjunto com a informação disponível da avaliação clínica do paciente e do histórico do paciente.

Os resultados de deteção do SARS-CoV-2 e respetiva interpretação são indicados a seguir (Tabela 13).

Tabela 13 cobas® SARS-CoV-2 interpretação de resultados

Alvo 1	Alvo 2	Interpretação
Positive	Positive	Todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Detetado.
Positive	Negative	Todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Detetado. Um resultado positivo no Alvo 1 e um resultado negativo no Alvo 2 sugerem 1) uma amostra em concentrações próximas ou abaixo do limite de detecção do teste, 2) uma mutação no Alvo 2, região do alvo, ou 3) outros fatores.
Negative	Positive	Todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Presumível Positivo. Um resultado negativo do Alvo 1 e um resultado positivo do Alvo 2 sugerem 1) uma amostra em concentrações próximas ou abaixo do limite de detecção do teste, 2) uma mutação na região alvo do Alvo 1 nos locais de ligação do oligo, ou 3) uma infecção por outro Sarbecovirus (p. ex., SARS-CoV ou outro Sarbecovirus anteriormente desconhecido como sendo capaz de infectar o ser humano), ou 4) outros fatores. Para amostras com um resultado presumível positivo, podem ser realizados testes confirmatórios complementares, se for necessário diferenciar entre o SARS-CoV-2 e o SARS-CoV-1 ou outro Sarbecovirus, atualmente desconhecido como sendo capaz de infectar o ser humano, para fins epidemiológicos ou de gestão clínica.
Negative	Negative	Todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Não Detetado.
Positive	Invalid	Nem todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Detetado.
Invalid	Positive	Nem todos os Resultados Alvo foram válidos. Resultado de ARN do SARS-CoV-2 Presumível Positivo. Para amostras com um resultado presumível positivo, podem ser realizados testes confirmatórios complementares, se for necessário diferenciar entre o SARS-CoV-2 e o SARS-CoV-1 ou outro Sarbecovirus, atualmente desconhecido como sendo capaz de infectar o ser humano, para fins epidemiológicos ou de gestão clínica.
Negative	Invalid	Nem todos os Resultados Alvo foram válidos. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.
Invalid	Negative	Nem todos os Resultados Alvo foram válidos. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.
Invalid	Invalid	Todos os Resultados Alvo foram inválidos. A amostra deve ser novamente testada. Se o resultado ainda for inválido, deverá ser obtida uma nova amostra.

Limitações do procedimento

- O **cobas**® SARS-CoV-2 foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas**® SARS-CoV-2 Control 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.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste destina-se a ser utilizado para a deteção de ARN do SARS-CoV-2 em amostras em zaragoas de exsudados nasais, nasofaríngeos e orofaríngeos, colhidas num Copan UTM-RT System (UTM-RT) ou BD™ Universal Viral Transport System (UVT), e amostras em zaragoas de exsudados nasais colhidas em **cobas**® PCR Media ou soro fisiológico a 0,9%. Testar outros tipos de amostras com o **cobas**® SARS-CoV-2 pode originar resultados imprecisos.
- A deteção de ARN do SARS-CoV-2 poderá ser afetada por métodos de colheita de amostras, fatores inerentes ao próprio paciente (p. ex., idade, presença de sintomas) e/ou fase de infeção.
- Tal como em qualquer teste molecular, as mutações dentro das regiões alvo do **cobas**® SARS-CoV-2 poderão afetar a ligação de primers e/ou sonda, inviabilizando a 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. Não se prevê uma concordância de cem por cento entre os resultados, devido às diferenças anteriormente referidas entre tecnologias. Os utilizadores deverão seguir os seus próprios específicos procedimentos e políticas.
- Podem registar-se resultados falsos negativos ou inválidos devido a interferência. O Controlo Interno está incluído no **cobas**® SARS-CoV-2 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**® SARS-CoV-2 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.

Utilização do pooling com base na prevalência

O pooling poderá aumentar o rendimento em laboratórios que testam amostras de populações com baixa prevalência do SARS-CoV-2. Em populações com elevada prevalência, poderão ser indicados tamanhos de pool menores ou testes de amostra individuais.

Ao considerar estratégias de pooling, os laboratórios devem considerar a adequação da estratégia de pooling com base na taxa de positividade na população em teste e na eficiência do fluxo de trabalho do pooling. Os laboratórios podem também considerar a sensibilidade dos testes em pool com base no limite de detecção do ensaio.

