

Aptima™ SARS-CoV-2 Assay (Panther™ System)

Para utilização em diagnósticos *in vitro*.

Exclusivamente para exportação dos EUA.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| Informações gerais | 2 |
| Utilização prevista | 2 |
| Resumo e explicação do teste | 2 |
| Princípios do procedimento | 3 |
| Advertências e precauções | 4 |
| Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes | 7 |
| Colheita e conservação de espécimes | 8 |
| Transporte de espécimes | 12 |
| Agrupamento de espécimes - Determinar a estratégia adequada para a implementação e a monitorização | 13 |
| Preparar amostras para agrupamento | 13 |
| Panther System | 14 |
| Reagentes e materiais fornecidos | 14 |
| Materiais necessários, mas disponíveis em separado | 15 |
| Procedimento de teste no Panther System | 17 |
| Notas sobre o procedimento | 20 |
| Controlo de qualidade | 21 |
| Interpretação de resultados | 22 |
| Limitações | 23 |
| Desempenho do Panther SARS-CoV-2 Assay | 24 |
| Sensibilidade analítica | 24 |
| Sensibilidade analítica com o fluxo de trabalho do tubo de transferência de espécimes Aptima .. | 25 |
| Inclusividade | 25 |
| Especificidade analítica e interferência microbiana | 25 |
| Equivalência dos dispositivos de colheita | 27 |
| Desempenho clínico | 28 |
| Desempenho clínico em espécimes de esfregaço nasofaríngeo utilizando UTM/VTM | 28 |
| Desempenho clínico em espécimes de esfregaço nasal anterior colhidos utilizando o Kit de colheita RespDirect | 28 |
| Desempenho clínico com o painel artificial | 29 |
| Bibliografia | 34 |
| Informações de contacto | 35 |

Informações gerais

Utilização prevista

O Aptima™ SARS-CoV-2 Assay é um teste de diagnóstico *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos destinado à detecção qualitativa de RNA de SARS-CoV-2, isolado e purificado de espécimes de esfregaços nasofaríngeos, nasais, do corneto médio e orofaríngeos, de lavado/aspirado nasofaríngeo, de aspirados nasais ou saliva obtidos de indivíduos que cumpram os critérios clínicos e/ou epidemiológicos para a COVID-19, incluindo de indivíduos sem sintomas ou outros motivos para suspeitar de infecção por COVID-19.

Este teste também se destina à detecção qualitativa de ácido nucleico de SARS-CoV-2 em amostras agrupadas contendo até 5 espécimes de esfregaços individuais do trato respiratório superior (ou seja, esfregaços nasofaríngeos, nasais, do corneto médio ou orofaríngeos), quando cada espécime seja colhido sob observação ou por um prestador de cuidados de saúde utilizando frascos individuais contendo meio de transporte. Os resultados negativos de testes agrupados não devem ser tratados como definitivos. Se os sinais clínicos e sintomas de um paciente forem inconsistentes com um resultado negativo e se os resultados forem necessários para a gestão do paciente, então este deve ser considerado para um teste individual. Os espécimes incluídos em grupos com um resultado positivo ou inválido devem ser testados individualmente antes da comunicação de um resultado. Os espécimes com baixas cargas virais podem não ser detetados em grupos de amostras devido à sensibilidade diminuída dos testes agrupados. Para pacientes específicos, cujos espécimes foram sujeitos a agrupamento, deve ser incluído na comunicação do resultado ao prestador de cuidados de saúde um aviso de que foi utilizado o agrupamento durante os testes.

Os resultados destinam-se a identificar o RNA do SARS-CoV-2. O RNA do SARS-CoV-2 é geralmente detetável em espécimes do trato respiratório superior durante a fase aguda da infecção. Os resultados positivos indicam a presença de RNA do SARS-CoV-2, sendo necessária correlação clínica com a história do paciente e outras informações de diagnóstico para determinar o estado infeccioso do paciente. Os resultados positivos não excluem infecção bacteriana ou coinfeção por outros vírus.

Os resultados negativos não excluem a presença de infecção por SARS-CoV-2 e não devem ser usados como o único fator para a tomada de decisões de gestão de pacientes. Os resultados negativos devem ser combinados com outras observações clínicas, história do paciente e informações epidemiológicas.

O Aptima SARS-CoV-2 Assay no Panther™ e Panther Fusion™ System destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório clínico com instruções e formação específicas sobre o funcionamento do Panther e Panther Fusion System e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.

Resumo e explicação do teste

Os coronavírus são uma extensa família de vírus que podem causar doenças a animais ou a seres humanos. Nos seres humanos, diversos coronavírus são conhecidos por causarem infecções respiratórias variando desde a constipação comum até doenças mais graves, como Síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS) e Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS). O coronavírus descoberto mais recentemente, o SARS-CoV-2, causa a doença por coronavírus associada, a COVID-19. Este novo vírus e a doença eram desconhecidos antes do início do surto, em Wuhan, China, em dezembro de 2019.¹

Os sintomas mais comuns de COVID-19 são febre, cansaço e tosse seca. Alguns doentes poderão ter dores, congestão nasal, rinorreia, garganta inflamada, perda recente do paladar ou do olfato ou diarreia. Estes sintomas são normalmente ligeiros e começam gradualmente. Algumas pessoas ficam infetadas, mas não desenvolvem quaisquer sintomas e não se sentem doentes. A doença pode transmitir-se através de gotículas respiratórias produzidas quando uma pessoa infetada tosse ou espirra. Estas gotículas podem ser projetadas para a boca ou para o nariz de pessoas que estejam próximas ou podem ser inaladas para os pulmões.² Estas gotículas também podem ser projetadas para objetos e superfícies próximos da pessoa. As outras pessoas podem adquirir o SARS-CoV-2 tocando nesses objetos ou superfícies e tocando depois nos olhos, nariz ou boca.

O vírus que causa a COVID-19 está a infetar pessoas e a transmitir-se facilmente de pessoa para pessoa.³ No dia 11 de março de 2020, o surto de COVID-19 foi caracterizado como uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS).^{4,5}

Princípios do procedimento

O Aptima SARS-CoV-2 Assay combina as tecnologias de captura do alvo, de amplificação mediada por transcrição (TMA) e de ensaio cinético Dual (DKA).

Os espécimes podem ser colhidos e, em seguida, transferidos para tubos de lise Hologic Panther Fusion com meio de transporte de espécimes (STM). Em alternativa, as amostras podem ser colhidas com o Kit multiteste Aptima com STM ou o Kit de colheita RespDirect com meio de transporte de espécimes intensificado (eSTM). O STM e o eSTM procedem à lise das células, libertam o ácido nucleico alvo e protegem-no contra a deterioração durante a conservação. Quando o Aptima SARS-CoV-2 Assay é efetuado no laboratório, as moléculas do RNA alvo são isoladas dos espécimes utilizando oligómeros de captura através de uma captura do alvo que utiliza micropartículas magnéticas. Os oligómeros de captura contêm sequências complementares a regiões específicas das moléculas alvo, bem como uma cadeia de resíduos de desoxiadenosina. Utiliza-se um oligómero de captura individual para cada alvo. Durante o passo de hibridação, as regiões específicas da sequência dos oligómeros de captura ligam-se a regiões específicas das moléculas alvo. O complexo oligómero de captura:alvo é então capturado e retirado da solução reduzindo a temperatura da reação para a temperatura ambiente. Esta redução da temperatura permite que a hibridação ocorra entre a região da desoxiadenosina no oligómero de captura e as moléculas de polidesoxitimidina que estão ligadas de forma covalente às partículas magnéticas. As micropartículas, incluindo as moléculas alvo capturadas ligadas às mesmas, são arrastadas para a secção lateral do tubo de reação por ímanes e o sobrenadante é aspirado. As partículas são lavadas para remover a matriz de espécime residual que possa conter inibidores da reação da amplificação. Concluídos os passos de captura do alvo, os espécimes estão prontos para a amplificação.

Os ensaios de amplificação do alvo baseiam-se na capacidade que os "primers" oligonucleótidos complementares têm de se hibridar especificamente e de permitir a amplificação enzimática das cadeias do ácido nucleico alvo. O Aptima SARS-CoV-2 Assay replica regiões específicas do RNA do vírus SARS-CoV-2. A deteção das sequências do produto da amplificação do RNA é alcançada com a hibridação do ácido nucleico. Sondas de ácido nucleico quimioluminescentes de cadeia simples, únicas e complementares a uma região de cada produto da amplificação alvo e produto da amplificação do controlo interno (IC), são marcadas com diferentes moléculas de éster de acridina (AE). As sondas marcadas com AE combinam com o produto da amplificação para formar híbridos estáveis. O reagente de seleção faz a distinção entre a sonda hibridada e a sonda não hibridada, e elimina a geração do sinal da sonda não hibridada. Durante o passo

de detecção, a luz emitida pelos híbridos marcados é medida como sinais de fótons num luminómetro e indicada em unidades de luz relativas (RLU). No DKA, diferenças nos perfis cinéticos das sondas marcadas permitem a distinção dos sinais; os perfis cinéticos são obtidos a partir das medições do débito de fótons durante o tempo de leitura de detecção. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal IC apresenta uma cinética muito rápida e tem um tipo cinético de “sinal intermitente”. A reação de detecção quimioluminescente para o sinal SARS-CoV-2 é relativamente mais lenta e tem um tipo cinético de “sinal contínuo”. Os resultados do ensaio são determinados por um “cut-off” baseado na RLU total e no tipo de curva cinética.

O Aptima SARS-CoV-2 Assay amplifica e deteta duas regiões conservadas do gene ORF1ab na mesma reação, utilizando o mesmo tipo cinético de “sinal contínuo”. As duas regiões não são diferenciadas e a amplificação de qualquer uma ou de ambas leva a um sinal de RLU. Os resultados do ensaio são determinados por um “cut-off” baseado na RLU total e no tipo de curva cinética.

