

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

REF XP3COV2/FLU/RSV-10

Instruções de utilização

Para utilização com o GeneXpert[®] Dx System ou GeneXpert[®]
Infinity System



Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

© 2021–2025 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®] e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. 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.

© 2021–2025 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações em Historial de revisões, na Secção 24.

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

1 Nome proprietário

Xpert[®] Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

2 Nome comum ou usual

Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*

3 Utilização prevista

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*, conduzido nos sistemas do instrumento GeneXpert, é um teste de RT-PCR multiplex em tempo real destinado à detecção qualitativa e diferenciação simultâneas *in vitro* de ARN dos vírus SARS-CoV-2, do vírus da gripe A, da gripe B e/ou do vírus sincicial respiratório em amostras nasofaríngeas ou nasais anteriores obtidas por zaragatoa, colhidas de indivíduos com sinais e/ou sintomas de infecção viral respiratória.

O RNA de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório que é identificado por intermédio deste teste é, de uma forma geral, detetável em amostras colhidas nas vias respiratórias superiores durante a fase aguda da infecção. Os resultados positivos são indicativos da presença do vírus identificado, mas não excluem infecção bacteriana ou coinfeção com outros agentes patogénicos não detetados pelo teste.

A correlação clínica com o histórico do doente e outras informações de diagnóstico são necessárias para determinar o estado da infecção do doente. O agente detetado pode não ser a causa definitiva da doença.

Os resultados negativos não excluem a infecção por SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e/ou vírus sincicial respiratório e não devem ser utilizados como a única base para o tratamento ou outras decisões sobre o tratamento dos doentes. Os resultados negativos devem ser combinados com observações clínicas, histórico do doente e/ou informações epidemiológicas.

4 Resumo e explicação

A 31 de dezembro de 2019, foi inicialmente relatado à Organização Mundial de Saúde (OMS) um surto de uma doença respiratória de etiologia desconhecida na cidade de Wuhan, na província de Hubei, China.¹ As autoridades chinesas identificaram um novo coronavírus (2019-nCoV) que, entretanto, se espalhou a nível mundial, resultando numa pandemia da doença de coronavírus 2019 (COVID-19). A COVID-19 está associada a vários resultados clínicos, incluindo infecção assintomática, infecção ligeira das vias respiratórias superiores, doença respiratória inferior grave, incluindo pneumonia e falha respiratória e, nalguns casos, morte. O Comité Internacional da Taxonomia de Vírus (ICTV) renomeou o vírus de SARS-CoV-2.²

A gripe (Influenza) é uma infecção viral contagiosa do trato respiratório. A transmissão do vírus Influenza ocorre principalmente por gotículas aerossolizadas (ou seja, tosse ou espirros), atingindo normalmente o pico nos meses de inverno. Os sintomas frequentes incluem febre, arrepios, cefaleias, mal-estar, tosse e congestão dos seios nasais. Podem também ocorrer sintomas gastrointestinais (por ex. náuseas, vómitos ou diarreia), principalmente em crianças, mas são menos comuns. Os sintomas surgem geralmente no prazo de até dois dias após a exposição a um indivíduo infetado. Pode verificar-se o desenvolvimento de pneumonia como complicação após uma infecção gripal, causando um aumento da morbilidade e da mortalidade em populações de crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos.^{3,4}

Os vírus Influenza são classificados em tipos A, B e C, sendo que os dois primeiros causam a maioria das infeções em seres humanos. O vírus Influenza A (vírus da gripe A) é o tipo mais frequente de vírus Influenza em seres humanos e é geralmente responsável por epidemias de gripe sazonais e tem o potencial de causar pandemias. O vírus da gripe A também pode infetar animais como aves, suínos e equídeos. As infeções por Influenza B (vírus da gripe B) limitam-se, geralmente,

a seres humanos e causam epidemias menos frequentemente.⁵ Os vírus da gripe A são subdivididos em subtipos com base em duas proteínas de superfície: a hemaglutinina (H) e a neuraminidase (N). A gripe sazonal é normalmente causada pelos subtipos de Influenza A: H1, H2, H3, N1 e N2.

O vírus respiratório sincicial, um membro da família *Pneumoviridae* (anteriormente *Paramyxoviridae*), composto por duas estirpes (subgrupos A e B), é igualmente responsável por uma doença contagiosa que afeta principalmente bebês, idosos e outros adultos imunocomprometidos (p. ex., doentes com doença pulmonar crônica ou submetidos a tratamento para condições que reduzem a robustez do seu sistema imunitário).⁶ O vírus pode causar infecções das vias respiratórias superiores, como constipações, e infecções das vias respiratórias inferiores que se manifestam sob a forma de bronquiólite e pneumonia.⁶ Aos dois anos de idade, a maioria das crianças já foi infectada pelo vírus respiratório sincicial, mas pelo facto de apenas se desenvolver uma imunidade fraca, tanto crianças como adultos podem ser reinfectados.⁶ O vírus respiratório sincicial continua a ser, a nível mundial, a principal causa de hospitalizações de bebês.⁷ Os sintomas aparecem quatro a seis dias após a infecção, que é normalmente autolimitada, e que dura aproximadamente uma a duas semanas em bebês. Em adultos, a infecção dura cerca de 5 dias e apresenta-se com sintomas semelhantes a uma constipação, como rinorreia, fadiga, cefaleias e febre. A época do vírus respiratório sincicial é habitualmente idêntica à do vírus Influenza, uma vez que as infecções começam a aumentar durante o outono e duram até ao início da primavera.^{5,6}

Os vírus SARS-CoV-2, Influenza e o vírus respiratório sincicial apresentam-se muitas vezes com sintomas clínicos semelhantes, dificultando a diferenciação clínica entre as infecções.⁸ Programas de vigilância ativa, em conjunto com precauções de prevenção de infecções, são componentes importantes na prevenção da transmissão do SARS-CoV-2, influenza e vírus respiratório sincicial. O recurso a ensaios que produzem resultados rápidos para identificar os pacientes infectados por estes vírus pode ser um fator importante para o controlo eficaz, a escolha adequada do tratamento e a prevenção de surtos generalizados.

5 Princípio do procedimento

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus é um teste de diagnóstico *in vitro* automatizado para a deteção qualitativa e diferenciação simultâneas de ARN dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B e vírus respiratório sincicial mediante a utilização de um teste PCR (RT-PCR) por transcrição reversa. O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus é efetuado nos GeneXpert Instrument Systems (sistemas Dx e Infinity). Os primers e as sondas do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foram concebidos para amplificar e detetar sequências únicas nos genes nucleocapsídeos (N) e do invólucro (E), e ARN polimerase dependente de ARN (RdRP) do genoma do vírus SARS-CoV-2, na matriz (M) da gripe A, na polimerase básica (PB2) da gripe A, na proteína ácida (PA) da gripe A, na matriz (M) da gripe B, na proteína não estrutural (NS) da gripe B e nos genes nucleocapsídeos do vírus respiratório sincicial A e do vírus respiratório sincicial B.

Os GeneXpert Instrument Systems automatizam e integram a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real e RT-PCR. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos descartáveis de utilização única que contêm os reagentes para PCR/RT-PCR e onde decorre o processo de PCR/RT-PCR. Dado que os cartuchos são independentes, o risco de contaminação cruzada entre as amostras é minimizado. Para uma descrição completa dos sistemas, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus inclui reagentes para a deteção de ARN dos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B e vírus respiratório sincicial em amostras nasofaríngeas ou nasais anteriores obtidas por zaragatoa. Também estão incluídos no cartucho utilizado pelo instrumento GeneXpert 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 controlar o processamento adequado da amostra e para monitorizar a presença de potencial(is) inibidor(es) na reação de RT-PCR. O SPC também garante que as condições da reação RT-PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes de RT-PCR são funcionais. O PCC verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR e confirma que todos os componentes da reação estão presentes no cartucho, incluindo a monitorização da integridade da sonda e da estabilidade dos corantes.

A amostra é colhida e colocada num tubo para transporte contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT™. A amostra é rapidamente misturada invertendo o tubo de colheita cinco vezes. Utilizando a pipeta de transferência, a amostra é transferida para a câmara de amostras do cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. O cartucho GeneXpert é carregado na plataforma do sistema do instrumento GeneXpert, que realiza o processamento da amostra automático, sem intervenção manual, e RT-PCR em tempo real para deteção de ADN viral.

6 Reagentes e Instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

O kit do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* com tubos de reação 10 integrados

- Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) 1 de cada por cartucho
- Reagente de lise 1,0 ml por cartucho
- Reagente de ligação 1,0 ml por cartucho
- Reagente de eluição 3,0 ml por cartucho
- Reagente de lavagem 0,4 ml por cartucho

Pipetas de transferência descartáveis

10–12 por kit

Folheto

1 por kit

- Instruções para localizar (e importar) os ficheiros ADF e documentação, como o folheto informativo, em www.cepheid.com.

Instruções de Consulta Rápida

2 por kit

(Apenas para utilização com o GeneXpert Xpress System)

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) encontram-se disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com no separador **SUPPORT** (ASSISTÊNCIA TÉCNICA).

