

Xpert® Flu/RSV XC

REF GXFLU/RSV-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

Armored RNA[®] is a trademark of Asuragen, Inc.

ZeptoMetrix[™] is a trademark of ZeptoMetrix Corporation.

BD[®] is a trademark of Becton, Dickinson and Company.

Remel M4[®], Remel M4RT[®] and Remel M5[®] are trademarks of Remel, Inc.

Zicam[®] is a trademark of Matrixx Initiatives, Inc.

Tamiflu[®] is a trademark of Hoffmann-La Roche Inc.

FluMist[®] is a registered trademark of MedImmune, LLC.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid.

Windows[®] é uma marca comercial da Microsoft Corporation.

Armored RNA[®] é uma marca comercial da Asuragen, Inc.

ZeptoMetrix[™] é uma marca comercial da ZeptoMetrix Corporation.

BD[®] é uma marca comercial da Becton, Dickinson and Company.

Remel M4[®], Remel M4RT[®] e Remel M5[®] são marcas comerciais da Remel, Inc.

Zicam[®] é uma marca comercial da Matrixx Initiatives, Inc.

Tamiflu[®] é uma marca comercial da Hoffmann-La Roche Inc.

FluMist[®] é uma marca comercial registada da MedImmune, LLC.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTE FOLHETO INFORMATIVO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

Copyright © Cepheid 2020. Todos os direitos reservados.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA
www.cephheid.com



Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
www.cephheidinternational.com

Xpert[®] Flu/RSV XC

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome sujeito a direito de propriedade

Xpert[®] Flu/RSV XC

2 Nome comum ou habitual

Ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay

3 Utilização prevista

O ensaio Cepheid Xpert Flu/RSV XC Assay, executado nos sistemas do instrumento GeneXpert, é um ensaio de transcriptase reversa/reacção em cadeia da polimerase (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction — RT-PCR) automatizado, múltiplo em tempo real destinado à detecção e diferenciação qualitativa *in vitro* do RNA dos vírus da gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório (Respiratory Syncytial Virus — RSV). O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay utiliza zaragatoas nasofaríngeas e amostras de aspirados e lavagens nasais colhidos em pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória. O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay destina-se a auxiliar no diagnóstico da gripe e de infecções por vírus sincicial respiratório juntamente com factores de risco clínico e epidemiológico.

Os resultados negativos não excluem a infecção por vírus influenza ou por vírus respiratório sincicial e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões sobre o atendimento dos pacientes.

As características de desempenho relativamente à gripe A foram estabelecidas durante a época gripal de 2013–2014. Quando emergem outros novos vírus influenza A, as características de desempenho podem variar.

Se houver suspeita de infecção por um novo vírus influenza A com base em critérios vigentes de rastreios clínicos e epidemiológicos recomendados pelas autoridades de saúde pública, as amostras devem ser colhidas com as precauções apropriadas para o controlo da infecção por novos vírus influenza virulentos e enviadas para os departamentos de saúde estaduais ou locais para serem testadas. Não se devem realizar culturas virais nesses casos a não ser que uma instalação BSL 3+ (nível de biossegurança 3+) esteja disponível para receber as amostras e fazer as culturas.

4 Resumo e explicação

Influenza, ou a gripe, é uma infecção viral contagiosa do tracto respiratório. A transmissão da gripe processa-se principalmente através do ar (*isto é*, através da tosse e de espirros); o pico da transmissão ocorre habitualmente nos meses de Inverno. Os sintomas incluem normalmente febre, tremores, cefaleias, dores musculares, mal-estar, tosse e congestão dos seios nasais. Sintomas gastrointestinais (*isto é*, também podem ocorrer náuseas, vómitos, ou diarreia), principalmente em crianças, mas são menos comuns em adultos. Os sintomas surgem geralmente no prazo de até dois dias de exposição a um indivíduo infectado. Pode verificar-se o desenvolvimento de pneumonia como complicação após uma infecção gripal, causando um aumento da morbidade e da mortalidade em populações de crianças, idosos e imunocomprometidos.^{1,2}

Os vírus influenza são classificados nos tipos A, B e C, sendo que os dois primeiros causam a maioria das infecções em seres humanos. O vírus influenza A é o tipo mais comum de vírus influenza em seres humanos, e é geralmente responsável por epidemias de gripe sazonais e, ocasionalmente, por pandemias. Os vírus da gripe A também podem infectar animais como aves, suínos e equídeos. As infecções pelo vírus da gripe B são de um modo geral limitadas aos humanos e são causas menos frequentes de epidemias. Os vírus influenza A subdividem-se ainda em subtipos com base em duas proteínas de superfície: a hemaglutinina (H) e a neuraminidase (N). A gripe sazonal é causada normalmente pelos subtipos H1, H2, H3, e N1 e N2. Para além da gripe sazonal, foi identificada uma nova estirpe de H1N1 em humanos nos Estados Unidos em inícios de 2009.³

O vírus respiratório sincicial (Respiratory Syncytial Virus — RSV), elemento da família Paramyxoviridae constituída por duas estirpes (subgrupos A e B), é também a causa de uma doença contagiosa que atormenta principalmente crianças e os idosos que estão imunocomprometidos, por ex., pacientes com doença pulmonar ou cardíaca crónica ou submetidos a tratamento para quadros clínicos que reduzem a resistência do seu sistema imunitário.³ O vírus consegue viver durante horas em bancadas e brinquedos e causa infecções respiratórias tanto do tracto superior, como a traqueobronquite, como do tracto inferior, que se manifestam como bronquiolite e pneumonia.⁴ Aos dois anos de idade, a maioria das crianças já foram infectadas pelo RSV, mas visto desenvolver-se apenas uma imunidade fraca, tanto crianças como adultos podem voltar a ser infectados.³ Os sintomas aparecem habitualmente quatro a seis dias após a infecção. A doença é normalmente auto-limitadora, perdurando cerca de uma a duas semanas em crianças. Em adultos, a infecção perdura por cerca de cinco dias e apresenta sintomas consistentes com uma constipação, tais como rinorreia, fadiga, cefaleia, e febre. A época do RSV sobrepõe-se à época gripal, de alguma maneira à medida que as infecções começam a aumentar durante o Outono e continua até ao início da Primavera.^{3,4} Contudo, as infecções por RSV, também ocorrem noutras alturas do ano, embora raramente.

Programas de vigilância activa em conjunto com precauções para o controlo de infecções são componentes importantes na prevenção da transmissão da gripe e do RSV. A utilização de ensaios que fornecem resultados rápidos para identificar pacientes infectados com estas infecções sazonais é também um factor importante para o controlo efectivo, escolha adequada do tratamento, e prevenção de surtos generalizados.

5 Princípio do procedimento

O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay é um teste automatizado de diagnóstico *in vitro* para detecção qualitativa de gripe A, gripe B, e RSV. O ensaio é realizado em sistemas do instrumento GeneXpert da Cepheid.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram extracção de amostras, purificação, amplificação, e detecção de sequências-alvo de ácidos nucleicos em amostras clínicas, utilizando transcrição reversa (conversão de modelos de RNA em DNA) seguida de PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. Cada teste requer o uso de um cartucho GeneXpert descartável de utilização única que contém reagentes específicos do alvo e realiza os processos RT-PCR e PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizado o risco de contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert Infinity*.

O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay inclui reagentes para a detecção e diferenciação da gripe A, gripe B, e RSV, RNA viral directamente de amostras de aspirados e lavagens nasais (Nasal Aspirate/Wash — NA/W) e de amostras de zaragatoas nasofaríngeas (Nasopharyngeal — NP) de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória. Também estão incluídos no cartucho um Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control — SPC) e um Controlo de verificação da sonda (Probe Check Control — PCC). O SPC está presente para o controlo da extracção e processamento adequados das sequências-alvo e para monitorizar a presença de inibidores na reacção da PCR. O Controlo de verificação da sonda (Probe Check Control — PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay pode ser executado para detectar gripe A e gripe B, seleccionando apenas **Xpert Flu XC**; RSV seleccionando apenas **Xpert RSV**; ou gripe A, gripe B, e RSV seleccionando **Xpert Flu-RSV XC** no menu **Seleccionar ensaio (Select Assay)**. Os ensaios Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay têm uma função de Conclusão Antecipada do Ensaio (Early Assay Termination — EAT) que activa relatórios de resultados antecipados. A EAT é activada quando é atingido o limiar predeterminado do resultado de um teste positivo antes dos 40 ciclos completos da PCR terem sido concluídos. Quando as titulações de vírus de gripe A ou de gripe B são suficientemente altas para gerar Cts muito antecipados com o ensaio Xpert Flu XC Assay, as curvas de amplificação do SPC não serão observadas e os seus resultados não serão reportados. Quando as titulações do RSV são suficientemente altas para gerar Cts muito antecipados com o ensaio Xpert RSV Assay, as curvas de amplificação do SPC não serão observadas e os seus resultados não serão transmitidos.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay Cartuchos com tubos de reacção integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 de cada por cartucho
• Reagente de lise (tiosulfato de guanidina)	1,5 ml por cartucho
• Reagente de fixação	1,5 ml por cartucho
• Reagente de eluição	3,0 ml por cartucho
Pipetas de transferência 300 µL descartáveis	2 embalagens de 12 por kit
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (Assay Definition File — ADF)	
• Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert	
• Instruções de utilização (folheto informativo)	

Nota As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, no separador **APOIO (SUPPORT)**.

Nota

A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin — BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminantes nem com qualquer outra proteína animal; os animais passaram em testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento



• Conserve os cartuchos do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay os entre 2 °C e 28 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo da embalagem.

• Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.



• Não utilize cartuchos fora do prazo de validade.

• Não utilize um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários mas não fornecidos

• Os espécimes devem ser colhidos e transportados com o kit de colheita de amostras nasofaríngeas Xpert para vírus, n.º de catálogo Cepheid SWAB/B-100 ou dispositivo de colheita de amostras n.º de catálogo NASL-100N-100.

• Sistemas do instrumento GeneXpert Dx ou sistemas GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras, manual do utilizador.

• Para o sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versão 4.3 ou superior

• Impressora: Contacte a assistência técnica da Cepheid para providenciar a aquisição de uma impressora recomendada.

9 Materiais disponíveis mas não fornecidos

• Controlos de vírus inactivados da ZeptoMetrix, n.º de catálogo NATFLUAB-6C e n.º de catálogo NATRSV-6C, como controlos positivos externos, e n.º de catálogo NATCXVA9-6C (vírus Coxsackie) como controlo negativo externo.

10 Advertências e precauções

10.1 Geral



- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas as amostras biológicas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centros para controlo e prevenção de doenças⁵ e no Instituto de normas clínicas e laboratoriais dos EUA.^{6,7}
- Se houver suspeita de um novo vírus da gripe A com base em critérios vigentes de rastreios clínicos e epidemiológicos recomendados pelas autoridades de saúde pública, as amostras devem ser colhidas com as precauções apropriadas para o controlo da infecção por novos vírus da gripe virulentos e enviadas para os departamentos de saúde estaduais ou locais para serem testadas. Não se deve tentar cultura viral nestes casos a menos que esteja disponível uma instalação BSL 3+ para recepção e cultura de amostras.
- As características de desempenho deste teste foram determinadas apenas com os tipos de amostras indicadas na secção Utilização prevista. Não foi avaliado o desempenho deste ensaio com outros tipos de espécimes ou amostras.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, os espécimes biológicos e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as linhas de orientação relativas ao manuseamento e eliminação de resíduos médicos da OMS [Organização Mundial de Saúde].

10.2 Amostra

- Os procedimentos de colheita e manuseamento de amostras requerem formação e orientação específicas.
- Para a colheita e transporte de amostras de zangãos nasofaríngeas, utilize apenas o kit para colheita de amostras nasofaríngeas Xpert.
- As amostras devem ser colhidas e testadas antes do prazo de validade do tubo Xpert com meio de transporte de vírus.
- Manter condições de conservação adequadas durante o transporte para assegurar a integridade da amostra (consultar Secção 12, Colheita, transporte e conservação de amostras). Não foi avaliada a estabilidade da amostra em condições de transporte que não as recomendadas.
- Para se obterem resultados adequados, é necessário proceder adequadamente à colheita, conservação e transporte da amostra.

10.3 Ensaio/reagente


- O ensaio foi validado com o software Cepheid GeneXpert, versão 4.3 ou posterior. A Cepheid validará as futuras versões de software para utilização com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.
- A utilização do controlo positivo da gripe A/gripe B no modo de ensaio exclusivo Xpert RSV Assay pode levar a resultados de controlo inválidos.
- A utilização do controlo positivo do RSV no modo de ensaio exclusivo Xpert Flu XC Assay pode levar a resultados de controlo inválidos.
- Ao realizar um teste no modo exclusivo do Xpert Flu XC Assay ou do Xpert RSV Assay, um resultado de teste negativo não exclui um resultado positivo para os outros alvos.
- A sensibilidade pode ser afectada quando se utilizam amostras conservadas por congelação.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay, excepto quando adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respectiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não colocar o rótulo de ID da amostra (Sample ID) na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
- Cada cartucho de utilização única ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos usados excepto quando diluir amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais).
- Cada pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.

- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório e a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação de amostras ou de reagentes.
- Use batas limpas e luvas. Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe bem a área contaminada com lixívia doméstica diluída de 1:10 e depois com uma solução de etanol desnaturado a 70%. Limpe as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.

11 Perigos químicos^{8,9}

- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Pode ser nocivo em contacto com a pele
 - Provoca irritação ocular
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - **Prevenção**
 - Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento.
 - **Resposta**
 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
 - 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. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: Procure aconselhamento/consulte um médico
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

12 Colheita, transporte e conservação de amostras

 As amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) e as amostras de zaragatoas nasofaríngeas podem ser colhidas seguindo os procedimentos padrão da instituição do utilizador e colocadas no meio de transporte de vírus Xpert (tubo de 3 ml com meio de transporte). As amostras devem ser transportadas entre 2 °C e 8 °C.

- As amostras colocadas em meio de transporte após a colheita podem ser conservadas até 24 horas entre 2 °C e 30 °C ou até sete dias entre 2 °C e 8 °C antes dos testes com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.

A colheita, conservação, e transporte adequados de amostras são importantes para o desempenho deste teste.

