

SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay (Panther Fusion™ System)

Para utilização em diagnóstico *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	9
Panther Fusion System	10
Reagentes e materiais fornecidos para o Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay	10
Materiais necessários, mas disponíveis em separado	11
Procedimento de teste no Panther Fusion System	12
Notas sobre o procedimento	13
Controlo de qualidade	14
Interpretação de resultados	14
Limitações	17
Desempenho do SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay	18
Bibliografia	28

Informações gerais

Utilização prevista

O Panther Fusion™ SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay (Ensaio Panther Fusion™ SARS-CoV-2/ Gripe A/B/RSV) é um teste de RT-PCR em tempo real multiplex totalmente automatizado destinado à detecção qualitativa e diferenciação do RNA do vírus SARS-CoV-2, do vírus influenza A (gripe A), do vírus influenza B (gripe B) e do vírus sincicial respiratório (RSV) isolado e purificado de espécimes de esfregaço nasofaríngeo obtidos de indivíduos que apresentam sinais e sintomas de uma infecção do trato respiratório. Os sinais e sintomas clínicos de infecção respiratória viral devido a SARS-CoV-2, influenza e RSV podem ser semelhantes. Este ensaio visa ajudar no diagnóstico diferencial de infecções por SARS-CoV-2, pelo vírus influenza A, vírus influenza B e RSV em seres humanos, e não visa detectar infecções pelo vírus influenza C.

Os resultados negativos não excluem a presença de infecções por SARS-CoV-2, vírus influenza A, vírus influenza B ou RSV, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão. Este ensaio foi concebido para ser usado no Panther Fusion System.

Resumo e explicação do teste

Os vírus respiratórios são responsáveis por uma vasta gama de infecções graves do trato respiratório, incluindo a constipação comum, influenza (gripe), infecção por RSV, COVID-19 e difteria, e representam a causa mais comum da contração de doenças graves nos Estados Unidos. Alguns sintomas de COVID-19, gripe e RSV são semelhantes, o que torna o diagnóstico baseado apenas nos sintomas praticamente impossível.^{1,2}

A gravidade da doença da gripe e do RSV pode ser especialmente alta em pacientes jovens, imunodeprimidos e idosos. O diagnóstico exato e atempado da causa das infecções do trato respiratório tem muitos benefícios. Estes incluem um melhor tratamento do paciente, assegurando um tratamento antiviral apropriado (por exemplo: o oseltamivir para a gripe),³ diminuindo o custo total dos cuidados, reduzindo o potencial de mais desenvolvimento de resistência antimicrobiana devido ao uso excessivo e inadequado de antibióticos,⁴ ajudando os profissionais de controlo de infeções a fornecer as medidas adequadas à minimização da propagação nosocomial, e fornecendo informações valiosas às autoridades de saúde pública sobre os vírus atualmente em circulação na comunidade.⁵

A gripe é uma doença respiratória aguda provocada pela infecção pelo vírus influenza, principalmente os tipos A e B.⁶ Os vírus influenza A são também classificados em subtipos com base nos dois principais antigénios proteicos superficiais: hemaglutinina (H) e neuraminidase (N).⁷ Os vírus influenza B não são categorizados em subtipos.⁷ Os vírus influenza passam continuamente por mutações genéticas, incluindo deriva (mutação aleatória) e variação (reordenação genómica), gerando novas estirpes de vírus todos os anos, deixando a população humana vulnerável a estas mutações sazonais. As epidemias ocorrem anualmente (tipicamente no inverno) e, embora os tipos A e B circulem na população, o tipo A é geralmente predominante. A transmissão da gripe ocorre principalmente por via aérea, nomeadamente pela tosse ou por espirros. Em média, os sintomas surgem 1 a 2 dias depois da exposição, e incluem febre, calafrios, dores de cabeça, mal-estar, tosse e defluxo.