Nota O estabilizador de proteínas de origem bovina presente nas esferas deste produto foi produzido e fabricado a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos Estados Unidos. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento do kit

- Conserve os cartuchos do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* a uma temperatura de 2–28 °C.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize um cartucho que esteja molhado ou tenha vazado.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Zaragatoa de ponta estriada de nylon (Copan P/N 502CS01, 503CS01) ou equivalente
- Meio de transporte viral, 3 ml (Copan P/N 330C) ou equivalente
- Soro fisiológico a 0,85-0,9% (p/v), 3 ml
- Nasopharyngeal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/B-100, Copan P/N 305C) ou equivalente
- Nasal Sample Collection Kit for Viruses (Cepheid P/N SWAB/F-100, Copan P/N 346C) ou equivalente
- Sistemas GeneXpert Dx ou GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras e manual do utilizador.
- Para GeneXpert Dx System: software GeneXpert Dx versão 4.7b ou posterior
- Para os sistemas GeneXpert Infinity-80 e Infinity-48s: software Xpertise versão 6.4b ou posterior

9 Materiais disponíveis, mas não fornecidos

Estão disponíveis controlos externos sob forma de vírus inativados em ZeptoMetrix (Buffalo, Nova Iorque, EUA).

- Controlo positivo externo: N.º de catálogo NATFRC-6C (NATtrol Flu/VSR/SARS-CoV-2)
- Controlo negativo externo: N.º de catálogo NATCV9-6C (NATtrol Coxsackievirus A9)

Meio eNAT de colheita e preservação molecular de Copan Italy S.p.A. (Brescia, IT):

- Meio eNAT de colheita e preservação molecular, n.º de catálogo Copan 6U073S01
- Meio eNAT de colheita e preservação molecular, n.º de catálogo Copan 6U074S01

10 Declarações de atenção e precauções

10.1 Geral

- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Os resultados positivos são indicativos da presença de ARN do vírus da gripe A, da gripe B, vírus respiratório sincicial e SARS-CoV-2.
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber que amostras biológicas poderão ser infecciosas, todas devem ser manuseadas com precauções normais. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁹ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.¹⁰
- Siga os procedimentos de segurança determinados pela sua instituição para trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- Consulte o folheto informativo de Copan eNAT® para informações de segurança e manuseamento.
- Evite o contacto direto entre o tiocianato de guanidina e o hipoclorito de sódio (lixívia) ou outros reagentes altamente reativos como ácidos e bases. Estas misturas podem libertar gás nocivo.
- 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, as amostras biológicas 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 Amostras

- Manter condições de conservação adequadas durante o transporte da amostra, para assegurar a integridade da amostra (consulte a Secção 12, Colheita, transporte e conservação de amostras). A estabilidade da amostra não foi avaliada em condições de transporte que não as recomendadas.

10.3 Ensaio/reagente

- Não abra a tampa do cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus, exceto ao 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 respetiva tampa pode produzir resultados indeterminados.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem no rótulo de código de barras do cartucho.
- Não utilize um cartucho que tenha uma etiqueta de código de barras danificada.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não utilize os reagentes após a sua data de expiração.
- Cada cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Cada pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis.

- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade de derrame da amostra ou dos controlos, use luvas e absorva o derrame com toalhetes de papel. Em seguida, limpe minuciosamente a área contaminada com uma diluição a 10% de lixívia doméstica à base de cloro. Aguarde no mínimo dois minutos de tempo de contacto. Certifique-se de que a área de trabalho está seca antes de utilizar etanol a 70% desnatado para remover os resíduos de lixívia. Aguarde até que a superfície seque completamente antes de prosseguir. Em alternativa, siga os procedimentos padrão da sua instituição para casos de contaminação ou derrame. Relativamente ao equipamento, siga as recomendações do fabricante sobre a descontaminação do equipamento.

11 Perigos químicos 11, 12

- **Palavra-sinal: Advertência**
- **Advertências de perigo do GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Pode ser nocivo em contacto com a pele
 - Provoca irritação ocular
- **Recomendações de prudência do GHS da ONU**
 - **Prevenção**
 - Lave bem as mãos após o manuseamento.
 - **Resposta**
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENOS ou um médico.
 - 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. Continue a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: Consulte um médico.

12 Colheita, transporte e conservação de amostras

A colheita, a conservação e o transporte adequados das amostras são fundamentais para o desempenho deste teste. A colheita inadequada e o manuseamento e/ou o transporte desadequados das amostras poderão produzir resultados falsos. Consulte Secção 12.1 para informações sobre o procedimento de recolha nasofaríngea por zaragatoa, e Secção 12.2 para informações sobre o procedimento de recolha nasal anterior por zaragatoa. As amostras nasofaríngeas e nasais anteriores obtidas por zaragatoa podem ser conservadas à temperatura ambiente (15 °C-30 °C), por um período máximo de 48 horas, num meio de transporte viral, soro fisiológico ou eNAT, até que o teste seja realizado no GeneXpert Instrument Systems. Em alternativa, as amostras nasofaríngeas e nasais anteriores obtidas por zaragatoa podem ser refrigeradas (2 °C-8 °C) até sete dias, num meio de transporte viral ou em soro fisiológico e até seis dias em eNAT, até que o teste seja realizado no GeneXpert Instrument Systems.

As amostras recolhidas para soro fisiológico não devem ser congeladas. Consulte as diretrizes da OMS: WHO Laboratory Biosafety Guidance Related to the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19))

12.1 Procedimento de colheita de amostra de zaragatoa nasofaríngea

1. Insira a zaragatoa em qualquer uma das narinas, passando-a até à nasofaringe posterior (ver Figura 1).

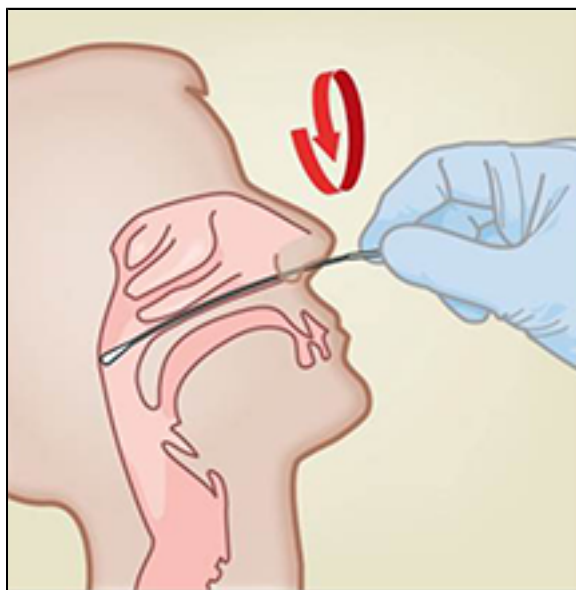


Figura 1. Colheita de amostra de zaragatoa nasofaríngea

2. Rode a zaragatoa, esfregando a nasofaringe várias vezes, com firmeza.
3. Retire a zaragatoa e coloque-a no tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT.
4. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de colheita de amostra.

12.2 Procedimento de colheita com zaragatoa nasal

1. Insira uma zaragatoa nasal 1 cm a 1,5 cm numa narina. Rode a zaragatoa no interior da narina durante três (3) segundos enquanto aplica pressão com um dedo no exterior da narina (ver Figura 2).



Figura 2. Colheita com zaragatoa nasal para a primeira narina

2. Repita na outra narina com a mesma zaragatoa, aplicando pressão externa no exterior da outra narina (ver Figura 3). Para evitar a contaminação da amostra, não toque com a ponta da zaragatoa em qualquer outro local além da parte de dentro da narina.

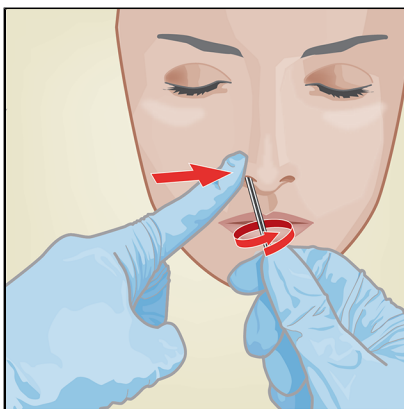


Figura 3. Colheita com zaragatoa nasal para a segunda narina

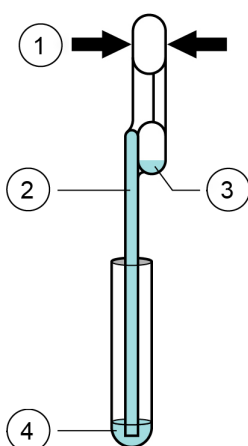
3. Retire a zaragatoa e coloque-a no tubo contendo 3 ml de meio de transporte viral, 3 ml de soro fisiológico ou 2 ml de eNAT. Parta a zaragatoa pela linha de quebra indicada e tape bem o tubo de colheita de amostra.

13 Procedimento

13.1 Preparação do cartucho

Importante Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

1. Retire um cartucho da embalagem.
2. Verifique se o tubo de transporte da amostra está fechado.
3. Homogeneíze a amostra, invertendo rapidamente o tubo de transporte da amostra 5 vezes. Abra a tampa do tubo de transporte da amostra.
4. Abra a tampa do cartucho.
5. Retire a pipeta de transferência do invólucro.
6. Aperte o bolbo superior da pipeta de transferência **completamente até o bolbo superior ficar totalmente plano**. Continuando a manter o bolbo totalmente plano, coloque a ponta da pipeta no tubo de transporte da amostra (ver Figura 4).



Número	Descrição
1	Aperte aqui
2	Pipeta
3	Bolbo do reservatório de extravasamento
4	Amostra

Figura 4. Pipeta de transferência

7. Mantendo a pipeta abaixo da superfície do líquido, solte lentamente o bolbo superior da pipeta para encher a pipeta com a amostra antes de a retirar do tubo. Não há problema se o líquido entrar no reservatório de extravasamento (ver Figura 4). Certifique-se de que a pipeta não contém bolhas.

8. Para transferir a amostra para o cartucho, volte a apertar completamente o bolbo superior da pipeta até que esteja totalmente plano, para esvaziar o conteúdo da pipeta (300 µl) para dentro da abertura grande (câmara da amostra) do cartucho ilustrado na Figura 5. Pode permanecer algum líquido no reservatório de extravasamento. Descarte a pipeta usada.