Advertências e precauções

- A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Leia atentamente todo este folheto informativo e o *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.
- B. Este procedimento só deve ser feito por pessoal com a respetiva formação profissional na utilização deste ensaio e no manuseamento de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente, respeitando os procedimentos locais apropriados.
- C. Manuseie e processe todos os espécimes como potencialmente infecciosos, seguindo as práticas e os procedimentos laboratoriais básicos das boas práticas e procedimentos de microbiologia (GMPP). Consulte as Orientações de biossegurança laboratorial da Organização Mundial da Saúde (OMS) relacionadas com a doença por coronavírus (COVID-19): orientação provisória. [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19)).
- D. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando executar este ensaio. O diretor do laboratório deve estabelecer métodos adequados de manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser feito por pessoal com a formação profissional adequada em manuseamento de materiais infecciosos.⁶
- E. Em caso de suspeita de infeção por SARS-CoV-2 com base nos critérios atuais de rastreio clínico recomendados pelas autoridades de saúde pública, os espécimes devem ser colhidos com precauções de controlo de infeções adequadas.
- F. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- G. Use equipamento de proteção individual adequado ao colher e manusear espécimes de indivíduos que sejam suspeitos de estarem infetados por SARS-CoV-2, conforme descrito nas Orientações provisórias de biossegurança laboratorial para o manuseamento e processamento de espécimes associados ao novo coronavírus 2019 (2019-nCoV) dos CDC.
- H. Use luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave muito bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes.
- I. Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com espécimes e reagentes, e faça-o e de acordo com os regulamentos locais, nacionais e internacionais aplicáveis.

- J. As datas de expiração listadas no Kit de colheita RespDirect, nos Tubos de lise de espécimes (SLT) Panther Fusion, nos Tubos de lise de espécimes Hologic, no Kit de colheita multiteste Aptima, no Kit de colheita de espécimes de esfregaço unissexo Aptima, no Kit de transferência de espécimes Aptima e no Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic referem-se à transferência da amostra para o tubo e não ao teste da amostra. Os espécimes recolhidos/transferidos em qualquer data anterior a estas datas de expiração podem ser testados, desde que tenham sido transportados e conservados de acordo com o folheto informativo adequado, mesmo que as datas de expiração tenham sido ultrapassadas.
- K. Mantenha as condições de armazenamento adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade dos mesmos. Não se avaliou a estabilidade dos espécimes em condições de transporte, para além das recomendadas.
- L. A testagem de um espécime de saliva que tenha sido conservado fora das condições especificadas pode dar origem a um risco mais elevado de resultado inválido.
- M. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Os espécimes podem conter níveis extremamente elevados de vírus ou outros organismos. Certifique-se de que os recipientes de espécimes não entrem em contacto uns com os outros e elimine os materiais usados sem passá-los por cima de quaisquer recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com espécimes.
- N. Não use os reagentes ou controlos depois da respetiva data de expiração.
- O. Conserve os componentes de ensaio nas condições de conservação recomendadas. Consulte *Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes* (página 7) e *Procedimento de teste no Panther System* (página 17) para obter mais informações.
- P. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaios. Não ateste reagentes ou fluidos; o Panther System verifica os níveis de reagentes.
- Q. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.
- R. Não use materiais que possam conter tiocianato de guanidínio ou quaisquer materiais que contenham guanidínio no instrumento. Podem formar-se compostos altamente reativos e/ou tóxicos se forem combinados com hipoclorito de sódio.
- S. Um reagente deste kit está marcado com informações sobre perigos.

Nota: A comunicação de perigos reflete a classificação das Fichas de Dados de Segurança (FDS) da União Europeia. Para obter informações de comunicação de perigos específicas da sua região, consulte a respetiva Ficha de dados de segurança na Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

| Informações sobre riscos para a UE | |
|---|--|
| — | <p>Amplification Reagent HEPES 25-30%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p> |
| — | <p>Enzyme Reagent HEPES 1-5%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p> |
| — | <p>Probe Reagent Lauryl Sulfate Lithium Salt 35-40% Succinic Acid 10-15% Lithium Hydroxide, Monohydrate 10-15%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p> |
| — | <p>Target Capture Reagent HEPES 5-10% EDTA 1-5% LITHIUM HYDROXIDE, MONOHYDRATE 1-5%</p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros P273 – Evitar a libertação para o ambiente P280 – Usar proteção ocular/proteção facial</p> |
|  | <p>Selection Reagent ÁCIDO BÓRICO 1-5%</p> <p>ATENÇÃO H315 - Provoca irritação cutânea</p> |

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

- A. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (refrigerados):
- Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2
 - Reagente enzimático Aptima SARS-CoV-2
 - Reagente de sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Controlo interno Aptima SARS-CoV-2
 - Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2
 - Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2
- B. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C:
- Solução de reconstituição da amplificação Aptima SARS-CoV-2
 - Solução de reconstituição enzimática Aptima SARS-CoV-2
 - Solução de reconstituição de sonda Aptima SARS-CoV-2
 - Reagente de seleção Aptima SARS-CoV-2
- C. Os reagentes seguintes permanecem estáveis se armazenados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C (temperatura ambiente):
- Reagente de captura do alvo Aptima SARS-CoV-2
 - Solução de lavagem Aptima
 - Tampão para o fluido de desativação Aptima
 - Reagente de óleo Aptima
- D. O reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR) permanece estável durante 30 dias quando armazenado a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- E. Após a reconstituição, o reagente enzimático, o reagente de amplificação e o reagente de sonda permanecem estáveis durante 30 dias quando armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C.
- F. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos e o wTCR não usados após 30 dias ou após o prazo de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- G. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- H. Os reagentes conservados dentro do Panther System permanecem estáveis durante 120 horas.
- I. O reagente de sonda e o reagente de sonda reconstituído são fotossensíveis. Mantenha os reagentes protegidos da luz. A estabilidade reconstituída especificada baseia-se numa exposição de 12 horas do Reagente de sonda reconstituído a duas lâmpadas fluorescentes de 60 W, a uma distância de 43 cm e a uma temperatura inferior a 30 °C. A exposição à luz do Reagente de sonda reconstituído deve ser limitada em conformidade.
- J. Com o aquecimento à temperatura ambiente, alguns tubos de controlo podem parecer turvos ou apresentar precipitados. A turvação ou precipitação associada aos controlos não afeta o

desempenho dos mesmos. Os controlos podem ser usados quer estejam limpos ou turvos/precipitados. Se quiser utilizar controlos limpos, a solubilização pode ser agilizada incubando-os no limite superior do intervalo de temperatura ambiente (15 °C a 30 °C).

K. Não congele os reagentes.

Colheita e conservação de espécimes

Espécimes - O material clínico colhido do paciente e colocado num sistema de transporte adequado. Para o Aptima SARS-CoV-2 Assay, isto inclui espécimes de esfregaços nasofaríngeos, nasais, do corneto médio e orofaríngeos, ou colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e de aspirado nasal num meio de transporte viral (VTM/UTM), soro fisiológico, Amies Líquido, meio de transporte de espécimes intensificado (eSTM) ou meio de transporte de espécimes (STM). Além disso, pode ser colhida saliva para utilização com o ensaio.

Amostras - Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material a ser testado no Panther System, incluindo espécimes, espécimes transferidos para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion, Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida, Tubo de transferência de espécimes Aptima, Tubo de transporte multiteste Aptima, Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic e controlos.

Nota: *Manuseie todos os espécimes como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.*

Nota: *Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseamento de espécimes. Por exemplo, descarte o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

Colheita de espécimes de esfregaço

Recolha os espécimes de esfregaços nasofaríngeos, esfregaços nasais e esfregaços orofaríngeos de acordo com a técnica padrão, usando uma zaragatoa com uma ponta de poliéster, raiona ou nylon. Coloque imediatamente o espécime de esfregaço em 3 ml de VTM ou UTM. Alternativamente, os espécimes de esfregaços podem ser adicionados a soro fisiológico, Amies Líquido ou STM. O Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima e o Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic podem ser utilizados para a colheita de amostras de esfregaços orofaríngeos e nasais. O Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - CLASSIQSwab destina-se à colheita de amostras de esfregaços orofaríngeos e nasais. O Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic - FLOQSwab destina-se à colheita de amostras de esfregaços do corneto médio e nasofaríngeos. O Kit de colheita RespDirect da Hologic pode ser utilizado para a colheita de amostras de esfregaços nasofaríngeos e nasais.

Depois da colheita, os espécimes colhidos em VTM/UTM podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C, até 96 horas, antes de transferir para o Tubo de lise de espécimes ou para os tubos de transferência conforme descrito na secção de processamento de espécimes abaixo. Os volumes de espécimes restantes podem ser conservados a ≤ -70 °C.

Após a colheita, os espécimes no Tubo multiteste Aptima, no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic e no Tubo de carga direta intensificada podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 6 dias.

Nota: *Recomenda-se que os espécimes colhidos no Tubo multiteste Aptima, no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic e no Tubo de carga direta intensificada sejam conservados tapados e em posição vertical num suporte.*

Colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e de aspirado nasal

Efetue a colheita de espécimes de lavado/aspirado nasofaríngeo e de aspirado nasal de acordo com as técnicas padrão.

Colheita de espécimes de saliva

Efetue a colheita de 1 ml +/- 0,2 ml de saliva num tubo de colheita padrão com uma marca de 1 ml. Dê instruções aos indivíduos para salivarem e bochecharem com a saliva durante, pelo menos, 30 s antes de cuspirem para o tubo de colheita. A saliva colhida pode ser conservada a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C até 12 horas antes de adicionar 4 ml +/- 0,4 ml de meio essencial mínimo (MEM) para diluir e misturar a amostra de saliva. As amostras diluídas em MEM podem ser conservadas a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C, até 2 horas, antes de transferir 500 µl de saliva diluída para o Tubo de lise de espécimes ou para os tubos de transferência conforme descrito na secção de processamento de espécimes abaixo. Os espécimes processados podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 6 dias.