13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

Importante **Inicie o teste dentro de 60 minutos após a adição da amostra ao cartucho.**

Para amostras de zaragatoas nasofaríngeas:

1. Retire um cartucho da embalagem.
2. Misture a amostra invertendo o tubo com o meio de transporte de vírus Xpert cinco vezes.
3. Abrir a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 300 µL (de uma só vez) da amostra do tubo com o meio de transporte para a câmara de amostras com uma abertura grande no cartucho (Figura 1).
4. Fechar a tampa do cartucho.

Para amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais):

1. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 600 µL da amostra (em duas vezes, utilizando a mesma pipeta de transferência) para o tubo de 3 ml com o meio de transporte de vírus Xpert e em seguida tape o tubo.
2. Misture a amostra invertendo o tubo com o meio de transporte cinco vezes.
3. Remova o cartucho da embalagem.
4. Abrir a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 300 µL da amostra diluída (de uma só vez) para a câmara de amostras com a abertura grande do cartucho (Figura 1).

5. Fechar a tampa do cartucho.

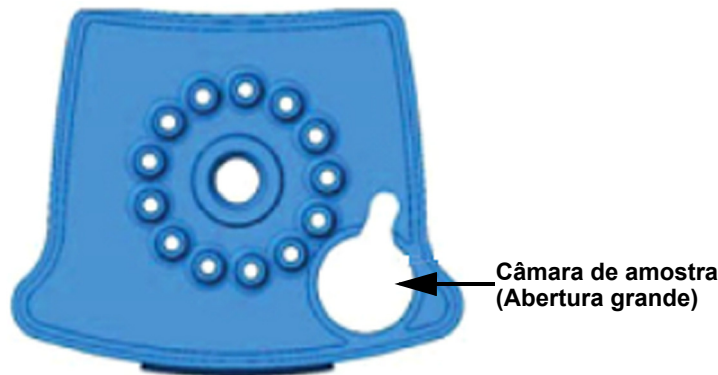


Figura 1. Cartucho de ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (vista superior)

13.2 Iniciar o teste

Importante Antes de iniciar o teste, assegure-se de que os ficheiros de definição (Assay Definition Files — ADFs) ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay são importados para o software.

Esta secção discrimina os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Caso utilize o instrumento GeneXpert Infinity, ligue a alimentação do instrumento. O software GeneXpert arranca automaticamente ou pode ser necessário fazer duplo clique no ícone do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software Sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do GeneXpert System, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (GeneXpert Infinity). Aparece a janela Criar teste (Create Test).
4. Leia (ou introduza) a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correcta. A ID do paciente (Patient ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
5. Leia (ou introduza) a ID da amostra (Sample ID). Se introduzir a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que introduz a ID da amostra (Sample ID) correcta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
6. Realize a leitura do código de barras do cartucho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota Se o código de barras no cartucho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay não puder ser lido, repita o teste com um novo cartucho.

Nome	Versão
Xpert Flu XC	1
Xpert RSV	1
Xpert Flu-RSV XC	1
Xpert Flu XC	1

Figura 2. Janela Criar test (Create Test): Menu Seleccionar ensaio (Select Assay)

7. Realize a selecção adequada no menu **Seleccionar ensaio (Select Assay)**, como se mostra na Figura 2.
 - Apenas gripe A e gripe B: Seleccione **Xpert Flu XC**
 - Apenas RSV: Seleccione **Xpert RSV**
 - Gripe A, gripe B e RSV: Seleccione **Xpert Flu-RSV XC**

Nota

Apenas o resultado de teste para o ensaio seleccionado neste passo será recolhido quando o teste é iniciado. Os resultados de gripe A, gripe B, e RSV só serão recolhidos se for escolhido o ensaio Xpert Flu-RSV XC Assay.

8. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (GeneXpert Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
9. Para o GeneXpert Infinity System: coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

Para o instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
- D. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

14 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina as etapas básicas para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados consulte o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert DX* ou o *Manual do Utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do instrumento utilizado.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela Ver resultados (View Results) para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

15 Controlo da qualidade

15.1 Controlos de qualidade integrados

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control — SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control — PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control — SPC):** Assegura que a amostra foi processada correctamente. O SPC é um controlo Armored RNA®, que é incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra. O SPC verifica se ocorreu a libertação de RNA dos vírus influenza e RSV se o organismo estiver presente e verifica se o processamento da amostra foi adequado. Além disso, este controlo detecta a inibição associada à amostra das reacções RT-PCR e PCR. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.

Há duas excepções nas quais o SPC é ignorado e o resultado é válido:

- O SPC pode ser negativo numa amostra com uma titulação elevada de gripe A ou de gripe B quando testada com o ADF do Xpert RSV.
- O SPC pode ser negativo numa amostra com uma titulação elevada de RSV quando testada com o ADF do Xpert Flu XC.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC, QC1, QC2):** Antes do início da reacção de PCR, o sistema do Instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência do primeiro PCC (QC1 e QC2) realizado antes do passo da transcrição reversa. O QC1 verifica a presença da esfera EZR e o QC2 verifica a presença da esfera TSR. O Segundo PCC (gripe A 1, gripe A 2, gripe A 3, gripe B, RSV, e SPC) é realizado após o passo da transcrição reversa e antes do início da PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC, QC1 e QC2) monitoriza a reidratação das esferas, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda, e a estabilidade do corante. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.

16 Interpretação dos resultados

O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay tem três canais (gripe A 1, gripe A 2, e gripe A 3) para detectar a maioria das estirpes de influenza A. Os iniciadores e sondas no canal gripe A 1 têm uma homologia de 100% com estirpes de gripe humana A. Os iniciadores e sondas no canal gripe A 2 têm uma homologia > 95% com as estirpes da gripe aviária A e uma homologia de aproximadamente 80% com estirpes da gripe humana A. Os iniciadores e sondas no canal gripe A 3 detectam o segmento do gene da hemaglutinina para as estirpes H7N9 da gripe aviária A (capacidade de subtipagem). Todas as estirpes da gripe A (humana e aviária) detectadas pelo ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay são reportadas como **Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)**.

Os resultados são interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela Ver resultados (View Results). Um resultado de gripe A no ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay requer que o canal de gripe A 1 ou gripe A 2 seja positivo para que seja reportado um resultado de teste **Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)**. Um positivo no canal da gripe A 3 sem um resultado positivo para gripe A 1 ou gripe A 2 é reportado como **INVÁLIDO (INVALID)**. A Tabela 1 discrimina todos os resultados possíveis para gripe A.

Tabela 1. Possíveis resultados de teste para gripe A para canais de gripe A 1, gripe A 2, e gripe A 3

Resultado do teste para gripe A	Canal gripe A 1	Canal gripe A 2	Canal gripe A 3
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)	POS (Positivo)	POS (Positivo)	POS (Positivo)
	POS (Positivo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	POS (Positivo)
	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
INVÁLIDO (INVALID)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

Os resultados são automaticamente interpretados pelo Sistema do instrumento GeneXpert por meio da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados de forma clara na janela Ver resultados (View Results). Todos os possíveis resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Todos os possíveis resultados de teste finais para o ensaio Xpert Flu-RSV XC Assay seleccionado

Texto de resultado	Gripe A 1	Gripe A 2	Gripe A 3	Gripe B	RSV	SPC
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)	+/-	+/-	+/-	-	-	+/-
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)	-	-	-	+	-	+/-
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	-	-	-	-	+	+/-
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)	+/-	+/-	+/-	+	-	+/-
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	+/-	+/-	+/-	-	+	+/-
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	-	-	-	+	+	+/-
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)	+/-	+/-	+/-	+	+	+/-
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)	-	-	-	-	-	+
INVÁLIDO (INVALID)	-	-	-	-	-	-

Consulte da Figura 3 à Figura 19 para exemplos específicos e a Tabela 3 para interpretar declarações de resultado de teste para os ensaios Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay. O formato dos resultados de testes apresentados irá variar dependendo da opção do utilizador em executar um ensaio seleccionado Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay.

Tabela 3. Resultados e interpretações dos ensaios Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay

Resultado	Interpretação
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE) Ver Figura 3.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B; não é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE) Ver Figura 4.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B; não é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe B poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE) Ver Figura 5.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B; é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo do RSV tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do RSV poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE) Ver Figura 6.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B; não é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e da gripe B poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE) Ver Figura 7.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B; é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo do RSV tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e do RSV poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.

Tabela 3. Resultados e interpretações dos ensaios Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay (Continuação)

Resultado	Interpretação
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE) Ver Figura 8.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B; é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo do RSV tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe B e do RSV poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE) Ver Figura 9.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B; é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo do RSV tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A, da gripe B, e do RSV poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE) Ver Figura 10.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B; não é detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> Os RNA-alvo da gripe A, da gripe B, e do RSV não são detectados. SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
INVALIDO (INVALID) Ver Figura 11.	<ul style="list-style-type: none"> O SPC não preenche os critérios de aceitação. A presença ou ausência de RNAs-alvo não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 17.2, Procedimento de repetição do teste. O SPC preenche os critérios de aceitação. Os RNA alvo de gripe A 1, gripe A 2, gripe B e/ou RSV não são detectados; o RNA da gripe A 3 é detectado.
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE) Ver Figura 12.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE) Ver Figura 13.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe B poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.

Tabela 3. Resultados e interpretações dos ensaios Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay (Continuação)

Resultado	Interpretação
Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE) Ver Figura 14.	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e da gripe B poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE) Ver Figura 15 e Figura 16.	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; não é detectado RNA-alvo da gripe B (ver Figura 15).</p> <ul style="list-style-type: none"> Os RNA-alvo da gripe A e da gripe B não são detectados. SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados. <p>Ou</p> <p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A (ver Figura 16); não é detectado RNA-alvo da gripe B (ver Figura 16).</p> <ul style="list-style-type: none"> Os RNA-alvo da gripe A e da gripe B não são detectados SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do RSV poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
RSV POSITIVO (RSV POSITIVE) Ver Figura 17.	<p>É detectado RNA-alvo do RSV.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo do RSV tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE) Ver Figura 18 e Figura 19.	<p>Não é detectado RNA-alvo do RSV (ver Figura 18).</p> <ul style="list-style-type: none"> Não é detectado RNA-alvo do RSV. SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um critério de avaliação superior à definição do limiar. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados. <p>Ou</p> <p>Não é detectado RNA-alvo do RSV (ver Figura 19).</p> <ul style="list-style-type: none"> Não é detectado RNA-alvo do RSV. SPC: NA (não aplicável); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo do RSV poderá interferir com este controlo Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.

Tabela 3. Resultados e interpretações dos ensaios Xpert Flu-RSV XC Assay, Xpert Flu XC Assay e Xpert RSV Assay (Continuação)

Resultado	Interpretação
ERRO (ERROR)	<p>A presença ou ausência do RNA-alvo da gripe A, gripe B, e/ou RSV não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 17.2, Procedimento de repetição do teste em baixo.</p> <ul style="list-style-type: none"> Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) RSV: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: FALHOU (FAIL)*; falha de todos ou de um dos resultados de verificação da sonda. <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável ou porque houve falha de um componente do sistema.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>A presença ou ausência do RNA-alvo da gripe A, gripe B, e/ou RSV não pode ser determinada. Repetir teste de acordo com as instruções na Secção 17.2, Procedimento de repetição do teste em baixo. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.</p> <ul style="list-style-type: none"> Gripe A: SEM RESULTADO (NO RESULT) Gripe B: SEM RESULTADO (NO RESULT) RSV: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: NA (não aplicável)