Figura 5. Cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* (vista de cima)

Nota Tenha o cuidado de dispensar todo o volume de líquido na câmara da amostra. Podem ocorrer resultados falsos negativos se for adicionado um volume de amostra insuficiente ao cartucho.

9. Feche a tampa do cartucho.

13.2 Controlos externos

Os controlos externos descritos na Secção 9 estão disponíveis, mas não são fornecidos e devem ser utilizados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, consoante aplicável.

Para executar um controlo utilizando o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*, execute os seguintes passos:

1. Misture o controlo invertendo rapidamente cinco vezes o tubo de controlo externo. Abra a tampa do tubo de controlo externo.
2. Abra a tampa do cartucho.
3. Utilizando uma pipeta de transferência limpa, transfira uma carga da amostra de controlo externo (300 µl) para a grande abertura do cartucho, mostrada em Figura 5.
4. Feche a tampa do cartucho.

13.3 Iniciar o teste

Nota Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema contém módulos com a versão 4.7b ou posterior do software GeneXpert Dx ou com a versão 6.4b ou posterior do software Infinity Xpertise, e que o ficheiro de definição do ensaio (ADF) do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi importado para o software.

Esta secção enumera os passos predefinidos para utilizar o GeneXpert Instrument System. Para obter instruções detalhadas, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*, 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 GeneXpert Instrument System:

- **GeneXpert Dx:**

Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. Inicie sessão no sistema operativo Windows. O software GeneXpert poderá iniciar-se automaticamente ou poderá ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.

ou

- **GeneXpert Infinity System:**

Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ligue o instrumento rodando o interruptor de alimentação no sentido dos ponteiros do relógio para a posição **LIGADA**. No ambiente de trabalho do Windows, clique duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise para iniciar o software.

2. Inicie sessão no software do sistema. É apresentado o ecrã de início de sessão. Introduza o seu nome de utilizador e a sua palavra-passe.
3. Na janela do GeneXpert System, clique em **Create Test** (Criar teste) (GeneXpert Dx) ou em **Orders** (Pedidos), seguido de **Order Test** (Pedir teste) (Infinity).
4. Leia ou introduza a Patient ID (ID do paciente) (opcional). Se introduzir a Patient ID (ID do paciente), certifique-se de que introduz a ID do paciente correta. A Patient ID (ID do paciente) é apresentada no lado esquerdo da janela View Results (Ver resultados) e está associada ao resultado do teste.
5. Leia ou introduza a Sample ID (ID da amostra). Se introduzir a Sample ID (ID da amostra), certifique-se de que introduz a ID da amostra correta. A Sample ID (ID da amostra) é apresentada no lado esquerdo da janela View Results (Ver resultados) e está associada ao resultado do teste.
6. Leia o código de barras no cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Reagent Lot ID (ID do lote de reagente), Cartridge SN (N/S do cartucho), Expiration Date (Prazo de validade) e Selected Assay (Ensaio selecionado).

Nota Se o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho.

7. Clique em **Start Test** (Iniciar teste) (GeneXpert Dx) ou em **Submit** (Enviar) (Infinity) se a opção Auto-Submit (Envio automático) não estiver ativada. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece, caso seja necessário.

Para o GeneXpert Dx Instrument:

- a. Localize o módulo com a luz verde intermitente, abra a porta do módulo do instrumento e carregue o cartucho.
- b. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste estiver concluído, a luz apaga-se e a porta destranca-se. Remova o cartucho.
- c. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

ou

Para o GeneXpert Infinity System:

- a. Depois de clicar em **Submit** (Enviar), ser-lhe-á pedido que coloque o cartucho no tapete rolante. Depois de colocar o cartucho, clique em OK (OK) para continuar. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos para eliminação.
- b. Quando todas as amostras estiverem carregadas, clique no ícone **End Order Test** (Terminar pedido de teste).

Nota Não desligue nem retire a ficha da tomada dos instrumentos enquanto estiver a decorrer um teste. Se desligar ou retirar a ficha da tomada do instrumento GeneXpert ou do computador, o teste será interrompido.

14 Visualização e impressão de resultados

Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

15 Controlo de qualidade

15.1 Controlos internos

Cada cartucho 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 (SPC) — Garante que a amostra foi processada corretamente. O SPC verifica se o processamento das amostras é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do teste de PCR em tempo real associada à amostra, assegura que as condições da reação PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes da PCR estão funcionais. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.

Controlo de verificação da sonda (PCC) — Antes do início da reação PCR, o sistema GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação das esferas, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se cumprir os critérios de aceitação validados.

15.2 Controlos externos

Devem utilizar-se controlos externos de acordo com as organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

16 Interpretação dos Resultados

Os resultados são interpretados automaticamente pelo GeneXpert System e são apresentados de forma clara na janela **View Results** (Ver resultados). O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus fornece resultados de teste com base na deteção dos respetivos alvos genéticos de acordo com os algoritmos.

O formato dos resultados de testes apresentados varia consoante a escolha do utilizador de executar um teste Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus, Xpress SARS-CoV-2_Flu plus ou Xpress SARS-CoV-2_plus.

Tabela 1 apresenta os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus se encontra selecionado.

Tabela 1. Resultados possíveis e interpretação do Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus

Resultado	Interpretação
SARS-CoV-2 POSITIVE (POSITIVO para SARS-CoV-2)	É detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2. - O sinal de SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo do SARS-CoV-2 - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
Flu A POSITIVE (POSITIVO para gripe A)	É detetado o ARN alvo da gripe A. - O sinal de gripe A para o alvo de ARN da gripe A1 ou para o alvo de ARN da gripe A2 ou os sinais para ambos os alvos de ARN têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição do limiar - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo da gripe A - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
Flu B POSITIVE (POSITIVO para gripe B)	É detetado o ARN alvo da gripe B. - O sinal de gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo da gripe B - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados

Resultado	Interpretação
RSV POSITIVE (POSITIVO para VSR)	É detetado o ARN alvo do VSR. - O sinal de VSR tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo do VSR - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
SARS-CoV-2 NEGATIVE (NEGATIVO para SARS-CoV-2); Flu A NEGATIVE (NEGATIVO para gripe A); Flu B NEGATIVE (NEGATIVO para gripe B); RSV NEGATIVE (NEGATIVO para VSR)	Não é detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2; não é detetado o ARN alvo da gripe A; não é detetado o ARN alvo da gripe B; não é detetado o ARN alvo do VSR. - Não são detetados os ARN alvo do SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e VSR - SPC: PASS (APROVADO); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
INVALID (INVÁLIDO)	O SPC ou outras definições de análise não cumprem os critérios de aceitação e os alvos não são detetados. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. - SPC: FAIL (FALHOU); o SPC e os sinais de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e VSR não têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima - Falha na especificação da amplificação do SARS-CoV-2 - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
ERROR (ERRO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e VSR. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. - SARS-CoV-2: NO RESULT (SEM RESULTADO) - Gripe A: NO RESULT (SEM RESULTADO) - Gripe B: NO RESULT (SEM RESULTADO) - VSR: NO RESULT (SEM RESULTADO) - SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) - Verificação da sonda: FAIL (FALHOU)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam ¹Se a verificação da sonda tiver sido aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável, porque nenhuma amostra foi adicionada ou porque houve falha de um componente do sistema.

Resultado	Interpretação
NO RESULT (SEM RESULTADO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e VSR. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que não foram recolhidos dados suficientes. Por exemplo, o operador interrompeu um teste que estava a decorrer. • SARS-CoV-2: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe A: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe B: NO RESULT (SEM RESULTADO) • VSR: NO RESULT (SEM RESULTADO) • SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Verificação da sonda: NA (NÃO APLICÁVEL)

Se o SPC for negativo e os resultados de qualquer um dos alvos forem positivos, os resultados de todos os alvos são considerados válidos.

Se apenas um alvo viral for positivo, mas houver suspeita de coinfeção com vários alvos, a amostra deve ser novamente testada com outro teste com marcação CE, se a coinfeção alterar o tratamento clínico.

Tabela 2 apresenta os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_Flu plus se encontra seleccionado.

Tabela 2. Resultados possíveis e interpretação do Xpress SARS-CoV-2_Flu plus

Resultado	Interpretação
SARS-CoV-2 POSITIVE (POSITIVO para SARS-CoV-2)	É detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2. - O sinal de SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo do SARS-CoV-2 - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
Flu A POSITIVE (POSITIVO para gripe A)	É detetado o ARN alvo da gripe A. - O sinal de gripe A para o alvo de ARN da gripe A1 ou para o alvo de ARN da gripe A2 ou os sinais para ambos os alvos de ARN têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição do limiar - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo da gripe A - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
Flu B POSITIVE (POSITIVO para gripe B)	É detetado o ARN alvo da gripe B. - O sinal de gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo da gripe B - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
SARS-CoV-2 NEGATIVE (NEGATIVO para SARS-CoV-2); Flu A NEGATIVE (NEGATIVO para gripe A); Flu B NEGATIVE (NEGATIVO para gripe B)	Não é detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2; não é detetado o ARN alvo da gripe A; não é detetado o ARN alvo da gripe B. - Não são detetados os ARN alvo do SARS-CoV-2, gripe A e gripe B - SPC: PASS (APROVADO); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
INVALID (INVÁLIDO)	O SPC ou outras definições de análise não cumprem os critérios de aceitação e os alvos não são detetados. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. - SPC: FAIL (FALHOU); o SPC e os sinais de SARS-CoV-2, gripe A e gripe B não têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima - Falha na especificação da amplificação do SARS-CoV-2 - Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados

Resultado	Interpretação
ERROR (ERRO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2, gripe A e gripe B. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. • SARS-CoV-2: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe A: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe B: NO RESULT (SEM RESULTADO) • SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Verificação da sonda: FAIL (FALHOU)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam ¹ Se a verificação da sonda tiver sido aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável, porque nenhuma amostra foi adicionada ou porque houve falha de um componente do sistema.
NO RESULT (SEM RESULTADO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2, gripe A e gripe B. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que não foram recolhidos dados suficientes. Por exemplo, o operador interrompeu um teste que estava a decorrer. • SARS-CoV-2: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe A: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Gripe B: NO RESULT (SEM RESULTADO) • SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Verificação da sonda: NA (NÃO APLICÁVEL)

Se o SPC for negativo e os resultados de qualquer um dos alvos forem positivos, os resultados de todos os alvos são considerados válidos.