Processamento de espécimes

Fluxo de trabalho com tampa utilizando o software Aptima SARS-CoV-2 Assay

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion

- A. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime* colhido para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion.

***Nota:** Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de transferência de espécimes Aptima

- A. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 1 ml do espécime* colhido para um Tubo de transferência de espécimes Aptima.

***Nota:** Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.

****Nota:** Em alternativa, pode ser utilizado um Tubo multitestado Aptima ou um Tubo unissexo Aptima não usado.

- B. Volte a tapar o Tubo de transferência de espécimes Aptima firmemente.
- C. Inverta cuidadosamente o tubo 2 a 3 vezes para assegurar que a mistura do espécime fica completa.

Processamento dos espécimes colhidos com Kit de colheita multitestado Aptima

- A. Depois de colocar o espécime colhido* no Tubo multitestado Aptima utilizando o Kit de colheita multitestado Aptima, não é necessário qualquer processamento adicional.

***Nota:** Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.

Processamento de espécimes com o Tubo de carga direta intensificada (Kit de colheita RespDirect)

- A. Depois de colher o espécime no Tubo de carga direta intensificada (Kit de colheita RespDirect), o espécime pode ser carregado no instrumento.

Nota: Se observar CLT ou marcadores p isolados nos espécimes, as amostras podem ser colocadas no vórtex durante 5–10 minutos a 1800 rpm num vórtex multitubos (ou na definição 5 no Cód. produto 102160G).

Em alternativa, os tubos individuais podem ser colocados no vórtex manualmente durante 15 segundos na velocidade máx. num vórtex de bancada padrão.

Se tiverem sido perfuradas, volte a tapar os tubos com novas tampas perfuráveis antes de colocar no vórtex.

Se for obtido um resultado CLT na repetição do teste, colha uma nova amostra.

Nota: Ao testar espécimes congelados, permita que estes alcancem a temperatura ambiente antes de os carregar no instrumento.

Nota: Se o laboratório receber um Tubo de carga direta intensificada (Kit de colheita RespDirect) sem esfregaço ou com dois esfregaços, o espécime deve ser rejeitado.

Fluxo de trabalho sem tampa utilizando o software Aptima SARS-CoV-2 Assay**Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion**

- A. Destape o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion com tampa perfurável. A tampa perfurável pode ser guardada ou pode ser utilizada uma tampa rígida de substituição no próximo passo.
- B. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion com tampa penetrável ou tampa rígida de substituição.
- C. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.
- D. Retire e descarte a tampa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeccione o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- E. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida

- A. Destape o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida e guarde a tampa.
- B. Antes de proceder à realização de testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime para o Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida.

- C. Recomenda-se que volte a tapar o tubo e o inverta suavemente três vezes para garantir a inativação viral e uma mistura homogênea.
- D. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.
- E. Retire e descarte a tampa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeccione o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- F. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento dos espécimes colhidos com o Kit de colheita com tampa de captura de carga direta Hologic

- A. Depois de colocar o espécime colhido* no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic utilizando, não é necessário qualquer processamento adicional.

***Nota:** Ao testar espécimes congelados, deixe-os alcançar a temperatura ambiente antes de dar início ao processamento.

- B. Para evitar o contacto com o topo do tubo, solte a tampa e coloque o tubo de amostra no suporte de amostras.

- C. Retire e descarte a tampa e a zaragatoa. Para evitar a contaminação, não passe a tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras. Inspeccione o tubo de amostra. Se estiverem presentes bolhas, remova-as cuidadosamente do tubo de amostra (por exemplo, utilize a ponta de uma zaragatoa esterilizada ou um método semelhante).

Nota: Se o esfregaço não tiver sido capturado pela tampa, volte a tapar o tubo para garantir que o esfregaço é capturado e removido do tubo. Os tubos com tampa de captura de carga direta com um esfregaço não devem ser carregados no Panther System.

Nota: A não remoção das bolhas pode afetar o processamento do ensaio e causar resultados inválidos.

- D. Coloque o retentor do suporte no suporte de amostras e carregue o suporte no instrumento.

Processamento dos espécimes colhidos com Kit de colheita multiteste Aptima

- A. Obtenha e siga as instruções para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion (Passo A) ou Tubo de lise de espécimes Hologic com tampa rígida (Passo A).
- B. Antes de proceder à realização dos testes no Panther System, transfira 500 µl do espécime colhido do Tubo multiteste Aptima para um Tubo de lise de espécimes Panther Fusion ou Tubo de lise de espécimes Hologic conforme descrito nas secções de processamento de espécimes acima.

Conservação de amostras

A. As amostras dentro do Panther System podem ser arquivadas para testes adicionais posteriores.

B. Conservação de amostras em STM antes ou depois dos testes

1. As amostras no Tubo multitteste Aptima, no Tubo de espécime Aptima, no Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic devem ser conservadas no suporte em posição vertical, mediante as seguintes condições:
 - Entre 2 °C e 30 °C, até seis dias
2. As amostras no tubo de lise de espécimes podem ser conservadas mediante as seguintes condições:
 - • Entre 15 °C e 30 °C, até seis dias ou
 - • 2 °C a 8 °C, -20 °C e -70 °C durante até 1 mês.
3. As amostras devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.
4. Se as amostras analisadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável nos tubos de espécimes. Se as amostras tiverem de ser expedidas para serem testadas noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de retirar as tampas, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos, a uma Força Centrífuga Relativa (RCF) de 420, para levar todo o líquido ao fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

C. Conservação de espécimes com o Tubo de carga direta intensificada (Kit de colheita RespDirect)

1. As amostras podem ser conservadas numa das seguintes condições:
 - Entre 2 °C e 30 °C, até seis dias;
 - 2 °C a 8 °C, -20 °C e -70 °C durante até 1 mês. Os ciclos de congelação/descongelação devem ser minimizados devido a potencial degradação da amostra.
2. As amostras previamente testadas devem ser cobertas com uma película de plástico nova e limpa, ou com folha de alumínio.
3. Se as amostras analisadas tiverem de ser congeladas ou expedidas, retire a tampa perfurável e coloque uma nova tampa não perfurável nos tubos de espécimes. Se as amostras tiverem de ser expedidas para serem testadas noutra local, mantenha as temperaturas recomendadas. Antes de retirar as tampas de amostras anteriormente testadas e tapadas, pode centrifugar os tubos de espécimes durante 5 minutos a 420 FCR para deslocar o líquido para o fundo do tubo. Evite salpicos e contaminação cruzada.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de espécimes, tal como descrito na secção de *Colheita e conservação de espécimes na página 8*.

Nota: *Os espécimes devem ser expedidos de acordo com os regulamentos de transporte locais, nacionais e internacionais em vigor.*

Agrupamento de espécimes - Determinar a estratégia adequada para a implementação e a monitorização

Ao considerarem o agrupamento de espécimes, os laboratórios devem avaliar a adequação de uma estratégia de agrupamento com base na taxa de positividade da população de teste e na eficiência do fluxo de trabalho de agrupamento.

Preparar amostras para agrupamento

Os seguintes espécimes do trato respiratório superior estão validados para utilização com o Aptima SARS-CoV-2 Assay e podem ser testados com agrupamento de amostras: espécimes de esfregaço nasofaríngeo, orofaríngeo, do corneto médio e nasais colhidos para meios de transporte de espécimes (STM). Cada grupo de amostras deve ser composto por espécimes preparados de STM sem diluição. O fluxo de trabalho de agrupamento de amostras recomendado é fornecido abaixo.

Espécimes colhidos em tubos de colheita com 2,9 ml de STM

Instruções de preparação de espécimes para amostras agrupadas diretamente num tubo genérico

Efetue o procedimento seguinte ao agrupar espécimes colhidos em 2,9 ml de STM transferindo os espécimes individuais diretamente para um tubo vazio de acordo com as especificações do *Manual de instruções do Panther ou Panther Fusion System*.

- A. Obtenha um tubo vazio compatível com o Panther System.
- B. Determine o volume adequado necessário de cada espécime individual com base no tamanho do grupo a ser implementado. Os espécimes colhidos em 2,9 ml de STM não necessitam de diluição adicional com STM antes dos testes.

Nota: O volume combinado recomendado de cada espécime individual depende das dimensões do tubo a ser utilizado. Um representante da Hologic pode fornecer recomendações sobre os requisitos mínimos de volume para o processamento no Panther System.

- C. Antes de proceder aos testes no Panther System, transfira cuidadosamente o volume determinado de cada espécime individual dos tubos com 2,9 ml de STM para o tubo vazio.
- D. Certifique-se de que mistura homogeneamente cada grupo de amostras preparado.
- E. Guarde os espécimes individuais para testes adicionais, se necessário.