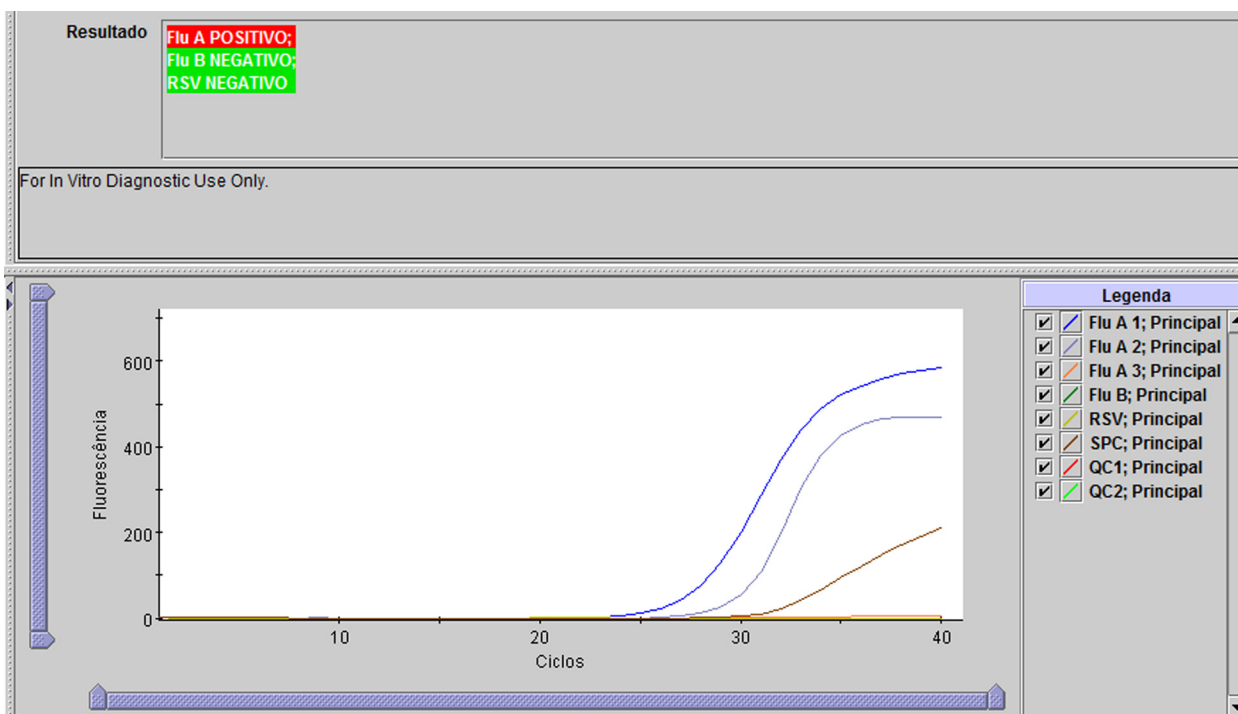


Figura 3. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A

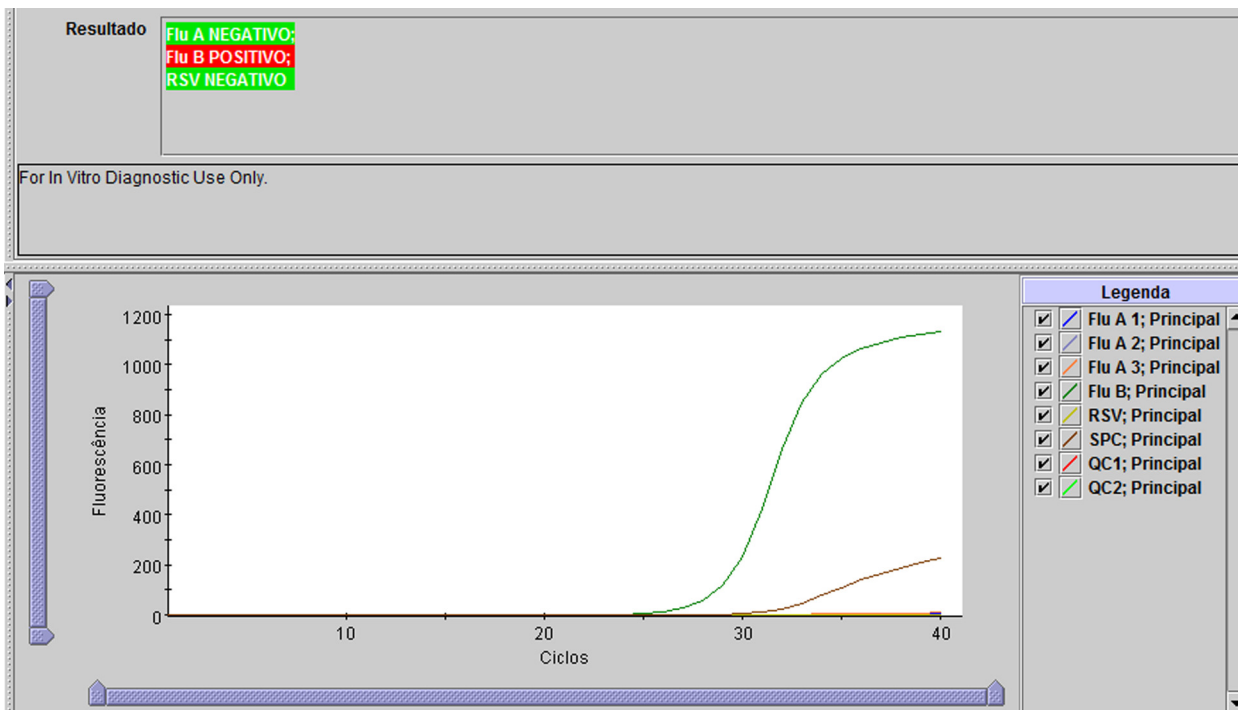


Figura 4. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe B

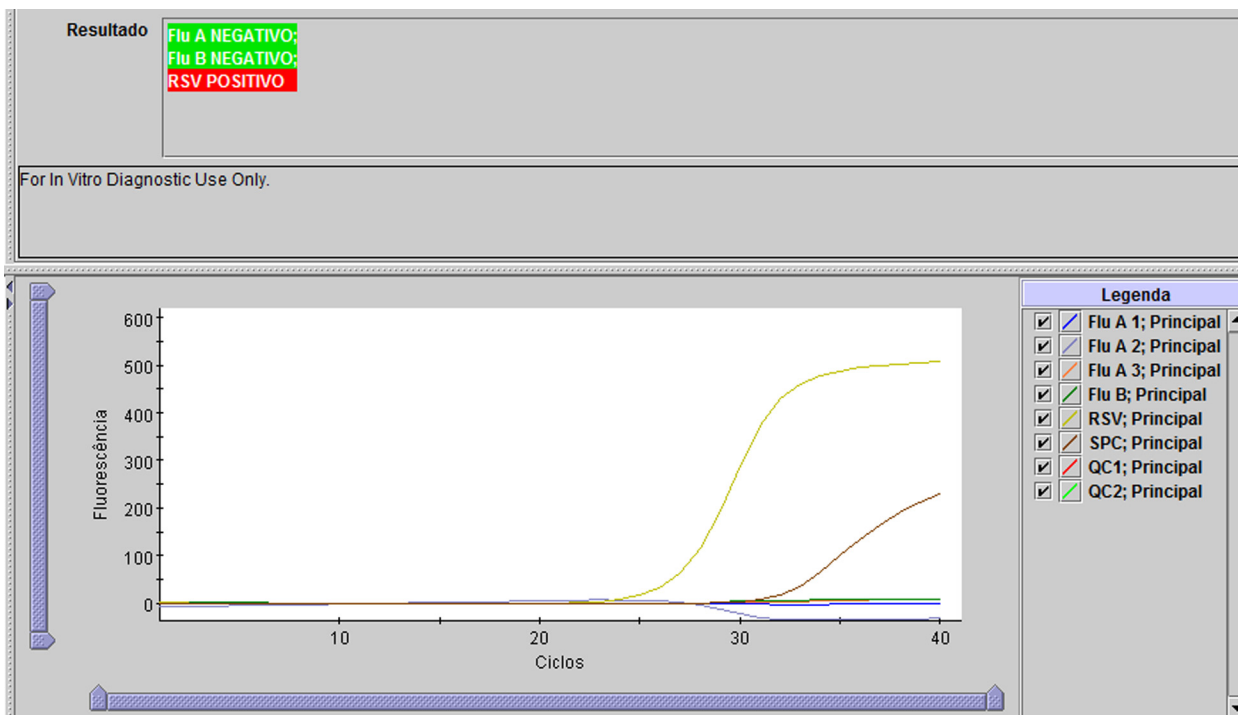


Figura 5. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para RSV

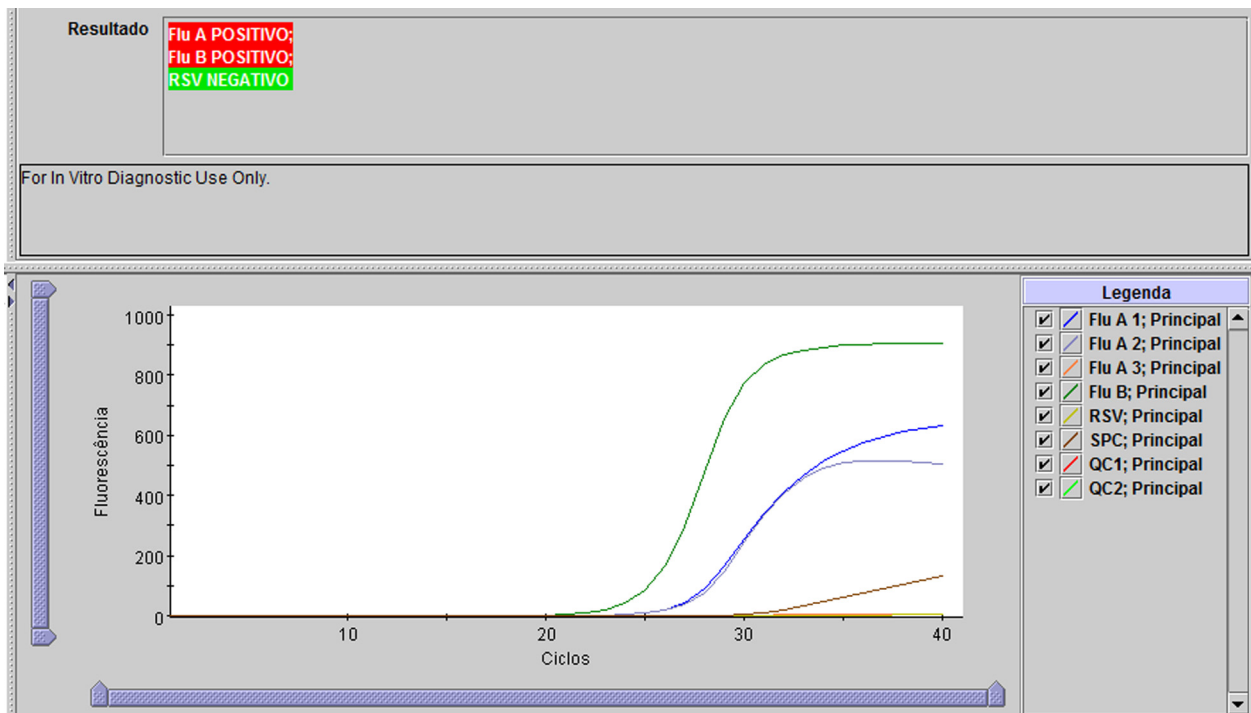


Figura 6. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A e gripe B

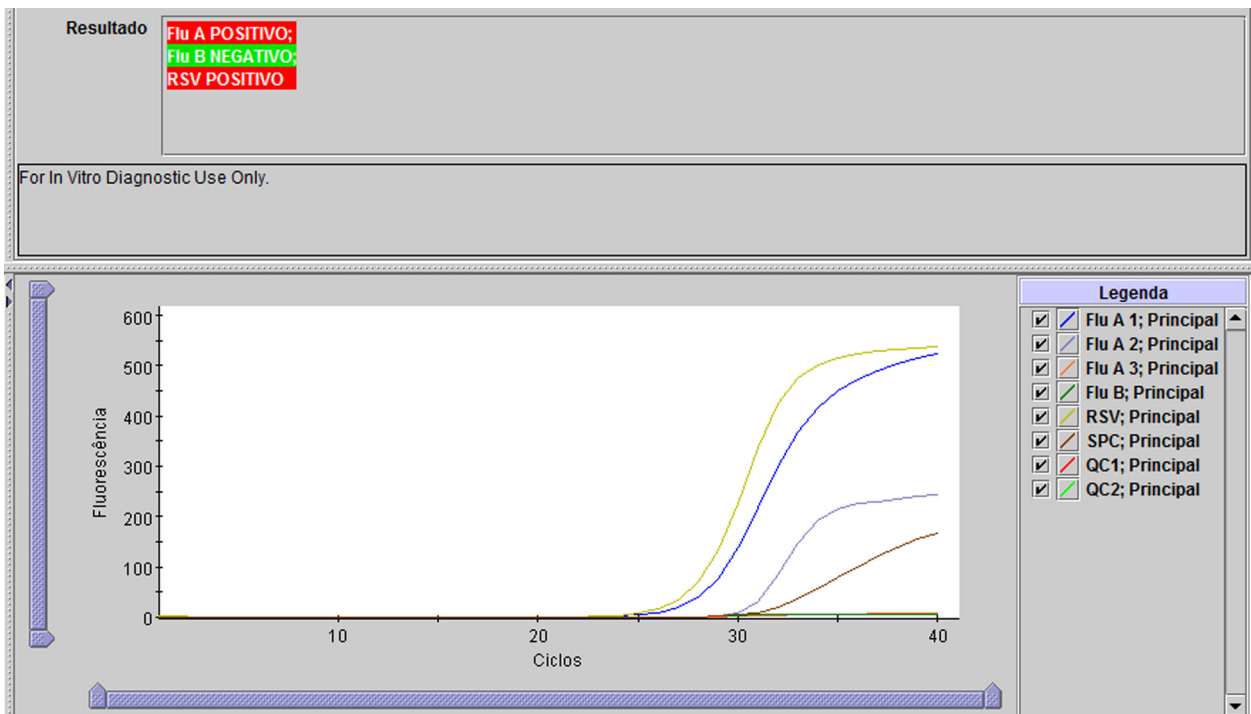


Figura 7. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A e RSV