Se apenas um alvo viral for positivo, mas houver suspeita de coinfeção com vários alvos, a amostra deve ser novamente testada com outro teste com marcação CE, se a coinfeção alterar o tratamento clínico.

Tabela 3 apresenta os resultados possíveis quando o modo de teste Xpress SARS-CoV-2_plus se encontra seleccionado.

Tabela 3. Resultados possíveis e interpretação do Xpress SARS-CoV-2_plus

Resultado	Interpretação
SARS-CoV-2 POSITIVE (POSITIVO para SARS-CoV-2)	É detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2. • O sinal de SARS-CoV-2 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima • SPC: NA (NÃO APLICÁVEL); o SPC é ignorado, dado que ocorreu amplificação do alvo do SARS-CoV-2 • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
SARS-CoV-2 NEGATIVE (NEGATIVO para SARS-CoV-2)	Não é detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2. • Não é detetado o ARN alvo do SARS-CoV-2 • SPC: PASS (APROVADO); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados

Resultado	Interpretação
INVALID (INVÁLIDO)	O SPC ou outras definições de análise não cumprem os critérios de aceitação e o SARS-CoV-2 não é detetado. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. • SPC: FAIL (FALHOU); o SPC e os sinais de SARS-CoV-2 não têm um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima • Falha na especificação da amplificação do SARS-CoV-2 • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados
ERROR (ERRO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. • SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Verificação da sonda: FAIL (FALHOU)¹; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam ¹ Se a verificação da sonda tiver sido aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável, porque nenhuma amostra foi adicionada ou porque houve falha de um componente do sistema.
NO RESULT (SEM RESULTADO)	Não é possível determinar a presença ou ausência de ARN do SARS-CoV-2. Repita o teste de acordo com o Procedimento de repetição do teste descrito na Secção 17.2 das instruções de utilização. NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que não foram recolhidos dados suficientes. Por exemplo, o operador interrompeu um teste que estava a decorrer. • SARS-CoV-2: NO RESULT (SEM RESULTADO) • SPC: NO RESULT (SEM RESULTADO) • Verificação da sonda: NA (NÃO APLICÁVEL)

O teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus pode ser executado para detetar SARS-CoV-2, gripe e VSR ao seleccionar **Xpress SARS-CoV-2_Flu_RSV plus** no menu **Select Test** (Selecionar teste); para detetar apenas SARS-CoV-2 e gripe ao seleccionar **Xpress SARS-CoV-2_Flu plus**; ou para detetar apenas SARS-CoV-2 ao seleccionar **Xpress SARS-CoV-2_plus**. O modo de teste Xpress SARS-CoV-2_plus inclui uma função de conclusão antecipada do ensaio (Early Assay Termination, EAT), que permite a apresentação precoce do resultado em amostras de titulação elevada se o sinal do alvo do SARS-CoV-2 alcançar um limiar predeterminado antes de terem sido concluídos os 45 ciclos completos de PCR. Quando as titulações de SARS-CoV-2 forem suficientemente elevadas para iniciar a função de EAT, poderão não ser visualizadas as curvas de amplificação de SPC, e os seus resultados podem não ser apresentados.

17 Repetição de um teste

17.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados a seguir, repita o teste uma vez de acordo com as instruções na Secção 17.2.

- Um resultado **INVALID** (INVÁLIDO) indica que o controlo SPC falhou. A amostra não foi adequadamente processada, a PCR está inibida ou a amostra não foi adequadamente colhida. É ainda possível que não tenham sido respeitadas outras definições de análise do teste destinadas a produzir um resultado válido.
- Se o resultado for **ERROR** (ERRO), pode dever-se, entre outros motivos, a uma falha do controlo de verificação da sonda (PCC), a uma falha de um componente do sistema, à não adição de qualquer amostra ou ao facto de os limites máximos de pressão terem sido excedidos.
- **NO RESULT** (SEM RESULTADO) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o cartucho falhou no teste de integridade, o operador parou um teste que estava em curso ou ocorreu uma falha da energia elétrica.
- Uma vez que a incidência de coinfeção com três ou mais vírus (vírus da Gripe A, vírus da Gripe B, RSV e SARS-CoV-2) é baixa, recomenda-se que as amostras sejam submetidas a testes repetidos, se forem detetados ácidos nucleicos de três ou mais vírus numa única amostra.

Se um controlo externo não funcionar como esperado, repita o teste de controlo externo e/ou contacte a assistência técnica da Cepheid.

17.2 Procedimento de repetição do teste

Para testar novamente um resultado não determinado (**INVÁLIDO**, **SEM RESULTADO** ou **ERRO**), utilize um novo cartucho.

Use a amostra restante no tubo original de transporte da amostra ou de um novo tubo de controlo externo.

1. Coloque um par de luvas limpas. Obtenha um novo cartucho Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* e uma nova pipeta de transferência.
2. Verifique se o tubo de transporte da amostra ou o tubo de controlo externo estão fechados.
3. Homogeneíze a amostra, invertendo rapidamente o tubo de transporte da amostra ou o tubo de controlo externo 5 vezes. Abra a tampa do tubo de transporte da amostra ou do tubo de controlo externo.
4. Abra a tampa do cartucho.
5. Utilizando uma pipeta de transferência limpa (fornecida), transfira a amostra (uma aspiração) para a câmara da amostra (com a abertura grande) do cartucho.
6. Feche a tampa do cartucho.

18 Limitações

- O desempenho do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* só foi estabelecido em amostras de zaragatoa nasofaríngea e de zaragatoa nasal anterior. A utilização do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* com outros tipos de amostra não foi avaliada e as características do desempenho são desconhecidas.
- O desempenho deste teste foi estabelecido com base na avaliação de um número limitado de amostras clínicas. O desempenho clínico não foi estabelecido em todas as variantes em circulação, mas espera-se que seja o reflexo das variantes prevalentes em circulação no momento e na localização da avaliação clínica. O desempenho no momento do teste pode variar consoante as variantes em circulação, incluindo as novas estirpes emergentes do SARS-CoV-2 e a sua prevalência, que se altera com o tempo.
- O desempenho deste dispositivo não foi avaliado numa população vacinada contra a COVID-19.
- Tal como acontece com qualquer teste molecular, as mutações nas regiões-alvo do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* podem afetar a ligação do iniciador e/ou da sonda, resultando na incapacidade de detetar a presença do vírus ou numa deteção menos previsível do vírus.
- Em algumas amostras com concentrações virais de SARS-CoV-2 muito elevadas, as definições de análise destinadas a reduzir os riscos de resultados falsos positivos causados por deteção de fluorescência não específica ou irregular podem levar a um resultado **INVALID** (INVÁLIDO) do teste.
- Este teste não pode excluir doenças causadas por outros agentes patogénicos bacterianos ou virais.
- O desempenho deste teste foi validado utilizando apenas os procedimentos fornecidos neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Podem ocorrer resultados de teste incorretos devido a uma colheita de amostras inadequada; incumprimento dos procedimentos recomendados para a colheita, manuseamento e conservação de amostras; erro técnico; ou troca de amostras. Para se evitar resultados incorretos, é necessária uma rigorosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Podem ocorrer resultados falsos negativos se o vírus estiver presente em níveis inferiores ao limite de deteção analítico.
- Os resultados negativos não excluem a infeção por SARS-CoV-2, vírus influenza ou RSV e não devem ser utilizados como única base para o tratamento ou outras decisões sobre o tratamento dos doentes.