Panther System

Os reagentes do Aptima SARS-CoV-2 Assay para o Panther System estão indicados abaixo. Os símbolos de identificação do reagente também estão indicados junto ao nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit Aptima SARS-CoV-2 Assay PRD-06419

250 testes (2 caixas)

Caixa refrigerada Aptima SARS-CoV-2 (Caixa 1 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade Kit de 250 testes |
|-----------|--|------------------------------------|
| A | Reagente de amplificação Aptima SARS-CoV-2 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada com < 5% de agente de volume.</i> | 1 frasco |
| E | Reagente enzimático Aptima SARS-CoV-2 <i>Transcriptase reversa e RNA polimerase liofilizadas em solução tamponada com HEPES contendo < 10% de reagente de volume.</i> | 1 frasco |
| P | Reagente de sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Sondas de DNA quimioluminescentes não infecciosas liofilizadas em solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i> | 1 frasco |
| IC | Controlo interno Aptima SARS-CoV-2 | 1 frasco |

Caixa à temperatura ambiente Aptima SARS-CoV-2 (Caixa 2 de 2)
(conservar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

| Símbolo | Componente | Quantidade Kit de 250 testes |
|------------|---|------------------------------------|
| AR | Solução de reconstituição da amplificação Aptima SARS-CoV-2 <i>Solução aquosa com conservantes.</i> | 1 x 27,7 ml |
| ER | Solução de reconstituição enzimática Aptima SARS-CoV-2 <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensioativo e glicerol.</i> | 1 x 11,1 ml |
| PR | Solução de reconstituição de sonda Aptima SARS-CoV-2 <i>Solução tamponada com succinato contendo < 5% de detergente.</i> | 1 x 35,4 ml |
| S | Reagente de seleção Aptima SARS-CoV-2 <i>Solução tamponada com borato a 600 mM e com surfactante.</i> | 1 x 108 ml |
| TCR | Reagente de captura do alvo Aptima SARS-CoV-2 <i>Solução salina tamponada com fase sólida e oligómeros de captura.</i> | 1 x 54 ml |
| | Aros de reconstituição | 3 |
| | Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre | 1 folha |

Materiais necessários, mas disponíveis em separado

Nota: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm a indicação dos códigos de produto, a menos que o contrário seja especificado.

| | <u>Cód. produto</u> |
|---|---|
| Panther System | 303095 |
| Kit de fluidos Aptima Assay (<i>Solução de lavagem Aptima, Tampão para o fluido de desativação Aptima e Reagente de óleo Aptima</i>) | 303014 (1000 testes) |
| Kit Auto Detect Aptima | 303013 (1000 testes) |
| Unidades multitubos (MTUs) | 104772-02 |
| Kit de sacos de resíduos Panther | 902731 |
| Tampa do recipiente de resíduos Panther ou Kit de execução Panther <i>contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, fluidos de ensaio e reagentes Auto Detect</i> | 504405 303096 (5000 testes) |
| Pontas, 1000 µl, com filtro, detecção de líquido, condutoras e descartáveis Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região | 901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 |
| Kit de controlos Aptima SARS-CoV-2 <i>PC - Controlo positivo Aptima SARS-CoV-2. Ácido nucleico não infeccioso em solução tamponada com < 5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 ml</i> <i>NC - Controlo negativo Aptima SARS-CoV-2. Solução tamponada com < 5% de detergente. Quantidade 5 x 1,7 ml</i> | PRD-06420 |
| Kit de colheita de espécimes de esfregaço multiteste Aptima | PRD-03546 |
| Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - CLASSIQSwabs | PRD-06951 |
| Hologic Direct Load Capture Cap Collection Kit - FLOQSwabs | PRD-06952 |
| Kit de colheita RespDirect da Hologic | PRD-07403 |
| Kit de transferência de espécimes Aptima | 301154C |
| Kit de transferência de espécimes Aptima - imprimível | PRD-05110 |
| Kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina | 301041 |
| Tubos de Lise de Espécimes Panther Fusion, 100 por embalagem <i>o tubo contém 0,71 ml de STM com tampa perfurável</i> | PRD-04339 |
| Tubos de lise de espécimes Hologic, 100 cada <i>o tubo contém 0,71 ml de STM com tampa rígida</i> | PRD-06554 |
| Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M) | — |
| Luvras sem pó descartáveis | — |
| Tampas não perfuráveis de substituição | 504415 |

| | <u>Cód. produto</u> |
|--|---------------------|
| Tampa rígida Hologic para utilização com PRD-06951* e PRD-06952*, 100 tampas por embalagem <i>*uma tampa de utilização única para o Tubo com tampa de captura de carga direta Hologic (PRD-06951 e PRD-06952) depois dos testes como parte do fluxo de trabalho sem tampa</i> | PRD-07028 |
| Tampas de substituição para kits de 250 testes <i>Soluções de reconstituição dos reagentes de amplificação e de sonda</i> | — |
| | CL0041 (100 tampas) |
| <i>Solução de reconstituição do reagente enzimático TCR e reagente de seleção</i> | 501616 (100 tampas) |
| | CL0040 (100 tampas) |

Materiais opcionais

| | <u>Cód. produto</u> |
|---|---------------------|
| Intensificador de lixívia Hologic para limpeza <i>para a limpeza de rotina de superfícies e equipamentos</i> | 302101 |
| Dispositivo de agitação de tubos por oscilação | — |
| Vórtex multitubos | 102160G |
| Vórtex de bancada | — |

Procedimento de teste no Panther System

Nota: Consulte o Manual de instruções do Panther/Panther System para obter mais informações sobre o procedimento.

A. Preparação da área de trabalho

Limpe as superfícies de trabalho onde serão preparados os reagentes e as amostras. Limpe as superfícies de trabalho com 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M) de solução de hipoclorito de sódio. Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante pelo menos 1 minuto e depois enxague com água. Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada na qual vai preparar os reagentes e as amostras com uma proteção limpa e absorvente com forro de plástico.

B. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

Nota: A reconstituição dos reagentes deve ser realizada antes de iniciar qualquer trabalho no Panther System.

1. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente enzimático e o reagente de sonda, combine os frascos de reagente liofilizado com a solução de reconstituição. Se estiverem refrigeradas, deixe as soluções de reconstituição atingirem a temperatura ambiente antes de utilizá-las.
 - a. Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado. Certifique-se de que a solução de reconstituição e o reagente têm cores de rótulo correspondentes antes de inserir o aro de reconstituição.
 - b. Verifique os números do lote na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - c. Abra o frasco de vidro do reagente liofilizado e insira firmemente a extremidade ranhurada do aro de reconstituição na abertura do frasco de vidro (Figura 1, Passo 1).
 - d. Abra a solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - e. Enquanto segura o frasco da solução de reconstituição sobre a bancada, insira com firmeza a outra extremidade do aro de reconstituição na abertura do frasco (Figura 1, Passo 2).
 - f. Inverta lentamente os frascos preparados. Deixe passar a solução do frasco de plástico para o frasco de vidro (Figura 1, Passo 3).
 - g. Misture bem a solução no frasco de vidro por agitação (Figura 1, Passo 4).
 - h. Aguarde até que o reagente liofilizado entre na solução e, em seguida, inverta novamente os frascos preparados, inclinando-os num ângulo de 45° para reduzir ao mínimo a formação de espuma (Figura 1, Passo 5). Deixe passar o líquido todo novamente para o frasco de solução de reconstituição.
 - i. Remova o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 6).
 - j. Volte a colocar a tampa do frasco de plástico. Registe as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 1, Passo 7).
 - k. Elimine o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 1, Passo 8).

Opção: É permitida a mistura adicional dos reagentes de amplificação, enzimático e de sonda utilizando um agitador de tubos. Os reagentes podem ser misturados

colocando o frasco de plástico tapado num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 5 minutos.

Advertência: evite formar espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do Panther System.

Advertência: É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.

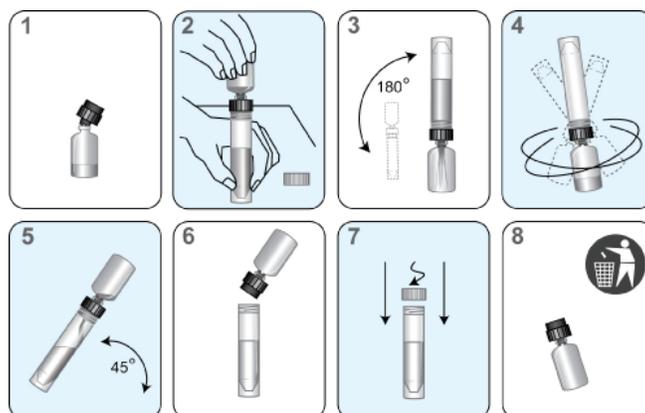


Figura 1. Processo de reconstituição no Panther System

2. Prepare o reagente de captura do alvo de trabalho (wTCR)
 - a. Emparelhe os frascos adequados de TCR e de IC.
 - b. Verifique os números de lote do reagente na Ficha de Códigos de Barras do Lote Mestre para garantir que emparelhou os reagentes adequados do kit.
 - c. Abra o frasco de TCR e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - d. Abra o frasco de IC e deite o conteúdo completo no frasco de TCR. Uma pequena quantidade de líquido poderá permanecer no frasco de IC.
 - e. Feche o frasco de TCR e agite suavemente a solução para misturar o conteúdo. Evite formar espuma durante este passo.
 - f. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.
 - g. Deite fora o frasco de IC e a tampa.
3. Prepare o reagente de seleção
 - a. Verifique o número de lote no frasco de reagente para se certificar de que corresponde ao número de lote da Folha do código de barras do lote mestre.
 - b. Registe as iniciais do operador e a data atual na etiqueta.

Nota: Misture bem todos os reagentes, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes.

C. Preparação de reagentes para reagentes previamente reconstituídos

1. Os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda previamente reconstituídos devem atingir a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) antes do início do ensaio.

Opção: Os reagentes podem ser colocados à temperatura ambiente colocando os reagentes de amplificação, enzimático e de sonda reconstituídos num agitador de tubos definido para 20 RPM (ou equivalente) durante um mínimo de 25 minutos.

2. Se o reagente de sonda reconstituído contiver um precipitado que não regresse à solução à temperatura ambiente, aqueça o frasco tapado a uma temperatura não superior a 62 °C durante 1 a 2 minutos. Após este passo de aquecimento, o reagente de sonda pode ser utilizado mesmo que contenha resíduos de precipitado. Misture o reagente de sonda por inversão, tendo o cuidado de não induzir a formação de espuma, antes de o carregar para o sistema.
 3. Misture bem cada reagente, invertendo-os suavemente antes de os colocar no sistema. Evite formar espuma durante a inversão dos reagentes. Este passo não é necessário se os reagentes forem carregados no sistema diretamente após a mistura no agitador de tubos.
 4. Não ateste frascos de reagente. O Panther System reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.
 5. *É necessário efetuar uma mistura adequada dos reagentes para obter os resultados esperados do ensaio.*
- D. Manuseamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion ou o Tubo de transferência de espécimes Aptima

Nota: *Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção Colheita e conservação de espécimes, antes de carregar espécimes no Panther System.*

1. Inspeccione os tubos de amostras antes de colocá-los no suporte. Se um tubo de amostra tiver bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para transportar o conteúdo para o fundo.

