

cobas[®] CHIKV/DENV

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] CHIKV/DENV – 480	P/N: 09040650190
cobas[®] CHIKV/DENV Control Kit	P/N: 09040668190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas[®] omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas[®] omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas[®] omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas[®] omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	8
Reagentes e controlos do cobas ® CHIKV/DENV	8
Reagentes cobas ® omni para preparação da amostra	11
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes	12
Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas ® 5800 e sistemas cobas ® 6800/8800.....	12
Materiais adicionais necessários para os sistemas cobas ® 5800/6800/8800.....	13
Equipamentos e software necessários.....	14
Precauções e requisitos de manuseamento	15
Advertências e precauções	15
Manuseamento de reagentes.....	16
Boas práticas de laboratório.....	16
Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras.....	17
Amostras de dadores vivos e de diagnóstico	17
Instruções de utilização	19
Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional)	19
Notas do procedimento	19
Execução do cobas ® CHIKV/DENV nos sistemas cobas ® 5800/6800/8800	19
Resultados	21
Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema cobas ® 5800 e nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão de software 2.0 ou superior	21
Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas cobas ® 6800/8800.....	21
Resultados de controlo nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 1.4	22
Interpretação de resultados para os sistemas cobas ® 5800/6800/8800	22
Interpretação de resultados no sistema cobas ® 5800 e nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior	23
Interpretação de resultados nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 1.4.....	23

Repetição de testes de amostra(s) individual(is) no sistema cobas ® 5800 e nos sistemas cobas ® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior	23
Limitações do procedimento	24
Avaliação do desempenho não clínico	25
Equivalência dos sistemas	25
Características principais do desempenho.....	25
Limite de deteção (LoD)	25
Reprodutibilidade	28
Verificação de genótipos.....	29
Especificidade analítica	30
Correlação.....	32
Falha global do sistema	32
Avaliação do desempenho clínico	33
Sensibilidade clínica (diagnóstico)	33
Especificidade clínica (diagnóstico)	33
Informações adicionais	34
Características principais do teste.....	34
Símbolos	35
Apoio técnico.....	36
Fabricante e importador	36
Marcas comerciais e patentes	36
Direitos de autor.....	36
Bibliografia	37
Revisão do documento	39

Utilização prevista

O cobas® CHIKV/DENV para utilização com os sistemas cobas® 5800/6800/8800 é um teste qualitativo *in vitro* para a detecção direta do ARN do vírus chikungunya (CHIKV) e ARN dos serotipos 1-4 do vírus da dengue (DENV) em plasma humano.

O teste destina-se a ser utilizado como um teste de rastreio de amostras de dadores para a detecção individual de ARN de CHIKV ou ARN de DENV ou rastrear tanto ARN de CHIKV como de DENV em plasma de dadores humanos, incluindo dadores de sangue total, de componentes sanguíneos e outros dadores vivos. Este teste destina-se também a ser utilizado para rastreio de dadores de órgãos e tecidos, quando as amostras de dador são obtidas enquanto o coração do dador ainda bate. O plasma de todos os dadores pode ser rastreado como amostras individuais. Para dádivas de sangue total e componentes sanguíneos, as amostras de plasma podem ser testadas individualmente ou o plasma pode ser testado em pools constituídos por alíquotas de amostras individuais.

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

Este teste também pode ser usado como auxiliar no diagnóstico de CHIKV ou DENV em amostras colhidas de indivíduos com suspeita de infeção por vírus chikungunya ou vírus do dengue pelo seu profissional de saúde.

Se for utilizado com auxiliar no diagnóstico, as amostras de plasma devem ser testadas apenas individualmente.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

O DENV é um vírus ARN transmitido por artrópodes (arbovírus) que pertence à família *Flaviviridae*, que inclui o vírus do Nilo ocidental (WNV), vírus da febre amarela e cerca de outros 70 vírus.¹ Tal como outros arbovírus, o DENV é mantido num ciclo enzoótico entre mosquitos hematófagos (essencialmente *Aedes aegypti*) e hospedeiros vertebrados suscetíveis (humanos).^{2,3} A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que o DENV é endémico em mais de 100 países, o que inclui mais de 2,5 mil milhões de pessoas em risco nas regiões tropicais e subtropicais do planeta.² A América Latina e as Caraíbas, incluindo Porto Rico, sofreram aumentos significativos na incidência do DENV nos últimos anos, suscitando apreensão quanto à disseminação do *Ae. aegypti* (mosquito transmissor do DENV) e, com ele, a disseminação do DENV para os Estados Unidos.⁴ A carga global do DENV durante a pandemia de 2010 está estimada em 390 milhões de infeções, incluindo 96 milhões de infeções sintomáticas do DENV e 500 000 casos de dengue grave.⁵

Grande parte das infeções de DENV são “febre de dengue”, que a OMS define como febre e, pelo menos, dois outros sintomas, que incluem arrepios, dores nos ossos (muitas vezes graves, de onde vem a alcunha “febre quebra ossos”), mialgia, artralgia, dor ocular, erupção cutânea e maior propensão a contusões.² O “dengue grave” inclui febre e choque hemorrágico.² O DENV é classificado em quatro serotipos relacionados mas distintos em termos imunológicos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. A infeção com um tipo de DENV cria uma imunidade vitalícia em relação a esse serotipo do DENV e uma proteção cruzada a curto prazo (≤ 2 meses) contra a infeção com os outros três tipos de DENV.⁶

O DENV é transmissível através de transfusão.^{2,6,7} A primeira transmissão de DENV através de transfusão documentada teve lugar em 2002, durante um surto local em Hong Kong; os testes RT-PCR demonstraram que tanto as amostras do dador como do recetor eram positivas para o ARN do DENV-1.^{8,9} Houve registo de grupos de transmissões associadas a transfusões de DENV em Singapura, em 2007,¹⁰ e em Porto Rico, em 2007, que incluíram um caso de febre hemorrágica transmitida através de transfusão.^{1,6} Durante uma epidemia no Brasil, em 2012, foram efetuadas transfusões de 42 dádivas

positivas com ARN do DENV-4 para 35 recetores, resultando em seis infeções de DENV transmitidas através de transfusão.^{11, 12}

Grande parte (53% a 87%) das infeções de DENV são assintomáticas, pelo que os indivíduos infetados podem doar sangue.² Um rastreio de pesquisa de dádivas de sangue em Porto Rico revelou uma taxa de 0,03% a 0,31% durante os últimos anos do surto (2005, 2007, 2010, 2011 e 2012).² Um estudo efetuado em 39 134 dádivas de sangue colhidas durante a epidemia do DENV de 2012 no Brasil apresentou viremia do DENV-4 em 0,51% das dádivas no Rio de Janeiro e em 0,80% das dádivas no Recife.^{11, 12} O modelo dos centros de controlo e prevenção de doença (Centers for Disease Control and Prevention – CDC) estimam uma tendência semelhante.⁴ Apesar de as vacinas estarem a ser desenvolvidas, ainda não está disponível qualquer vacina contra a infeção do DENV; o cuidado é paliativo.⁵

O CHIKV faz parte da família *Togaviridae* e é um vírus ARN transmitido por artrópodes (arbovírus). O CHIKV é mantido num ciclo enzoótico entre mosquitos hematófagos (*Ae. aegypti* e desde, pelo menos, 2005 *Ae. albopictus*) e humanos.² O CHIKV (“chikungunya” significa “o que curva para cima”, na língua maconde da Tanzânia e Moçambique) apresenta sintomas semelhantes e durante os mesmos períodos endémicos que o DENV, sendo que o CHIKV é caracterizado por graves dores nas articulações e artrite paralisante, que podem fazer com que os doentes não consigam manter-se em pé devido a estas dores intensas.^{2, 13} Ainda que raras, foram registadas mortes por CHIKV, que resultaram, normalmente, de encefalites ou outras encefalopatias, miocardites, hepatites ou falências de múltiplos órgãos.¹⁴