- Os resultados do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* devem ser correlacionados com o historial clínico, os dados epidemiológicos e outros dados disponíveis para o médico que avalia o doente.
- O ácido nucleico viral pode persistir *in vivo*, independentemente da infeciosidade do vírus. A deteção do alvo do analito não implica que o vírus correspondente seja infeccioso ou seja o agente causador dos sintomas clínicos.
- Este teste foi avaliado para uso apenas com material de espécimes humanos.
- Este teste é um teste qualitativo e não fornece o valor quantitativo do organismo detetado.
- Este teste não foi avaliado em doentes sem sinais e sintomas de infeção do trato respiratório.
- Este teste não foi avaliado quanto à monitorização do tratamento da infeção.
- Este teste não foi avaliado quanto a análises ao sangue ou a hemoderivados relativamente à presença de SARS-CoV-2, vírus influenza ou RSV.
- O efeito de substâncias interferentes foi avaliado apenas para as substâncias listadas na rotulagem. A interferência por substâncias diferentes das descritas pode levar a resultados incorretos.
- Os resultados de estudos analíticos com amostras coinfectadas simuladas mostraram potencial para interferência competitiva do vírus da Gripe B ou RSV A a baixas concentrações (~3X o LoD) quando a concentração do vírus da Gripe A é $>1,7 \times 10^5$ cópias de ARN/ml ou $1,7 \times 10^6$ cópias de ARN/ml, respetivamente. Além disso, existe potencial para interferência competitiva do vírus da Gripe B a baixa concentração (~3X o LoD) quando a concentração de SARS-CoV-2 é $>1 \times 10^5$ cópias de ARN/ml.
- A reatividade cruzada com organismos do trato respiratório diferentes dos descritos aqui pode levar a resultados incorretos.
- A exposição recente do doente à FluMist® ou a outras vacinas vivas atenuadas contra a gripe pode levar a resultados positivos imprecisos.
- O Zicam a 15% (p/v) pode interferir com a deteção de níveis baixos de vírus da Gripe B e RSV A.
- Uma vez que o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* não diferencia os alvos dos genes N2, RdRP e E, a presença de outros coronavírus da linhagem B, do género *Betacoronavirus*, incluindo o SARS-CoV, pode causar um resultado falso positivo. Tanto quanto se sabe, nenhum destes outros coronavírus está atualmente em circulação na população humana.
- Este teste não se destina a diferenciar subgrupos do RSV, subtipos do vírus da Gripe A ou linhagens do vírus da Gripe B. Se for necessária a diferenciação de subtipos e estirpes específicas do RSV ou da gripe, são necessários testes adicionais, em consulta com as entidades de saúde pública nacionais ou locais.
- O desempenho não foi estabelecido com outros meios além de eNAT contendo tiocianato de guanidina (GTC).

19 Características do Desempenho

19.1 Avaliação clínica

O desempenho do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi avaliado utilizando amostras clínicas de arquivo obtidas por zaragatoa nasofaríngea (NP) e nasal (NS) em meio de transporte viral ou meio de transporte universal. Foram selecionadas amostras arquivadas consecutivamente por data e por resultado de analito previamente conhecido. Um total de 279 amostras obtidas por zaragatoa nasofaríngea (NP) e 239 por zaragatoa nasal (NS) foram testadas com Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*, lado a lado com um teste de RT-PCR para SARS-CoV-2 com a marcação CE e um teste influenza/VSR RT-PCR com a marcação CE, em modo cego e aleatorizado.

A concordância percentual positiva (PPA), a concordância percentual negativa (NPA) e a taxa de não determinados foram determinadas comparando os resultados do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* relativamente aos resultados de um teste RT-PCR de SARS-CoV-2 com marcação CE para o alvo SARS-CoV-2 e de um teste RT-PCR com marcação CE para os alvos da gripe A, gripe B e vírus sincicial respiratório, respetivamente.

Para amostras nasofaríngeas obtidas por zaragatoa, o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* demonstrou uma PPA e NPA de 100,0% e 100,0% para SARS-CoV-2, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe A, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe B, respetivamente, e 100,0% e 100,0% para o vírus sincicial respiratório, respetivamente (Tabela 4). A taxa inicial de indeterminados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi de 0,7% (2/279). Na repetição dos testes, ambas (2) as amostras apresentaram resultados válidos. A taxa final de não determinados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi de 0,0% (0/279).

Tabela 4. Resultados do desempenho de Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* utilizando amostras nasofaríngeas obtidas por zaragatoa

Alvo	Número de amostras	VP	FP	VN	FN	CCP (IC de 95%)	CNP (IC de 95%)
SARS-CoV-2	279	66	0	213	0	100,0% (94,5%-100,0%)	100,0% (98,2%-100,0%)
Gripe A	264	51	0	213	0	100,0% (93,0%-100,0%)	100,0% (98,2%-100,0%)
Gripe B	264	46	0	218	0	100,0% (92,3%-100,0%)	100,0% (98,3%-100,0%)
Vírus sincicial respiratório	264	47	0	217	0	100,0% (92,4%-100,0%)	100,0% (98,3%-100,0%)
VP: Verdadeiro positivo; FP: Falso positivo; VN: Verdadeiro negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervalo de confiança							

Para as amostras nasais obtidas por zaragatoa, o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* demonstrou uma PPA e NPA de 100,0% e 100,0% para o SARS-CoV-2, respetivamente; 100,0% e 99,5% para a gripe A, respetivamente; 100,0% e 100,0% para a gripe B, respetivamente, e 100,0% e 100,0% para o vírus sincicial respiratório, respetivamente (Tabela 5). A taxa inicial de indeterminados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi de 1,3% (3/240). Duas (2) das três (3) amostras produziram resultados válidos após a repetição do teste. Uma amostra não foi novamente testada devido ao volume insuficiente. A taxa final de não determinados para o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi de 0,4% (1/240).

Tabela 5. Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* Resultados do desempenho utilizando amostras de zaragatoas nasais (NS)

Alvo	Número de amostras	VP	FP	VN	FN	CCP (IC de 95%)	CNP (IC de 95%)
SARS-CoV-2	239	47	0	192	0	100,0% (92,4%-100,0%)	100,0% (98,0%-100,0%)
Gripe A	239	48	1	191	0	100,0% (92,6%-100,0%)	99,5% (97,1%-99,9%)
Gripe B	239	48	0	191	0	100,0% (92,6%-100,0%)	100,0% (98,0%-100,0%)
Vírus sincicial respiratório	239	47	0	192	0	100,0% (92,4%-100,0%)	100,0% (98,0%-100,0%)
VP: Verdadeiro positivo; FP: Falso positivo; VN: Verdadeiro negativo; FN: Falso negativo; IC: Intervalo de confiança							

19.2 Sensibilidade analítica (limite de deteção)

A sensibilidade analítica do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus* foi primeiro estimada utilizando dois lotes de reagentes, testando diluições limitativas de sete vírus respiratórios (NATrol SARS-CoV-2, Gripe A H1, Gripe A H3, Gripe B linhagem Victoria, Gripe B linhagem Yamagata, RSV A e RSV B) em matrizes de zaragatoas NP agrupadas clínicas negativas, seguindo as orientações do documento EP17-A2 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Os valores estimados do LoD, conforme determinados pela análise de regressão Probit, foram verificados utilizando dois lotes de reagentes do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV *plus*. Os valores do LoD verificados para os vírus testados estão resumidos na Tabela 6.

Tabela 6. Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

Vírus/estirpe	Concentração do LoD
SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	138 cópias/ml
Gripe A/Idaho/07/2018	0,007 TCID ₅₀ /ml
Gripe A/Hong Kong/45/2019	0,44 FFU/ml
Gripe B/Washington/2/2019	12,9 CEID ₅₀ /ml
Gripe B/Wisconsin/10/2016	2,4 TCID ₅₀ /ml
RSV A/2/Austrália/61	0,33 TCID ₅₀ /ml
RSV B/9320/MA/77	0,37 TCID ₅₀ /ml

19.3 Reatividade analítica (inclusividade)

A inclusividade de Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada a 27 de setembro de 2021, utilizando a análise *in silico* dos amplicões do teste em relação a 2 685 478 sequências de SARS-CoV-2 disponíveis na base de dados genética GISAID para três alvos: E, N2 e RdRP.

Para a análise do alvo E, foram excluídas 3 818 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total para 2 681 660 sequências. Das 2 681 660 sequências GISAID, 2 667 594 (99,48%) eram uma correspondência exata ao amplicão do alvo E do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Foram observadas discordâncias de um nucleótido em 13 990 sequências e discordâncias de dois ou mais nucleótidos em 76 sequências. Das 76 sequências apresentando duas ou mais discordâncias, 43 delas continham 2 ou 3 discordâncias na região do primer direto; uma sequência continha 3 discordâncias na região primer reversa; e uma das sequências continha 2 discordâncias na região do primer direto e 2 discordâncias no primer reverso. Estas discordâncias duplas e triplas poderiam ter um impacto negativo no desempenho do teste.

Para a análise do alvo N2, foram excluídas 4 110 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total utilizado na avaliação para 2 681 368 sequências. Das 2 681 368 sequências GISAID, 2 608 487 (97,3%) eram uma correspondência exata com o amplicão do alvo N2 do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Em 70 212 sequências, foram observadas discordâncias de um nucleótido. Em 2 669 sequências, foram observadas duas ou três discordâncias. Das 31 sequências com três posições variantes, 5 sequências têm dois dos nucleótidos discordantes na região da sonda, e 5 sequências têm dois dos nucleótidos discordantes na região do primer reverso. Estas discordâncias duplas poderiam ter impacto na ligação da sonda ou do primer reverso. Não se prevê que alguma das outras discordâncias tenha um impacto negativo no desempenho do teste.

O RdRP é amplificado utilizando um conjunto de primer/sonda “semi-nested”; apenas o amplicão interior é utilizado para a análise *in silico*. Para análise do alvo RdRP, foram excluídas 1374 sequências devido a nucleótidos ambíguos, o que reduziu o total para 2 684 104 sequências. Das 2 684 104 sequências GISAID, 2 657 136 (99,0%) eram uma correspondência exata com o amplicão do alvo RdRP do SARS-CoV-2 gerado pelo teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Foram observadas discordâncias de um nucleótido em 26 864 sequências, e discordâncias de dois ou mais nucleótidos em 77 sequências. Duas sequências apresentam 5 discordâncias, três situadas na região da sonda e duas na região do primer reverso; 20 sequências apresentam discordâncias de dois nucleótidos na região do primer direto ou da sonda. Estas discordâncias poderiam ter impacto na ligação da sonda ou do primer reverso. Não se prevê que alguma das outras discordâncias tenha um impacto negativo no desempenho do teste.