Nota: *Para amostras transferidas para o Tubo de lise de espécimes Panther Fusion ou o Tubo de transferência de espécimes Aptima, para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo. Quando é adicionado o espécime colhido adequado ao tubo, há volume suficiente para executar três extrações de ácido nucleico.*

- E. Manuseamento de espécimes utilizando o Tubo de lise de espécimes Hologic

1. Prepare os espécimes de acordo com as instruções de processamento de espécimes na secção Colheita e conservação de espécimes.

Nota: *Para amostras transferidas para o Tubo de lise de espécimes Hologic, para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo.*

Nota: *Quando é adicionado o espécime colhido adequado ao Tubo de lise de espécimes Hologic (PRD-06554), há volume suficiente para executar 2 extrações de ácido nucleico.*

Nota: *Ao utilizar o software de ensaio para tubos sem tampa Aptima SARS-CoV-2, retire a tampa do controlo positivo e negativo antes de carregar no Panther System.*

Nota: *Para o Tubo de carga direta intensificada (Kit de colheita RespDirect), existe volume suficiente para executar 4 extrações de ácido nucleico.*

- F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do *Manual de instruções do Panther/ Panther Fusion System* e das *Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Carregue as amostras.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. Para trabalhar corretamente com o software Aptima Assay para o Panther system, é necessário um par de controlos. Os controlos positivo e negativo Aptima SARS-CoV-2 podem ser carregados em qualquer posição do suporte ou em qualquer corredor da zona de amostras do Panther system. A pipetagem de espécimes do paciente começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.
 - b. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
2. Depois dos tubos dos controlos serem pipetados e estarem a ser processados para um kit de reagentes específico, os espécimes do paciente podem ser testados com o kit associado até um período máximo de 24 horas a menos que:
 - a. Os resultados dos controlos sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. Cada tubo de controlo Aptima só pode ser testado uma única vez. A tentativa de pipetar mais do que uma vez pode dar origem a erros de processamento.
4. A pipetagem do espécime do paciente começa quando se verifica uma das seguintes condições:
 - a. São registados resultados válidos para os controlos no sistema.
 - b. Um par de controlos está a ser processado pelo sistema.

B. Temperatura

A temperatura ambiente definida situa-se entre 15 °C e 30 °C.

C. Pó das luvas

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de pó em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. Recomenda-se a utilização de luvas sem pó.

D. Protocolo de monitorização da contaminação do laboratório para o Panther System

Existem vários fatores específicos de cada laboratório que podem contribuir para a contaminação, incluindo o volume de testes, o fluxo de trabalho, a prevalência das doenças e diversas outras atividades laboratoriais. Estes fatores devem ser tidos em conta ao estabelecer a frequência de monitorização da contaminação. Devem estabelecer-se intervalos de monitorização da contaminação com base nas práticas e procedimentos de cada laboratório.

Para monitorizar a contaminação do laboratório, pode realizar-se o procedimento seguinte com o kit unissexo Aptima de colheita de espécimes de esfregaço endocervical e da uretra masculina:

1. Rotule os tubos de transporte de zaragatoas com os números correspondentes às áreas a testar.
2. Retire a zaragatoa de colheita do espécime (zaragatoa de haste azul com impressão verde) da embalagem, humedeça-a no meio de transporte de espécimes (STM) e recolha a amostra na área designada com um movimento circular.
3. Insira imediatamente a zaragatoa no tubo de transporte.

4. De forma cuidadosa, quebre a haste da zaragatoa na linha marcada; seja cuidadoso para evitar salpicar o conteúdo.
 5. Coloque a tampa do tubo de transporte de zaragatoas e aperte bem.
 6. Repita os passos 2 a 5 nas áreas nas quais deseje recolher amostras.
- E. Se os resultados forem positivos, consulte a secção *Interpretação de resultados*. Para obter mais informações de monitorização da contaminação específicas para o Panther system, contacte o suporte técnico da Hologic.

Controlo de qualidade

Um resultado de espécime ou execução poderá ser invalidado pelo Panther system se ocorrerem problemas durante a realização do ensaio. Os espécimes com resultados inválidos devem ser novamente testados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, deve ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Deve ser testada uma réplica do controlo do ensaio negativo e do controlo do ensaio positivo sempre que é carregado um novo kit no Panther System ou quando o conjunto de controlos válidos atuais tiver expirado.

O Panther System está configurado para necessitar que os controlos de ensaio sejam executados num intervalo (especificado pelo administrador) de até 24 horas. O software do Panther System alerta o operador quando os controlos de ensaio são necessários e não começa novos testes até os controlos de ensaio terem sido carregados e o processamento ter sido inicializado.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos de ensaio são automaticamente verificados pelo Panther System. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar por uma série de verificações de validade no Panther System.

Se os controlos de ensaio passarem todas as verificações de validade, estes serão considerados como válidos para o intervalo de tempo especificado pelo administrador. Quando o intervalo de tempo passar, os controlos de ensaio serão expirados pelo Panther System, o que requer que um novo conjunto de controlos de ensaio seja testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos de ensaio falhar as verificações de validade, o Panther System irá automaticamente invalidar as amostras afetadas, e um novo conjunto de controlos de ensaio deverá ser testado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Controlo interno

Um controlo interno é adicionado a cada amostra com o wTCR. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do Panther System. A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para os alvos de SARS-CoV-2; as amostras que não cumprem este critério são comunicadas como inválidas. Cada amostra com um resultado inválido deve ser analisada novamente.

O Panther System foi concebido para verificar os processos com precisão, quando os procedimentos são feitos de acordo com as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System*.

Interpretação de resultados

O Panther System determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. O resultado de um teste pode ser negativo, positivo ou inválido.

A Tabela 1 apresenta os possíveis resultados comunicados numa execução válida, incluindo a interpretação dos mesmos.

Tabela 1: Interpretação de resultados

| Resultado SARS-CoV-2 | Resultado do IC | Interpretação |
|----------------------|--------------------|---|
| Neg | Válido | SARS-CoV-2 não detetado. |
| POS | Válido | SARS-CoV-2 detetado. |
| Invalid (Inválido) | Invalid (Inválido) | Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra. |

Nota: A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2.

Interpretação de resultados de amostras agrupadas

Negativo: Os resultados negativos de testes de amostras agrupadas não devem ser tratados como definitivos. Se os sinais clínicos e sintomas do paciente forem inconsistentes com um resultado negativo e os resultados forem necessários para a gestão do paciente, então este deve ser considerado para um teste individual. A utilização de agrupamento de amostras deve ser indicada para quaisquer espécimes com resultados negativos comunicados.

Positivo: Os espécimes com um resultado do grupo de amostras positivo devem ser testados individualmente antes da comunicação de um resultado. Os espécimes com baixas cargas virais podem não ser detetados em grupos de amostras devido à sensibilidade diminuída dos testes agrupados.

Inválido: Os espécimes com um resultado inválido devem ser testados individualmente antes da comunicação de um resultado. No entanto, nos casos de uma execução inválida, poderá ser adequada a repetição dos testes de espécimes agrupados, dependendo do fluxo de trabalho do laboratório e do tempo de comunicação dos resultados exigido.

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada ao pessoal que tem a formação profissional para tal. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode produzir resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da recolha, transporte, conservação e processamento adequados dos espécimes.
- C. A contaminação só pode ser evitada através da adesão às boas práticas laboratoriais e aos procedimentos especificados neste folheto informativo.
- D. Um resultado positivo indica a deteção de ácido nucleico do vírus em causa. O ácido nucleico pode persistir mesmo depois de o vírus deixar de ser viável.
- E. A utilização do Aptima SARS-CoV-2 Assay numa população geral de rastreio assintomática destina-se a ser integrada num plano de controlo da infeção, que pode incluir medidas preventivas adicionais, tais como um plano de testes em série predefinido ou a testagem direta de indivíduos de alto risco. Os resultados negativos devem ser considerados como presumíveis e não excluem infeção atual ou futura contraída por transmissão comunitária ou outras exposições. Os resultados negativos devem ser considerados no contexto das exposições recentes do indivíduo, a história e a presença de sinais e sintomas clínicos consistentes com COVID-19.
- F. Os indivíduos assintomáticos infetados por COVID-19 podem não excretar vírus suficiente para atingir o limite de deteção do teste, originando um resultado falso negativo.
- G. Na ausência de sintomas, é difícil determinar se os indivíduos assintomáticos foram testados demasiado tarde ou demasiado cedo. Assim, os resultados negativos em indivíduos assintomáticos podem incluir indivíduos que foram testados demasiado cedo e podem tornar-se positivos mais tarde, indivíduos que foram testados demasiado tarde e podem apresentar evidência serológica de infeção, ou indivíduos que nunca foram infetados.
- H. Foram validados os seguintes tipos de VTM/UTM.
- Formulações Remel MicroTest M4, M4RT, M5 ou M6
 - Meio de transporte universal Copan
 - Meio de transporte de vírus universal BD

Nota: Não use meios que possam conter tiocianato de guanidínio ou qualquer material que contenha guanidínio.

Desempenho do Panther SARS-CoV-2 Assay

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi determinada testando diluições em série de espécimes em VTM/UTM de esfregaços nasofaríngeos clínicos negativos processados enriquecidos com vírus SARS-CoV-2 inativados em cultura (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281) e Padrão internacional da OMS para o SARS-CoV-2, NIBSC (20/146). Para o vírus em cultura. Foram avaliadas dez réplicas de cada diluição em série utilizando cada um de dois lotes de reagentes do ensaio em dois sistemas Panther. O LoD foi determinado como sendo de 0,01 TCID₅₀/ml na amostra de teste e verificado testando 20 réplicas adicionais com um lote de reagente do ensaio. O LoD também foi confirmado utilizando os meios de colheita de esfregaços soro fisiológico, Amies líquido e meio de transporte de espécimes (STM). Para o Padrão internacional da OMS, foi testado um mínimo de 24 réplicas com cada um dos três lotes de reagentes utilizando a análise probit para cada lote e confirmado com 24 réplicas adicionais utilizando um único lote. A concentração mais baixa à qual se observou ≥95% de detecção foi 87,5 UI/ml (224 UI/ml na amostra não diluída e não processada). A confirmação do LoD também foi efetuada com o Kit de colheita RespDirect em vinte e quatro réplicas com um único lote de reagentes e observou-se ≥95% de detecção a 27,7 - 87,5 UI/ml.