Tabela 14 fornece uma eficiência máxima estimada obtida com base no pooling de N amostras e na percentagem de amostras positivas de SARS-CoV-2 numa população.

Tabela 14 Eficiência de pooling com base na prevalência

P, percentagem de indivíduos positivos na população testada	N eficiência máxima (N corresponde à eficiência máxima)	Eficiência (F) de pooling de N amostras (um aumento máximo do número de pacientes testados quando usada a estratégia de N pooling de Dorfman)
1-4%	6	4,44-2,60
5-6%	6	2,32-2,10
7-12%	6	1,92-1,42
13-25%	6	1,36-1,01
1-4%	5	4,02-2,60
5-6%	5	2,35-2,15
7-12%	5	1,98-1,49
13-25%	5	1,43-1,04
1-4%	4	3,46-2,50
5-6%	4	2,30-2,13
7-12%	4	1,99-1,54
13-25%	4	1,48-1,07
1-4%	3	2,75-2,23
5-6%	3	2,10-1,99
7-12%	3	1,89-1,53
13-25%	3	1,48-1,10
1-4%	2	1,92-1,73
5-6%	2	1,67-1,62
7-12%	2	1,57-1,38
13-25%	2	1,35-1,07

Uma vez que um pool positivo requer uma repetição de teste individual de cada amostra no pool, a eficiência de qualquer estratégia de pooling depende da taxa de positividade. A eficiência (F) de pooling de n amostras para a taxa de positividade (P) pode ser calculada através da seguinte fórmula $F=1/(1+1/n-(1-P)n)$. A eficiência (F) indica quantas mais amostras podem ser testadas com pools de n amostras, em comparação com testes individuais. Por exemplo, uma estratégia de pooling de 6 amostras aumenta o número de amostras testadas em 2,10 vezes para uma taxa de positividade P de 6% (F = 2,10). A F = 2,10, 1000 testes podem cobrir a testagem de 2100 amostras, em média.

Avaliação do desempenho não clínico

Características principais do desempenho

Sensibilidade analítica

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

Para determinar o LoD, foi diluído em série numa matriz clínica simulada um vírus isolado na cultura de um paciente americano (USA-WA1/2020, número de catálogo NR-52281, número de lote 70033175, 2,8E+05 TCID₅₀/ml[§]). Foi testado um total de 7 níveis de concentração, com diluições em série de 3 vezes entre os níveis, com um total de 21 replicações por concentração, com 10 replicações adicionais de uma amostra em branco (ou seja, uma matriz clínica simulada).

Conforme indicado na Tabela 15, os níveis de concentração com taxas de positividade observáveis superiores ou iguais a 95% foram de 0,009 e 0,003 TCID₅₀/ml para o SARS-CoV-2 (Alvo 1) e o pan-Sarbecovirus (Alvo 2), respetivamente. Conforme indicado na Tabela 16, as taxas de positividade estimadas de 95% por Probit foram de 0,007 e 0,004 TCID₅₀/ml para o SARS-CoV-2 (Alvo 1) e o pan-Sarbecovirus (Alvo 2), respetivamente.

Tabela 15 Determinação do LoD utilizando a estirpe USA-WA1/2020

Estirpe	Concentração [TCID ₅₀ /ml]	Total de resultados válidos	Taxa de positividade [%] [^]		Ct médio*	
			Alvo 1	Alvo 2	Alvo 1	Alvo 2
USA-WA1/2020 [§] (Concentração de stock 2,8E+05 TCID ₅₀ /ml)	0,084	21	100	100	31,0	33,0
	0,028	21	100	100	31,8	34,1
	0,009	21	100	100	32,7	35,2
	0,003	21	38,1	100	33,5	36,4
	0,001	21	0	52,4	n/a	37,9
	0,0003	21	0	14,3	n/a	37,2
	0,0001	21	0	9,5	n/a	38,5
	0 (em branco)	10	0	0	n/a	n/a

[§] O seguinte reagente foi entregue pelos Centros de Prevenção e Controlo de Doenças e obtido através do BEI Resources, NIAID, NIH: Coronavírus 2 relacionado à SARS, Isolado USA-WA1/2020, NR-52281.