Além da análise *in silico* dos primers e sondas do SARS-CoV-2 quanto à inclusividade, a inclusividade do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada por testes práticos contra várias estirpes do SARS-CoV-2, vírus da gripe A H1N1 (sazonal antes de 2009), gripe A H1N1 (pandemia em 2009), gripe A H3N2 (sazonal), gripe A aviário (H5N1, H5N2, H6N2, H7N2, H7N3, H2N2, H7N9 e H9N2), gripe B (representando estirpes das linhagens Victoria e Yamagata) e subgrupos A e B do vírus sincicial respiratório (vírus sincicial respiratório A e vírus sincicial respiratório B), em níveis próximos do LoD analítico. Neste estudo, foi testado com o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus um total de 84 estirpes compostas por 5 estirpes do vírus SARS-CoV-2, 4 transcritos de ARN *in vitro* do vírus SARS-CoV-2 representativos de estirpes variantes, 69 estirpes do vírus influenza (48 da gripe A e 21 da gripe B) e 6 estirpes do vírus sincicial respiratório (4 vírus sincicial respiratório A e 2 vírus sincicial respiratório B). Foram testadas três réplicas para cada estirpe. Todas as estirpes de SARS-CoV-2, vírus da gripe e vírus sincicial respiratório testaram positivo nas três réplicas. Os resultados são apresentados em Tabela 7.

Tabela 7. Reatividade analítica (inclusividade) do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

Vírus	Estirpe	Título testado	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VSR
SARS-CoV-2	NATtrol SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	412 cópias/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/Hong Kong/VM20001061/2020	0,5 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/Italy-INMI1	4 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/South_Africa/KRISP-K005325/2020	0,2 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2/England/204820464/2020	0,5 TCID ₅₀ /ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2 RNA USA/WA2/2020(C09) ^a	100 cópias/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2RNA/England/205041766/2020(C14) ^a	100 cópias/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2 RNA /England/MILK-9E05B3/2020 (C15) ^a	200 cópias/ml	POS	NEG	NEG	NEG
	SARS-CoV-2 RNA /Japan (Brazil)/IC-0564/2021 (C17) ^a	100 cópias/ml	POS	NEG	NEG	NEG
Influenza A H1N1 (pré-2009)	A/swine/Iowa/15/30	30 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/WS/33	5,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/PR/8/34	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Mal/302/54	0,156 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Denver/1/57	10 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New Jersey/8/76	5,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New Caledonia/20/1999	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/New York/55/2004	30 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Solomon Island/3/2006	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Taiwan/42/06	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Brisbane/59/2007	0,060 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Swine/NY/02/2009	20 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza A H1N1 (pand. 2009)	A/Colorado/14/2012	0,13 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Michigan/45/2015	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Iowa/53/2015	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Michigan/272/2017	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Idaho/07/2018	0,0159 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/505/2018	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Havai/66/2019	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG

Vírus	Estirpe	Título testado	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VSR
	A/Indiana/02/2020	NA ^b	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza A H3N2 (sazonal)	A/Aichi/2/68	2,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hong Kong/8/68	2,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Port Chalmers/1/73	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hawaii/15/2001	100 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/67/05 ^c	0,22 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Brisbane/10/2007	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Minnesota/11/2010	30 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Indiana/08/2011	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Texas/50/2012	0,050 TCID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Alaska/232/2015	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	20 CEID ₅₀ /ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Texas/71/2017	1,0 UFF/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Kansas/14/2017	1,0 UFF/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Wisconsin/04/2018	1,0 UFF/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Arizona/45/2018	2,0 UFF/ml	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Hong Kong/45/2019	2,0 UFF/ml	NEG	POS	NEG	NEG
Influenza A aviária ^d	A/Mallard/NY/6750/78 (H2N2)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/duck/Hunan/795/2002 (H5N1)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/01/2005 (H5N1)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Japanese white eye/Hong Kong/1038/2006 (H5N1)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/mallard/WI/34/75 (H5N2)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/chicken/CA431/00 (H6N2)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/duck/LTC-10-82743 (H7N2)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/chicken/New Jersey/15086/3 (H7N3)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	0,612 ng/μl	NEG	POS	NEG	NEG
	A/Shanghai/1/2013 (H7N9)	NA ^e	NEG	POS	NEG	NEG
	A/chicken/Korea/38349-p96323/1996 (H9N2)	< 1 pg/μl	NEG	POS	NEG	NEG
Gripe B	B/Lee/40	1,0 UFP/ml	NEG	NEG	POS	NEG

Vírus	Estirpe	Título testado	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	VSR
	B/Allen/45	0,25 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/GL/1739/54	0,50 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Maryland/1/59	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Taiwan/2/62	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Hong Kong/5/72	1,0 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
Influenza B Victoria Lineage	B/Panama/45/90	1,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Malásia/2506/04	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Flórida/02/06	0,025 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Brisbane/60/2008	0,05 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Maryland/15/2016	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Colorado/6/2017	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Hawaii/01/2018	8,0 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Missouri/12/2018(NA D197E)	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Washington/02/2019	60 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
Influenza B Yamagata Lineage	B/Florida/07/2004	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Flórida/04/06	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Wisconsin/01/2010	0,50 CEID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Wisconsin/10/2016	20 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Indiana/17/2017	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
	B/Oklahoma/10/2018	10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	POS	NEG
VSR A	VSR-A/NY	0,386 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	VSR-A/WI-629.8.2/2007	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	VSR-A/WI/629-11-1_2008	0,50 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	Vírus sincicial respiratório-A, estirpe: 4/2015 Isolado n.º 1	0,25 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
VSR B	VSR-B/WV14617/85	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS
	VSR-B-CH93(18)-18-01	0,10 TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG	NEG	POS

a Transcritos de ARN *in vitro*

b O vírus A/Indiana/02/2020 não tinha titulação e foi diluído 100 000 vezes numa matriz de fundo simulada para ser testado.

c Uma das três réplicas apresentou um resultado de ERRO. A execução foi repetida com êxito para obter três réplicas válidas.

d Foi utilizado ARN viral purificado numa matriz de fundo simulada para os vírus da gripe A aviária, devido a regulamentos de biossegurança.

e Os vírus da gripe A aviária (H7N9) inativados sem titulação viral foram diluídos 100 000 vezes numa matriz de fundo simulada e testados, devido a regulamentos de biossegurança.

19.4 Especificidade analítica (exclusividade)

Realizou-se uma análise *in silico* para detetar possíveis reações cruzadas com todos os organismos enumerados na Tabela 8, mapeando os iniciadores e as sondas do SARS-CoV-2 individualmente no teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus com as sequências transferidas da base de dados GISAID. Os iniciadores e as sondas E não são específicos para o SARS-CoV-2 e detetam o coronavírus da SARS humano e de morcego. Com base na análise *in silico*, não se prevê qualquer potencial reatividade cruzada não intencional com outros organismos enumerados na Tabela 8.

Tabela 8. Microrganismos analisados na análise *in silico* para o alvo SARS-CoV-2

Microrganismos da mesma família genética	Organismos de alta prioridade
Coronavírus humano 229E	Adenovírus (por exemplo, C1 Ad). 71)
Coronavírus humano OC43	Metapneumovírus humano (hMPV)
Coronavírus humano HKU1	Vírus parainfluenza 1-4
Coronavírus humano NL63	Gripe A
Coronavírus da SARS	Gripe B
Coronavírus da MERS	Gripe C
Coronavírus do morcego	Enterovírus (por exemplo, EV68)
	Vírus sincicial respiratório
	Rinovírus
	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
	<i>Haemophilus influenzae</i>
	<i>Legionella pneumophila</i>
	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Bordetella pertussis</i>
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)
	<i>Parechovirus</i>
	<i>Candida albicans</i>
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
	<i>Legionella não-pneumophila</i>
	<i>Bacillus anthracis</i> (Antraz)
	<i>Moraxella catarrhalis</i>
	<i>Neisseria elongata</i> e <i>N. meningitidis</i>
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
	<i>Streptococcus salivarius</i>
	<i>Leptospira</i>
	<i>Chlamydia psittaci</i>
	<i>Coxiella burnetii</i> (febre Q)

Microrganismos da mesma família genética	Organismos de alta prioridade
	<i>Staphylococcus aureus</i>

Para além da análise *in silico* dos iniciadores e sondas do SARS-CoV-2 quanto à reatividade cruzada, a especificidade analítica do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi avaliada através de testes de bancada a um painel de 48 microrganismos, incluindo 4 coronavírus humanos, 1 coronavírus da MERS e 43 agentes patogénicos respiratórios comuns ou potencialmente encontrados na nasofaringe. O painel foi testado em diferentes conjuntos de microrganismos; se um conjunto produzisse um resultado positivo, então cada membro do conjunto era testado individualmente. Foram testadas três réplicas de cada conjunto. Uma amostra era considerada negativa se as três réplicas fossem negativas. As estirpes de bactérias e de leveduras foram testadas em concentrações $\geq 1 \times 10^6$ CFU/ml, com exceção da *Chlamydia pneumoniae*, que foi testada a $1,2 \times 10^6$ IFU/ml, e do *Lactobacillus reuteri*, que foi testado a 5×10^7 cópias/ml de ADN genómico. Os vírus foram testados em concentrações $\geq 1 \times 10^5$ TCID₅₀/ml. A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Microrganismos respiratórios e coronavírus humanos testados, concentrações e resultados dos testes Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus

Estirpe	Concentração testada	SARS-CoV-2	Flu A	Flu B	RSV
Controlo negativo	NA	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Controlo positivo	NA	POS	POS	POS	POS
Coronavírus humano NL63	$1,17 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Coronavírus da MERS	$1,17 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Coronavírus humano 229E	$1,21 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Coronavírus humano OC43	$1,02 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Coronavírus humano HKU1	$1,23 \times 10^6$ cópias/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Adenovírus tipo 1	$4,07 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Adenovírus tipo 7	$1,14 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Citomegalovírus	$1,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Echovírus	$1,14 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Enterovírus	$2,80 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Vírus de Epstein-Barr	$5,60 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
HSV	$1,97 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Metapneumovírus humano	$4,07 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Parainfluenza humano tipo 1	$1,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Parainfluenza humano tipo 2	$1,2 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Parainfluenza humano tipo 3	$1,2 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Parainfluenza humano tipo 4	$1,19 \times 10^6$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Sarampo	$1,2 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Vírus da parotidite	$1,2 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
Rinovírus tipo 1A	$1,0 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	$1,30 \times 10^7$ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Bordetella pertussis</i>	$6,40 \times 10^7$ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.