O CHIKV foi descoberto na Tanzânia em 1952 e, durante várias décadas, causou surtos esporádicos em África e na Ásia.¹⁴ Foram identificadas três linhagens distintas do CHIKV: a linhagem da África Ocidental, a linhagem Este, Centro e Sul da África (ECSA) e a linhagem asiática, com origem no vírus ECSA.¹⁴ Desde 2000, o CHIKV reemergiu e causou surtos de formas mais graves da doença do que as previamente relatadas.¹⁴ Após uma ausência de 32 anos na Índia, em 2006 e 2007 o CHIKV originou um grande surto, afetando 13 estados.^{14, 15} Em 2006 e 2007, ocorreu um grande surto de CHIKV na Índia. Vários outros países no sudeste asiático vivenciaram surtos de CHIKV. Desde 2005, a Índia, a Indonésia, as Maldivas, Myanmar e a Tailândia relataram mais de 1,9 milhões de casos de CHIKV.¹⁵ Desde julho de 2017 que o Paquistão e o Quênia estão a sofrer epidemias constantes que começaram em 2016.¹⁵

Um surto explosivo de CHIKV ocorreu na Ilha Reunião e nas ilhas do sudoeste do oceano Índico, este de África, do final de 2005 até 2007, que incluiu 300 000 casos clínicos na Ilha Reunião (40% da população da ilha), 75% dos quais sintomáticos.^{2, 16} Neste surto da Ilha Reunião foi descoberta uma mutação que afeta a cápsula viral e que permitiu a reprodução viral no *Ae. albopictus* (uma alternativa ao *Ae. aegypti*, o transmissor previamente conhecido do CHIKV); essa mutação resultou num aumento das cargas virais e da virulência no surto da Ilha Reunião.¹⁷ O *Ae. albopictus* foi subsequentemente implicado como o mosquito transmissor dos surtos na Índia, norte de Itália e também nas Caraíbas.^{2, 18, 19} Apesar de não ter sido documentada nenhuma infeção de CHIKV transmitido através de transfusão no surto de 2005 a 2007 na Ilha Reunião, foram implementadas intervenções agressivas para mitigar o risco de uma infeção transmitida através de transfusão, estimado em 1500 infeções por cada 100 000 dádivas (1,5%).^{2, 16}

Foram relatados casos esporádicos de CHIKV na Europa. O primeiro surto local na Europa (197 casos) teve lugar no norte de Itália em 2007, confirmando a possibilidade de surtos associados ao *Ae. albopictus* na Europa.¹⁵ Em 2014, foram relatados pelo menos 11 casos autóctones de CHIKV em Montpellier, em França, causados pelo mosquito tigre invasivo (*Ae. albopictus*), na vizinhança de um caso importado.²⁰

Até 2013, foram relatados surtos de CHIKV em África, na Ásia, na Europa e nas ilhas dos oceanos Índico e Pacífico, mas a transmissão do CHIKV ainda não tinha sido documentada no continente americano.^{2, 21} Todavia, o potencial para surtos de CHIKV já tinha sido reconhecido há muito tempo, pela prevalência dos transmissores e pela sua eficiência na transmissão de vírus da dengue.²¹ Os primeiros relatos de infeção CHIKV adquirida localmente no continente americano tiveram lugar em São Martinho, em dezembro de 2013.²¹

O CHIKV continua a ser uma preocupação no continente americano, particularmente nas Caraíbas. No dia 14 de julho de 2017, a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) relatou 58 806 casos suspeitos de transmissão autóctone (28 654 confirmados) de CHIKV na América do Sul, nas Caraíbas e na América do Norte, incluindo 13 mortes no Brasil.²² A maioria destes casos (52 724) ocorreu no Brasil; os casos restantes ocorreram na Bolívia, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guiana Francesa, Guadalupe, Guatemala, Martinica, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Porto Rico, São Bartolomeu, São Martinho e Venezuela.²²

A preocupação relativa à disseminação do CHIKV para os EUA está a aumentar. Até 2006, a doença CHIKV raramente foi identificada em viajantes dos EUA e não tinham sido documentados quaisquer casos adquiridos nos EUA.²³ De 2006 a 2013, uma média de 28 pessoas por ano (dos 5 aos 65) obtiveram um resultado positivo nos testes quanto a uma infeção recente do CHIKV; eram todos viajantes em visita ou de regresso aos EUA de áreas afetadas na Ásia, África ou oceano Pacífico.²³ No que respeita a 2014, foram relatados 2811 casos de doença CHIKV no ArboNET em 47 estados dos EUA (excluindo o Alasca, Nebraska e Wyoming), incluindo 12 casos de transmissão local na Florida.²³ Todos os outros casos envolviam viajantes que regressavam de áreas afetadas.²³ Em 2014, foram relatados no ArboNET um total de 4710 casos de CHIKV a partir de territórios dos EUA, incluindo Porto Rico, as Ilhas Virgens Britânicas e a Samoa Americana.²³

O CHIKV tornou-se uma condição declarável a nível nacional nos EUA em 2015. Em 2015, foram relatados 679 casos de CHIKV no ArboNET em 44 estados dos EUA (todos os estados, exceto Delaware, Louisiana, Novo México, Dakota do Sul, Virgínia Ocidental e Wyoming), todos em viajantes que regressavam de áreas afetadas.²⁴ Os territórios dos EUA (Porto Rico e Ilhas Virgens Britânicas) relataram 202 casos no ArboNET em 2015, sendo que todos os casos foram infeções transmitidas localmente.²⁴ Em 2016, foram relatados 175 casos de doença chikungunya no ArboNET em 37 estados dos EUA (todos os estados, exceto Alasca, Colorado, Idaho, Maine, Mississippi, Nevada, Dakota do Norte, Oklahoma, Oregon, Dakota do Sul, Vermont, Virgínia Ocidental e Wyoming).²⁵ Os 175 casos ocorreram em viajantes que regressavam de áreas afetadas; nenhum era infeção transmitida localmente.²⁵ Foi relatado um total de 171 casos de doença chikungunya em territórios dos EUA (todos de Porto Rico), sendo 170 de aquisição local e um associado a viagens.²⁵ A preocupação com a disseminação do CHIKV além da Florida aumentou com a descoberta de mosquitos *Ae. aegypti* no condado de Los Angeles (Commerce e Pico Rivera).²⁶

Fundamentos dos testes NAT

O DENV pode ser transmitido através de transfusão.^{2,6,7} Apesar de não ter sido relatada transmissão do CHIKV através de transfusão, o potencial para a infeção CHIKV transmitida através de transfusão tem como base a transmissibilidade através de transfusão de outros arbovírus, como o DENV.² Grande parte (53% a 87%) das infeções DENV e muitas (aproximadamente 25%) das infeções CHIKV são assintomáticas, por isso os indivíduos infetados podem doar sangue.^{2,6,7} Uma vez que os dadores infetados podem não desenvolver uma doença relevante em termos clínicos ou permanecer assintomáticos, questionar os dadores de sangue sobre sintomas recentes que sugiram uma infeção CHIKV ou DENV não é eficaz na identificação de dadores infetados.

Explicação do teste

O cobas® CHIKV/DENV é um teste qualitativo de PCR para a deteção e discriminação de ARN do CHIKV e DENV, que é executado nos sistemas cobas® 5800/6800/8800. O teste cobas® CHIKV/DENV permite o rastreio direcionado simultâneo ou individual do ARN do CHIKV e DENV num teste único de uma dádiva individual ou um pool ou de uma amostra individual para auxiliar no diagnóstico.

Princípios do procedimento

O teste **cobas**® CHIKV/DENV baseia-se em tecnologia de PCR em tempo real num sistema totalmente automático de preparação da amostra (extração e purificação de ácidos nucleicos), amplificação por PCR e deteção. O sistema **cobas**® 5800 é constituído por um único equipamento integrado. Os sistemas **cobas**® 6800/8800 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 do sistema **cobas**® 5800 ou sistemas **cobas**® 6800/8800, que atribui resultados de teste a todos os testes, na forma de não reativos, reativos ou inválidos. Quando for utilizado o sistema **cobas**® 5800/6800/8800, os resultados podem ser examinados diretamente no ecrã do sistema, impressos em forma de relatório, ou podem ser enviados para um Sistema de gestão de informações laboratoriais (LIMS) ou para outro sistema de gestão de resultados.