As complicações devido à gripe incluem a pneumonia, causando um aumento da morbidade e mortalidade na população pediátrica, idosa e imunodeprimida. A gripe ocorre a nível mundial,

com uma taxa de incidência anual estimada em 5% a 10% em adultos e 20% a 30% em crianças. As doenças podem resultar em hospitalização e morte, principalmente entre grupos de alto risco (os mais jovens, idosos ou doentes crônicos). No mundo inteiro, estima-se que estas epidemias anuais causam cerca de 3 a 5 milhões de casos de doenças graves, e cerca de 250 000 a 500 000 mortes.⁸

O vírus sincicial respiratório (RSV) é uma das principais causas da contração de infecções respiratórias em bebês e crianças. Há 2 tipos de RSV (A e B), com base em variações proteicas superficiais e antigénicas. A maioria das epidemias anuais (tipicamente durante o inverno) contém uma mistura dos tipos A e B, mas um subgrupo pode predominar durante uma determinada estação. A infecção pelo RSV pode causar uma doença respiratória grave em todas as faixas etárias, mas é mais prevalente em populações pediátricas, idosas e imunodeprimidas. Anualmente, nos Estados Unidos, a infecção pelo RSV tem sido associada a uma estimativa de 58 000 hospitalizações e 2,1 milhões de visitas ambulatoriais entre crianças com menos de 5 anos de idade, e 177 000 hospitalizações e 14 000 mortes em adultos com mais de 65 anos de idade.⁹

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 surto, em Wuhan, China, em dezembro de 2019.⁹

As pessoas com COVID-19 têm relatado uma ampla variedade de sintomas, desde sintomas ligeiros até doença grave. Os sintomas podem surgir 2 a 14 dias após a exposição ao vírus. As pessoas com COVID-19 podem apresentar febre ou arrepios, tosse, falta de ar ou dificuldade em respirar, fadiga, dores musculares ou corporais, dores de cabeça, perda recente do paladar e do olfato, garganta inflamada, nariz congestionado ou rinorreia, náuseas ou vômitos e/ou diarreia.¹⁰ No dia 11 de março de 2020, o surto de COVID-19 foi caracterizado como uma pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS).¹¹

Princípios do procedimento

O Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay envolve os seguintes passos: lise celular da amostra, captura de ácidos nucleicos e transferência da eluição, e uma RT-PCR multiplex em que os analitos são simultaneamente amplificados, detetados e diferenciados. A captura e eluição de ácidos nucleicos são feitas num tubo individual no Panther Fusion System. O eluído é transferido para o tubo de reação Panther Fusion System que contém os reagentes do ensaio. A RT-PCR multiplex é depois realizada para os ácidos nucleicos eluídos no Panther Fusion System.

Captura e eluição do ácido nucleico: Antes do processamento e realização de testes no Panther Fusion System, os espécimes são transferidos para um tubo de lise de espécimes que contém o meio de transporte de espécimes (STM). O STM procede à lise das células, liberta o ácido nucleico alvo e protege-o contra a deterioração durante a conservação.

O controlo interno S (IC-S) é adicionado a cada espécime de teste e efetua o controlo através do reagente de captura de trabalho S Panther Fusion (wFCR-S). O IC-S no reagente monitoriza o processamento, amplificação e deteção de espécimes.

Os oligonucleótidos de captura hibridizam-se com os ácidos nucleicos nos espécimes de teste. Os ácidos nucleicos hibridizados são depois separados do espécime num campo magnético.

Os passos de lavagem retiram componentes estranhos do tubo de reação. O passo de eluição elui os ácidos nucleicos purificados. Durante o passo de captura e eluição do ácido nucleico, este é completamente isolado dos espécimes.

Transferência da eluição e RT-PCR: Durante o passo de transferência da eluição, o ácido nucleico eluído é transferido para um tubo de reação Panther Fusion que já contém a mistura principal reconstituída e óleo.

A amplificação do alvo ocorre via RT-PCR. Uma transcriptase reversa gera uma cópia do DNA da sequência-alvo. Em seguida, os "primers" e sondas frontais e inversos específicos do alvo amplificam os alvos, enquanto simultaneamente detetam e discriminam múltiplos tipos-alvo através de RT-PCR multiplex.

O Panther Fusion System compara o sinal de fluorescência a um "cut-off" predeterminado, para produzir um resultado qualitativo pela presença ou ausência do analito.

Os analisados e o canal usado para a sua deteção no Panther Fusion System estão resumidos na seguinte tabela.