Estirpe	Concentração testada	SARS-CoV-2	Flu A	Flu B	RSV
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,90 x 10 ⁸ /CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Candida albicans</i>	6,30 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Candida parapsilosis</i>	1,45 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Citrobacter freundii</i>	1,73 x 10 ⁸ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Corynebacterium sp.</i>	1,27 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,87 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Escherichia coli</i>	1,55 x 10 ⁸ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Haemophilus influenzae</i>	6,62 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Lactobacillus reuteri</i>	5,0 x 10 ⁷ cópias/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Legionella spp.</i>	1,42 x 10 ⁸ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Moraxella catarrhalis</i>	2,46 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2,7 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Neisseria meningitidis</i>	4,2 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Neisseria mucosa</i>	1,0 x 10 ⁸ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Propionibacterium acnes</i>	8,25 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,05 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	2,66 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,87 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,47 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,75 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2,26 x 10 ⁷ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	9,0 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Streptococcus salivarius</i>	4,19 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Streptococcus sanguinis</i>	8,67 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,20 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.
<i>Mycobacterium tuberculosis (avirulento)</i>	1,20 x 10 ⁶ CFU/ml	NEG	NEG.	NEG.	NEG.

19.5 Interferência microbiana

A interferência microbiana do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus causada pela presença de estirpes bacterianas ou virais que podem ser encontradas em amostras do trato respiratório superior humano foi avaliada mediante teste de um painel de 10 microrganismos comensais, consistindo em 7 estirpes virais e 3 estirpes bacterianas. As amostras manipuladas consistiram nos vírus SARS-CoV-2, da gripe A, da gripe B, vírus sincicial respiratório A ou vírus sincicial respiratório B semeados em 3x o limite de detecção (LoD) numa matriz simulada de amostra nasofaríngea (NPS)/nasal (NS) obtida por zaragatoa na presença de adenovírus tipo 1C, coronavírus humano OC43, rinovírus tipo 1A, metapneumovírus humano, parainfluenza humano tipos 1, 2 e 3 (cada semeado em 1 x 10⁵ unidades/ml), *Hemophilus influenzae* (semeado em 1 x 10⁶ UFC/ml), *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus epidermidis* (cada um semeado em 1x10⁷ UFC/ml).

Foram testadas réplicas de 8 amostras positivas para cada vírus-alvo (SARS-CoV-2, gripe A, gripe B, vírus sincicial respiratório A ou vírus sincicial respiratório B) e cada combinação de estirpes microbianas potencialmente interferentes. Para cada alvo, todas as 8 de 8 amostras das réplicas foram corretamente identificadas utilizando o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Não foi descrita interferência por estirpes virais ou bacterianas comensais.

19.6 Interferência competitiva

A interferência competitiva do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus causada por coinfeções foi avaliada através do teste de amostras simuladas de estirpes individuais de SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B ou RSV a 3X o LoD na presença de diferentes estirpes-alvo a uma concentração mais elevada numa matriz de fundo simulada. A concentração a 3X o LoD foi de 414 cópias/ml para o SARS-CoV-2 (inativado USA-WA1/2020); 0,021 TCID₅₀/ml para o Flu A/Idaho/072018, 38,7 CEID₅₀/ml para o Flu B/Washington/2/2019; 0,99 TCID₅₀/ml para o RSV A/2/Austrália/61) e 1,11 TCID₅₀/ml para o RSV B/9320/MA/77. As estirpes competitivas foram avaliadas a 10⁴ ou mais unidades de titulação (cópias/ml, TCID₅₀/ml, CEID₅₀/ml ou PFU/ml). A concentração correspondente de ARN (cópias/ml) para as estirpes da gripe e do RSV foi determinada por PCR digital em gotículas (ddPCR). Foram testadas 3 réplicas para cada estirpe-alvo e cada combinação de estirpes competitivas. O vírus em alta concentração não apresenta efeitos inibidores competitivos se 3 de 3 réplicas para a estirpe-alvo reportarem resultados positivos. Se os resultados reportassem menos de 3 réplicas positivas em 3, a concentração do vírus concorrente era reduzida em incrementos de 10 vezes até não se observar qualquer interferência. Segue-se um resumo dos resultados:

Tabela 10. Resumo do estudo de interferência competitiva com o vírus da Gripe A em alta concentração

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3)			
		a 1,7 x 10 ⁸ cópias de ARN/ml	a 1,7 x 10 ⁷ cópias de ARN/ml	a 1,7 x 10 ⁶ cópias de ARN/ml	a 1,7 x 10 ⁵ cópias de ARN/ml
Flu B	Flu A	0/3	0/3	2/3	3/3
RSV A		0/3	0/3	3/3	Não testado
RSV B		3/3	Não testado	Não testado	Não testado
SARS-CoV-2		3/3	Não testado	Não testado	Não testado

Tabela 11. Resumo do estudo de interferência competitiva com o vírus da Gripe B em alta concentração

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3) a 1,4 x 10 ⁵ cópias de ARN/ml
Flu A	Flu B	3/3
RSV A		3/3
RSV B		3/3
SARS-CoV-2		3/3

Tabela 12. Resumo do estudo de interferência competitiva com o RSV A em alta concentração

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3) a 4,6 x 10 ⁶ cópias de ARN/ml
Flu A	RSV A	3/3
Flu B		3/3
SARS-CoV-2		3/3

Tabela 13. Resumo do estudo de interferência competitiva com o RSV B em alta concentração

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3) a 1,9 x 10 ⁵ cópias de ARN/ml
Flu A	RSV B	3/3
Flu B		3/3

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3) a $1,9 \times 10^5$ cópias de ARN/ml
SARS-CoV-2		3/3

Tabela 14. Resumo do estudo de interferência competitiva com o SARS-CoV-2 em alta concentração

Vírus testados a 3X o LoD	Vírus interferente	Atribuições corretas (n/3)	
		a 1×10^6 cópias de ARN/ml	a 1×10^5 cópias de ARN/ml
Flu A	SARS-CoV-2	3/3	Não testado
Flu B		1/3	3/3
RSV A		3/3	Não testado
RSV B		3/3	Não testado

O estudo mostrou que o vírus Flu A/Idaho/07/2018 em concentrações superiores a $1,7 \times 10^5$ cópias de ARN/ml inibiu a detecção do vírus da Gripe B a 3X o LoD e, em concentrações superiores a $1,7 \times 10^6$ cópias de ARN/ml, inibiu a detecção do RSV A a 3X o LoD (Tabela 10). Além disso, o SARS-CoV-2 em concentrações superiores a 1×10^5 cópias de ARN/ml inibiu a detecção do vírus da Gripe B a 3X o LoD (Tabela 14). Não foi observada qualquer outra interferência competitiva para as potenciais coinfeções testadas no estudo nas concentrações testadas.

19.7 Substâncias potencialmente interferentes

As substâncias que podem estar presentes na nasofaringe (ou ser introduzidas durante a colheita e manuseamento das amostras) e podem potencialmente interferir com a detecção exata do SARS-CoV-2, do vírus da Gripe A, do vírus da Gripe B e do RSV, foram avaliadas através de testes diretos no Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus.

As substâncias potencialmente interferentes nas fossas nasais e na nasofaringe podem incluir, entre outras: sangue, secreções nasais ou muco e medicamentos nasais e para a garganta utilizados para aliviar a congestão, a secura nasal, a irritação ou os sintomas de asma e alergia, bem como antibióticos e antivirais. As amostras positivas e negativas foram preparadas numa matriz simulada de zaragatoas nasofaríngeas (NPS)/zaragatoas nasais (NS). As amostras negativas (N = 8) foram testadas na presença de cada substância para determinar o efeito no desempenho do controlo do processamento da amostra (SPC). As amostras positivas (N = 8) foram testadas para cada substância com vírus adicionados a 3X o LoD determinado para cada estirpe. As amostras positivas testadas com o Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus incluíram um SARS-CoV-2, um vírus da Gripe A H1N1, um vírus da Gripe A H3N2, um vírus da Gripe B e duas estirpes do RSV (RSV A e RSV B). Os controlos foram amostras com vírus adicionados a 3X o LoD numa matriz simulada de zaragatoas NPS/NS que não continha qualquer substância potencialmente interferente. As substâncias, com ingredientes ativos, que foram avaliadas estão listadas na Tabela 15.