Para o rastreio de dadores, as amostras podem ser testadas individualmente ou testadas em pools constituídas por várias amostras.

No caso de as amostras serem testadas em pools, poderá opcionalmente utilizar num passo pré-analítico o software **cobas**® Synergy com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Os ácidos nucleicos da amostra e o ARN protegido de moléculas do controlo interno (IC) (que servem como controlo de todo o processo, desde a preparação da amostra até à amplificação/deteção) são extraídos simultaneamente. O controlo interno monitoriza se existe alguma interferência que poderia causar resultados falsos negativos. As amostras potencialmente afetadas são invalidadas. Adicionalmente, o teste utiliza dois controlos externos: um controlo positivo e um controlo negativo. Os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas magnéticas de vidro adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR (como a hemoglobina), são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem, e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro com tampão de eluição a alta temperatura.

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

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

Reagentes e materiais

Reagentes e controlos do cobas® CHIKV/DENV

Os materiais fornecidos para o cobas® CHIKV/DENV encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se na Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 10 e na Tabela 11. Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

Tabela 1 cobas® CHIKV/DENV


Conservar entre 2 e 8 °C

Cassete de 480 testes (P/N 09040650190)

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

Tabela 2 cobas® CHIKV/DENV Control Kit

Conservar entre 2 e 8 °C
(P/N 09040668190)


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

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

** Substância perigosa

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit

Conservar entre 2 e 8 °C
(P/N 09051554190)


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

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

** Substância perigosa

Reagentes cobas® omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagentes cobas® omni para preparação da amostra*

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	480 testes	Não aplicável
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	4 × 875 ml	Não aplicável
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5% (p/v) de polidocanol**, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P301 + P330 + P331: SE INGERIDO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito. 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.</p> <p>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

* 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, Tabela 6 e Tabela 7.

Quando os reagentes não estiverem nos sistemas cobas® 5800/6800/8800, 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® CHIKV/DENV - 480	2 a 8 °C
cobas® CHIKV/DENV Control Kit	2 a 8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15 a 30 °C

Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas® 5800 e sistemas cobas® 6800/8800

Os reagentes carregados no sistema cobas® 5800 ou nos sistemas cobas® 6800/8800 são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema permite que sejam usados reagentes apenas se todas as condições indicadas na Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8 forem satisfeitas. A restante estabilidade do kit aberto e do número de kits usa informações para reagentes específicos para o ensaio está acessível através da interface de utilizador do sistema.

Tabela 6 Condições de manuseamento do reagente monitorizadas e exigidas pelo sistema cobas® 5800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento
cobas® CHIKV/DENV - 480	90 dias desde a primeira utilização	40	36 dias
cobas® CHIKV/DENV Control Kit	Frasco de utilização única	16	36 dias
cobas® NHP Negative control Kit	Frasco de utilização única	16	36 dias

Tabela 7 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos sistemas cobas® 6800/8800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento (fora do refrigerador a bordo)
cobas® CHIKV/DENV - 480	90 dias desde a primeira utilização	20	20 horas
cobas® CHIKV/DENV Control Kit	Frasco de utilização única	16	10 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	Frasco de utilização única	16	10 horas

Tabela 8 mostra a estabilidade do kit aberto dos reagentes **cobas® omni**. Antes de cada corrida, o sistema verifica a estabilidade do kit aberto e garante volume de enchimento suficiente. Por isso, estes reagentes não têm número de utilizações do kit nem estabilidade a bordo atribuída.

Tabela 8 Condições de manuseamento do reagente **cobas® omni** monitorizada e exigida pelos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Reagente	Estabilidade do kit aberto
cobas® omni Lysis Reagent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni MGP Reagent	30 dias desde a primeira utilização
cobas® omni Specimen Diluent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni Wash Reagent	30 dias desde o carregamento

Materiais adicionais necessários para os sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Tabela 9 Material e consumíveis para utilizar nos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Material	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabela 10 Consumíveis para utilização no sistema **cobas® 5800***

Material
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Ponta CORE TIPS com filtro, 1 ml
Ponta CORE TIPS com filtro, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto
Suporte S de tubos de 16 posições completo
Suporte de racks de 5 posições

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador para o sistema **cobas® 5800**.

Tabela 11 Material e consumíveis para utilizar nos sistemas **cobas®** 6800/8800*

Material
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto e gaveta de kit

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador para os sistemas **cobas®** 6800/8800.

Equipamentos e software necessários

O software **cobas®** 5800, o software dos sistemas **cobas®** 6800/8800 e o pacote de análise **cobas®** CHIKV/DENV (ASAP) para os sistemas **cobas®** 5800/6800/8800 devem ser instalados no(s) equipamento(s). O software **cobas®** **Synergy** pode ser instalado, se aplicável.

Para os sistemas **cobas®** 6800/8800 com versão do software 1.4, o servidor Instrument Gateway (IG) será fornecido com o sistema. O software **cobas®** **Synergy** pode ser instalado, se aplicável.

Tabela 12 Equipamentos

Equipamento	P/N
Sistema cobas® 5800	08707464001
Sistema cobas® 6800	05524245001 e 9575154001
Sistema cobas® 8800	05412722001 e 09575146001
Módulo de abastecimento de amostras dos sistemas cobas® 6800/8800	06301037001 e 09936882001
Opções para pipetagem e pooling	P/N
Licença eletrónica do software cobas® Synergy (apenas para o sistema cobas® 5800) (opcional)	09311246001
Licença eletrónica do software cobas® Synergy (para os sistemas cobas® 6800/8800) (opcional)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Para informações adicionais, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas®** 5800 ou dos sistemas **cobas®** 6800/8800. Para mais informações sobre os tubos primários e secundários aceites nos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas®** **Synergy**.

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

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 ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Todas as amostras deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.^{32,33} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do teste **cobas**® CHIKV/DENV e dos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 ou o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD com o software **cobas**® Synergy, se aplicável.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5% em água destilada ou desionizada ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas**® CHIKV/DENV Control Kit e o **cobas**® NHP Negative Control Kit contêm plasma derivado do sangue humano. Os testes de plasma humano normal por métodos de PCR também não apresentaram quaisquer ARN do CHIKV e ARN do DENV detetáveis. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- Não congele sangue total.
- Recomenda-se a utilização de pipetas esterilizadas descartáveis e de pontas de pipetagem isentas de nucleases. Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (FDS) 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.
- A disrupção das várias camadas célula-plasma ou a difusão do material após a centrifugação pode originar taxas de invalidade mais elevadas.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de fuga, não utilize esse material para testes.
- O **cobas® omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- Os kits **cobas® CHIKV/DENV**, o **cobas® omni** MGP Reagent e o **cobas® omni** Specimen Diluent contém 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.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (FDS) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de kits de teste **cobas® CHIKV/DENV** 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 potássio ou de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada. Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas® 5800** ou **cobas® 6800/8800**, siga as instruções indicadas na Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou na Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas® 6800/8800** para limpar e descontaminar as superfícies do equipamento de forma adequada.

Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras

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

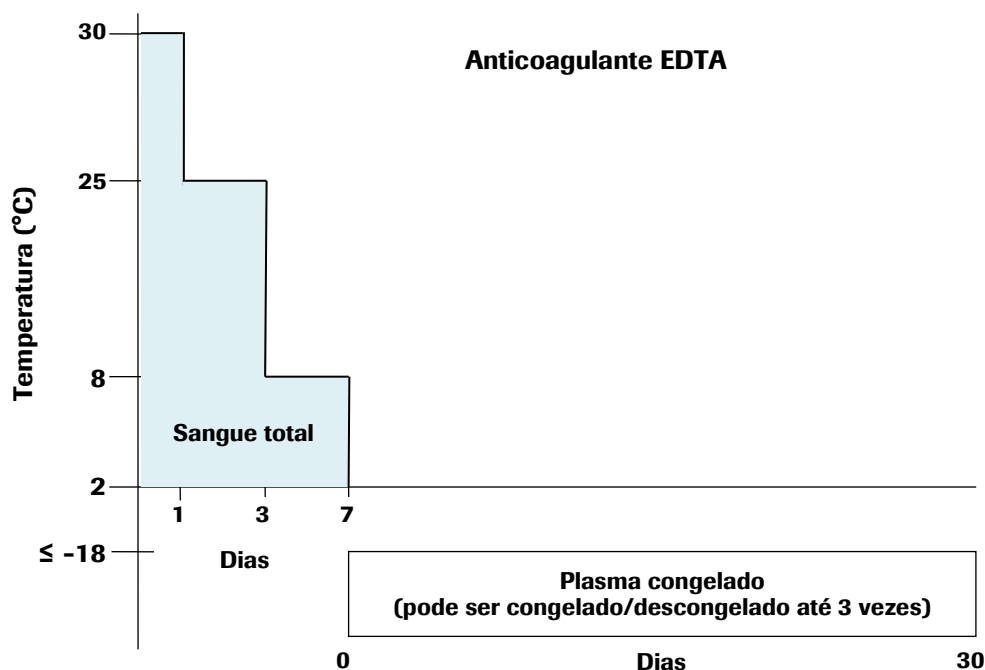
Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Amostras de dadores vivos e de diagnóstico

- O plasma colhido em EDTA, CPD, CPDA1, CP2D pode ser utilizado com o **cobas**® CHIKV/DENV. Para o manuseamento e a centrifugação, siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra/sacos de colheita de amostras.
- O sangue colhido em EDTA pode ser armazenado durante um máximo de 7 dias nas seguintes condições:
 - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
 - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
- Além do indicado acima, as amostras podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 30 dias a temperaturas ≤ -18 °C com 3 ciclos de congelação/descongelação. Consulte a Figura 1.

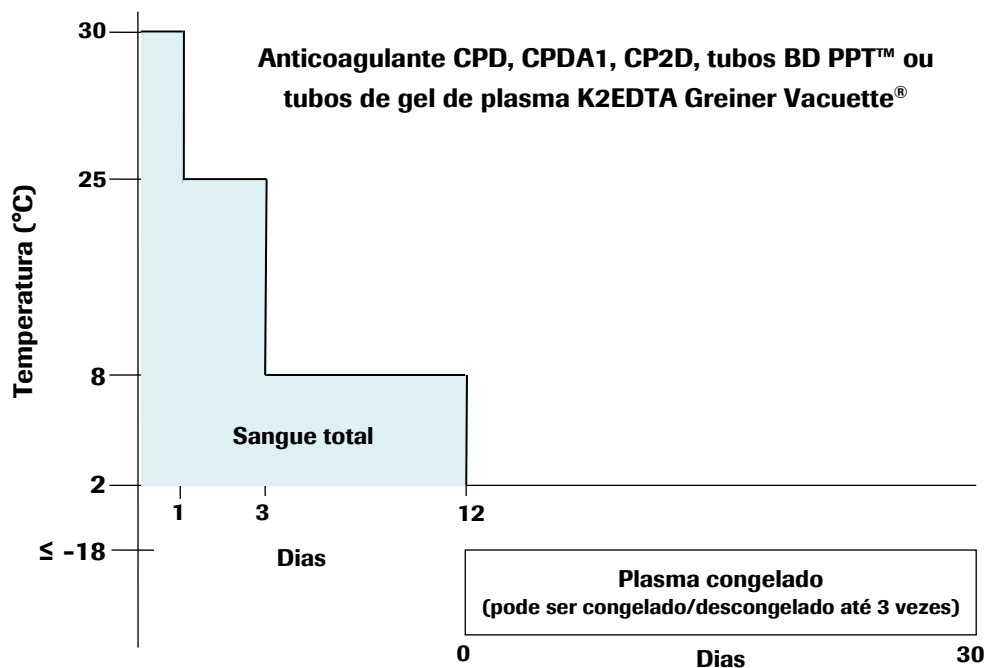
Figura 1 Condições de armazenamento das amostras colhidas em EDTA



- Os tubos de sangue colhido em CPD, CPDA1 ou CP2D, tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) ou os tubos de gel de plasma K2EDTA Greiner Vacuette® podem ser armazenados até 12 dias nas seguintes condições:
 - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
 - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.

- Além do indicado acima, as amostras podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 30 dias a temperaturas ≤ -18 °C com 3 ciclos de congelação/descongelação. Consulte a Figura 2.

Figura 2 Condições de armazenamento das amostras colhidas em CPD, CPDA1, CP2D, tubos BD PPT™ e tubos de gel de plasma K2EDTA Greiner Vacuette®



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

Instruções de utilização

Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional)

O software **cobas® Synergy** com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD pode ser utilizado como um componente opcional com os sistemas **cobas® 5800/6800/8800** para pipetagem e pooling automatizados de alíquotas de várias amostras primárias para uma amostra em pool. Para mais informações, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas® Synergy**.

Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do teste **cobas® CHIKV/DENV**, **cobas® CHIKV/DENV Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** ou reagentes **cobas® omni** depois de expirados os respetivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Consulte a Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas® 5800** ou **cobas® 6800/8800** ou a Assistência ao utilizador do software **cobas® Synergy** para mais informações relativas aos procedimentos opcionais de pooling e a manutenção adequada dos equipamentos, conforme aplicável.
- Resultados inválidos podem ter sido influenciados por vários fatores contribuintes, incluindo, entre outros, as características da amostra, substâncias interferentes e fluxos de trabalho pré-analíticos.

Execução do **cobas® CHIKV/DENV** nos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

- A operação dos equipamentos está descrita ao pormenor na Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.
- Para a manutenção adequada do equipamento, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.
- Certifique-se de que as etiquetas de código de barras dos tubos de amostra estão visíveis através das aberturas laterais das racks de amostras MPA ou RD5. Para as especificações corretas dos códigos de barras e informações adicionais sobre o carregamento de tubos de amostra, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.

Figura 3 Procedimento do teste cobas® CHIKV/DENV no sistema cobas® 5800

1	Pipetagem e pooling
2	Carregar racks de amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Carregar racks de amostras no sistema • Pedir testes manualmente se não estiverem disponíveis pedidos do LIS
3	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Carregar a(s) cassette(s) de reagente específica(s) do teste • Carregar mini racks de controlo • Carregar pontas de processamento • Carregar pontas de eluição • Carregar placas de processamento • Carregar placas de resíduos líquidos • Carregar placas de amplificação • Carregar cassette com MGP • Reabastecer diluente de amostras • Reabastecer reagente de lise • Reabastecer reagente de lavagem
4	Iniciar a corrida premindo manualmente o botão de início na interface de utilizador. Todas as corridas subsequentes iniciarão automaticamente, se não forem adiadas manualmente.
5	Examinar resultados
6	Remover quaisquer tubos de amostra Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none"> • Esvaziar cassetes de reagente • Esvaziar mini racks de controlo • Esvaziar gaveta de placas de amplificação já utilizadas • Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos • Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos

Figura 4 Procedimento de teste cobas® CHIKV/DENV nos sistemas cobas® 6800/8800

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

Resultados

O sistema cobas® 5800 e os sistemas cobas® 6800/8800 detetam e discriminam automaticamente o ARN do CHIKV e o ARN do DENV das amostras e dos controlos.

Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão de software 2.0 ou superior

- Um cobas® NHP Negative Control [(-) C] e um cobas® CHIKV/DENV Positive Control [CHIKV-DENV (+) C] são processados com cada lote de kit novo e cada corrida, mas podem ser configurados para uma programação menos frequente, com base no procedimento do laboratório e/ou regulamentos locais.
- No relatório e/ou no software, verifique se há sinalizadores e respetivos resultados associados para garantir a validade do controlo (consulte a Assistência ao utilizador do gestor de dados x800 para uma “Lista de códigos do sinalizador”).
- Os resultados dos controlos são apresentados na aplicação “Controlos” do software.
- Os controlos estão assinalados com um “Válido” na coluna “Resultado do controlo”, se o respetivo alvo do controlo for considerado válido. Os controlos estão assinalados com um “Inválido” na coluna “Resultado do controlo”, se o respetivo alvo do controlo for considerado inválido.
- Os controlos assinalados com um “Inválido” apresentam um sinalizador na coluna “Sinalizadores”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o controlo é mostrado como inválido, incluindo informações sobre o sinalizador.
- Se um dos controlos for inválido, é necessário repetir todos os controlos e todas as amostras associadas ao teste.