[^] Todas as replicações em que o Alvo 1 foi positivo, foram igualmente positivas para o Alvo 2.

* Os cálculos incluem apenas resultados positivos.

Tabela 16 Taxas de positividade estimadas de 95% por Probit usando a estirpe USA-WA1/2020

Estirpe	Taxa de positividade estimada de 95% por Probit [TCID ₅₀ /ml]	
	Alvo 1	Alvo 2
USA-WA1/2020 (Concentração de stock 2,8E+05 TCID ₅₀ /ml)	0,007 (IC de 95%: 0,005–0,036)	0,004 (IC de 95%: 0,002–0,009)

A sensibilidade analítica do teste foi testada com AccuPlex SARS-CoV-2 (lote n.º 105324), material de referência quantificado – partícula recombinante do vírus Sindbis contendo sequências-alvo do genoma de SARS-CoV-2. O nível de concentração numa série de diluições com graus de sucesso observados superiores ou iguais a 95% foi de 46 cópias/ml, tanto para o alvo 1 como para o alvo 2. As estimativas de modelo Probit 95% LoD com base nestes dados foram de 25 cópias/ml (IC de 95%: 17–58 cópias/ml) para o alvo 1 e 32 cópias/ml (IC de 95%: 21–73 cópias/ml) para o alvo 2.

Reatividade cruzada

Análise *in silico*

As análises *in silico* para possíveis reações cruzadas com todos os organismos listados na Tabela 17 foram realizada individualmente pelo mapeamento dos primers do cobas® SARS-CoV-2 com as sequências transferidas a partir das bases de dados NCBI e GISAID. Se qualquer um dos dois primers fossem mapeados para uma sequência de cadeias opostas com uma curta distância entre elas, as amplificações potenciais seriam assinaladas. Não é expectável uma potencial reatividade cruzada involuntária com base na presente análise *in silico*.

Tabela 17 Análise *in silico* do SARS-CoV-2

Estirpe	Análise <i>in silico</i> da % de Identidade do Alvo 1 (nCoV)	Análise <i>in silico</i> da % de Identidade do Alvo 2 (Pan-Sarbecovirus 1)
CoV 229E	74,47	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
CoV OC43	72,26	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
CoV HKU1	76,52	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
CoV NL63	71,32	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
SARS-CoV	95,04	100
MERS	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
AdV	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
HMPV	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
HPIV1	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
HPIV2	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
HPIV3	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
HPIV4	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
Flu A	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
Flu B	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
EV	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
RSV	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
RV	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Haemophilus influenzae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Legionella pneumophila</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>MTB Mycobacterium bovis subsp. Bovis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Bordetella pertussis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
Influenza C	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
Parechovirus	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Candida albicans</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Legionella non-pneumophila</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*

09343784001-04PT

Estirpe	Análise <i>in silico</i> da % de Identidade do Alvo 1 (nCoV)	Análise <i>in silico</i> da % de Identidade do Alvo 2 (Pan-Sarbecovirus 1)
<i>Bacillus anthracis (Anthrax)</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Neisseria elongate e meningitides</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Staphylococcus salivarius</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Leptospira</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Chlamydia psittaci</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Coxiella burnetii (Q-Fever)</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*
<i>Staphylococcus aureus</i>	Não foi encontrado nenhum alinhamento*	Não foi encontrado nenhum alinhamento*

Nota: * As sequências de amplicon foram confrontadas com todas as sequências exclusivas com cut-off de severidade muito baixa (50% e 100bp). Não foi encontrado nenhum alinhamento na transição do cut-off e não foram observadas preocupações de reatividade cruzada.

Teste de reatividade cruzada

A reatividade cruzada do cobas® SARS-CoV-2 foi avaliada através de testes a organismos únicos. Conforme listado na Tabela 18, foi testado um painel de múltiplas subespécies de microrganismos únicas. Os stocks de título elevado dos microrganismos com potencial reação cruzada foram adicionados à matriz clínica simulada negativa para um nível de concentração de 1,0E+05 unidades/ml para vírus e 1,0E+06 unidades/ml para outros microrganismos, salvo indicação contrária.

Nenhum dos organismos testados interferiu com o desempenho do cobas® SARS-CoV-2, ao gerar resultados falsos positivos.