Analito	Gene-alvo	Canal do instrumento
Vírus influenza A	Matriz	FAM
Vírus sincicial respiratório A/B	Matriz	HEX
SARS-CoV-2	ORF1ab	ROX
Vírus influenza B	Matriz	RED647
Controlo interno	Não aplicável	RED677

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. Para uso profissional.
- C. O reagente estimulador S Panther Fusion (FER-S) é corrosivo, nocivo por ingestão e provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.
- D. Estes procedimentos só devem ser executados 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.
- E. Manuseie todos os espécimes como potencialmente infecciosos utilizando procedimentos laboratoriais seguros. Consulte as Orientações provisórias de biossegurança laboratorial para o manuseamento e processamento de espécimes associados a 2019-nCoV. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/lab-biosafety-guidelines.html>.
- F. Os espécimes podem ser infecciosos. Respeite as precauções universais quando realizar este ensaio. A administração do laboratório deve estabelecer métodos adequados de




manuseamento e eliminação. Este procedimento de diagnóstico só pode ser feito por pessoal com a formação adequada no manuseamento de materiais infecciosos.⁷

Nota: em caso de suspeita de uma infeção por um novo vírus influenza A com base nos critérios atuais de rastreio clínico e epidemiológico recomendados pelas autoridades de saúde pública, colha espécimes com precauções de controlo de infeções apropriadas para os novos vírus influenza virulentos e envie para o departamento de saúde local ou regional para testes. Nestes casos, não recorra ao meio de cultura viral, a menos que tenha um BSL 3+ (laboratório de biossegurança nível 3) disponível para a receção e cultura de espécimes.

- G. Em caso de suspeita de infeção por 2019-nCoV 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.
- H. 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.
- I. Use somente os artigos de laboratório descartáveis que sejam fornecidos ou especificados.
- J. Use luvas descartáveis e isentas de pó, proteção ocular e batas de laboratório quando manusear espécimes e reagentes. Lave bem as mãos depois de manusear espécimes e reagentes. 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.
- K. As datas de expiração listadas nos tubos de lise de espécimes Panther Fusion referem-se à transferência da amostra para o tubo e não à realização de testes à 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.
- L. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- 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 entram 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 Fusion System* (página 12) para obter mais informações.
- P. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos de ensaio. Não reabasteça reagentes ou fluidos; o Panther Fusion System verifica os níveis de reagente.
- Q. Evite a contaminação microbiana e por ribonuclease dos reagentes.

- R. Os requisitos de controlo de qualidade devem ser respeitados em conformidade com os regulamentos locais e/ou nacionais, ou requisitos de certificação, e os procedimentos padrão de controlo de qualidade do seu laboratório.
- S. Não use o cartucho de ensaio se a bolsa de conservação perder o selo, ou se a película do cartucho de ensaio não estiver intacta. Entre em contacto com a Hologic se isso ocorrer.
- T. Não utilize os pacotes de fluidos se o selo de alumínio vazar. Contacte a Hologic se isto se verificar.
- U. Manuseie os cartuchos de ensaio com cuidado. Não deixe que os cartuchos de ensaio caiam ou invertam. Evite a exposição prolongada à luz ambiente.
- V. 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.
- W. Alguns reagentes do kit estão marcados com informações sobre perigos.

Nota: Para obter informações sobre quaisquer declarações de perigo e precaução que possam estar associadas a reagentes, consulte a Biblioteca de Fichas de Dados de Segurança em www.hologicsds.com.

	<p>Óleo Panther Fusion Polidimetilsiloxano, 95–100%</p>
	<p>ADVERTÊNCIA H315 - Provoca irritação cutânea H319 - Provoca irritação ocular grave P264 - Lavar cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer região de pele exposta após manuseamento P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial</p>
	<p>Reagente estimulador S Panther Fusion Monidrato de hidróxido de lítio 5-10%</p>
	<p>PERIGO H302 - Nocivo por ingestão H314 - Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves P260 - Não respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis P264 - Lavar cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer região de pele exposta após manuseamento P270 - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto P280 - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial</p>