A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software do equipamento com base nos resultados do controlo.

NOTA: o sistema cobas® 5800 e os sistemas cobas® 6800/8800 são fornecidos com a versão do software 2.0 ou superior com a predefinição de executar um conjunto de controlos (positivo e negativo) com cada corrida, mas pode ser configurado para uma programação menos frequente para até cada 72 horas com base nos regulamentos locais e/ou nos procedimentos do laboratório. Para mais informações, contacte o seu técnico de assistência Roche e/ou o serviço de apoio ao cliente da Roche.

Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas cobas® 6800/8800

- Um cobas® NHP Negative Control [(-) C] e um cobas® CHIKV/DENV Positive Control [CHIKV-DENV (+) C] são processados com cada batch.
- No relatório e/ou no software, verifique os sinalizadores e os respetivos resultados associados para se certificar da validade do batch.
- O batch é válido se não aparecer nenhum sinalizadores para ambos os controlos. Se o batch for inválido, é necessário repetir os testes de todo o batch.
- A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software com base nos resultados do controlo.

Resultados de controlo nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 1.4

Alarmes de controlos

Tabela 13 Alarmes de controlo dos controlos positivos e negativo nos sistemas cobas® 6800/8800

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

Se um dos controlos for inválido, repita os testes do(s) respetivo(s) controlo e todas as amostras associadas.

Interpretação de resultados para os sistemas cobas® 5800/6800/8800

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software dos sistemas cobas® 5800/6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido pode incluir resultados de amostra válidos e inválidos.
- Os resultados de amostras são válidos apenas se o respetivo controlo positivo e controlo negativo do batch correspondente forem válidos.

São detetados simultaneamente três parâmetros para cada amostra: CHIKV, DENV e o controlo interno. Os resultados de amostra finais do teste cobas® CHIKV/DENV são indicados pelo software. Para além dos resultados globais, o resultado individual dos alvos (só cobas® 6800/8800 SW 1.4) serão apresentados no software dos sistemas cobas® 5800/6800/8800 e devem ser interpretados da seguinte maneira:

Tabela 14 Resultados do alvo para interpretação do resultado do alvo individual

Resultados alvo	Interpretação
CHIKV Non-Reactive	Nenhum sinal do alvo detetado para o CHIKV e sinal do IC detetado.
CHIKV Reactive	Sinal do alvo detetado para o CHIKV e sinal do IC poderá ter sido ou não detetado.
DENV Non-Reactive	Nenhum sinal do alvo detetado para o DENV e sinal do IC detetado.
DENV Reactive	Sinal do alvo detetado para o DENV e sinal do IC poderá ter sido ou não detetado.
Invalid	O alvo e/ou o controlo interno não correspondem aos critérios de validade.

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

Interpretação de resultados no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior

Os resultados das amostras estão indicados na aplicação “Resultados” do software.

Recomenda-se que a revisão dos resultados seja efetuada no software **cobas® Synergy**, se aplicável. Para um batch de controlo válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software e/ou no relatório.

A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras associadas a um batch de controlo válido (conforme definido pela configuração dos controlos do seu sistema) são indicadas como “Válido” na coluna “Resultado do controlo”. As amostras associadas a um batch de controlo falhado são indicadas como “Inválido” na coluna “Resultado do controlo”.
- Se os controlos associados a um resultado da amostra forem inválidos, será adicionado um sinalizador específico ao resultado da amostra como se segue:
 - Q05D: falha de validação de resultado, devido a um controlo positivo inválido
 - Q06D: falha de validação de resultado, devido a um controlo negativo inválido
- Os valores na coluna “Resultados” para o resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 14 acima.
- Se um ou mais alvos de amostra estiverem marcados com “Inválido”, o software indica um sinalizador na coluna “Sinalizadores”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o(s) alvos de amostra é(são) mostrado(s) como inválido, incluindo informações sobre o sinalizador.
- O resultado global só será apresentado na vista de resultados do software **cobas® Synergy**, se aplicável.

Interpretação de resultados nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 1.4

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software dos sistemas **cobas® 6800/8800** e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras estão assinaladas com “Sim” na coluna “Válido” se todos os resultados dos alvos pedidos indicaram resultados válidos.
- As amostras assinaladas com “Não” na coluna “Válido” podem necessitar de interpretação e ação adicionais.

Os valores do resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 14 acima. Para informações mais detalhadas sobre resultados de amostras e sinalizadores, consulte a Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas® 6800/8800**.

Repetição de testes de amostra(s) individual(is) no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão do software 2.0 ou superior

Os tubos de amostra com um resultado final inválido para um alvo necessitam de repetição do teste, independentemente dos resultados válidos dos outros alvos.

Limitações do procedimento

- O teste **cobas**® CHIKV/DENV foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas**® CHIKV/DENV Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent e **cobas**® **omni** Wash Reagent para utilização nos sistemas **cobas**® 6800/8800.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Não utilize plasma heparinizado com este teste, porque foi verificado que a heparina inibe a PCR.
- A deteção do ARN do CHIKV e do ARN do DENV depende do número de partículas virais presentes na amostra e pode ser afetada pelos métodos de colheita, armazenamento e manuseamento de amostra, por fatores inerentes ao próprio doente (por ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou o estágio da infeção e o tamanho do pool.
- Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas do genoma viral abrangidas pelo **cobas**® CHIKV/DENV, podem afetar a ligação de primers e/ou sonda e resultar na não deteção da presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos específicos.

Avaliação do desempenho não clínico

Equivalência dos sistemas

Foi demonstrada a equivalência dos sistemas **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 e **cobas**® 8800 através de estudos de desempenho. Os dados apresentados nestas Instruções de utilização, suportam um desempenho equivalente em todos os sistemas.

Características principais do desempenho

Limite de detecção (LoD)

Padrão Secundário da Roche

O limite de detecção (LoD) do **cobas**® CHIKV/DENV foi determinado utilizando os seguintes padrões:

- Padrão Secundário da Roche para serotipo 1 do DENV (DENV-1)
- Padrão Secundário da Roche para serotipo 2 do DENV (DENV-2)
- Padrão Secundário da Roche para serotipo 3 do DENV (DENV-3)
- Padrão Secundário da Roche para serotipo 4 do DENV (DENV-4)
- Padrão Secundário da Roche para genótipo asiático do CHIKV (CHIKV-Asian)
- Padrão Secundário da Roche para genótipo Este, Centro e Sul da África do CHIKV (CHIKV-ECSA)
- Armored RNA para o genótipo da África Ocidental do CHIKV (CHIKV-WA)

Os Padrões Secundários da Roche para DENV são sobrenadantes de culturas de vírus inativados por calor e os títulos são rastreáveis com conformidade com o 1º Painel de referência internacional para tipos de vírus da dengue de 1 a 4 (DENV-1 BB, DENV-2 AA, DENV-3 CC e DENV-4 BB) para técnicas de amplificação de ácidos nucleicos.

Atualmente, não estão disponíveis padrões internacionais para o CHIKV. Os Padrões da Roche do CHIKV (CHIKV-Asian, CHIKV-ECSA), os sobrenadantes de culturas de vírus inativados por calor e o Armored RNA (CHIKV-WA) são rastreáveis com o reagente de referência ARN do CBER do CHIKV (CHIKV-RR).³⁴

Para os Padrões Secundários da Roche para DENV-1 e CHIKV-Asian, foram preparadas três séries de diluições independentes coformuladas dos dois padrões virais com plasma EDTA humano normal, negativo quanto a vírus (CHIKV e DENV). Cada série de diluições foi testada utilizando três lotes diferentes de kits de teste **cobas**® CHIKV/DENV, com aproximadamente 63 réplicas por lote, num total de cerca de 189 réplicas por concentração.