Foi realizado um estudo com uma concepção semelhante para determinar a sensibilidade analítica do Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizando espécimes de saliva. A matriz de espécimes de saliva clínicos negativos agrupados foi enriquecida com vírus SARS-CoV-2 inativados em cultura (USA-WA1/2020; BEI Resources; NR-52281). O LoD foi determinado como sendo de 0,01 TCID₅₀/ml na amostra de teste, correspondendo a uma concentração de 0,13 TCID₅₀/ml no espécime de saliva colhido.

A sensibilidade analítica do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi também avaliada utilizando material de referência de três fornecedores externos. Foram efetuadas diluições em série do material de referência em STM e foram testadas 20 ou mais réplicas em cada nível utilizando cada um de dois lotes de reagentes do ensaio em dois Panther Systems. Os materiais de referência e os níveis de diluição mais baixos resultando numa detecção ≥ 95% são indicados na Tabela 2.

Tabela 2: Avaliação da sensibilidade analítica de material de referência comercial

| Fornecedor | Nome | N.º de referência | N.º de lote | Sensibilidade analítica |
|------------------|--|-------------------|-------------|-------------------------|
| ZeptoMetrix | SARS-CoV-2 External Run control | NATSARS(COV2)-ERC | 324332 | 83 cópias/ml |
| SeraCare | AccuPlex SARS-Cov-2 Reference Material | 0505-0126 | 10483977 | 83 cópias/ml |
| Exact Diagnostic | SARS-CoV-2 Standard | COV019 | 20033001 | 83 cópias/ml |

Sensibilidade analítica com o fluxo de trabalho do tubo de transferência de espécimes Aptima

A sensibilidade analítica determinada de 0,01 TCID₅₀/ml (limite de detecção) do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi confirmada utilizando o fluxo de trabalho de preparação de espécimes do Tubo de transferência de espécimes Aptima. A confirmação foi efetuada utilizando vírus SARS-CoV-2 inativados em cultura (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) nos meios de colheita de esfregaços esfregaço nasofaríngeo clínico negativo, soro fisiológico, Amies líquido e meio de transporte de espécimes (STM) testando 20 réplicas com um lote de reagente (Tabela 3).

Tabela 3: Confirmação do LoD com o fluxo de trabalho de transferência de espécimes Aptima

| Alvo | Matriz | N Válido | N Positivo | % Positivo | Méd. kRLU | Desv.Pad. kRLU | %CV |
|----------------------------|------------------|----------|------------|------------|-----------|----------------|-------|
| Vírus SARS-CoV-2 inativado | Esfregaço nasof. | 20 | 20 | 100% | 1063 | 61 | 5,8% |
| | STM | 20 | 20 | 100% | 1064 | 116 | 10,9% |
| | Soro fisiológico | 20 | 20 | 100% | 1102 | 60 | 5,4% |
| | Amies líquido | 20 | 20 | 100% | 1101 | 51 | 4,7% |

Inclusividade

A inclusividade do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada utilizando análises *in silico* dos oligômeros de captura do alvo, “primers” de amplificação e sondas de detecção do ensaio em relação a 9896 sequências de SARS-CoV-2 disponíveis nas bases de dados de genes NCBI e GISAID. Todas as sequências com informação em falta ou ambígua foram removidas da análise, resultando em 9879 sequências avaliadas para a primeira região alvo do ensaio e 9880 para a segunda região alvo. A análise *in silico* demonstrou 100% de homologia com os oligômeros do ensaio de ambos os sistemas alvo em 9749 (98,5%) das sequências avaliadas e 100% de homologia com os oligômeros do ensaio de, pelo menos, um sistema alvo em todas as 9896 sequências. Não houve sequências avaliadas com não correspondências identificadas que se preveja possam afetar a ligação ou o desempenho de ambos os sistemas alvo.

Especificidade analítica e interferência microbiana

A especificidade analítica do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliada testando 30 micro-organismos representando agentes patogênicos respiratórios comuns ou espécies estreitamente relacionadas (Tabela 4). As bactérias foram testadas a 10⁶ CFU/ml e os vírus foram testados a 10⁵ TCID₅₀/ml, exceto indicação em contrário. Os micro-organismos foram testados com e sem a presença de vírus SARS-CoV-2 inativado a 3x LoD. A especificidade analítica do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi de 100% sem evidência de interferência microbiana.

Além dos testes de micro-organismos, foi efetuada a análise *in silico* para avaliar a especificidade do ensaio em relação aos micro-organismos indicados na Tabela 4. A análise *in silico* não demonstrou reatividade cruzada provável com qualquer das 112 sequências da base de dados GenBank avaliadas.

Tabela 4: Especificidade analítica e micro-organismos de interferência microbiana do Aptima SARS-CoV-2

| Micro-organismo | Concentração | Micro-organismo | Concentração |
|---|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| Coronavírus humano 229E | 1E+5 TCID ₅₀ /ml | Vírus parainfluenza 1 | 1E+5 TCID ₅₀ /ml |
| Coronavírus humano OC43 | 1E+5 TCID ₅₀ /ml | Vírus parainfluenza 2 | 1E+5 TCID ₅₀ /ml |
| Coronavírus humano HKU1 ¹ | 1E+6 cópias/ml | Vírus parainfluenza 3 | 1E+5 TCID ₅₀ /ml |
| Coronavírus humano NL63 | 1E+4 TCID ₅₀ /ml | Vírus parainfluenza 4 | 1E+3 TCID ₅₀ /ml |
| SARS-coronavírus ¹ | 1E+6 cópias/ml | Influenza A | 1E+5 TCID ₅₀ /ml |
| MERS-coronavírus | 1E+4 TCID ₅₀ /ml | Influenza B | 2E+3 TCID ₅₀ /ml |
| Adenovírus (por ex., C1 Ad. 71) | 1E+5 TCID ₅₀ /ml | Enterovírus (por ex., EV68) | 1E+5 TCID ₅₀ /ml |
| Metapneumovírus humano (hMPV) | 1E+6 TCID ₅₀ /ml | Rinovírus | 1E+4 TCID ₅₀ /ml |
| Vírus sincicial respiratório | 1E+5 TCID ₅₀ /ml | <i>Legionella pneumophila</i> | 1E+6 CFU/ml |
| <i>Chlamydia pneumoniae</i> | 1E+6 IFU/ml | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | 1E+6 TCID ₅₀ /ml |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | 1E+6 CFU/ml | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1E+6 CFU/ml |
| <i>Bordetella pertussis</i> | 1E+6 CFU/ml | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 1E+6 CFU/ml |
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP) | 1E+6 nuc/ml | <i>Streptococcus salivarius</i> | 1E+6 CFU/ml |
| <i>Candida albicans</i> | 1E+6 CFU/ml | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 1E+6 CFU/ml |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 1E+6 CFU/ml | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1E+6 CFU/ml |
| Lavado nasal humano agrupado ² - para representar flora microbiana diversa do trato respiratório humano | N/D | | |

¹ Não estão prontamente disponíveis vírus em cultura e ácido nucleico purificado de genoma completo para coronavírus humano HKU1 e SARS-coronavírus. Utilizaram-se IVT de HKU1 e SARS-coronavírus correspondentes às regiões do gene ORF1ab alvo do ensaio para avaliar a reatividade cruzada e a interferência microbiana.

² Em vez da avaliação de lavado nasal humano agrupado, foram realizados testes a 30 espécimes de esfregaços nasofaríngeos clínicos negativos individuais para representar a flora microbiana diversa do trato respiratório humano.

Equivalência dos dispositivos de colheita

A equivalência entre os espécimes nasofaríngeos colhidos em VTM/UTM e espécimes nasofaríngeos e nasais colhidos em RespDirect (eSTM) foi avaliada testando espécimes negativos individuais e painéis positivos artificiais preparados a partir de espécimes de esfregaços nasofaríngeos e nasais clínicos negativos emparelhados colhidos em pacientes com sintomas de infecção respiratória. Os painéis artificiais foram preparados enriquecendo espécimes nasofaríngeos e nasais emparelhados de doadores individuais com Padrão internacional da OMS para SARS-CoV-2 a 2X e 5X LoD.

Os resultados dos painéis negativo e artificial demonstraram uma concordância semelhante entre os dois dispositivos de colheita e tipos de espécimes (Tabela 5).

Tabela 5: Resultados dos painéis negativo e artificial compostos por espécimes clínicos individuais emparelhados, colhidos com cada dispositivo de colheita, enriquecidos com SARS-CoV-2

| Analito | Concentração da amostra | N por dispositivo de colheita | VTM/UTM % concordância | RespDirect-nasof. % concordância | RespDirect-nasal % concordância |
|---------------------------|-------------------------|-------------------------------|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Nenhum (amostra negativa) | 0 | 150 | 99,3 | 97,3 | 100 |
| SARS-CoV-2 | 2X LoD | 50 | 100 | 100 | 100 |
| | 5X LoD | 50 | 100 | 100 | 100 |

Desempenho clínico

Desempenho clínico em espécimes de esfregaço nasofaríngeo utilizando UTM/VTM

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado em comparação com o Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay (Hologic, Inc.) utilizando um painel de resíduos de espécimes clínicos. Para o estudo, foram colhidos resíduos de espécimes nasofaríngeos clínicos em doentes dos EUA com sinais e sintomas de infecção respiratória.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) foram calculadas em relação ao Panther Fusion assay como o resultado de referência, como mostra a Tabela 6. O Aptima SARS-CoV-2 Assay apresentou concordâncias positivas e negativas de 100% e 98,2%, respectivamente.