Tabela 18 Resultados do teste de reatividade cruzada

Microrganismo	Concentração	Resultado do Alvo 1	Resultado do Alvo 2
Coronavírus humano 229E	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavírus humano OC43	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavírus humano HKU1	1,0E+05 cp/ml	Negativo	Negativo
Coronavírus humano NL63	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Coronavírus MERS	1,0E+05 equivalente genómico/ml	Negativo	Negativo
Coronavírus SARS	1,0E+05 PFU/ml	Negativo	Positivo
Adenovírus B (tipo 34)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Metapneumovírus humano (hMPV)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Vírus parainfluenza Tipo 1	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Vírus parainfluenza Tipo 2	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Vírus parainfluenza Tipo 3	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Vírus parainfluenza Tipo 4	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Influenza A (H1N1)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Influenza B	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Enterovírus E (tipo 1)	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
Vírus sincicial respiratório	1,0E+05 PFU/ml	Negativo	Negativo
Rinovírus	1,0E+05 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,0E+06 TCID ₅₀ /ml	Negativo	Negativo
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 células/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml	Negativo	Negativo
Pool de irrigação nasal humana	5–50%	Negativo	Negativo

Equivalência do tipo de amostra

A equivalência entre os tipos de amostras de exsudado nasofaríngeo (NPS) e orofaríngeo (OPS) foi avaliada utilizando o vírus em cultura (estirpe USA-WA1/2020), adicionado às amostras negativas (amostras individuais, não em pool), para preparar amostras artificiais, positivas baixas (aproximadamente $1,5 \times \text{LoD}$ Alvo 1) e moderadamente positivas (aproximadamente $4 \times \text{LoD}$ Alvo 1) para cada tipo de amostra. No total, foram testadas 21 amostras positivas baixas emparelhadas, 11 amostras positivas moderadas emparelhadas e 11 amostras negativas emparelhadas.

Conforme indicado na Tabela 19, todas as amostras positivas baixas e positivas moderadas emparelhadas foram positivas em ambas as matrizes de amostra. Todas as amostras negativas emparelhadas foram negativas em ambos os tipos de amostra. Os valores Ct observados para as amostras positivas provocadas foram comparáveis em ambos os tipos de amostra.

Tabela 19 Comparação de resultados entre os tipos de amostra nasofaríngeo e orofaríngeo

Tipo de Amostra	Concentração de Amostra	N	Alvo 1		Alvo 2	
			% positivos	Ct Médio (IC de 95%)	% positivos	Ct Médio (IC de 95%)
NPS	~1,5 × LoD (alvo 1)	21	100	31,9 (31,7–32,0)	100	33,6 (33,5–33,7)
OPS			100	32,2 (31,8–32,6)	100	33,7 (33,4–34,1)
NPS	~4 × LoD (alvo 1)	11	100	30,9 (30,3–31,5)	100	32,2 (31,6–32,9)
OPS			100	31,5 (31,2–31,9)	100	32,7 (32,4–33,0)
NPS	Negativo	11	0	n/a	0	n/a
OPS			0	n/a	0	n/a

Equivalência de matrizes – UTM-RT e cobas® PCR Media

Foi avaliada a equivalência entre as amostras colhidas em UTM-RT e em cobas® PCR Media (CPM), utilizando o vírus em cultura (estirpe USA-WA1/2020) adicionado às amostras nasofaríngeas negativas emparelhadas de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória do trato superior (amostras individuais, não em pool) para preparar amostras artificiais, positivas baixas (aproximadamente $1,5 \times \text{LoD}$) e moderadamente positivas (aproximadamente $4 \times \text{LoD}$) para cada meio de colheita. No total, foram testadas 21 amostras positivas baixas emparelhadas, 11 amostras positivas moderadas emparelhadas e 11 amostras negativas emparelhadas.

Conforme indicado na Tabela 20, todas as amostras positivas baixas e positivas moderadas emparelhadas foram positivas em ambas as matrizes de amostra. Todas as amostras negativas emparelhadas foram negativas em ambas as matrizes de amostra. Os valores Ct observados para as amostras positivas provocadas foram comparáveis em ambas as matrizes de amostra.