Para os Padrões Secundários da Roche para DENV-2, DENV-3, DENV-4, CHIKV-ECSA e Armored RNA para CHIKV-WA, foram preparadas 3 séries independentes de cada padrão viral coformulado para membros DENV-2 e CHIKV-ECSA e formulados individualmente para DENV-3, DENV-4 e CHIKV-WA com plasma EDTA humano normal, negativo quanto a vírus (CHIKV e DENV). Cada série de diluição foi testada utilizando 3 lotes diferentes de kits de teste **cobas**® CHIKV/DENV, com aproximadamente 42 réplicas por lote, num total de cerca de 126 réplicas por concentração.

Para cada vírus, foi utilizada a análise PROBIT nos dados combinados de todas as séries de diluições e todos os lotes de reagente para calcular o LoD, juntamente com os limites inferior e superior do intervalo de confiança de 95% (Tabela 15). As taxas de reatividade observadas nos estudos do LoD para cada vírus estão resumidas na Tabela 16 até à Tabela 22.

Tabela 15 Resultados da análise PROBIT sobre dados de LoD obtidos com padrões virais em plasma EDTA

Analito	Unidade de medida	LoD	Limite inferior de confiança de 95%	Limite superior de confiança de 95%
DENV-1	UI/ml	0,6	0,5	0,8
DENV-2	UI/ml	1,0	0,8	1,3
DENV-3	UI/ml	1,0	0,9	1,3
DENV-4	UI/ml	0,4	0,3	0,5
CHIKV Asian	UD*/ml	6,8	5,9	8,1
CHIKV ECSA	UD*/ml	9,3	7,9	11,5
CHIKV WA	UD*/ml	7,1	6,1	8,7

* Unidades Detetáveis

Tabela 16 Resumo das taxas de reatividade para o DENV-1 em plasma EDTA

Concentração de ARN do DENV (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
1,69	189	189	100,0%	98,4%
0,85	187	189	98,9%	96,7%
0,42	163	189	86,2%	81,4%
0,21	119	189	63,0%	56,7%
0,11	81	189	42,9%	36,7%

Tabela 17 Resumo das taxas de reatividade para o DENV-2 em plasma EDTA

Concentração de ARN do DENV (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
3,49	126	126	100,0%	97,7%
1,75	125	126	99,2%	96,3%
0,87	116	126	92,8%	87,8%
0,44	92	126	73,0%	65,7%
0,22	60	126	47,6%	40,0%

Tabela 18 Resumo das taxas de reatividade para o DENV-3 em plasma EDTA

Concentração de ARN do DENV (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
1,40	126	126	100,00%	97,7%
0,70	106	126	84,1%	77,8%
0,35	85	124	68,5%	61,0%
0,17	48	125	38,4%	31,1%
0,09	21	125	16,8%	11,5%

Tabela 19 Resumo das taxas de reatividade para o DENV-4 em plasma EDTA

Concentração de ARN do DENV (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
2,40	126	126	100,0%	97,7%
1,20	126	126	100,0%	97,7%
0,60	124	126	98,4%	95,1%
0,30	116	126	92,1%	86,9%
0,15	90	126	71,4%	64,1%

Tabela 20 Resumo das taxas de reatividade para o CHIKV-Asian em plasma EDTA

Concentração de ARN do CHIKV (UD/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
16,0	189	189	100,0%	98,4%
8,0	188	189	99,5%	97,5%
4,0	150	189	79,4%	73,9%
2,0	94	189	49,7%	43,5%
1,0	50	189	26,5%	21,2%

Tabela 21 Resumo das taxas de reatividade para o CHIKV-ECSA em plasma EDTA

Concentração de ARN do CHIKV (UD/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
16,0	126	126	100,0%	97,7%
8,0	119	126	94,4%	89,8%
4,0	80	125	64,0%	56,3%
2,0	45	126	35,7%	28,6%
1,0	16	126	12,7%	8,1%

Tabela 22 Resumo das taxas de reatividade para o CHIKV-WA em plasma EDTA

Concentração de ARN do CHIKV (UD/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
16,0	126	126	100,0%	97,7%
8,0	122	126	96,8%	92,9%
4,0	100	126	79,4%	72,5%
2,0	54	126	42,9%	35,4%
1,0	19	126	15,1%	10,1%

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do **cobas**® CHIKV/DENV nos sistemas **cobas**® 6800/8800 foi determinada utilizando os seguintes padrões:

- Padrão Secundário da Roche para serotipo 1 do DENV (DENV-1)
- Padrão Secundário da Roche para genótipo asiático do CHIKV (CHIKV-Asian)

Este estudo consistiu em 3 painéis de membros CHIKV e DENV coformulados em concentrações de aproximadamente 0,5 ×, 1 × e 2 × o LoD do **cobas**® CHIKV/DENV para cada vírus. Os testes foram efetuados para os seguintes componentes de variabilidade:

- variabilidade dia-a-dia durante 3 dias
- variabilidade lote-a-lote utilizando 3 lotes de reagente diferentes do **cobas**® CHIKV/DENV
- variabilidade equipamento-a-equipamento utilizando 3 sistemas **cobas**® 8800 diferentes

Foram testadas aproximadamente 21 réplicas com cada um dos 3 painéis, para um total de 63 réplicas com cada lote de reagente. Foram avaliados todos os dados de reprodutibilidade válidos, calculando a percentagem de resultados de teste reativos para cada nível de concentração, através de todos os componentes de variabilidade.

Foram calculados os limites dos intervalos de confiança bilaterais de 95% de cada taxa de reativos para cada um dos 3 níveis de CHIKV e DENV, testados em 3 dias diferentes, utilizando 3 lotes de reagente e 3 sistemas **cobas**® 8800. O teste **cobas**® CHIKV/DENV é reprodutível em vários dias diferentes, utilizando vários lotes de reagente e vários equipamentos. Os resultados da variabilidade lote-a-lote de reagente estão resumidos na Tabela 23.

Tabela 23 Resumo da reprodutibilidade lote-a-lote de reagente do teste cobas® CHIKV/DENV

Analito	Concentração	Lote de reagente	% de reativos (reativos/réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança de 95%	Limite superior do intervalo de confiança de 95%
DENV-1	2 × LoD	1	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	96,8% (61/63)	89,0%	99,6%
	0,5 × LoD	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	84,1% (53/63)	72,7%	92,1%
		3	82,5% (52/63)	70,9%	90,9%
CHIKV-Asian	2 × LoD	1	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	0,5 × LoD	1	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		2	87,3% (55/63)	76,5%	94,4%
		3	73,0% (46/63)	60,3%	83,4%

Verificação de genótipos

O desempenho do cobas® CHIKV/DENV na detecção dos 4 serotipos do DENV e dos 3 genótipos do CHIKV foi determinado pelo teste de um total de 43 amostras clínicas únicas, 2 isolados de cultura e 1 Armored RNA (aRNA) com serotipos/genótipos conhecidos. As 43 amostras clínicas foram testadas puras e após diluição com plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (CHIKV e DENV) para 4 × LoD do cobas® CHIKV/DENV.

As amostras clínicas e os isolados de cultura foram todos detetados puros e a 4 × LoD (Tabela 24).

Tabela 24 Amostras clínicas do CHIKV/DENV, isolados de cultura e Armored RNA

Alvo	Genótipo/Serotipo	Amostras	% de reativas (reativas/amostras testadas) puras	% de reativas (reativas/amostras testadas) diluídas a 4 × LoD
CHIKV	Asian	10 amostras clínicas	100% (10/10)	100% (10/10)
	ECSA	1 isolado de cultura	100% (1/1)	100% (1/1)
	West African	1 aRNA	100% (1/1)	100% (1/1)
DENV	1	10 amostras clínicas	100% (10/10)	100% (10/10)
	2	10 amostras clínicas	100% (10/10)	100% (10/10)
	3	3 amostras clínicas, 1 isolado de cultura	100% (4/4)	100% (4/4)
	4	10 amostras clínicas	100% (10/10)	100% (10/10)

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® CHIKV/DENV foi avaliada relativamente a reatividade cruzada com 31 microrganismos a 10^5 - 10^6 partículas, cópias, equivalentes de genoma, UI ou CFU/ml, que incluía 24 isolados virais, seis estirpes bacterianas e um isolado de levedura (Tabela 25). Os microrganismos foram adicionados a plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (CHIKV and DENV) e testados com e sem CHIKV e DENV (coformulados) adicionado a uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do **cobas**® CHIKV/DENV. Os microrganismos testados não apresentaram reação cruzada nem interferiram com o **cobas**® CHIKV/DENV.