Lavado/aspirado nasofaríngeo, aspirados nasais, esfregaços nasais e esfregaços nasais do corneto médio são espécimes aceitáveis para testar infecções respiratórias virais. No entanto, o desempenho com estes tipos de espécimes não foi avaliado especificamente com o Aptima SARS-CoV-2 Assay.

Tabela 6: Concordância clínica do Aptima SARS-CoV-2

| | | Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay | |
|-------------------------|----------|---------------------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| Aptima SARS-CoV-2 Assay | Positivo | 50 | 1 |
| | Negativo | 0 | 54 |

Percentagem de concordância positiva: (IC de 95%): 100% (92,9% – 100%)

Percentagem de concordância negativa: (IC de 95%): 98,2% (90,4% – 99,7%)

Concordância geral: (IC de 95%): 99,0% (94,8% – 99,8%)

Desempenho clínico em espécimes de esfregaço nasal anterior colhidos utilizando o Kit de colheita RespDirect

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay em espécimes de esfregaço nasal anterior colhidos utilizando a nova zaragatoa de colheita RespDirect em meio de transporte de espécimes intensificado (eSTM) de indivíduos que notificaram sintomas de infecção respiratória consistentes com COVID-19 foi avaliado neste estudo multicêntrico. Foram colhidos prospectivamente dois espécimes de cada indivíduo, um espécime em meio de transporte viral (VTM) colhido por um profissional de saúde qualificado utilizando uma zaragatoa flocada padrão e um espécime em eSTM RespDirect colhido por um profissional de saúde ou pelo paciente (sob supervisão de um profissional de saúde) utilizando a zaragatoa de colheita RespDirect. Todos os espécimes de esfregaço nasal anterior incluídos no esfregaço foram colhidos entre janeiro de 2023 e fevereiro de 2023.

Todos os espécimes de esfregaço nasal anterior em eSTM RespDirect foram testados com o Aptima SARS-CoV-2 Assay em três locais de teste clínicos dos EUA. Todos os espécimes de esfregaço nasal anterior em VTM foram testados com dois NAAT com EUA para estabelecer o estado de infecção por SARS-CoV-2 com base num algoritmo comparador composto. Qualquer amostra positiva por qualquer um dos ensaios comparadores produziu um estado de infecção por SARS-CoV-2 positivo; os resultados de ambos os ensaios comparadores tinham de ser negativos para originar um estado de infecção por SARS-CoV-2 negativo. A percentagem de concordância positiva (PPA) e negativa (NPA) foi calculada em relação ao estado de infecção por SARS-CoV-2.

A PPA e a NPA globais foram de 96,1% e 97,1%, respectivamente, para o Aptima SARS-CoV-2 Assay em espécimes nasais anteriores colhidos em eSTM RespDirect em indivíduos sintomáticos, conforme mostra a Tabela 7. Os valores de Ct para as amostras de esfregaço nasal anterior com estado de infecção por SARS-CoV-2 positivo situaram-se entre 18,18 e 35,71 (média: 27,14) para NAAT 1 e 15,3 e 44,5 (média: 26,50) para NAAT 2. Os cinco espécimes de esfregaço nasal anterior com resultados positivos falsos não foram novamente testados com um NAAT alternativo.

Tabela 7: Desempenho clínico em espécimes de esfregaço nasal anterior com eSTM RespDirect

| | | Estado de infecção por SARS-CoV-2 | |
|-------|----------|-----------------------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| Geral | Positivo | 49 | 5 |
| | Negativo | 2 | 169 |
| | | PPA: 96,1% (86,8% - 98,9%) | |
| | | NPA: 97,1% (93,5% - 98,8%) | |

Desempenho clínico com o painel artificial

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizando o fluxo de trabalho de preparação de espécimes do Tubo de transferência de espécimes Aptima foi avaliado em comparação com um painel de espécimes artificiais. Para o estudo, foi testado um painel de 115 resíduos de espécimes nasofaríngeos clínicos utilizando os fluxos de trabalho do Tubo de lise de espécimes Panther Fusion (Tubo de lise de espécimes) e do Tubo de transferência de espécimes Aptima. Todos os espécimes foram colhidos em doentes dos EUA com sinais e sintomas de infecção respiratória. O painel consistiu em 65 espécimes positivos para SARS-CoV-2 e 50 espécimes negativos para SARS-CoV-2. Dos 65 espécimes positivos, 40 foram em concentrações de 0,5-2x LoD e 25 em concentrações de 3-5x LoD utilizando vírus SARS-CoV-2 inativados em cultura (USA-QA1/2020; BEI Resources; NR-52281) como alvo.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) para ambos os fluxos de trabalho de preparação de espécimes foram calculadas em relação ao resultado esperado do painel de espécimes artificiais, como mostra a Tabela 8 para o Tubo de transferência de espécimes Aptima e a Tabela 9 para o Tubo de lise de espécimes. As características de detecção dos espécimes artificiais foram calculadas por concentração alvo, como mostra a Tabela 10. Ambos os fluxos de trabalho de preparação de espécimes demonstraram uma concordância de 100% nos painéis avaliados.

Tabela 8: Desempenho do fluxo de trabalho do Tubo de transferência de espécimes Aptima em relação aos resultados esperados

| | | Resultado esperado | | |
|--|----------|--------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado da transferência de espécimes Aptima | Positivo | 65 | 0 | 65 |
| | Negativo | 0 | 50 | 50 |
| Total | | 65 | 50 | 115 |

Concordância geral: 100% (96,8% – 100%)
 Concordância positiva: 100% (94,4% – 100%)
 Concordância negativa: 100% (92,9% – 100%)

Tabela 9: Desempenho do fluxo de trabalho do Tubo de lise de espécimes em relação aos resultados esperados

| | | Resultado esperado | | |
|--|----------|--------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado do Tubo de lise de espécimes | Positivo | 65 | 0 | 65 |
| | Negativo | 0 | 50 | 50 |
| | Total | 65 | 50 | 115 |

Concordância geral: 100% (96,8% – 100%)

Concordância positiva: 100% (94,4% – 100%)

Concordância negativa: 100% (92,9% – 100%)

Tabela 10: Características de detecção de espécimes de esfregaços nasofaríngeos artificiais

| Conc. alvo | Fluxo de trabalho de amostras de transferência de espécimes Aptima | | | | | | Fluxo de trabalho de amostras do tubo de lise de espécimes | | | | | |
|------------|--|------------|------------|------------|-----------------|------|--|------------|------------|------------|-----------------|-----|
| | n Válido | n Positivo | % Positivo | Média kRLU | Desv. pad. kRLU | %CV | n Válido | n Positivo | % Positivo | Média kRLU | Desv. pad. kRLU | %CV |
| Neg | 50 | 0 | 0 | 299 | 9,7 | 3,2 | 50 | 0 | 0 | 300 | 9,3 | 3,1 |
| 0,5x LoD | 10 | 10 | 100 | 1050 | 208,5 | 19,9 | 10 | 10 | 100 | 1153 | 113,0 | 9,8 |
| 1,0x LoD | 10 | 10 | 100 | 1176 | 102,1 | 8,7 | 10 | 10 | 100 | 1205 | 24,3 | 2,0 |
| 1,5x LoD | 10 | 10 | 100 | 1222 | 31,6 | 2,6 | 10 | 10 | 100 | 1223 | 21,9 | 1,8 |
| 2,0x LoD | 10 | 10 | 100 | 1225 | 22,6 | 1,8 | 10 | 10 | 100 | 1237 | 26,0 | 2,1 |
| 3,0x LoD | 10 | 10 | 100 | 1228 | 13,6 | 1,1 | 10 | 10 | 100 | 1215 | 25,5 | 2,1 |
| 4,0x LoD | 5 | 5 | 100 | 1238 | 16,7 | 1,4 | 5 | 5 | 100 | 1212 | 12,5 | 1,0 |
| 5,0x LoD | 10 | 10 | 100 | 1237 | 18,2 | 1,5 | 10 | 10 | 100 | 1246 | 28,3 | 2,3 |

Desempenho clínico com espécimes positivos infetados naturalmente

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizando o fluxo de trabalho de preparação de espécimes do Tubo de transferência de espécimes Aptima foi avaliado em comparação com o fluxo de trabalho do Tubo de lise de espécimes com ambos os ensaios Aptima e Panther Fusion SARS-CoV-2. Para o estudo, foram preparadas e processadas três diluições de 15 espécimes de esfregaços nasofaríngeos únicos positivos para SARS-CoV-2 utilizando ambos os fluxos de trabalho. As amostras de SARS-CoV-2 foram previamente determinadas como sendo positivas utilizando um ensaio molecular não pertencente à Hologic.

A percentagem de concordância positiva entre o Aptima SARS-CoV-2 Assay utilizando os fluxos de trabalho do Tubo de transferência de espécimes Aptima e do Tubo de lise de espécimes foi de 97,5% (87,1% – 99,6%) e 100% (91,0% - 100%), respetivamente, quando comparada com o Panther Fusion SARS-CoV-2 assay utilizando o fluxo de trabalho do Tubo de lise de espécimes como referência. A percentagem de concordância positiva do fluxo de trabalho do Tubo de transferência de espécimes Aptima foi de 95,0% (83,5% - 98,6%) quando comparada com o fluxo de trabalho do Tubo de lise de espécimes como referência.

Desempenho clínico com espécimes de saliva

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay com espécimes de saliva foi avaliado em comparação com espécimes de esfregaços nasofaríngeos de 303 indivíduos que foram testados em simultâneo. Os 303 indivíduos incluíam 160 (52,8%) que estavam ligeiramente sintomáticos e 143 (47,2%) que estavam assintomáticos no momento da realização do teste. A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) para espécimes de saliva foram calculadas em relação aos espécimes de esfregaços nasofaríngeos como o resultado de referência, como mostra a Tabela 11. O Aptima SARS-CoV-2 Assay apresentou concordâncias positivas e negativas de 87,0% e 99,2% entre os tipos de espécimes, respetivamente.