Requisitos de conservação e manuseamento de reagentes

A. A seguinte tabela fornece os requisitos de conservação e manuseamento para este ensaio.

Reagente	Conservação fechada	Estabilidade a bordo/aberta ¹	Conservação aberta
Cartucho de Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay	2 °C a 8 °C	60 dias	2 °C a 8 °C ²
Reagente de captura S Panther Fusion (FCR-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Reagente estimulador S Panther Fusion (FER-S)	15 °C a 30 °C	30 dias	15 °C a 30 °C
Controlo interno S Panther Fusion (IC-S)	2 °C a 8 °C	(Em wFCR-S)	Não aplicável
Tampão de eluição Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Óleo Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Tampão de reconstituição I Panther Fusion	15 °C a 30 °C	60 dias	15 °C a 30 °C
Controlo positivo Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável - de utilização única
Controlo negativo Panther Fusion	2 °C a 8 °C	Frasco de utilização única	Não aplicável - de utilização única

Quando os reagentes forem removidos do Panther Fusion System, devolva-os imediatamente às respetivas temperaturas de conservação.

¹ A estabilidade dentro do instrumento começa no momento em que o reagente é colocado no Panther Fusion System, para o cartucho de Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay, FCR-S, FER-S e IC-S. A estabilidade dentro do instrumento começa, para o tampão de reconstituição I Panther Fusion, tampão de eluição Panther Fusion e óleo Panther Fusion, quando o conjunto de reagentes é usado pela primeira vez.

² Se for retirado do Panther Fusion System, conserve o cartucho de ensaio num recipiente hermético, com dessecante, à temperatura de conservação recomendada.

- B. O reagente de captura de trabalho S Panther Fusion e o reagente estimulador S Panther Fusion permanecem estáveis durante 60 dias quando são tapados e conservados a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C. Não refrigere.
- C. Elimine quaisquer reagentes não usados que tenham ultrapassado a sua estabilidade dentro do instrumento.
- D. Os controlos permanecem estáveis até à data indicada nos frascos.
- E. Evite a contaminação cruzada durante o manuseamento e conservação de reagentes.
- F. **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 Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay, isto inclui espécimes de esfregaço nasofaríngeo em meio de transporte viral (VTM) ou meio de transporte universal (UTM).

Amostras - Representa um termo mais genérico para descrever qualquer material a ser testado no Panther Fusion System, incluindo espécimes, espécimes transferidos para um tubo de lise de espécimes Panther Fusion 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, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.*

Colheita de espécimes

Recolha os espécimes de esfregaços nasofaríngeos 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.

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

Processamento de espécimes

Processamento de espécimes com o tubo de lise de espécimes Panther Fusion

1. Antes de proceder à realização de testes no Panther Fusion System, transfira o espécime* colhido em UTM ou VTM para um tubo de lise de espécimes Panther Fusion.
 - Transfira 500 µl do espécime 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.*

Conservação de espécimes

Conservação de espécimes com o tubo de lise de espécimes Panther Fusion

1. Depois da colheita, os espécimes podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C, até 96 horas, antes de serem transferidos para o tubo de lise de espécimes Panther Fusion. Os volumes de espécimes restantes podem ser conservados a ≤-70 °C.
2. As amostras (no tubo de lise de espécimes Panther Fusion) podem ser conservadas mediante as seguintes condições:
 - Entre 15 °C e 30 °C, até 6 dias ou
 - 2 °C a 8 °C, -20 °C e -70 °C durante até 30 dias
3. As amostras previamente testadas 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 análise noutra local, as temperaturas recomendadas terão de ser mantidas. Antes de destapar amostras previamente testadas e tapadas de novo, centrifugue os tubos de transporte de espécimes durante 5 minutos

a uma força centrífuga relativa (RCF) de 420 para levar todo 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.

Panther Fusion System

O Panther Fusion System é um sistema de testes de ácidos nucleicos integrado, com todos os passos completamente automatizados para a realização de ensaios Panther Fusion, desde o processamento de amostras até à amplificação, detecção e redução de dados.

Reagentes e materiais fornecidos para o Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay

Embalagem do ensaio

Componentes ¹	Referência	Conservação
Cartuchos de Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay 96 testes Cartucho de Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay, 12 testes, 8 por caixa	PRD-07400	2 °C a 8 °C
Controlo interno S Panther Fusion, 960 testes Tubo de controlo interno S Panther Fusion, 4 por caixa	PRD-04332	2 °C a 8 °C
Controlos Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Tubo de controlos positivos Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV, 5 por caixa Tubo de controlo negativo Panther Fusion, 5 por caixa	PRD-07401	2 °C a 8 °C
Reagente de extração S Panther Fusion, 960 testes Frasco de reagente de captura S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa Frasco de reagente estimulador S Panther Fusion, 240 testes, 4 por caixa	PRD-04331	15 °C a 30 °C
Tampão de eluição Panther Fusion, 2400 testes Embalagem do tampão de eluição Panther Fusion, 1200 testes, 2 por caixa	PRD-04334	15 °C a 30 °C
Tampão de reconstituição I Panther Fusion, 1920 testes Conjunto de tampão de reconstituição I Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04333	15 °C a 30 °C
Óleo Panther Fusion, 1920 testes Embalagem de óleo Panther Fusion, 960 testes, 2 por caixa	PRD-04335	15 °C a 30 °C

¹ Os componentes também podem ser encomendados nos seguintes conjuntos:

o Kit de fluidos universais Panther Fusion, PRD-04430, contém 1 óleo Panther Fusion e 1 tampão de eluição Panther Fusion.
A embalagem de fluidos I-S Panther Fusion Assay, PRD-04431, contém 2 reagentes de extração S Panther Fusion, 2 controlos internos S Panther Fusion e 1 tampão de reconstituição I Panther Fusion.

Artigos embalados individualmente

Artigos	Referência
Tubos de lise de espécimes Panther Fusion, 100 por embalagem	PRD-04339

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.

Material	Código produto
Panther™ System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Módulo Panther Fusion	PRD-04173
Kit de fluidos Aptima™ Assay (Solução de lavagem Aptima, tampão para o fluido de desativação Aptima e reagente de óleo Aptima)	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de sacos de resíduos Panther	902731
Tampa do recipiente de resíduos Panther	504405
Ou o Kit de execução do Panther System para ensaios em tempo real contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos e fluidos de ensaio	PRD-03455 (5000 testes)
Ou o Kit de execução do Panther System (para executar ensaios TMA em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, Auto Detect* e fluidos de ensaio	303096 (5000 testes)
Tabuleiros de tubos Panther Fusion, 1008 testes, 18 por caixa	PRD-04000
Pontas, µL, com filtro, detecção de líquido, condutoras e descartáveis.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região.	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Tampas perfuráveis Aptima (opcionais)	105668
Tampas não perfuráveis de substituição (opcionais)	103036A
Tampas de substituição para frascos de reagentes de extração	CL0040
Pontas e pipetador P1000, com encaixes hidrofóbicos	-
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M) Nota: consulte o <i>Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System</i> para obter instruções sobre como preparar a solução de hipoclorito de sódio diluído.	-
Luvas descartáveis e isentas de pó	-

* Somente necessário para ensaios Panther Aptima TMA.

Procedimento de teste no Panther Fusion System

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

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Permita que a solução de hipoclorito de sódio entre em contacto com as superfícies por pelo menos 1 minuto e depois lave com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas, absorventes, com forro de plástico, indicadas para bancadas de laboratórios.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada para preparar as amostras, usando o procedimento descrito no passo A.1.

B. Preparação de reagentes

1. Retire os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S da conservação.
2. Abra os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S, e descarte as tampas. Abra a porta de TCR na zona superior do Panther Fusion System.
3. Coloque os frascos de IC-S, FCR-S e FER-S nas posições apropriadas, no carrossel TCR.
4. Feche a porta de TCR.

Nota: o Panther Fusion System adiciona o IC-S ao FCR-S. Depois de adicionar o IC-S ao FCR-S, este passa a ser referido como wFCR-S (FCR-S de trabalho). Se o FCR-S e FER-S foram retirados do sistema, use novas tampas e conserve imediatamente de acordo com as condições de conservação adequadas.

C. Manuseamento de espécimes

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 Fusion System.

1. **Não coloque as amostras no vórtex.**
2. Inspeccione os tubos de amostras antes de colocá-los no suporte. Se um tubo de amostra contiver bolhas ou um volume inferior ao que é normalmente observado, toque suavemente no fundo do tubo para deslocar o conteúdo para o fundo.

Nota: para evitar um erro de processamento, adicione um volume de espécime adequado ao tubo de lise de espécimes Panther Fusion. Quando são adicionados 500 µL de espécime de esfregaço nasofaríngeo ao tubo de lise de espécimes Panther Fusion, há volume suficiente para executar 3 extrações de ácido nucleico.