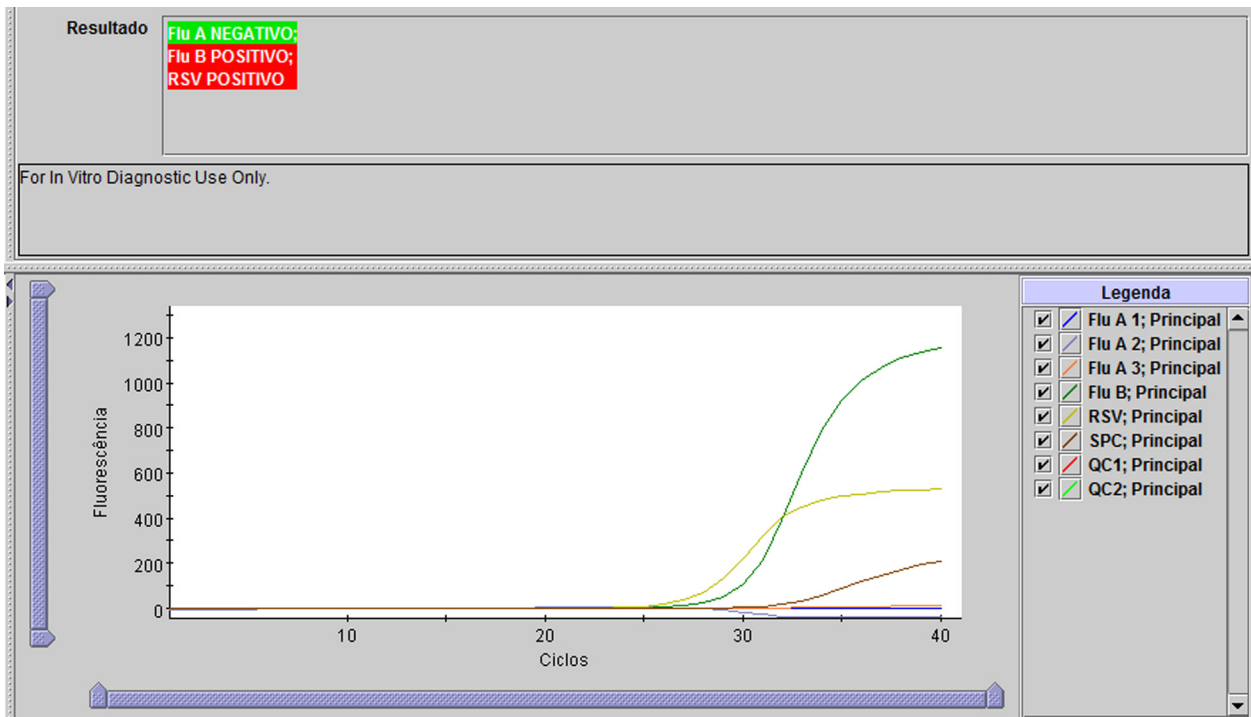


Figura 8. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe B e RSV

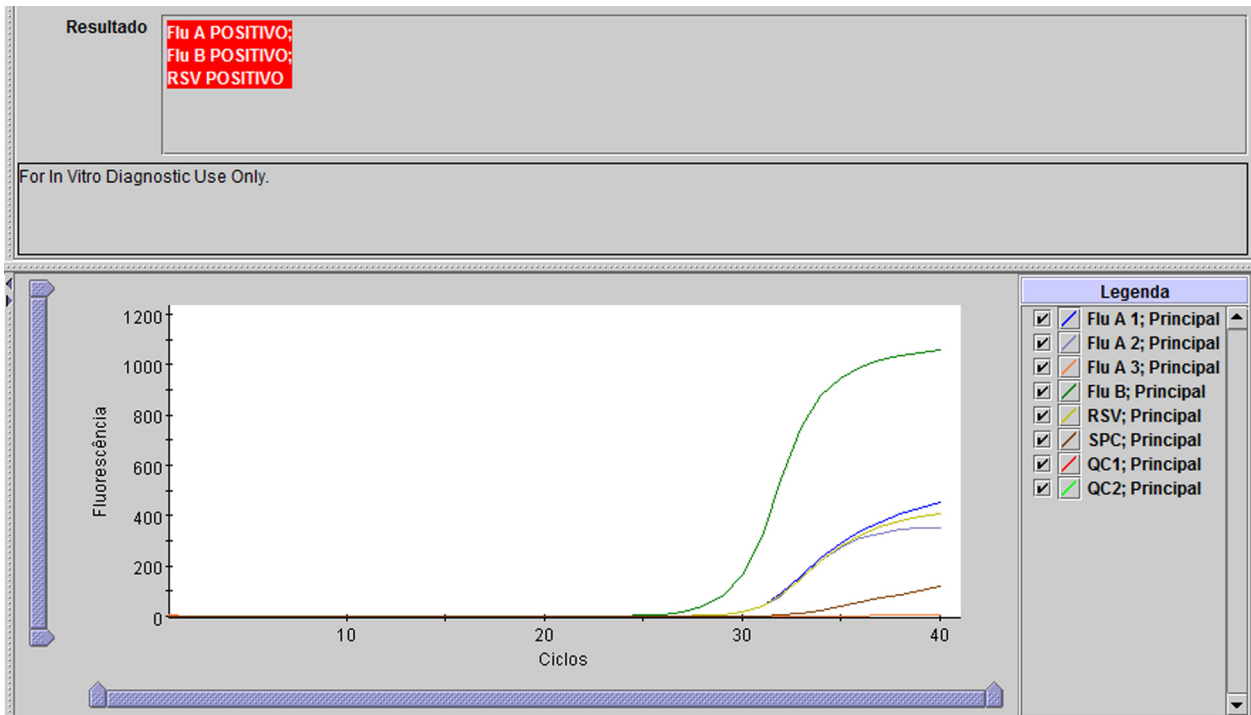


Figura 9. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A, gripe B e RSV

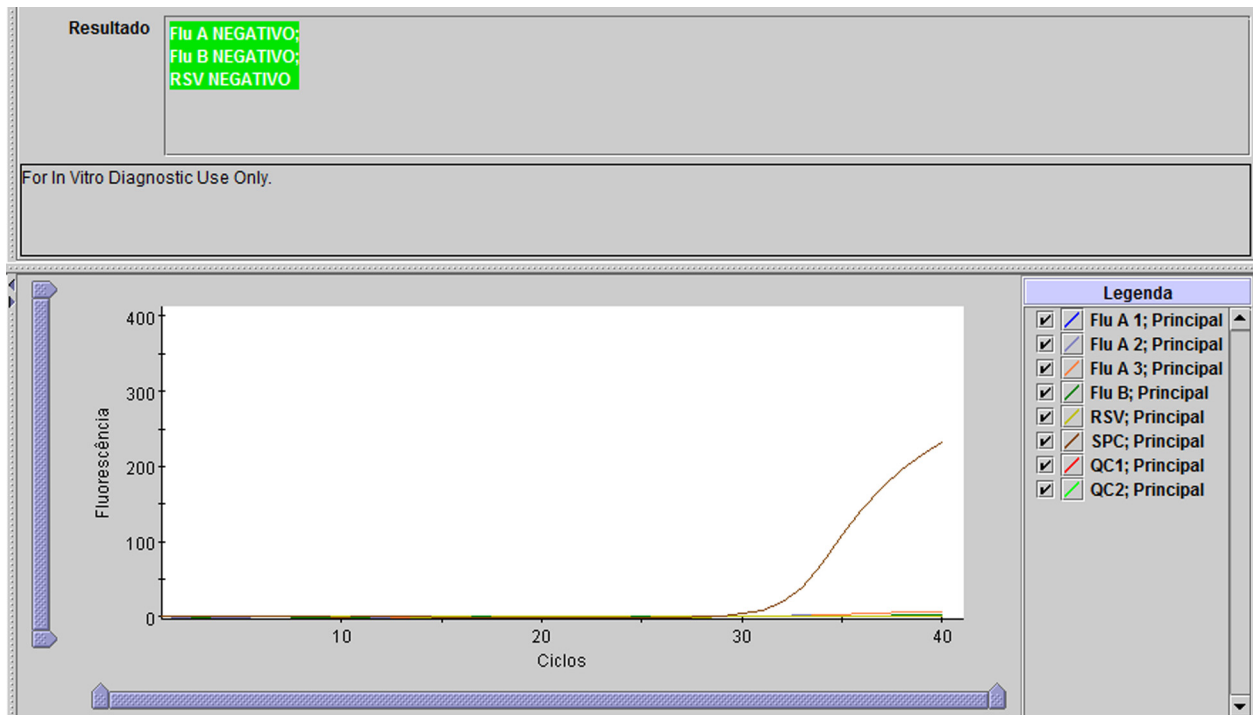


Figura 10. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado negativo para gripe A, gripe B, e RSV

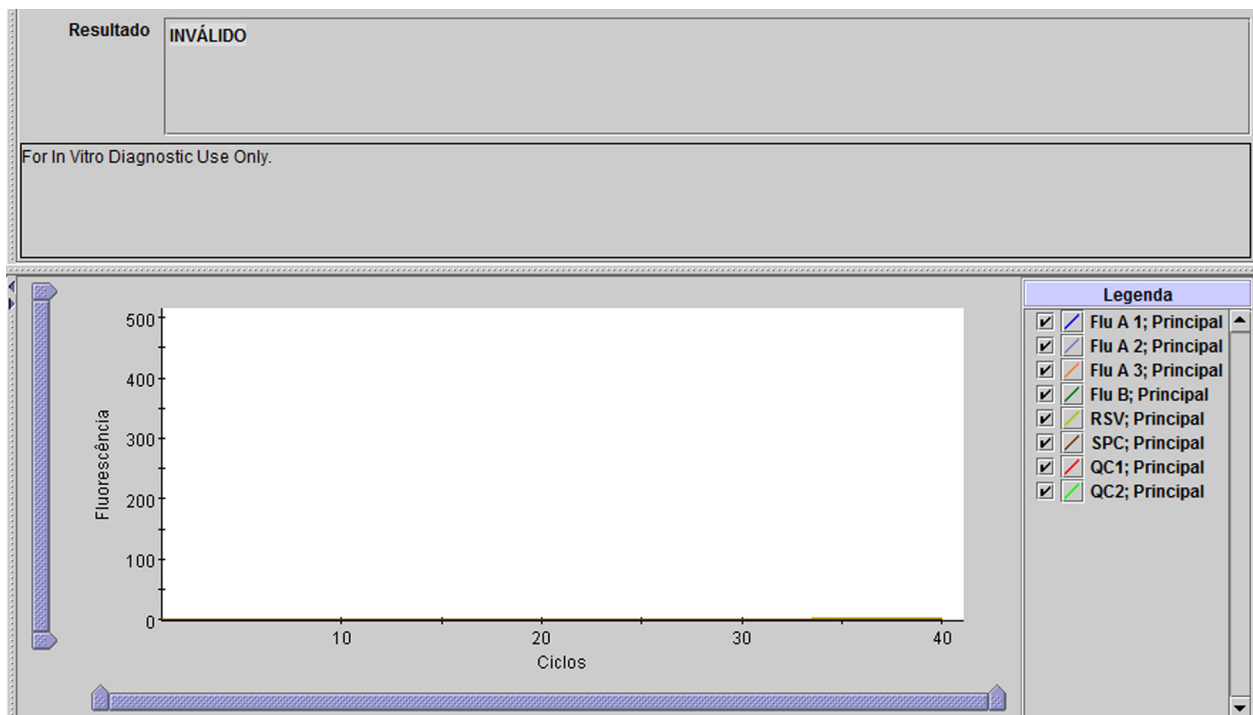


Figura 11. Xpert Flu-RSV XC: Exemplo de um resultado inválido (o SPC não preenche os critérios de aceitação)