Tabela 20 Comparação de resultados entre o UTM-RT e o cobas® PCR Media

Meio de colheita	Concentração de Amostra	N	Alvo 1		Alvo 2	
			% positivos	Ct Médio (IC de 95%)	% positivos	Ct Médio (IC de 95%)
UTM	~1,5 × LoD	21	100	31,8 (31,6–32,0)	100	34,0 (33,8–34,2)
CPM			100	32,2 (31,9–32,4)	100	34,7 (34,4–35,0)
UTM	~4 × LoD	11	100	30,7 (30,1–31,2)	100	32,4 (31,7–33,1)
CPM			100	31,6 (31,0–32,1)	100	33,7 (32,9–34,5)
UTM	Negativo	11	0	n/a	0	n/a
CPM			0	n/a	0	n/a

Equivalência de matrizes – UTM-RT e soro fisiológico a 0,9%

Foi avaliada a equivalência entre amostras colhidas em UTM-RT e em soro fisiológico a 0,9%, utilizando o vírus em cultura (estirpe USA-WA1/2020), adicionado a amostras negativas emparelhadas (amostras individuais, não em pool), para preparar amostras artificiais, positivas baixas (aproximadamente 1,5 × LoD) e moderadamente positivas (aproximadamente 4 × LoD) para cada meio de colheita. Foram colhidas 3 amostras de cada um dos 45 doadores saudáveis utilizando zaragatoas do cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit; duas amostras nasais (AN) colhidas utilizando zaragatoas duplas de poliéster de tecido/flocadas conservadas em UTM e uma amostra nasal (da outra narina) colhida com uma zaragatoa de poliéster de tecido conservada em soro fisiológico a 0,9%. No total, foram testadas 17 amostras positivas baixas emparelhadas, 11 amostras positivas moderadas emparelhadas e 45 amostras negativas emparelhadas.

Conforme indicado na Tabela 21, todas as amostras positivas baixas e positivas moderadas emparelhadas foram positivas em ambas as matrizes de amostra. Todas as amostras negativas emparelhadas foram negativas em ambas as matrizes de amostra. Os valores Ct observados para as amostras positivas provocadas foram comparáveis em ambas as matrizes de amostra.

Tabela 21 Comparação de resultados entre o UTM-RT e soro fisiológico a 0,9%

Dispositivo de colheita	Concentração de Amostra	N	Alvo 1		Alvo 2	
			% positivos	Ct Médio (IC de 95%)	% positivos	Ct Médio (IC de 95%)
Zaragatoa flocada em UTM-RT	~1,5 × LoD	17	100	32,2 (32,0–32,4)	100	33,6 (33,6–33,7)
Zaragatoa de tecido em UTM-RT		16	100	31,6 (31,1–32,1)	100	33,2 (32,7–33,8)
Zaragatoa de tecido em soro fisiológico		17	100	31,7 (31,4–32,0)	100	33,5 (33,2–33,8)
Zaragatoa flocada em UTM-RT	~4 × LoD	11	100	31,2 (31,1–31,4)	100	32,6 (32,4–32,7)
Zaragatoa de tecido em UTM-RT			100	30,9 (30,4–31,4)	100	32,4 (31,9–33,0)
Zaragatoa de tecido em soro fisiológico			100	31,0 (30,8–31,3)	100	32,6 (32,5–32,7)
Zaragatoa flocada em UTM-RT	Negativo	45	0	n/a	0	n/a
Zaragatoa de tecido em UTM-RT			0	n/a	0	n/a
Zaragatoa de tecido em soro fisiológico			0	n/a	0	n/a

Desempenho em pools de amostras

O desempenho do cobas® SARS-CoV-2 ao testar amostras nasofaríngeas colhidas em UTM ou UVT foi avaliado utilizando um cobas® 6800 System e um cobas® 8800 System. Foram testadas individualmente trinta amostras positivas e em pools de 6 contendo 1 amostra positiva e 5 negativas, e em pools de 3 contendo 1 amostra positiva e 2 negativas. Adicionalmente, foram testadas individualmente amostras negativas, em 20 pools negativas de 6 e em 20 pools negativas de 2.

As 30 amostras positivas individuais tiveram valores de Ct de pan-Sarbecovirus Alvo 2 entre 15,1 e 35,3, incluindo um subconjunto de 8 amostras positivas baixas (~27% das amostras) com valores Ct Alvo 2 entre 33,4 e 35,3. O subconjunto de amostras positivas baixas com alvo entre 2–3 Ct (atual 1,1–3) do Ct médio para Alvo 2 no Limite de detecção.