Tabela 25 Microrganismos testados relativamente a especificidade analítica

Vírus	Flavivírus	Bactérias	Leveduras
Adenovírus tipo 5	Vírus da encefalite japonesa	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus	Vírus da encefalite de Murray Valley	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Vírus de Epstein Barr	Vírus da encefalite de São Luís	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Vírus da hepatite A	Vírus Usutu	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Vírus da hepatite B	Vírus do Nilo Ocidental	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Vírus da hepatite C	Vírus da febre amarela	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Vírus da hepatite E	Vírus Zika	-	-
Vírus da hepatite G	-	-	-
Vírus herpes simplex tipo 1	-	-	-
Vírus herpes simplex tipo 2	-	-	-
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1 grupo M)	-	-	-
Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-2)	-	-	-
Vírus linfotrópico da célula T humana tipo I	-	-	-
Vírus linfotrópico da célula T humana tipo II	-	-	-
Vírus do herpes humano tipo 6A	-	-	-
Vírus da gripe A	-	-	-
Vírus da varicela-zoster	-	-	-

Amostras de plasma de cada um dos estados de doença (Tabela 26) foram testadas com e sem CHIKV e DENV (coformulados) adicionados a uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do cobas® CHIKV/DENV para cada vírus. Estes estados de doença não apresentaram reação cruzada nem interferiram com o cobas® CHIKV/DENV.

Tabela 26 Amostras de estados de doença testadas relativamente a especificidade analítica

Agentes causadores de doença		
Adenovírus tipo 5	Vírus da hepatite C	Vírus linfotrópico da célula T humana tipo I
Citomegalovírus	Vírus da hepatite E	Vírus linfotrópico da célula T humana tipo II
Vírus de Epstein Barr	Vírus herpes simplex tipo 1	Parvovírus B19
Vírus da hepatite A	Vírus herpes simplex tipo 2	Vírus do Nilo Ocidental
Vírus da hepatite B	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1) grupo M	-

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Substâncias com interferência endógena

Amostras de plasma com níveis anormalmente elevados de triglicéridos (até 33,0 g/l), hemoglobina (até 2,0 g/l), bilirrubina não conjugada (até 0,20 g/l), albumina (até 60,0 g/l) ou ADN humano (até 0,002 g/l) foram analisadas com e sem vírus CHIKV e DENV (coformulados) adicionados a uma concentração de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ do cobas® CHIKV/DENV. Amostras contendo estas substâncias endógenas não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste cobas® CHIKV/DENV.

Substâncias com interferência exógena

Foram testadas amostras de plasma EDTA humano normal, negativo para o vírus (CHIKV e DENV) contendo concentrações anormalmente altas de fármacos (Tabela 27), com e sem CHIKV e DENV (coformulados) adicionados a uma concentração de $3 \times \text{LoD}$ do cobas® CHIKV/DENV para cada vírus. Estas substâncias exógenas não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do cobas® CHIKV/DENV.

Tabela 27 Concentrações de fármacos adicionados ao plasma EDTA

Nome do fármaco testado	Concentração
Acetaminofeno	1337 $\mu\text{mol/l}$
Ácido acetilsalicílico	3657 $\mu\text{mol/l}$
Ácido ascórbico	346 $\mu\text{mol/l}$
Atorvastatina	606 $\mu\text{g eq/l}$
Fluoxetina	11,3 $\mu\text{mol/l}$
Ibuprofeno	2450 $\mu\text{mol/l}$
Loratadina	0,8 $\mu\text{mol/l}$
Nadolol	3,9 $\mu\text{mol/l}$
Naproxeno	2192 $\mu\text{mol/l}$
Paroxetina	3,1 $\mu\text{mol/l}$
Fenilefrina HCL	496 $\mu\text{mol/l}$
Sertralina	2,0 $\mu\text{mol/l}$

Correlação

Avaliação do desempenho do cobas® CHIKV/DENV comparado com o teste RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 e teste RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0

O desempenho do cobas® CHIKV/DENV foi comparado com o teste RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 e o teste RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0 (Altona Diagnostics) utilizando 100 amostras individuais positivas para NAT de CHIKV, 100 amostras positivas para NAT de DENV e 100 amostras de plasma negativas para CHIKV e DENV.

As amostras negativas foram testadas puras com o teste cobas® CHIKV/DENV, o teste RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 e o teste RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0, as amostras positivas foram testadas puras com o cobas® CHIKV/DENV e o teste RealStar® correspondente.

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

Para amostras positivas, o cobas® CHIKV/DENV é mais sensível ao CHIKV e ao DENV do que o teste RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 e do que o teste RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0. Os métodos não estavam em conformidade com base no teste de McNemar (Tabela 28).

Tabela 28 Correlação de amostras positivas (puras)

Métodos		Resultados do alvo viral individual	
Teste RealStar® CHIKV RT-PCR Kit 2.0 Teste RealStar® DENV RT-PCR Kit 2.0	cobas® CHIKV/DENV	CHIKV	DENV
Não reativo	Não reativo	1	0
Reativo	Não reativo	0	0
Não reativo	Reativo	14	19
Reativo	Reativo	85	81
Total		100	100
Teste de McNemar, valor de p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		0,0001	0,0000

Falha global do sistema

A taxa de falha global do sistema para o cobas® CHIKV/DENV foi determinada testando 100 réplicas de plasma EDTA adicionadas com CHIKV e DENV (coformulados). Estas amostras foram testadas a uma concentração alvo de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ e a respetiva corrida foi executada em pools de 1 (não diluídas). O estudo foi realizado utilizando o sistema cobas® 6800 com o equipamento cobas® p 680 (pipetagem e pooling).

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

Avaliação do desempenho clínico

Sensibilidade clínica (diagnóstico)

A avaliação da sensibilidade do diagnóstico do **cobas**® CHIKV/DENV foi realizada usando 111 amostras clínicas positivas para Chikungunya e 134 amostras clínicas positivas para dengue testadas puras num local de teste interno. O teste **cobas**® CHIKV/DENV detetou 100% (111/111; intervalo de confiança bilateral de 95% (IC): 96,7-100%) pra o vírus Chikungunya e 100% (134/134; 95% IC: 97,3-100%) para o vírus do dengue (Tabela 29).

Tabela 29 Sensibilidade do diagnóstico das amostras (puras) comprovadamente positivas de CHIKV e DENV

Alvo	Número de amostras testadas	Número de amostras reativas	Número de amostras não reativas	Sensibilidade do diagnóstico	IC de 95% exato
CHIKV	111	111	0	100%	(96,7%, 100%)
DENV	134	134	0	100%	(97,3%, 100%)

Especificidade clínica (diagnóstico)

A especificidade clínica (diagnóstico) do **cobas**® CHIKV/DENV foi avaliada ao testar amostras individuais de dádivas de sangue dos EUA continental e Porto Rico, regiões não-endêmica e endêmica de CHIKV/DENV respetivamente, num local de laboratório externo nos EUA. Foi usado um lote de reagente **cobas**® CHIKV/DENV para ambos os estudos. A especificidade clínica do **cobas**® CHIKV/DENV foi calculada como a percentagem (intervalo de confiança bilateral de 95%) de dádivas de CHIKV/DENV com estado de dádiva negativo, que tiveram resultados não reativos do **cobas**® CHIKV/DENV. Foram realizadas 10 528 dádivas avaliáveis da região não-endêmica e 1056 dádivas avaliáveis da região endêmica.

A especificidade do teste **cobas**® CHIKV/DENV foi de 100% para os alvos CHIKV e DENV em dádivas de sangue global e separadamente das regiões não endêmica e endêmica (Tabela 30).