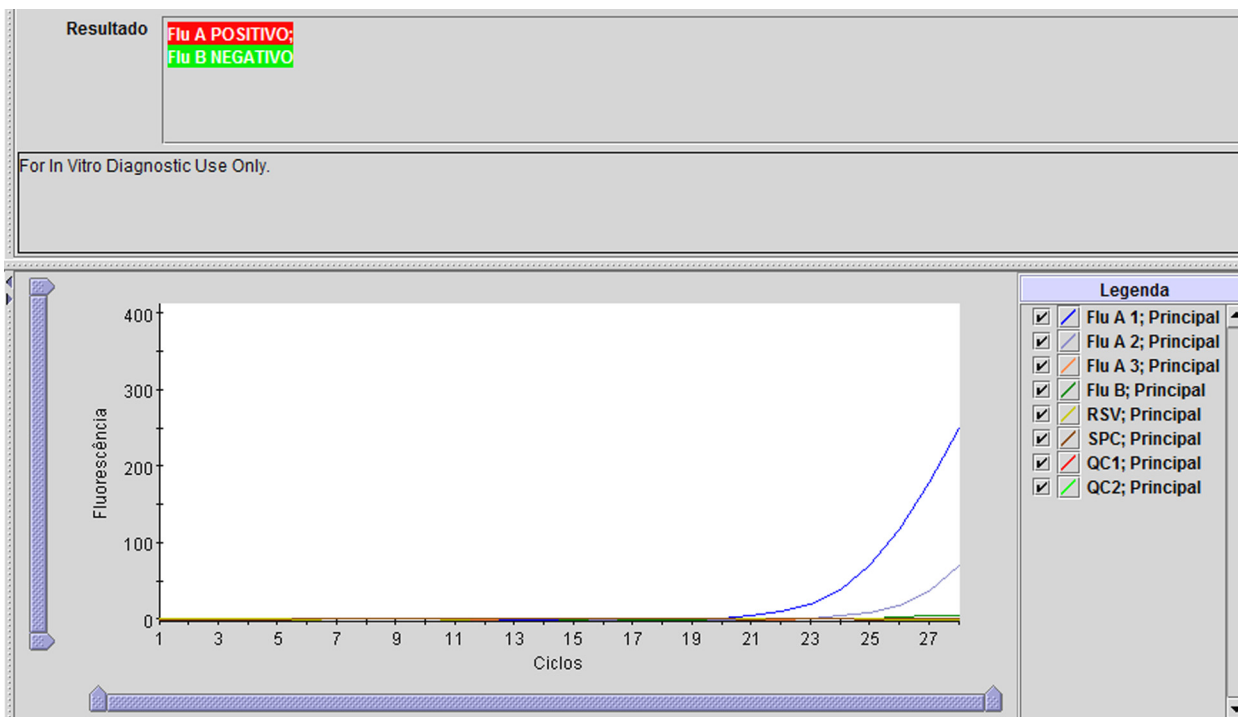


Figura 12. Xpert Flu XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A

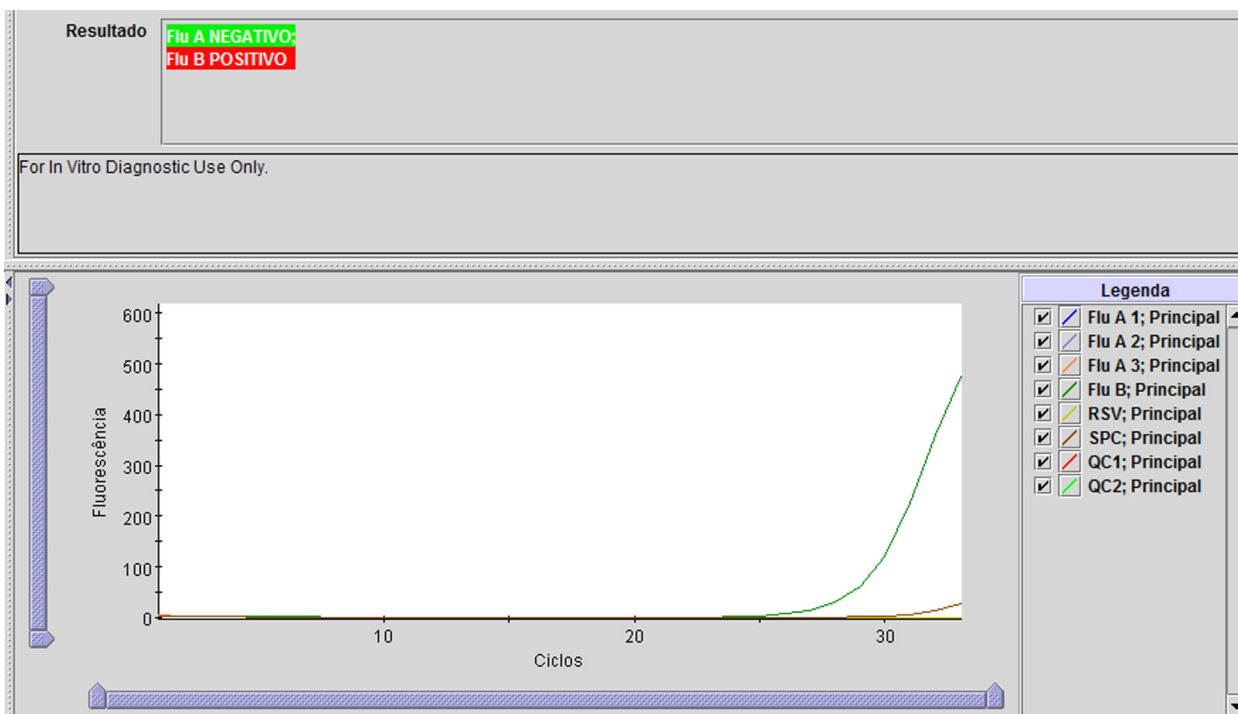


Figura 13. Xpert Flu XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe B

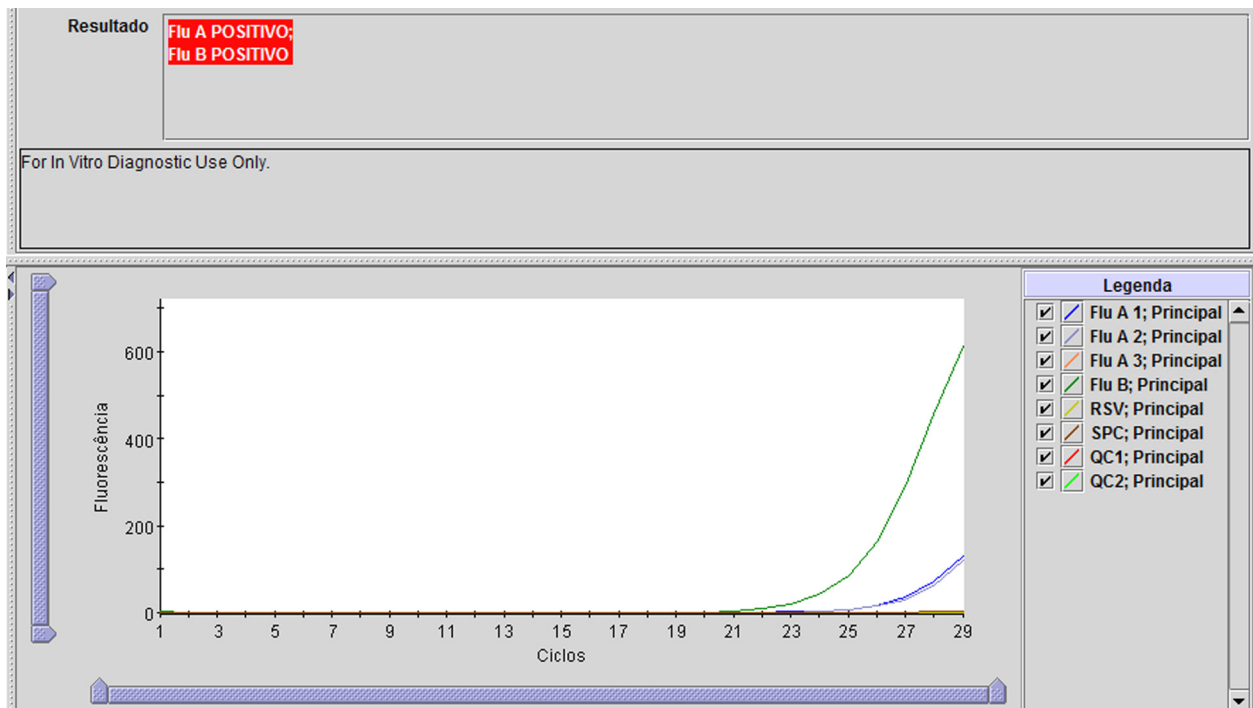


Figura 14. Xpert Flu XC: Exemplo de um resultado positivo para gripe A e gripe B

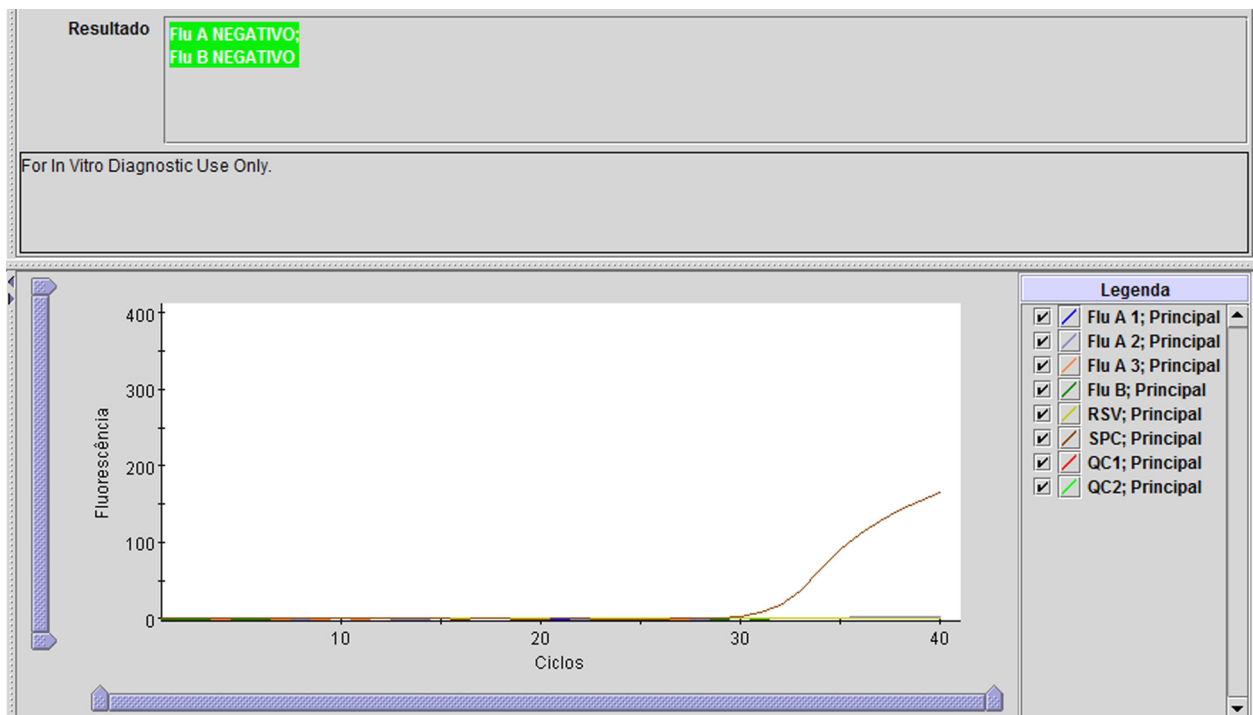


Figura 15. Xpert Flu XC: Exemplo de um resultado negativo para gripe A e gripe B

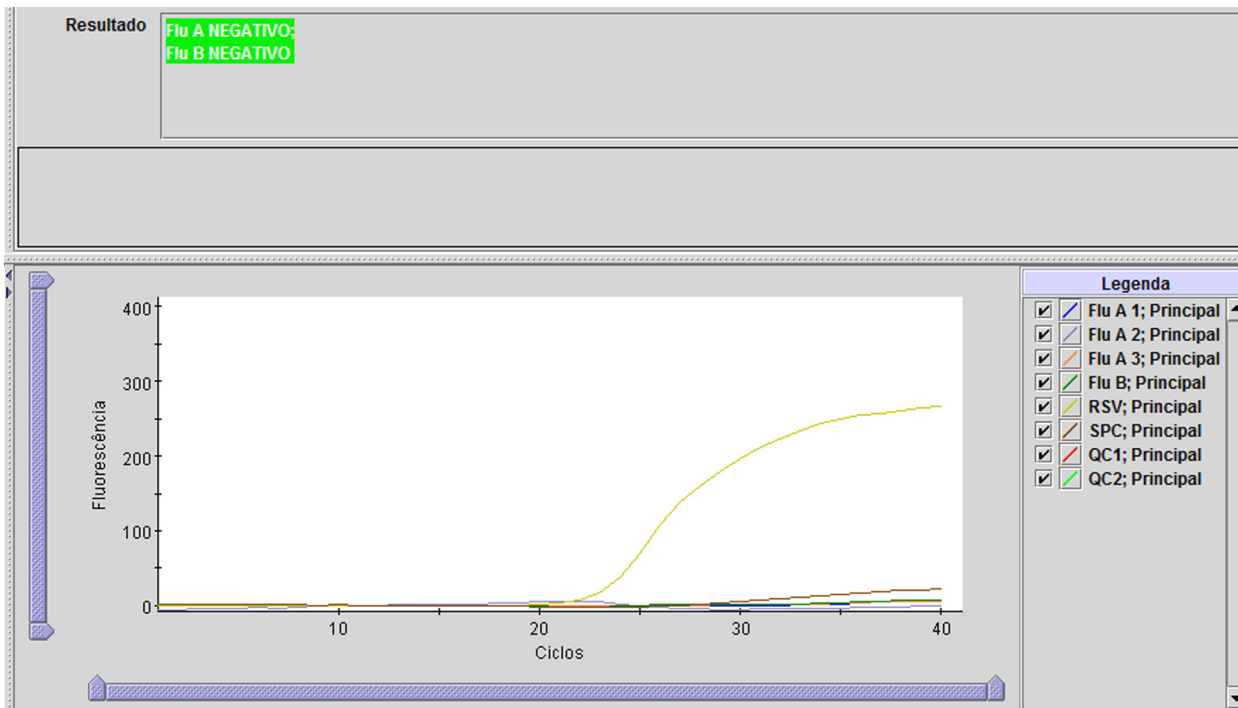


Figura 16. Xpert Flu XC: Exemplo de um resultado negativo para gripe A e gripe B (Amostra contendo alvo do RSV)