O desempenho dos pools de amostras de teste de 6 e pools de 3 contendo uma amostra positiva cada, em comparação com os testes de amostras individuais, é apresentado nas Tabela 22 e Tabela 23, respetivamente. Os resultados positivos e presumivelmente positivos (conforme definido em Tabela 13) foram usados para os cálculos de concordância na percentagem de positivos (pools vs. individual), uma vez que todas as amostras constituintes iriam requerer repetição de testes como amostras individuais separadas. Os resultados são resumidos para todas as amostras, e resumidos em separado para o subconjunto de amostras positivas baixas, para cada tamanho de pool testado.

Tabela 22 Reatividade em pools de amostras positivas de 6

Amostras em pools de 6	Resultados de pool negativos	Resultados de pool inválidos	Resultados de pool positivos ou presumivelmente positivos	Total de N resultados de pool válidos	Concordância na percentagem de positivos (pools vs. individual)
Positivos (incluindo positivos baixos)	0	0	30*	30	100% (30/30) (IC de 95%: 88,6–100%)
Positivos baixos	0	0	8*	8	100% (8/8) (IC de 95%: 67,6–100%)

* Nota: uma amostra positiva baixa foi presumivelmente positiva, quando testada num pool de 6.

Tabela 23 Reatividade em pools de amostras positivas de 3

Amostras em pools de 3	Resultados de pool negativos	Resultados de pool inválidos	Resultados de pool positivos ou presumivelmente positivos	Total de N resultados de pool válidos	Concordância na percentagem de positivos (pools vs. individual)
Positivos (incluindo positivos baixos)	0	0	30	30	100% (30/30) (IC de 95%: 88,6–100%)
Positivos baixos	0	0	8	8	100% (8/8) (IC de 95%: 67,6–100%)

O desempenho dos pools de amostras de teste de 6 e pools de 2 contendo apenas amostras negativas, em comparação com os testes de amostras individuais, é apresentado na Tabela 24.

Tabela 24 Especificidade em pools de 6 e pools de 2 de amostras negativas

Tamanho do pool	Resultados de pool negativos	Resultados de pool inválidos	Resultados de pool positivos ou presumivelmente positivos	Total de N resultados de pool válidos	Taxa negativa observada
Pools de 6	20	0	0	20	100% (20/20) (IC de 95%: 83,9–100%)
Pools de 2	20	0	0	20	100% (20/20) (IC de 95%: 83,9–100%)

Nota: algumas amostras positivas poderão não ser detetadas quando diluídas e testadas em pools. As estimativas de desempenho acima podem subestimar a perda de deteção de testes em pools. Os laboratórios devem também considerar o limite de deteção do ensaio ao avaliar testes em pools (consulte **Avisos e precauções**).

Avaliação do desempenho clínico

O desempenho do cobas® SARS-CoV-2 com amostras clínicas de exsudado nasofaríngeo colhidas prospectivamente foi avaliado utilizando 100 amostras clínicas negativas individuais e 50 amostras clínicas positivas artificiais, colhidas de doentes com sinais e sintomas de infecção respiratória do trato superior.

As amostras clínicas foram colhidas por técnicos qualificados, de acordo com o folheto informativo do dispositivo de colheita. As amostras foram manuseadas conforme descrito no folheto informativo do dispositivo de colheita e armazenadas congeladas até à sua utilização. As amostras foram testadas para serem negativas para um teste de ácidos nucleicos, comercialmente disponível, para a detecção qualitativa de microrganismos associados a infecções comuns do trato respiratório superior.

Foram preparadas amostras clínicas positivas baixas e amostras clínicas positivas moderadas artificiais através da adição de vírus em cultura (estirpe USA-WA1/2020) em amostras clínicas individuais negativas para aproximadamente $\sim 1,5 \times \text{LoD}$ (Alvo 1) (25 amostras) e $\sim 4 \times \text{LoD}$ (Alvo 1) (25 amostras), respetivamente.

Conforme indicado na Tabela 25, todas as amostras positivas baixas e positivas moderadas foram positivas e todas as amostras negativas foram negativas no contexto da matriz de amostras clínicas individuais.