Tabela 11: Concordância clínica do Aptima SARS-CoV-2 entre espécimes de saliva e de esfregaços nasofaríngeos

| | | Esfregaço nasof. | |
|--------|----------|------------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| Saliva | Positivo | 47 | 2 |
| | Negativo | 7 | 245 |

Nota: 2 espécimes geraram resultados inválidos.

Percentagem de concordância positiva: (IC de 95%): 87,0% (83,0% – 96,0%)

Percentagem de concordância negativa: (IC de 95%): 99,2% (97,1% – 99,9%)

Desempenho clínico em indivíduos assintomáticos

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay em indivíduos sem sinais nem sintomas de infeção respiratória (indivíduos assintomáticos) foi avaliado em comparação com um ensaio molecular com Autorização de utilização de emergência (EUA). Foram avaliados espécimes de esfregaços nasofaríngeos colhidos prospetivamente de pacientes dos EUA, incluindo 45 espécimes positivos para SARS-CoV-2 e 315 espécimes negativos para SARS-CoV-2 utilizando o ensaio comparador com EUA. A PPA e a NPA foram calculadas em relação aos resultados do ensaio comparador com EUA. A PPA e a NPA foram de 100% e 96,5%, respetivamente, para o Aptima SARS-CoV-2 Assay em indivíduos assintomáticos, conforme mostra a Tabela 12.

Tabela 12: Concordância clínica em espécimes de esfregaços nasofaríngeos de indivíduos assintomáticos

| | | Ensaio com EUA | |
|-------------------------|----------|----------------|----------|
| | | Positivo | Negativo |
| Aptima SARS-CoV-2 Assay | Positivo | 45 | 11 |
| | Negativo | 0 | 304 |

Percentagem de concordância positiva (PPA): 100% (92,1% – 100%)

Percentagem de concordância negativa (NPA): 96,5% (93,9% – 98,0%)

Seis (6) dos 11 espécimes de esfregaços nasofaríngeos com resultados positivos falsos foram confirmados como positivos após a repetição dos testes com o ensaio comparador com EUA. Os valores de Ct para estas 6 amostras situaram-se entre 35,5 e 38,9, sugerindo uma baixa carga viral.

Desempenho clínico do agrupamento de até 5 espécimes antes dos testes

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado em grupos compostos por até 5 espécimes. Para o estudo, foi avaliado um tamanho de grupo de 5 espécimes e incluiu grupos de espécimes positivos e negativos. Cada grupo de espécimes positivos era composto por um espécime positivo sendo os restantes espécimes negativos, enquanto que os grupos de espécimes negativos eram compostos apenas por espécimes negativos. Para o estudo, foram avaliados 50 grupos de espécimes positivos e 20 negativos. Os espécimes positivos utilizados no estudo abrangiam o intervalo detetável do ensaio e incluíam 20% de espécimes positivos baixos. Os espécimes para inclusão no estudo de desempenho clínico do agrupamento foram escolhidos com base nos resultados de Ct obtidos com o Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay. O Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay foi utilizado para este fim porque o Panther Fusion SARS-CoV-2 e o Aptima SARS-CoV-2 Assay têm o mesmo LoD quando avaliados com o painel de referência da FDA (ou seja, 600 NDU/ml). Os espécimes positivos baixos incluídos no estudo foram definidos como tendo um valor de Ct entre 1 e 2 Ct do LoD do Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay. Os espécimes agrupados e individuais foram avaliados com o Aptima SARS-CoV-2 Assay.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) foram calculadas em relação ao resultado (individual) esperado, como mostra a Tabela 13. Todos os espécimes positivos avaliados originaram um resultado positivo no grupo. Dado que os valores de kRLU do Aptima Assay não correspondem à concentração alvo, não foi efetuada a análise de sensibilidade do sinal e *in silico*.

Tabela 13: Concordância de espécimes individuais e agrupados com um tamanho de grupo de 5

| | | Resultado de espécimes individuais | | |
|---------------------------|----------|------------------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado dos grupos de 5 | Positivo | 50 | 0 | 50 |
| | Negativo | 0 | 20 | 20 |
| | Total | 50 | 20 | 70 |

Concordância geral: 100% (94,8% – 100,0%)

Concordância positiva: 100% (92,9% – 100,0%)

Concordância negativa: 100% (83,9% – 100,0%)

Desempenho clínico do agrupamento de até 5 espécimes de pacientes assintomáticos antes dos testes

O desempenho clínico do Aptima SARS-CoV-2 Assay foi avaliado em grupos de espécimes com espécimes colhidos de pacientes assintomáticos. Foram avaliados tamanhos de grupos de até 5 espécimes com espécimes de pacientes assintomáticos positivos e negativos. Cada grupo de espécimes positivos era composto por um espécime positivo sendo os restantes espécimes negativos, enquanto que os grupos de espécimes negativos eram compostos apenas por espécimes negativos. Para um tamanho de grupo de três, foram avaliados 32 grupos de espécimes positivos e 32 negativos. Para um tamanho de grupo de quatro, foram avaliados 36 grupos de espécimes positivos e 31 negativos. Para um tamanho de grupo de cinco, foram avaliados 36 grupos de espécimes positivos e 30 negativos. Os espécimes positivos utilizados no estudo abrangiam o intervalo detetável do ensaio e cada tamanho de grupo incluía 25% de espécimes positivos baixos. Os espécimes incluídos no estudo de desempenho clínico foram escolhidos com base nos resultados de Ct obtidos com o Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay. O Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay foi utilizado para este fim porque o Panther Fusion SARS-CoV-2 e o Aptima SARS-CoV-2 Assay têm o mesmo LoD quando avaliados com o painel de referência da FDA (ou seja 600 NDU/ml). Os espécimes positivos baixos incluídos no estudo foram definidos como tendo um valor de Ct entre 1 e 2 Ct do LoD do Panther Fusion SARS-CoV-2 Assay. Os espécimes agrupados e individuais foram avaliados com o Aptima SARS-CoV-2 Assay.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) foram calculadas em relação ao resultado (individual) esperado para cada tamanho de grupo avaliado, como mostra a Tabela 14, a Tabela 15 e a Tabela 16. Com um tamanho de grupo de três, um dos oito espécimes avaliados com uma concentração alvo no ou perto do LoD do ensaio originou um resultado positivo individual, mas não foi detetado como parte do grupo de espécimes. Com um tamanho de grupo de quatro, todos os espécimes positivos avaliados originaram um resultado positivo quando testados agrupados. Com um tamanho de grupo de cinco, cinco dos nove espécimes avaliados com concentrações alvo no ou perto do LoD do ensaio originaram um resultado positivo individual, mas não foram detetados como parte do grupo de espécimes. Dado que os valores de kRLU do Aptima Assay não correspondem às concentrações alvo, não foi efetuada a análise de sensibilidade do sinal e *in silico*.

Tabela 14: Concordância de espécimes de indivíduos assintomáticos e agrupados com um tamanho de grupo de 3

| | | Resultado de espécimes individuais | | |
|---------------------------|----------|------------------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado dos grupos de 3 | Positivo | 31 | 0 | 31 |
| | Negativo | 1 | 32 | 33 |
| | Total | 32 | 32 | 64 |

Concordância geral: 98,4% (91,7% – 99,7%)

Concordância positiva: 96,9% (84,3% – 99,4%)

Concordância negativa: 100% (89,3% – 100%)

Tabela 15: Concordância de espécimes de indivíduos assintomáticos e agrupados com um tamanho de grupo de 4

| | | Resultado de espécimes individuais | | |
|---------------------------|----------|------------------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado dos grupos de 4 | Positivo | 36 | 0 | 36 |
| | Negativo | 0 | 31 | 31 |
| | Total | 36 | 31 | 67 |

Concordância geral: 100% (94,6% – 100%)

Concordância positiva: 100% (90,4% – 100%)

Concordância negativa: 100% (89,0% – 100%)

Tabela 16: Concordância de espécimes de indivíduos assintomáticos e agrupados com um tamanho de grupo de 5

| | | Resultado de espécimes individuais | | |
|---------------------------|----------|------------------------------------|----------|-------|
| | | Positivo | Negativo | Total |
| Resultado dos grupos de 5 | Positivo | 31 | 0 | 31 |
| | Negativo | 5 | 30 | 35 |
| | Total | 36 | 30 | 66 |

Concordância geral: 92,4% (83,5% – 96,7%)

Concordância positiva: 86,1% (71,3% – 93,9%)

Concordância negativa: 100% (88,6% – 100%)

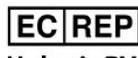
Bibliografia

1. **Organização Mundial da Saúde.** Q&A on coronaviruses (COVID-19). March 9, 2020. Web site da Organização Mundial da Saúde <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses>. Consultado em 10 de março de 2020.
2. **Centers for Disease Control and Prevention.** <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/prevent-getting-sick/how-covid-spreads.html>. Consultado em 17 de junho de 2020.
3. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) in the U.S. Updated March 10, 2020. Web site dos Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-in-us.html>. Consultado em 10 de março de 2020.
4. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019 Information for Travel. Página revista pela última vez em 8 de março de 2020. Web site dos Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/travelers/index.html>. Consultado em 10 de março de 2020.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Coronavirus Disease 2019-(COVID-19) Situation Summary. Atualizado a 9 de março de 2020. Web site dos Centers for Disease Control and Prevention <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summary.html>. Consultado em 10 de março de 2020.
6. **Clinical & Laboratory Standards Institute.** Document M29 Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Web site do CLSI <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/>. Consultado em setembro de 2017.

Informações de contacto



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Para obter o endereço de e-mail e o número de telefone da assistência técnica e do apoio ao cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther e Panther Fusion são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou respetivas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou noutros países.

Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais patentes nos Estados Unidos, as quais estão identificadas em: www.hologic.com/patents.

©2022-2023 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-22752-601 Rev. 005
2023-06