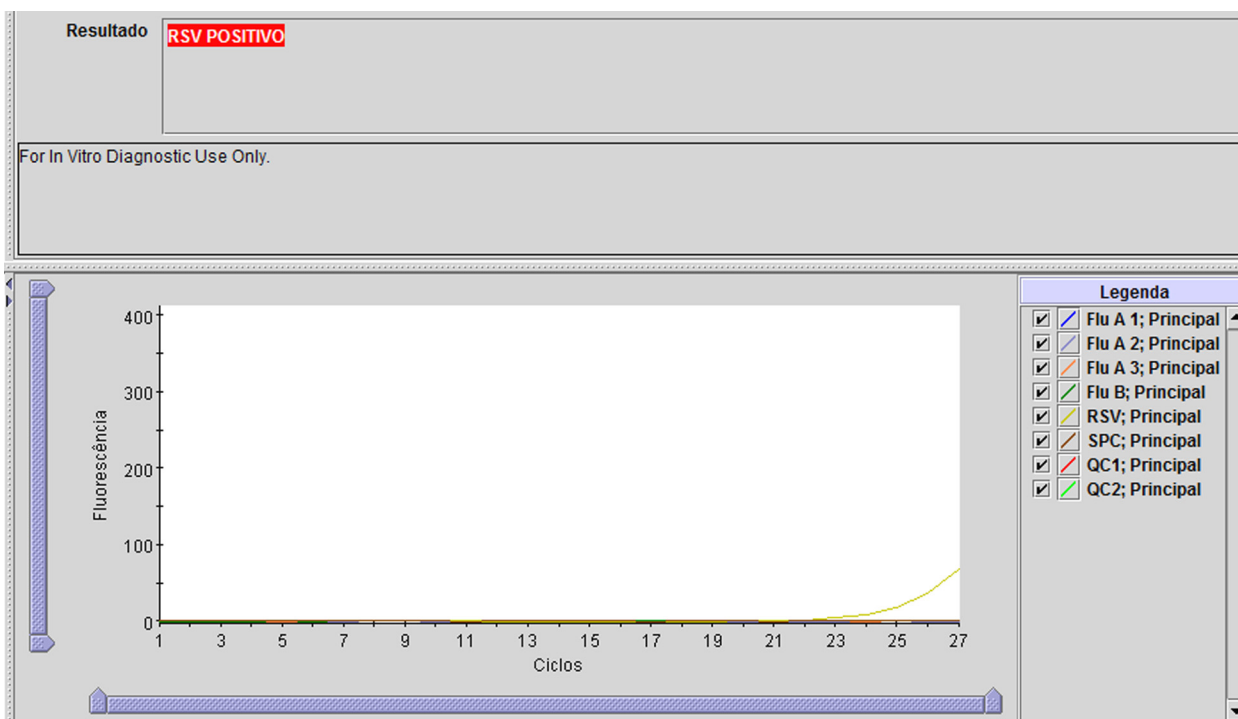


Figura 17. Xpert RSV: Exemplo de um resultado positivo para RSV

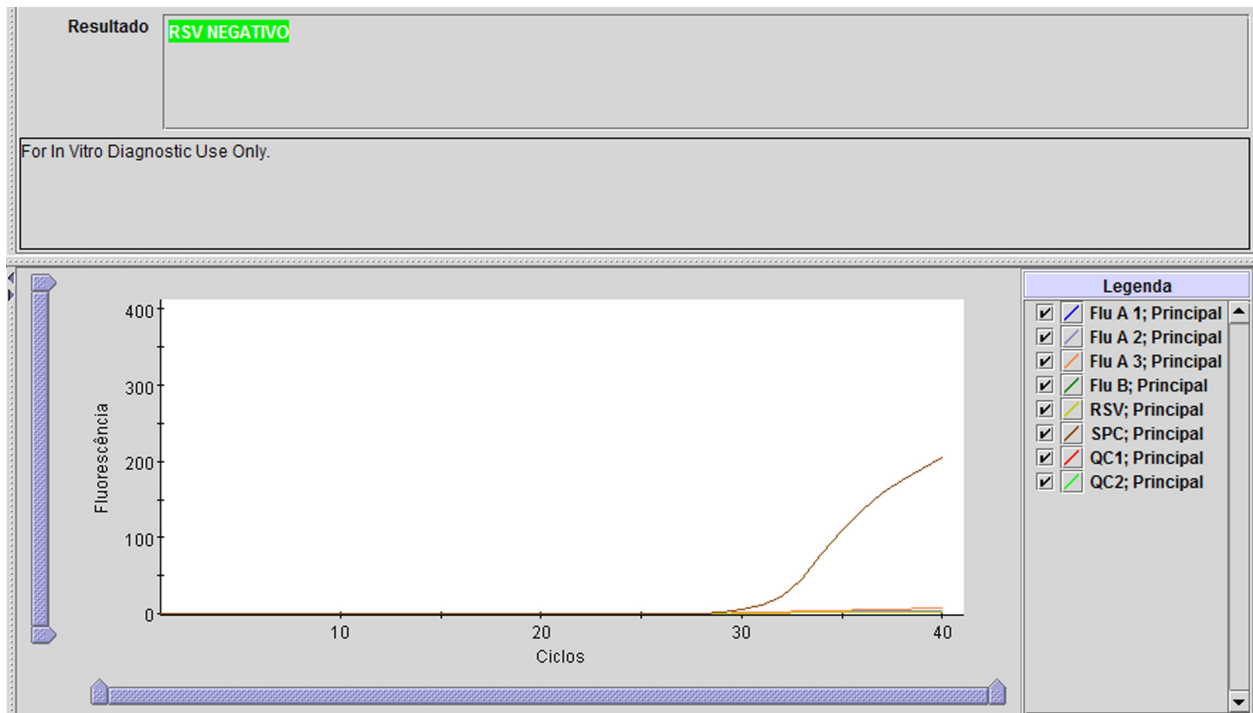


Figura 18. Xpert RSV: Exemplo de um resultado negativo para RSV

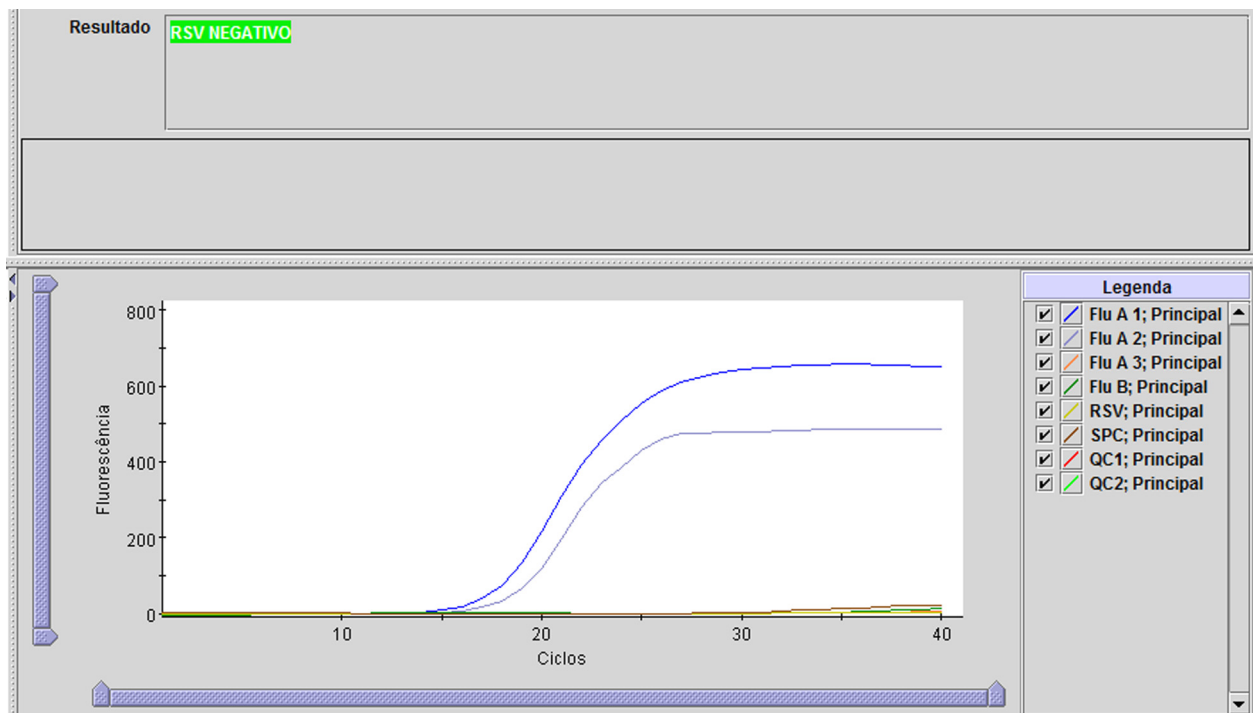


Figura 19. Xpert RSV: Exemplo de um resultado negativo para RSV (Amostra contendo alvos de gripe A ou de gripe B)

17 Repetição de um teste

17.1 Motivos para repetir um ensaio

Se algum dos resultados de teste mencionados abaixo ocorrer, repita o teste de acordo com as instruções na Secção 17.2, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC de controlo falhou ou que houve amplificação apenas para o alvo de gripe A 3. A amostra não foi processada adequadamente, a PCR foi inibida ou a amostra não foi devidamente colhida.
- Um resultado de **ERRO (ERROR)** pode dever-se, entre outras coisas, a falha no controlo de verificação da sonda ou por terem sido excedidos os limites de pressão máxima.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.

17.2 Procedimento de repetição do teste

Para a repetição de um teste com um resultado indeterminado, utilize um novo cartucho (não reutilize o cartucho).

Em amostras nasofaríngeas (Nasopharyngeal — NP), utilizar 300 µL da amostra restante do tubo original do meio de transporte.

Para amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais), utilizar 300 µL da amostra diluída restante do tubo do meio de transporte de 3 ml.

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Misture a amostra invertendo o tubo com o meio de transporte de vírus Xpert cinco vezes.
3. Abrir a tampa do cartucho. Utilize uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida) para transferir 300 µL (de uma só vez) da amostra do tubo com o meio de transporte para a câmara da amostra com uma abertura grande no cartucho (Figura 1).
4. Fechar a tampa do cartucho.
5. Siga o procedimento na Secção 13.2, Iniciar o teste.

18 Limitações

- O desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi validado utilizando apenas os procedimentos indicados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Os resultados do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos disponibilizados ao médico.
- Resultados de teste incorrectos podem ser originados por uma incorrecta colheita de amostras, incumprimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra é demasiado baixo para ser detectado pelo teste. Para se evitarem resultados incorrectos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Os resultados negativos não excluem a infecção por vírus influenza ou RSV e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões sobre o atendimento dos pacientes.
- Os resultados do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay devem ser correlacionados com a história clínica, dados epidemiológicos e outros dados disponibilizados ao médico que avalia o paciente.
- O ácido nucleico viral pode persistir *in vivo*, independentemente da viabilidade do vírus. A detecção do(s) analito(s)-alvo não implica que o(s) vírus correspondente(s) seja(m) infeccioso(s), ou seja(m) o(s) agente(s) causador(es) de sintomas clínicos.
- Este teste foi avaliado para utilização exclusiva com material de amostras humanas.
- Se o vírus sofrer mutação na região-alvo, o vírus influenza e o RSV podem não ser detectados ou podem ser detectados com menor previsibilidade.
- Os valores preditivos positivos e negativos estão altamente dependentes da prevalência. O desempenho do ensaio foi estabelecido durante a época de gripe de 2013–2014. O desempenho pode variar dependendo da prevalência e da população testada.
- Este é um teste qualitativo e não proporciona o valor quantitativo da presença do organismo detectado.
- Este teste não foi avaliado para pacientes sem sinais e sintomas de infecção por vírus influenza ou RSV.
- Este teste não foi avaliado para monitorização do tratamento de infecção por vírus influenza ou RSV.
- Este teste não foi avaliado para despistagem de sangue ou de derivados de sangue quanto à presença do vírus influenza ou RSV.
- Este teste não pode eliminar a possibilidade de doenças causadas por outros agentes patogénicos bacterianos ou virais.

- O efeito das substâncias que interferem foi avaliado apenas para aquelas aqui referidas. A interferência por substâncias além das que são descritas pode causar resultados falsos.
- A reactividade cruzada com outros organismos do tracto respiratório além daqueles aqui descritos pode levar a resultados erróneos.
- Este ensaio não foi avaliado em indivíduos imunocomprometidos.
- A exposição recente de pacientes à FluMist ou outras vacinas vivas atenuadas para a gripe pode causar resultados positivos duplos imprecisos.
- Os meios de transporte Remel M4 e Remel M4RT não são recomendados para utilização com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.

19 Características do desempenho

19.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foram avaliadas em seis instituições dos EUA. Devido à baixa prevalência dos vírus influenza e à dificuldade de se obterem amostras recentes positivas para o vírus influenza e para o RSV, a população de amostras para este estudo foi completada com amostras conservadas por congelação.

Foram incluídos indivíduos com sinais e sintomas de infecção respiratória e cujos cuidados de rotina exigiam a colheita de espécimes para aspiração/lavagem nasal (Nasal Aspirate/Wash — NA/W) ou espécimes de zaragatoa nasofaríngea (NP) para teste de gripe e/ou RSV. Para os pacientes elegíveis, as alíquotas das amostras restantes foram obtidas para serem testadas com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay e testes de referência, e os cuidados com os pacientes continuaram no local do estudo de acordo com os procedimentos padrão.

O desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi comparado a um ensaio comparador aprovado pela FDA. Foi realizada uma sequenciação bidireccional em amostras quando o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay e o ensaio comparador eram discrepantes, sendo fornecida apenas para fins informativos.

19.2 Resultados totais

Amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais)

Foi testado um total de 657 amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) para gripe A, gripe B e RSV com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay e o ensaio de referência. Das 657 amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais), 581 eram recentes, colhidas prospectivamente e 76 eram conservadas por congelação.

No total, com amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou uma percentagem de concordância positiva (Positive Percent Agreement — PPA), percentagem de concordância negativa (Negative Percent Agreement — NPA), e percentagem de concordância total (Overall Percent Agreement — OPA) para detecção da gripe A, de 98,6%, 100% e 99,8%, respectivamente em relação ao ensaio de referência (Tabela 4). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 99,2%, 100%, e 99,8%, respectivamente (Tabela 4). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para RSV foram de 97,2%, 99,6%, e 99,1%, respectivamente (Tabela 4).

Em amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) recentes, colhidas prospectivamente, o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou uma PPA, NPA, e OPA para detecção da gripe A de 100%, 100%, e 100% respectivamente, em relação ao ensaio de referência (Tabela 4). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 99,2%, 100%, e 99,8%, respectivamente (Tabela 4). Os ensaios Xpert Flu/RSV XC Assay PPA, NPA e OPA para RSV foram de 98,5%, 99,6% e 99,3%, respectivamente (Tabela 4).

Em amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) conservadas por congelação, o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou uma PPA, NPA, e OPA para detecção da gripe A de 97,1%, 100%, e 98,7%, respectivamente, em relação ao ensaio de referência (Tabela 4). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 100%, 100%, e 100%, respectivamente (Tabela 4). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para RSV foram de 84,6%, 100%, e 97,4%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay em amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais)

Tipo de amostra	Alvo	n	VP	FP	VN	FN	PPA % (IC de 95)	NPA % (IC de 95)	OPA % (IC de 95)
Recente	Gripe A	581	35	0	546	0	100 (90,0–100)	100 (99,3–100)	100 (99,4–100)
	Gripe B	581	126	0	454	1 ^a	99,2 (95,7–100)	100 (99,2–100)	99,8 (99,0–100)
	RSV	581	128	2 ^b	449	2 ^c	98,5 (94,6–99,8)	99,6 (98,4–99,9)	99,3 (98,2–99,8)
Congelada	Gripe A	76	34	0	41	1 ^d	97,1 (85,1–99,9)	100 (91,4–100)	98,7 (92,9–100)
	Gripe B	76	1	0	75	0	100 (2,5–100)	100 (95,2–100)	100 (95,3–100)
	RSV	76	11	0	63	2 ^e	84,6 (54,6–98,1)	100 (94,3–100)	97,4 (90,8–99,7)
Todas as amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais)	Gripe A	657	69	0	587	1 ^f	98,6 (92,3–100)	100 (99,4–100)	99,8 (99,2–100)
	Gripe B	657	127	0	529	1 ^g	99,2 (95,7–100)	100 (99,3–100)	99,8 (99,2–100)
	RSV	657	139	2 ^h	512	4 ⁱ	97,2 (93,0–99,2)	99,6 (98,6–100)	99,1 (98,0–99,7)

a Resultados de testes por sequenciação: NA; amostra não sequenciada.

b Resultados de testes por sequenciação: 2 de 2 eram RSV POSITIVO (RSV POSITIVE).

c Resultados de testes por sequenciação: 1 de 2 era RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 1 de 2 era RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

d Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

e Resultados de testes por sequenciação: 1 de 2 era RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 1 de 2 era RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

f Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

g Resultados de testes por sequenciação: NA; amostra não sequenciada.

h Resultados de testes por sequenciação: 2 de 2 eram RSV POSITIVO (RSV POSITIVE).

i Resultados de testes por sequenciação: 2 de 4 eram RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 2 de 4 eram RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

Amostras de zangaratoas nasofaríngeas

Um total de 593 amostras de zangaratoas nasofaríngeas foi testado para gripe A, gripe B e RSV com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay e o ensaio de referência. Das 593 amostras de zangaratoas nasofaríngeas, 190 eram recentes, colhidas prospectivamente e 403 eram amostras conservadas por congelação.

No total, com amostras de zangaratoas nasofaríngeas, o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou uma PPA, NPA e OPA para detecção da gripe A de 98,1%, 95,1%, e 95,6%, respectivamente, em relação ao ensaio de referência (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 98,9%, 100%, e 99,8%, respectivamente (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para RSV foram de 91,9%, 99,4%, e 98,7%, respectivamente (Tabela 5).

Em amostras de zangaratoas nasofaríngeas recentes, colhidas prospectivamente, o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou uma PPA, NPA, e OPA para detecção da gripe A de 85,7%, 98,9%, e 98,4%, respectivamente, em relação ao ensaio de referência (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 100%, 100%, e 100%, respectivamente (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para RSV foram de 100%, 100%, e 100%, respectivamente (Tabela 5).

Em espécimes de zangaratoa NP congeladas e arquivadas, o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay demonstrou um PPA, NPA e OPA para detecção de gripe A de 99,0%, 92,8% e 94,3%, respectivamente, relativamente ao ensaio de referência (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para gripe B foram de 98,8%, 100%, e 99,8%, respectivamente (Tabela 5). A PPA, NPA, e OPA do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para RSV foram de 90,4%, 99,1%, e 98,0%, respectivamente (Tabela 5).