Tabela 30 Especificidade clínica (diagnóstico) do **cobas**® CHIKV/DENV – testes de dádivas individuais

Endemismo	Alvo	Número total de dádivas com estado negativo	cobas ® CHIKV/DENV reativo	cobas ® CHIKV/DENV não reativo	Estimativa de especificidade de diagnóstico em percentagem (IC de 95% exato)
Não endêmico	CHIKV	10 528	0	10 528	100,000 (99,965; 100,000)
Não endêmico	DENV	10 528	0	10 528	100,000 (99,965; 100,000)
Endêmica	CHIKV	1056	0	1056	100,000 (99,651; 100,000)
Endêmica	DENV	1056	0	1056	100,000 (99,651; 100,000)
Global	CHIKV	11 584	0	11 584	100,000 (99,968; 100,000)
Global	DENV	11 584	0	11 584	100,000 (99,968; 100,000)

Informações adicionais

Características principais do teste





















































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

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

Símbolos

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

Tabela 31 Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não para testagem junto do paciente	 UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo não se destina a autodiagnóstico	 Número de série
 Intervalo atribuído (cópias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 Centro
 Intervalo atribuído (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedimento padrão
 Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 Esterilizado com óxido de etileno
 Folha de dados de códigos de barras	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Armazenar no escuro
 Número do lote	 Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Risco biológico	 Importador	 Ficheiro de definição de teste
 Número de catálogo	 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>	 Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedimento ultrasensível
 Data da colheita	 Homem	 Identificador único do dispositivo
 Consulte as instruções de utilização	 Fabricante	 Limite superior do intervalo atribuído
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 Controlo negativo	 Linha de enchimento da urina
 Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Para os EUA: Atenção: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um médico ou a pedido deste.
 Controlo	 Nome do paciente	 Prazo de validade
 Data de fabrico	 Número do paciente	
 Dispositivo para testagem junto do paciente	 Abra aqui	
 Dispositivo de autodiagnóstico	 Controlo positivo	
	 Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.	

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência), entre em contacto com a sua filial local:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabela 32 Fabricante e importador



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

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

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

Direitos de autor

©2025 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol* 1998;72:73-83.
2. Stramer SL. Current perspectives on transfusion-transmitted infectious disease: emerging and re-emerging infections. *ISBT Sci Ser* 2014;9:30-36.
3. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang* 2010;98:495-503.
4. Petersen LR, Tomashek KM, Biggerstaff BJ. Estimated prevalence of dengue viremia in Puerto Rican blood donors, 1995 through 2010. *Transfusion* 2012;52:1647-1651.
5. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013;496:504-507.
6. Stramer SL, Linnen CM, Carrick JM, et al. Dengue viremia in blood donors identified by RNA and detection of dengue transfusion transmission during the 2007 dengue outbreak in Puerto Rico. *Transfusion* 2012;52:1657-1666.
7. Gan VC, Leo YS. Current epidemiology and clinical practice in arboviral infections - implications on blood supply in South-East Asia. *ISBT Sci Ser* 2014 Jul;9:262-267.
8. ProMed. Dengue virus transmission—China (HK), Archive number 20221011.5526. October 10, 2002. <http://www.promedmail.org> (accessed July 14, 2017).
9. AABB. Dengue viruses. www.aabb.org/tm/eid/Documents/dengue-viruses.pdf (updated February 2014; accessed July 14, 2017).
10. Tambyah PA, Koay ESC, Poon ML, Lin RV, Ong BK; Transfusion-Transmitted Dengue Infection Study Group. Dengue hemorrhagic fever transmitted by blood transfusion. *N Engl J Med* 2008;359:1526-1527.
11. Sabino EC, Loureiro P, Lopes ME, et al. Transfusion-transmitted dengue and associated clinical symptoms during the 2012 epidemic in Brazil. *J Infect Dis* 2016;213:694-702.
12. Levi JE. Dengue virus and blood transfusion. *J Infect Dis* 2016;213:689-690.
13. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009;49:1S-29S.
14. Burt FJ, Chen W, Miner JJ, et al. Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *Lancet Infect Dis* 2017;17:e107-e117.
15. World Health Organization (WHO). Chikungunya fact sheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/ (updated April 2017; accessed July 14, 2017).
16. Brouard C, Bernillon P, Quatresous I, et al. Estimated risk of Chikungunya viremic blood donation during an epidemic on Reunion Island in the Indian Ocean, 2005 to 2007. *Transfusion* 2008;48:1333-1341.
17. Schuffenecker I, Iteman I, Michault A, et al. Genome microevolution of chikungunya virus causing Indian Ocean outbreak. *PloS Med* 2006;3:e263.
18. Liunbruno GM, Calteri D, Petropulacos K, et al. The chikungunya epidemic in Italy and its repercussions on the blood system. *Blood Transfus* 2008;6:199-210.
19. Zeller H, Bortel Van W, Sudre B. Chikungunya: its history in Africa and Asia and its spread to new regions in 2013-2014. *J Infect Dis* 2016;214(suppl 5):S436-S440.

20. Roiz D, Boussès P, Simard F, Paupy C, Fontenille D. Autochthonous chikungunya transmission and extreme climate events in Southern France. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9:e0003854.
21. Johansson MA, Powers AM, Pesik N, Cohen NJ, Staples JE. Nowcasting the spread of chikungunya virus in the Americas. *PLoS One* 2014;9:e104915.
22. Pan American Health Organization (PAHO). Number of reported cases of chikungunya fever in the Americas, by country or territory, 2017 (as of June 2, 2017). www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=8975&itemid=40931&lang=en (accessed June 5, 2017).
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus in the United States, 2014 final data for the United States. <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2014.html> (last updated October 30, 2015; last accessed July 20, 2017)
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus in the United States, 2015 final data for the United States. <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2015.html> (last updated June 23, 2016; last accessed July 20, 2017)
25. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus, 2016 provisional data for the United States. www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2016.html (last updated January 18, 2017; accessed June 5, 2017)
26. Rocha V. Virus-transmitting yellow fever mosquitoes discovered in L.A. County. *Los Angeles Times*, October 15, 2014. <http://www.latimes.com/local/lanow/la-me-ln-yellow-fever-mosquito-los-angeles-20141015-story.html>.
27. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* 1990;93:125-128.
28. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature* 1995;373:487-493.
29. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell* 1995;80:869-878.
30. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)* 1992;10:413-417.
31. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real-time quantitative PCR. *Genome Res* 1996;9:986-994.
32. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
34. Añez G, Jiang Z, Heisey DA, Kerby S, Rios M, Chikungunya virus Collaborative Study Group. Collaborative study for the characterization of a chikungunya virus RNA reference reagent for use in nucleic acid testing. *Vox Sang* 2015;109: 312-318.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 1.0 10/2024	Primeira publicação.
Doc Rev 2.0 03/2025	<p>Adicionado o equipamento cobas® 5800 ao longo do documento.</p> <p>Informações de marcas e de registo atualizadas em todo o documento.</p> <p>Atualização das informações de perigo do kit CHIKV/DENV 480T e do reagente omni para corresponder à versão aprovada pela BSI.</p> <p>Secção Princípios do procedimento atualizada.</p> <p>Secção Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas® 5800 adicionada.</p> <p>Secção Materiais adicionais necessários para o sistema cobas® 5800 adicionada.</p> <p>Secção Equipamentos e software necessários atualizada.</p> <p>Secção Precauções e requisitos de manuseamento atualizada.</p> <p>Secção Instruções de utilização atualizada.</p> <p>Secção Resultados atualizada e secção Equivalência dos sistemas/comparação dos sistemas adicionada.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 3.0 07/2025	<p>Atualizada a Tabela 7 para CHIKV/DENV 480, na estabilidade do kit aberto, de 60 dias para 90 dias para os sistemas cobas® 6800/8800.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 4.0 08/2025	<p>Secção Princípios do procedimento atualizada.</p> <p>Secção Reagentes e materiais atualizada.</p> <p>Secção Advertências e precauções atualizada.</p> <p>Adicionadas informações sobre a versão 2.0 do software dos sistemas cobas® 6800/8800.</p> <p>P/N de consumíveis removidos, as informações detalhadas sobre consumíveis estão referidas na Assistência ao utilizador dos sistemas cobas® 5800 e cobas® 6800/8800.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>