Tabela 25 Avaliação clínica com amostras de zaragatoas com exsudado nasofaríngeo

Concentração de Amostra	N	Alvo 1		Alvo 2	
		% positivos (intervalo de confiança bilateral de 95%)	Ct Médio	% positivos (intervalo de confiança bilateral de 95%)	Ct Médio
$\sim 1,5 \times \text{LoD}$	25	100 (86,7–100)	31,6	100 (86,7–100)	33,2
$\sim 4 \times \text{LoD}$	25	100 (86,7–100)	31,1	100 (86,7–100)	32,4
Negativo	100	0 (n/a)	n/a	0 (n/a)	n/a

Desempenho face aos resultados previstos:

Concordância na percentagem de positivos 50/50 = 100% (IC de 95%: 92,9–100%)

Concordância na percentagem de negativos 100/100 = 100% (IC de 95%: 96,3–100%)

Desempenho clínico com amostras de indivíduos suspeitos de terem COVID-19

O desempenho do cobas® SARS-CoV-2 foi comparado com um teste RT-PCR SARS-CoV-2 altamente sensível com autorização EUA (teste comparador) utilizando amostras nasofaríngeas colhidas em meio UTM de indivíduos suspeitos de terem COVID-19.

Foram incluídas no estudo 162 amostras nasofaríngeas individuais arquivadas, descaracterizadas e colhidas prospectivamente recentemente de indivíduos suspeitos de terem COVID-19. 30 dessas amostras de exsudados nasofaríngeos guardadas em meio de transporte viral (Copan UTM, BD™ UVT) foram positivas e 132 foram negativas para o SARS-CoV-2 pelo teste comparador. O estudo incluiu 33,3% de amostras positivas baixas (PB) com valores Ct do comparador que estão dentro de 3 Cts do valor de Ct médio aos LoDs estabelecidos do comparador, de acordo com as respetivas instruções de utilização. Os Cts de outras amostras positivas foram distribuídos por um amplo intervalo. Os resultados são indicados na Tabela 26.

Tabela 26 Avaliação clínica com amostras de exsudados nasofaríngeos de indivíduos suspeitos de terem COVID-19

		Teste RT-PCR EUA comparador altamente sensível		
		Positivo	Negativo	Total
cobas® SARS-CoV-2	Positivo	30	6*	36
	Negativo	0	126	126
	Total	30	132	162

Concordância na percentagem	Resultado (%)	Intervalo de confiança de 95% (%)
CPP	100,0 (30/30)	88,6–100,0
CPN	95,5 (126/132)	90,4–97,9

* Confirmados como positivos verdadeiros por análise pós-amplificação do amplicon.

O desempenho em relação aos resultados do comparador foram:

Concordância na percentagem de positivos $30/30 = 100\%$ (IC de 95%: 88,6–100%)

Concordância na percentagem de negativos $126/132 = 95,5\%$ (IC de 95%: 90,4–97,9%)

Foram observados resultados discordantes entre o teste cobas® SARS-CoV-2 e o método comparador em 6 amostras. Estas amostras apresentaram valores de Ct tardios, que são indicadores de amostras de indivíduos com cargas virais perto ou abaixo do limite de detecção tanto do teste cobas® SARS-CoV-2 como do teste comparador. Análises pós-PCR do amplicon de todas as amostras discordantes confirmaram a presença do SARS-CoV-2.

Desempenho clínico com amostras de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19

O desempenho do cobas® SARS-CoV-2 foi comparado com um teste RT-PCR SARS-CoV-2 altamente sensível com autorização EUA (teste comparador) utilizando amostras nasofaríngeas colhidas em meio UTM de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19.

Foram incluídas no estudo 143 amostras nasofaríngeas individuais arquivadas, descaracterizadas e colhidas consecutivamente de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19. 22 dessas amostras de exsudados nasofaríngeos foram positivas e 121 foram negativas para o SARS-CoV-2 pelo teste comparador. Os resultados são indicados na Tabela 27.

Tabela 27 Avaliação clínica com amostras de exsudados nasofaríngeos de indivíduos sem sintomas ou outras razões para se suspeitar da COVID-19

		Teste RT-PCR EUA comparador altamente sensível			Concordância na percentagem	Resultado (%)	Intervalo de confiança de 95% (%)
		Positivo	Negativo	Total			
cobas® SARS-CoV-2	Positivo	21	0	21	CPP	95,5 (21/22)	78,2–99,2
	Negativo	1	121	122			
	Total	22	121	143			

O desempenho em relação aos resultados do comparador foram:

Concordância na percentagem de positivos $21/22 = 95,5\%$ (IC de 95%: 78,2–99,2%)

Concordância na percentagem de negativos $121/121 = 100\%$ (IC de 95%: 96,9–100%)

Foram observados resultados discordantes entre o teste cobas® SARS-CoV-2 e o método comparador em 1 amostra. Esta amostra apresentou valores de Ct tardios, que são indicadores de amostras de indivíduos com cargas virais perto ou abaixo do limite de detecção tanto do teste cobas® SARS-CoV-2 como do teste comparador.