Tabela 15. Substâncias potencialmente interferentes testadas

ID da substância	Substância/classe	Substância/princípio ativo
Sulfato de salbutamol	Broncodilatador beta-adrenérgico	Sulfato de salbutamol (5 mg/ml)
Afrin	Spray nasal	Oximetazolina, 0,05%
Meio de Transporte Universal BD	Meios de transporte	Meio de Transporte Universal BD
Copan 3U045N.PH (Cepheid Swab/M)	Meios de transporte	Copan 3U045N.PH (Cepheid Swab/M)
Sangue	Sangue	Sangue (humano)
Spray nasal de propionato de fluticasona	Corticosteroide nasal	Propionato de fluticasona
Mentol	Pastilhas para a garganta, anestésico oral e analgésico	Benzocaína, mentol

ID da substância	Substância/classe	Substância/princípio ativo
Mucina	Mucina	Proteína de mucina purificada (glândula submaxilar bovina ou suína)
Mupirocina	Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina (20 mg/g=2%)
PHNY	Gotas nasais	Fenilefrina, 1%
Soro fisiológico	Spray nasal de soro fisiológico	Cloreto de sódio (0,65%)
Remel M4RT	Meios de transporte	Remel M4RT
Remel M5	Meios de transporte	Remel M5
Tamiflu	Medicamentos antivirais	Zanamivir
Tobramicina	Antibacteriano sistêmico	Tobramicina
Zicam	Gel nasal	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Enxofre (0,05%)
Zinco	Suplemento de zinco	Gluconato de zinco

Os resultados do estudo (Tabela 16) mostram que, na maioria dos casos, 8 réplicas em 8 revelaram resultados positivos para cada combinação de vírus e substância testada, não sendo observada qualquer interferência. Quando o Zicam foi inicialmente testado a 15% p/v, observou-se interferência na detecção do vírus da Gripe B e do RSV A. No entanto, quando o Zicam foi testado a 7,5% p/v, não se observou qualquer interferência.

Tabela 16. Valores médios do Ct para alvos do Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus testados na presença de substâncias potencialmente interferentes

Substância	Concentração testada	Número de resultados corretos/número de testados					
		SARS-CoV-2/ USA-WA-1	Influenza A/ Idaho/07/2018	H3N2 Flu A/ Hong Kong/ 45/2019	Flu B/ Washington /02/2019	RSV A/2/ Austrália/61	RSV B/9320/ MA/77
Matriz de controlo simulada de zaragatoas NPS/NS (Nenhuma substância)	100% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Afrin	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Sulfato de salbutamol	0,83 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Meio de Transporte Universal BD	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Sangue	2% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Copan Swab M	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Spray nasal de propionato de fluticasona	5 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mentol	1,7 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mucina	0,1% (p/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Mupirocina	10 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

Substância	Concentração testada	Número de resultados corretos/número de testados					
		SARS-CoV-2/ USA-WA-1	Influenza A/ Idaho/07/2018	H3N2 Flu A/ Hong Kong/ 45/2019	Flu B/ Washington /02/2019	RSV A/2/ Austrália/61	RSV B/9320/ MA/77
PHNY	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Remel M4RT	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Remel M5	N/A	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Soro fisiológico	15% (v/v)	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tamiflu	7,5 mg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Tobramicina	4 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
Zicam	15% (p/v)	8/8	8/8	8/8	5/8 ^a	7/8 ^b	8/8
Zinco	0,1 µg/ml	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8

- ^a Com 15% (p/v) de Zicam, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o Ct médio do controle e o Ct médio do teste. Os testes foram repetidos com 7,5% (p/v) de Zicam e não foi observada qualquer diferença clinicamente significativa entre a média de Ct do vírus da Gripe B do controle e a média de Ct do vírus da Gripe B do teste.
- ^b Com 15% (p/v) de Zicam, observou-se uma diferença estatisticamente significativa entre o Ct médio do controle e o Ct médio do teste. Os testes foram repetidos com 7,5% (p/v) de Zicam e não foi observada qualquer diferença estatisticamente significativa entre a média de Ct do RSV A do controle e a média de Ct do RSV A do teste.

19.8 Contaminação por transferência (carry-over)

Foi realizado um estudo para avaliar se os cartuchos de teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência (carry-over) de amostras e amplicões, testando uma amostra negativa imediatamente após o teste de amostra positiva muito alta no mesmo módulo GeneXpert. A amostra negativa utilizada neste estudo consistiu numa matriz simulada de amostra nasofaríngea/nasal obtida por zaragatoa e a amostra positiva consistiu em concentrações elevadas do vírus da gripe B e do SARS-CoV-2 (Flu B/Wisconsin/10/2016 em 1,0e6 TCID₅₀/ml e SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 inativado em 1e4 cópias/ml) semeados em matriz nasofaríngea (NPS)/nasal (NS) obtida por zaragatoa negativa. A amostra negativa foi testada num módulo GeneXpert no início do estudo. Após o teste inicial da amostra negativa, foi processada imediatamente a seguir no mesmo módulo GeneXpert uma amostra muito positiva seguida por outra amostra negativa. Este processo foi repetido, pelo menos, 20 vezes no mesmo módulo, perfazendo 20 amostras positivas e 21 negativas para o módulo. O estudo foi repetido utilizando um segundo módulo GeneXpert para um total de 40 amostras positivas e 42 amostras negativas. Todas as 40 amostras positivas foram corretamente apresentadas como **SARS-CoV-2 POSITIVO (SARS-CoV-2 POSITIVE); Gripe A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Gripe B POSITIVO (Flu B POSITIVE)** ou **VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO NEGATIVO (RSV NEGATIVE)**. Todas as 42 amostras negativas foram corretamente apresentadas como **SARS-CoV-2 NEGATIVO (SARS-CoV-2 NEGATIVE); Gripe A NEGATIVO (Flu A NEGATIVE); Gripe B NEGATIVO (Flu B NEGATIVE)** ou **VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO NEGATIVO (RSV NEGATIVE)** com o teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus. Não foi observada contaminação por transferência de amostras ou amplicões neste estudo.

19.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus foi estabelecida em três locais utilizando um painel de 9 membros, incluindo uma amostra negativa, quatro positivas baixas (~1,5X LoD) e quatro positivas moderadas (~3X LoD). A amostra negativa consistiu numa matriz simulada sem microrganismo alvo ou ARN alvo. As amostras positivas foram amostras manipuladas numa matriz simulada, utilizando NATrol SARS-CoV-2 (ZeptoMetrix) inativado e culturas virais de Influenza A/Idaho/07/2018, Influenza B/Wisconsin/10/2016 e VSR B/Wash/18537/62.

Os testes foram realizados ao longo de seis (6) dias, utilizando três (3) lotes de cartuchos Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus em três (3) locais participantes, cada um com dois (2) operadores para produzir um total de 144 observações por membro do painel (3 locais x 2 operadores x 3 lotes x 2 dias/lote x 2 execuções x 2 réplicas = 144 observações por membro de painel).

Os resultados do estudo são resumidos na Tabela 17.

Tabela 17. Resumo dos resultados da reprodutibilidade - % de concordância

Amostra	Local 1			Local 2			Centro 3			% concordância total [IC de 95%]
	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	Op. 1	Op. 2	Local	
Negativo	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
SARS-CoV-2 Pos. baixo (Low Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
SARS-CoV-2 Pos. mod. (Mod Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Gripe A Pos. baixo (Low Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Gripe A Pos. mod. (Mod Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]
Gripe B Pos. baixo (Low Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	95,8% 23/24	95,8% 23/24	95,8% 46/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	98,6% (142/144) [95,1-99,6]
Gripe B Pos. mod. (Mod Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 23/23	95,8% 23/24	97,9% 46/47	99,3% (142/143) [96,1-99,9]
Vírus sincial respiratório Pos. baixo (Low Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	95,8% 23/24	100% 24/24	97,9% 47/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	99,3% (143/144) [96,2-99,9]
Vírus sincial respiratório Pos. mod. (Mod Pos)	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% 24/24	100% 24/24	100% 48/48	100% (144/144) [97,4-100,0]

20 Referências

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>. Acedido em 9 de fevereiro de 2020.
2. bioRxiv. (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.07.937862v1>). Acedido em 3 de março de 2020.
3. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis*. 2006;194:S98-110.
4. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, 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.
5. <https://www.cdc.gov/flu/about/viruses-types.html>. Acedido em 19 de maio de 2016.
6. <http://www.cdc.gov/RSV/index.html>. Acedido em 14 de março de 2013.
7. Acero-Bedoya, S., Wozniak, P. S., Sánchez, P. J., Ramilo, O., & Mejias, A. (2019). Recent trends in RSV immunoprophylaxis: clinical implications for the infant. *American journal of perinatology*, 36(S 02), S63-S67.
8. Solomon, D. A., Sherman, A. C., & Kanjilal, S. (2020). Influenza in the COVID-19 Era. *Jama*, 324(13), 1342-1343.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (refer to latest edition). <https://www.cdc.gov/labs/bmbl/index.html>
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a última edição).
11. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 16 de Dezembro de 2008 relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21 Localização das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

22 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 Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

Assistência técnica nos Estados Unidos

Telefone: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

Assistência técnica em França

Telefone: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

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

23 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não utilizar mais de uma vez
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Para utilização apenas com receita médica
	Mandatário na Comunidade Europeia
	Mandatário na Suíça
	Importador
	País de origem: Suécia

Símbolo	Significado
Country of Origin: USA	País de origem: Estados Unidos da América



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191

Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



24 Historial de revisões

Descrição das alterações: 302-7085, Rev. E a Rev. F

Secção	Descrição da alteração
6	Esclarecimento da origem animal do estabilizador de proteínas utilizado no produto.
16	Esclarecimento dos resultados INVALID (INVÁLIDO). Revisão para teste com marcação CE para alvo viral positivo, mas com suspeita de coinfeção com vários alvos.
17.1	Esclarecimento dos resultados INVALID (INVÁLIDO). Adição de recomendação.
18	Adição de um potencial acionador de resultados INVALID (INVÁLIDO).
20	Atualização de referências.
21	Remoção da sede da UE.
23	Adição de símbolos de país de origem. Atualização dos símbolos (de acordo com a norma EN ISO 15223-1:2021) e do endereço do representante autorizado na Comunidade Europeia.