Tabela 5. Desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay em espécimes de zaragatoa NP

Tipo de amostra	Alvo	n	VP	FP	VN	FN	PPA % (IC de 95)	NPA % (IC de 95)	OPA % (IC de 95)
Recente	Gripe A	190	6	2 ^a	181	1 ^b	85,7 (42,1–99,6)	98,9 (96,1–99,9)	98,4 (95,5–99,7)
	Gripe B	190	3	0	187	0	100 (29,2–100)	100 (98,0–100)	100 (98,1–100)
	RSV	190	10	0	180	0	100 (69,2–100)	100 (98,0–100)	100 (98,1–100)
Congelada	Gripe A	403	96	22 ^c	284	1 ^d	99,0 (94,4–100)	92,8 (89,3–95,4)	94,3 (91,6–96,3)
	Gripe B	403	85	0	317	1 ^e	98,8 (93,7–100)	100 (98,8–100)	99,8 (98,6–100)
	RSV	403	47	3 ^f	348	5 ^g	90,4 (79,0–96,8)	99,1 (97,5–99,8)	98,0 (96,1–99,1)
Todas as zaragatoas nasofaríngeas (NP)	Gripe A	593	102	24 ^h	465	2 ⁱ	98,1 (93,2–99,8)	95,1 (92,8–96,8)	95,6 (93,6–97,1)
	Gripe B	593	88	0	504	1 ^j	98,9 (93,9–100)	100 (99,3–100)	99,8 (99,1–100)
	RSV	593	57	3 ^k	528	5 ^l	91,9 (82,2–97,3)	99,4 (98,4–99,9)	98,7 (97,4–99,4)

a Resultados de testes por sequenciação: 2 de 2 eram Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE).

b Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

c Resultados de testes por sequenciação: 17 de 22 eram Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); 5 de 22 eram Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

d Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

e Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE).

f Resultados de testes por sequenciação: 2 de 3 eram RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 1 de 3 era RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

g Resultados de testes por sequenciação: 1 de 5 era RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 4 de 5 eram RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

h Resultados de testes por sequenciação: 19 de 24 eram Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); 5 de 24 eram Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

i Resultados de testes por sequenciação: 2 de 2 eram Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE).

j Resultados de testes por sequenciação: 1 de 1 era Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE).

k Resultados de testes por sequenciação: 2 de 3 eram RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 1 de 3 era RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

l Resultados de testes por sequenciação: 1 de 5 era RSV POSITIVO (RSV POSITIVE); 4 de 5 eram RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

Das execuções com o ensaio Flu/RSV XC Assay realizadas em amostras elegíveis, 98,6% (1236/1254) dessas amostras obtiveram sucesso na primeira tentativa. Com as restantes 18, obtiveram-se resultados indeterminados na primeira tentativa (11 **ERRO [ERROR]**, 3 **INVÁLIDO [INVALID]** e 4 **SEM RESULTADO [NO RESULT]**). Houve repetição de testes em dezassete das 18 amostras, das quais 14 produziram resultados válidos após uma única repetição do teste. Houve quatro amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) com resultados indeterminados após repetição do teste, tendo sido excluídas das análises.

20 Desempenho analítico

20.1 Sensibilidade analítica (Limite de detecção)

Foram realizados estudos para determinar o limite de detecção analítica (LoD) do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay com dois lotes de reagentes ao longo de três dias de testes. Foi seleccionado para verificação o LoD mais elevado observado por estirpe e por lote. A verificação do limite de detecção declarado previsto foi realizada num lote de reagentes ao longo de um mínimo de três dias de testes. O LoD foi determinado utilizando duas estirpes da gripe A H3N2, duas estirpes da gripe A 2009 H1N1, duas estirpes da gripe B, duas estirpes do vírus sincicial respiratório A (RSV A), duas estirpes do vírus sincicial respiratório B (RSV B) e uma estirpe da gripe A H7N9 diluídas numa matriz clínica agrupada negativa. O limite de detecção é definido como a menor concentração (dose infectante de cultura de tecido [TCID₅₀/ml) por amostra que pode ser distinguida de forma reprodutível de amostras negativas com 95% de confiança, ou como a menor concentração à qual 19 de 20 réplicas são positivas. Cada estirpe foi testada em réplicas de 20 por concentração de vírus.

O LoD foi determinado empiricamente como a primeira concentração que produziu 19/20 ou 20/20 resultados positivos. Os valores em pontos do limite de detecção para cada estirpe testada são resumidos da Tabela 6 à Tabela 11.

Tabela 6. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Gripe A H1N1 2009

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
Gripe A/California/7/2009	0,3 (20/20)
Gripe A/Florida/27/2011	16 (19/20)

Tabela 7. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Gripe A H3N2

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
Gripe A/Perth/16/2009	0,3 (20/20)
Gripe A/Victoria/361/2011	0,8 (20/20)

Tabela 8. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Gripe B

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
Gripe B/Massachusetts/2/2012	0,5 (20/20)
Gripe B/Wisconsin/01/2010	0,6 (20/20)

Tabela 9. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Vírus respiratório sincicial A

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
RSV A/2/Australia/61	1,2 (20/20)
RSV A/Long/MD/56	1,0 (19/20)

Tabela 10. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Vírus respiratório sincicial B

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
RSV B/Washington/18537/62	1,8 (20/20)
RSV B/9320/Massachusetts/77	2,0 (19/20)

Tabela 11. LoD confirmado (TCID₅₀/ml): Gripe A H7N9

ID da estirpe	LoD confirmado (TCID ₅₀ /ml) (pelo menos 19/20 positivas)
Gripe A/Anhui/1/2013	21,0 (19/20)

Embora este teste tenha demonstrado detectar o novo material de cultura da gripe aviária A (H7N9), não foram estabelecidas as características de desempenho deste dispositivo com amostras clínicas que são positivas para o novo vírus da gripe aviária A(H7N9). O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay consegue distinguir entre os vírus das gripes A e B, mas não consegue diferenciar subtipos de gripe.

20.2 Especificidade analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi avaliada testando um painel de 44 culturas, sendo 16 virais, 26 bacterianas e duas de leveduras, representando agentes patogénicos respiratórios comuns ou os potencialmente encontrados na nasofaringe. Foram testadas três réplicas de todas as estirpes bacterianas e de leveduras a concentrações de $\geq 10^6$ CFU/ml à excepção de uma estirpe que foi testada a 10^5 CFU/ml (*Chlamydia pneumoniae*). Foram testadas três réplicas de todos os vírus em concentrações de $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml. A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Especificidade analítica do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay

Organismo	Concentração	Resultado		
		Gripe A	Gripe B	RSV
<i>Sem controlo de modelos</i>	N/A	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Adenovírus tipo 1	$1,12 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Adenovírus tipo 7	$1,87 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Coronavírus humano OC43	$2,85 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Coronavírus humano 229E	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Citomegalovírus	$7,24 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Ecovírus	$3,31 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Enterovírus	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Vírus de Epstein-Barr	$7,16 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

Tabela 12. Especificidade analítica do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (Continuação)

Organismo	Concentração	Resultado		
		Gripe A	Gripe B	RSV
HSV	$8,9 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Sarampo	$6,3 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Metapneumovírus humano	$3,8 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Vírus da papeira	$6,31 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Parainfluenza humana Tipo 1	$1,15 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Parainfluenza humana Tipo 2	1×10^5 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Parainfluenza humana Tipo 3	$3,55 \times 10^7$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Rinovírus Tipo 1A	$1,26 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo) ^a	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Burkholderia cepacia</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Candida albicans</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Candida parapsilosis</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Bordetella pertussis</i>	1×10^8 CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$3,16 \times 10^5$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Citrobacter freundii</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Corynebacterium sp.</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Escherichia coli</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Enterococcus faecalis</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Hemophilus influenzae</i>	1×10^6 CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Lactobacillus sp.</i>	1×10^6 CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Legionella spp.</i>	1×10^8 CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	$> 1 \times 10^6$ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

Tabela 12. Especificidade analítica do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (Continuação)

Organismo	Concentração	Resultado		
		Gripe A	Gripe B	RSV
<i>Mycobacterium tuberculosis (avirulenta)</i>	1,15 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 × 10 ⁷ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Neisseria meningitidis</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Neisseria mucosa</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Propionibacterium acnes</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Streptococcus agalactiae</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Streptococcus salivarius</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	> 1 × 10 ⁶ CFU/ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

- a Para *Acinetobacter baumannii* aquando do teste inicial, 1 de 3 réplicas foram positivas para a gripe A com um Ct de 39,2 (cut-off = 40). Foram testadas 23 réplicas adicionais a > 1 × 10⁶ CFU/ml; 23 de 23 réplicas foram correctamente reportadas como Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE).

20.3 Reactividade analítica (Inclusividade)

A reactividade analítica do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi avaliada com base em várias estirpes de gripe A H1N1 (sazonal antes de 2009), gripe A H1N1 (pandémica de 2009), gripe A H3N2 (sazonal), gripe aviária A (H5N1, H5N2, H6N2, H7N2, H7N3, H2N2, H7N9 e H9N2), gripe B (representando estirpes das linhagens Victoria e Yamagata), e vírus sincicial respiratório subgrupos A e B (RSV A e RSV B) a níveis próximos do LoD analítico. Foram testados neste estudo um total de 64 estirpes, incluindo 54 vírus de gripe e 10 estirpes de RSV com o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.

Foram testadas três réplicas para cada estirpe. Os resultados são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Reactividade analítica (Inclusividade) do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay

Vírus	Estirpe	Concentração	Resultado		
			Gripe A	Gripe B	RSV
Sem controlo de modelos		N/A	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Gripe A H1N1 (pré-2009)	A/suína/lowa/15/30	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/WS/33	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/PR/8/34	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Mal/302/54	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Denver/1/57	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/New Jersey/8/76	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/New Caledonia/20/1999	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Nova Iorque/55/2004	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Solomon Island/3/2006	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Taiwan/42/06	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Brisbane/59/2007	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Gripe A H1N1 (pdm2009)	A/California/7/2009	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/suína/NY/02/2009	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Florida/27/2011	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Colorado/14/2012	32,0 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Washington/24/2012	80,0 ^a TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

Tabela 13. Reactividade analítica (Inclusividade) do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (Continuação)

Vírus	Estirpe	Concentração	Resultado		
			Gripe A	Gripe B	RSV
Gripe A H3N2 (Sazonal)	A/Aichi/2/68	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Hong Kong/8/68	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Port Chalmers/1/73	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Hawaii/15/2001	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Wisconsin/67/05	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Brisbane/10/2007	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Perth/16/2009	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Minnesota/11/2010 (H3N2)v	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Indiana/08/2011 (H3N2)v	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Victoria/361/2011	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Texas/50/2012	1,6 TCID ₅₀ /ml	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
Gripe Aviária A	A/pato/Hunan/795/2002 (H5N1)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/frango/Hubei/327/2004 (H5N1)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Anhui/01/2005 (H5N1)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Japanese white eye/Hong Kong/ 1038/ 2006 (H5N1)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/pato-selvagem/WI/34/75 (H5N2)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/frango/CA431/00 (H6N2)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/pato/LTC-10-82743/1943 (H7N2)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/frango/NJ/15086-3/94 (H7N3)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	NA ^c	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/Shanghai/1/2013 (H7N9)	NA ^c	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/frango/Korea/38349-p96323/ 1996 (H9N2)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)
	A/pato-selvagem/NY/6750/78 (H2N2)	≤ 1pg/μL ^b	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)

Tabela 13. Reactividade analítica (Inclusividade) do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (Continuação)

Vírus	Estirpe	Concentração	Resultado		
			Gripe A	Gripe B	RSV
Gripe B	B/Lee/40	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Allen/45	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/GL/1739/54	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Maryland/1/59	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Panama/45/90 ^d	3,0 TCID ₅₀ /ml ^e	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Florida/07/2004 ^f	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Florida/02/06 ^d	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Florida/04/06 ^f	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Wisconsin/01/2011 ^d	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Massachusetts/2/2012 ^f	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Hong Kong/5/72	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Wisconsin/01/2010 ^f	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Malaysia/2506/04 ^d	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
	B/Taiwan/2/62	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)
B/Brisbane/60/2008 ^d	1,2 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	POS (Positivo)	NEG (Negativo)	
RSV A	RSV-A/Long/MD/56	2,4 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-A/2/Australia/61	2,4 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-A/NY (Clinicamente desconhecido)	2,4 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-A/WI/629-8-2/2007	2,4 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-A/WI/629-11-1/2008	2,4 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)

Tabela 13. Reactividade analítica (Inclusividade) do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay (Continuação)

Vírus	Estirpe	Concentração	Resultado		
			Gripe A	Gripe B	RSV
RSV B	RSV-B/Wash/18537/62	4,0 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-B/9320/MA/77	4,0 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-B/WV14617/85	4,0 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-B/CH93(18)-18	20,0 TCID ₅₀ /ml ^g	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)
	RSV-B/WI/629-5B/0607	4,0 TCID ₅₀ /ml	NEG (Negativo)	NEG (Negativo)	POS (Positivo)

- a A gripe A/Washington/24/2012 foi testada a 5X LoD (80,0 TCID₅₀/ml) para procura de 3 de 3 resultados **Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)**.
- b O RNA viral purificado em matriz de fundo simulado foi utilizado para os vírus da gripe aviária A devido a regulações de biossegurança.
- c Vírus inactivados da gripe aviária A (H7N9) sem titulação de vírus foram diluídos 100.000 vezes numa matriz de fundo simulado e testados devido a regulações de biossegurança.
- d Linhagem Victoria conhecida.
- e A gripe B/Panama/45/90 foi testada a 5X LoD (3,0 TCID₅₀/ml) para procura de 3 de 3 resultados **Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE)**.
- f Linhagem Yamagata conhecida.
- g A RSV-B/CH93(18)-18 foi testada a 10X LoD (20,0 TCID₅₀/ml) para procura 3 de 3 resultados **RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)**.

20.4 Estudo de substâncias que interferem

Num estudo não clínico, foram avaliadas potenciais substâncias que interferem passíveis de estarem presentes na nasofaringe directamente em relação ao desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay. As potenciais substâncias que interferem na nasofaringe podem incluir, entre outras: sangue, secreções nasais ou muco e medicamentos nasais e faríngeos utilizados para aliviar a congestão, a secura nasal, a irritação ou a asma e sintomas alérgicos, assim como antibióticos e antivíricos. Foram testadas amostras negativas (n = 8) por cada substância para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control — SPC). Foram testadas amostras positivas (n = 8) por substância com seis estirpes de gripe (quatro de gripe A e duas de gripe B) e quatro estirpes de RSV (duas de RSV A e duas de RSV B) enriquecidas a 2X o LoD analítico determinado para cada estirpe. Todos os resultados foram comparados com controlos de meio de transporte universal (Universal Transport Medium — UTM) positivos e negativos.