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Amostras de zaragatoa com exsudado nasofaríngeo e orofaríngeo colhidas no Copan UTM-RT System ou no BD™ UVT System Amostras de zaragatoa com exsudados nasais colhidas no Copan UTM-RT System, no BD™ UVT System, em cobas ® PCR Media e em soro fisiológico a 0,9%
Quantidade de amostra mínima necessária	0,6 ou 1,0 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.

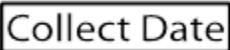
* Volume morto de 0,2 ml identificado para os tubos Secundários **cobas omni**. Volume morto de 0,6 ml identificado para os tubos primários **cobas**® PCR Media. Outros tubos compatíveis com o **cobas**® 6800/8800 Systems (consultar o Guia de Assistência ao Utilizador) podem ter um volume morto diferente e necessitar de mais ou menos volume mínimo.

** É necessário volume adicional se realizar pooling.

Símbolos

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

Tabela 28 Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

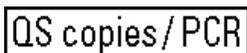
	Idade ou data de nascimento		Data do fabrico
	Software auxiliar		Distribuído por
	Intervalo atribuído (cópias/ml)		Não reutilizar
	Intervalo atribuído (UI/ml)		Mulher
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Apenas para avaliação do desempenho IVD
	Folha de dados de códigos de barras		Global Trade Item Number
	Código do batch		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Risco biológico		Limite inferior do intervalo atribuído
	Referência de catálogo		Homem
	Data da colheita		Fabricante
	Consulte as instruções de utilização		Controlo negativo
	Conteúdo suficiente para <n> testes		Não esterilizado
	Conteúdo do kit		Número do paciente
	Controlo		Nome 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



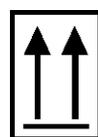
Limite de temperatura



Ficheiro de definição de teste



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



Este lado para cima



Identificação exclusiva do equipamento



Procedimento ultrasensível



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



Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes



Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes



Dispositivo para autotestes



Dispositivo não para autotestes

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 distribuidores

Tabela 29 Fabricante e distribuidores



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

Fabricado nos EUA

Distributed by

Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics
 9115 Hague Road
 Indianapolis, IN 46250-0457 USA
 (For Technical Assistance call the
 Roche Response Center
 toll-free: 1-800-526-1247)

Marcas comerciais e patentes

Este produto está coberto por um ou mais patentes dos EUA n.ºs 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 e 6727067, e respetivas patentes estrangeiras equivalentes.

COBAS, COBAS OMNI e AMPERASE são marcas comerciais da Roche.

A marca comercial “Armored RNA®” é propriedade da Asuragen, Inc. e da Cenetron Diagnostics, Ltd.

Todos os outros nomes de produtos e marcas comerciais são propriedade dos respetivos titulares.

A tecnologia de prevenção de carryover na enzima AmpErase® está coberta pela patente dos EUA n.º 7,687,247 de propriedade da Life Technologies e licenciada para a Roche Molecular Systems, Inc.

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. 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.
2. 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.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 1.0 10/2020	Primeira publicação.
Doc Rev. 2.0 02/2021	<p>Marca de seleção removida da Tabela 10 que corresponde à colheita de tipos de amostras nasofaríngeas utilizando o cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit.</p> <p>Adicionado declaração de local de fabricação.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 3.0 05/2021	<p>Texto adicionado remetendo para as instruções de utilização do kit de colheita de amostras, para informações sobre riscos: “Consulte as instruções de utilização dos dispositivos de colheita para informações sobre riscos”.</p> <p>Atualizada a secção Marcas comerciais e patentes.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 4.0 05/2021	<p>Enunciado da Utilização prevista alterado para incluir rastreio assintomático.</p> <p>Adicionados dados clínicos à secção Avaliação do desempenho clínico.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, contacte o representante local da Roche.</p>