Estas substâncias avaliadas estão discriminadas na Tabela 14, com indicação dos princípios activos e concentrações testadas. Não houve interferência nos ensaios na presença das substâncias nas concentrações testadas neste estudo. Todas as réplicas positivas e negativas foram correctamente identificadas utilizando o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.

Amostras da vacina FluMist foram correctamente reportadas como **Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE)**; **Flu B POSITIVO (Flu B POSITIVE)**; **RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)** como esperado. Amostras contendo FluMist podem causar resultados falsos positivos. Esta questão é abordada na Secção 18, Limitações.

Tabela 14. Substâncias que podem interferir no ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay

Substância/Classe	Descrição/princípio activo	Concentração testada
Broncodilatador beta-adrenérgico	Sulfato de albuterol	0,83 mg/ml (equivalente a 1 dose por dia)
Sangue	Sangue (humano)	2% (v/v)
Sistema de transporte viral universal BD™	Meio de transporte	100% (v/v)
Remel M4®	Meio de transporte	100% (v/v)
Remel M4RT®	Meio de transporte	100% (v/v)
Remel M5®	Meio de transporte	100% (v/v)
Pastilhas para a garganta, anestésico e analgésico oral	Benzocaína, Mentol	1,7 mg/ml
Mucina	Proteína mucina purificada (glândula submaxilar bovina ou suína)	2,5% (p/v)
Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina	10 mg/ml
Soro fisiológico em spray nasal	Cloreto de sódio (0,65%)	15% (v/v)
Spray nasal Anefrin	Oximetazolina, 0,05%	15% (v/v)
Gotas nasais	Fenilefrina, 0,5%	15% (v/v)
Tamiflu®/Fármacos antivirais	Zanamivir	7,5 mg/ml
Antibacteriano, sistémico	Tobramicina	4 µg/ml
Zicam®/Gel nasal	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum Hydrochloricum Sulfur	15% (p/v)
FluMist®	Vacina intranasal viva do vírus influenza	6,7% (v/v)
Corticosteróide nasal	Propionato de fluticasona	5 µg/ml

20.5 Estudo de contaminação cruzada

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu numa amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert seguida imediatamente por uma amostra de gripe A muito elevada (aproximadamente 10^6 TCID₅₀/teste) ou uma amostra RSV A muito elevada (aproximadamente 10^6 TCID₅₀/teste). Este esquema de teste foi repetido 20 vezes em dois módulos GeneXpert, para um total de 82 execuções, resultando em 40 espécimes positivas e 42 negativas para cada tipo de vírus. As 40 amostras positivas foram correctamente reportadas como **Flu A POSITIVO (Flu A POSITIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)** ou **Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV POSITIVO (RSV POSITIVE)**. As 42 amostras negativas foram correctamente reportadas como **Flu A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Flu B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE); RSV NEGATIVO (RSV NEGATIVE)**.

20.6 Estudo de equivalência de amostra recente vs. congelada

A equivalência entre amostras frescas e congeladas no ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi avaliada testando as estirpes de gripe individual e RSV a três concentrações diferentes representando positivos baixos (2X LoD), positivos moderados (5X LoD) e positivos elevados (10X LoD) na matriz de fundo simulada. As amostras negativas consistiram apenas em matrizes de fundo simulado. A equivalência de amostras recentes e congeladas foi determinada utilizando uma estirpe de gripe sazonal A H3N2 (A/Victoria/361/2011), uma estirpe de gripe B (B/Wisconsin/01/11), uma estirpe de RSV A (RSV A/Long/MD/56), e uma estirpe de RSV B (RSV B/9320/MA/77). Réplicas de 20 foram testadas para cada tipo de amostra e de concentração. Todas as amostras positivas e negativas foram testadas frescas, após um ciclo de congelação-descongelação, e após dois ciclos de congelação-descongelação.

Não se verificou um efeito estatisticamente significativo no desempenho do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay entre diluições de vírus frescos e dois ciclos de congelamento/descongelamento sequenciais para amostras positivas e negativas. Todas as réplicas positivas e negativas foram correctamente identificadas utilizando o ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay.

21 Reprodutibilidade

Um painel de 10 amostras com concentrações variáveis de vírus influenza A, influenza B, e RSV foi testado em dez dias diferentes por dois operadores diferentes, em cada um de três locais (10 amostras × 1 vez/dia × 10 dias × 2 operadores × 3 locais). Utilizou-se um lote do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay em cada um dos 3 locais de estudo. O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi realizado de acordo com o procedimento do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay. Os resultados estão resumidos na Tabela 15.

Tabela 15. Resumo dos resultados de reprodutibilidade

ID de amostra	Local 1/GX Dx			Local 2/Infinity-80			Local 3/Infinity-48			% Total de concordância por amostra
	Op 1	Op 2	Local	Op 1	Op 2	Local	Op 1	Op 2	Local	
Negativo	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (60/60)
Flu A - Neg elevado	70,0% (7/10)	60,0% (6/10)	65,0% (13/20)	80,0% (8/10)	80,0% (8/10)	80,0% (16/20)	60,0% (6/10)	70,0% (7/10)	65,0% (13/20)	70,0% (42/60)
Flu A - Pos baixo	100% (10/10)	90,0% (9/10)	95,0% (19/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	90,0% (9/10)	95,0% (19/20)	96,7% (58/60)
Flu A - Pos mod	100% (10/10)	90,0% (9/10)	95,0% (19/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	98,3% (59/60)
Flu B - Neg elevado	90,0% (9/10)	70,0% (7/10)	80,0% (16/20)	100% (10/10)	70,0% (7/10)	85,0% (17/20)	50,0% (5/10)	80,0% (8/10)	65,0% (13/20)	76,7% (46/60)
Flu B - Pos baixo	100% (10/10)	90,0% (9/10)	95,0% (19/20)	90,0% (9/10)	70,0% (7/10)	80,0% (16/20)	100% (10/10)	90,0% (9/10)	95,0% (19/20)	90,0% (54/60)
Flu B - Pos mod	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (60/60)
RSV - Neg elevado	60,0% (6/10)	50,0% (5/10)	55,0% (11/20)	90,0% (9/10)	60,0% (6/10)	75,0% (15/20)	70,0% (7/10)	70,0% (7/10)	70,0% (14/20)	66,7% (40/60)
RSV - Pos baixo	77,8% ^a (7/9)	100% (10/10)	89,5% (17/19)	80,0% (8/10)	80,0% (8/10)	80,0% (16/20)	90,0% (9/10)	90,0% (9/10)	90,0% (18/20)	86,4% (51/59)
RSV - Pos mod	100% ^b (9/9)	100% (10/10)	100% (19/19)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (10/10)	100% (10/10)	100% (20/20)	100% (59/59)

a Uma amostra indeterminada no teste inicial; repetição do teste não realizada.

b Uma amostra 2x indeterminada.

A reprodutibilidade do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct (limiar de ciclo) para cada alvo detectado. O desvio padrão (DP) médio e o coeficiente de variação (CV) entre locais, entre dias, entre operadores para cada membro do painel são apresentados na Tabela 16. Foi realizada uma réplica por dia, por operador; por conseguinte, há uma variável de confusão entre o operador e a precisão do ensaio (na mesma execução).

Tabela 16. Resumo dos dados de reprodutibilidade

Preparação	Canal de ensaio (analito específico)	N ^a	Ct médio	Entre locais		Entre dias		Entre operadores + Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Negativo	SPC	60	30,8	0,06	0,2	0	0	0,29	0,9	0,29	0,9
Flu A - Neg elevado	FluA1	18	38,0	0	0	1,55	4,1	0,85	2,2	1,77	4,6
	FluA2	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu A - Pos baixo	FluA1	58	34,9	0,38	1,1	0,10	0,3	1,28	3,7	1,34	3,8
	FluA2	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu A - Pos mod	FluA1	59	33,5	0,49	1,5	0	0	1,29	3,9	1,38	4,1
	FluA2	10	36,3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu B - Neg elevado	FluB	14	36,6	0,80	1,4	0	0	2,83	7,7	2,94	8,0
Flu B - Pos baixo	FluB	54	33,4	0	0	1,07	3,2	1,76	5,3	2,06	6,2
Flu B - Pos mod	FluB	60	32,1	0	0	0,38	1,2	1,47	4,6	1,51	4,7
RSV - Neg elevado	RSV	20	37,4	0	0	0,14	0,4	1,68	4,5	1,68	4,5
RSV - Pos baixo	RSV	51	36,2	0,22	0,6	0	0	1,75	4,8	1,76	4,9
RSV - Pos mod	RSV	60	35,1	0	0	0,24	0,9	1,20	3,4	1,24	3,5

a Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 60.

22 Precisão do sistema do instrumento

Realizou-se um estudo interno de precisão para comparação do desempenho dos sistemas de instrumento GeneXpert Dx e GeneXpert Infinity. Um painel de 10 amostras com concentrações variáveis de vírus influenza A, influenza B, e RSV foi testado em 12 dias diferentes por dois operadores. Cada operador realizou quatro execuções de cada amostra do painel por dia em cada um dos dois sistemas de instrumento (10 amostras × 2 vezes/dia × 12 dias × 2 operadores × 2 sistemas de instrumento). Foram utilizados três lotes de cartuchos do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay para o estudo. O ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay foi realizado de acordo com o procedimento do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay. Os resultados estão resumidos na Tabela 17.

Tabela 17. Resultados de precisão do sistema do instrumento (Dx vs. Infinity)

Preparação	GeneXpert Dx			Infinity			% de concordância total por amostra
	Op 1	Op 2	Inst	Op 1	Op 2	Inst	
Negativo	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	100% (192/192)
Flu A - Neg elevado	75,0% (36/48)	77,1% (37/48)	76,0% (73/96)	87,5% (42/48)	75,0% (36/48)	81,3% (78/96)	78,7% (151/192)
Flu A - Pos baixo	68,8% (33/48)	97,9% (47/48)	83,3% (80/96)	91,7% (44/48)	93,8% (45/48)	92,7% (89/96)	88,0% (169/192)
Flu A - Pos mod	97,9% (47/48)	100% (48/48)	99,0% (95/96)	93,8% (45/48)	97,9% (47/48)	95,8% (92/96)	97,4% (187/192)
Flu B - Neg elevado	81,3% (39/48)	79,2% (38/48)	80,2% (77/96)	89,6% (43/48)	79,2% (38/48)	84,4% (81/96)	82,3% (158/192)
Flu B - Pos baixo	89,6% (43/48)	95,8% (46/48)	92,7% (89/96)	89,6% (43/48)	87,5% (42/48)	88,5% (85/96)	90,6% (174/192)
Flu B - Pos mod	97,9% (47/48)	100% (48/48)	99,0% (95/96)	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	99,5% (191/192)
RSV - Neg elevado	89,6% (43/48)	77,1% (37/48)	83,3% (80/96)	87,5% (42/48)	83,3% (40/48)	85,4% (82/96)	84,4% (162/192)
RSV - Pos baixo	93,8% (45/48)	93,8% (45/48)	93,8% (90/96)	87,5% (42/48)	89,6% (43/48)	88,5% (85/96)	91,1% (175/192)
RSV - Pos mod	100% (48/48)	100% (48/48)	100% (96/96)	97,9% (47/48)	100% (48/48)	99,0% (95/96)	99,5% (191/192)

A precisão do ensaio Xpert Flu/RSV XC Assay também foi avaliada em termos do sinal de fluorescência expresso em valores de Ct para cada alvo detectado. O desvio padrão (DP) médio e o coeficiente de variação (CV) entre instrumentos, entre lotes, entre dias, entre operadores, e dentro dos limites dos ensaios para cada elemento do painel são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Resumo dos dados de precisão

Preparação	Canal de ensaio (analito específico)	N ^a	Ct médio	Entre instrumentos		Entre lotes		Entre dias		Entre operadores		Dentro do ensaio		Total	
				DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
Negativo	SPC	192	30,6	0	0	0,19	0,6	0,06	0,2	0,02	0,1	0,36	1,2	0,41	1,3
Flu A - Neg elevado	FluA1	41	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA2	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu A - Pos baixo	FluA1	169	35,6	0	0	0,42	1,2	0,93	2,6	0,28	0,8	1,61	4,5	1,93	5,4
	FluA2	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu A - Pos mod	FluA1	187	34,1	0	0	0,41	1,2	0,95	2,8	0	0	1,54	4,5	1,86	5,5
	FluA2	14	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	FluA3	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu B - Neg elevado	FluB	34	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Flu A - Pos baixo	FluB	174	33,2	0	0	0,47	1,4	0	0	0,66	2,0	2,03	6,1	2,18	6,6
Flu A - Pos mod	FluB	191	32,1	0	0	0,17	0,5	0,25	0,8	0	0	1,73	5,4	1,75	5,5
RSV - Neg elevado	RSV	30	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
RSV - Pos baixo	RSV	175	36,0	0	0	0,75	2,1	0	0	0,36	1,0	1,47	4,1	1,69	4,7
RSV - Pos mod	RSV	191	34,7	0	0	0,57	1,7	0,16	0,5	0	0	1,23	3,6	1,37	3,9

a Resultados com valores do Ct diferentes de zero em 192.

23 Referências

1. Petric M, et al. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis.* 2006;194:S98–110.
2. Schweiger B, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro.* 2000;38:1552–1558.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Seasonal Influenza. <http://www.cdc.gov>. Accessed on March 14, 2013.
4. <http://www.mayoclinic.com/health/respiratory-syncytial-virus/DS00414/DSECTION=prevention>. Accessed on March 14, 2013.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories* (refer to latest edition). <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>
6. Interim Biosafety Guidance for All Individuals Handling Clinical Specimens or Isolates Containing 2009-H1N1 influenza A Virus (Novel H1N1), including Vaccine Strains, August 15, 2009; (http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidelines_labworkers.htm).
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC)).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont França
Telefone: +1 408 541 4191	Telefone: +33 563 825 300
Fax: +1 408 541 4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

25 Assistência Técnica

Antes de contactar a Assistência Técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Service Tag (etiqueta de serviço) do Computador

Informações de contacto

Estados Unidos da América

Telefone: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

França

















Telefone: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em <http://www.cepheid.com/en/support/support/order-management>.

26 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Contém suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Advertência



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 EUA
 Telefone: +1 408 541 4191
 Fax: +1 408 541 4192
 www.cepheid.com



Cepheid Europe SAS
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 França
 Tel.: +33 563 825 300
 Fax: +33 563 825 301
 E-mail: support@cepheideurope.com