D. Preparação do sistema

Para obter instruções sobre como configurar o Panther Fusion System, incluindo sobre como carregar amostras, reagentes, cartuchos de ensaio e fluidos universais, consulte o Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System.

Notas sobre o procedimento

A. Controlos

1. O controlo positivo Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV e o controlo negativo Panther Fusion podem ser carregados em qualquer posição no suporte, em qualquer corredor na zona de amostras, no Panther Fusion System.
2. Quando os tubos de controlo são pipetados e processados para o Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay, estes permanecem ativos durante 30 dias (com a frequência de controlo configurada por um administrador), a menos que os resultados de controlo sejam inválidos ou um novo lote de cartuchos de ensaio seja carregado.
3. Cada tubo de controlo só pode ser testado uma única vez.
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.

Controlo de qualidade

Um resultado de espécime ou execução poderá ser invalidado pelo Panther Fusion 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 lote de cartuchos de ensaio no Panther Fusion System, ou quando o conjunto atual de controlos válidos para um lote de cartuchos ativo perde a validade.

O Panther Fusion System está configurado para necessitar que os controlos de ensaio sejam executados num intervalo (especificado pelo administrador) de até 30 dias. O software do Panther Fusion 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 Fusion System. Para gerar resultados válidos, os controlos de ensaio devem passar por uma série de verificações de validade no Panther Fusion 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 passa, os controlos de ensaio são expirados pelo Panther Fusion System, e um novo conjunto de controlos de ensaio deve ser analisado antes de iniciar quaisquer novas amostras.

Se qualquer um dos controlos de ensaio falhar as verificações de validade, o Panther Fusion 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 durante o processo de extração. Durante o processamento, os critérios de aceitação do controlo interno são automaticamente verificados pelo software do Panther Fusion System. A deteção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e/ou RSV. O controlo interno deve ser detetado em todas as amostras que são negativas para SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e RSV; as amostras que não cumprem este critério são comunicadas como inválidas. Cada amostra com um resultado inválido deve ser analisada novamente.

O Panther Fusion 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 Fusion System determina automaticamente os resultados dos testes de amostras e controlos. Os resultados da deteção de SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e RSV são comunicados em separado. 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 da Gripe A	Resultado da Gripe B	Resultado do RSV	Resultado do IC	Interpretação
Neg	Neg	Neg	Neg	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B e RSV não detetados.
Neg	POS	Neg	Neg	Válido	Gripe A detetada. SARS-CoV-2, Gripe B e RSV não detetados.
Neg	Neg	POS	Neg	Válido	Gripe B detetada. SARS-CoV-2, Gripe A e RSV não detetados.
Neg	Neg	Neg	POS	Válido	RSV detetado. SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B não detetados.
POS	Neg	Neg	Neg	Válido	SARS-CoV-2 detetado. Gripe A, Gripe B e RSV não detetados.
Neg	POS	POS	Neg	Válido	Gripe A e Gripe B detetadas. SARS-CoV-2 e RSV não detetados.
Neg	Neg	POS	POS	Válido	Gripe B e RSV detetados. SARS-CoV-2 e Gripe A não detetados.
Neg	POS	Neg	POS	Válido	Gripe A e RSV detetados. SARS-CoV-2 e Gripe B não detetados.
POS	POS	Neg	Neg	Válido	SARS-CoV-2 e Gripe A detetados. Gripe B e RSV não detetados
POS	Neg	POS	Neg	Válido	SARS-CoV-2 e Gripe B detetados. Gripe A e RSV não detetados.
POS	Neg	Neg	POS	Válido	SARS-CoV-2 e RSV detetados. Gripe A e Gripe B não detetadas.
Neg	POS	POS	POS	Válido	Gripe A, Gripe B e RSV detetados. SARS-CoV-2 não detetado As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	Neg	POS	POS	Válido	SARS-CoV-2, Gripe B e RSV detetados. Gripe A não detetada. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	POS	Neg	POS	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A e RSV detetados. Gripe B não detetada. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
POS	POS	POS	Neg	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B detetados. RSV não detetado. As infeções triplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado SARS-CoV-2	Resultado da Gripe A	Resultado da Gripe B	Resultado do RSV	Resultado do IC	Interpretação
POS	POS	POS	POS	Válido	SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B e RSV detetados. As infecções quádruplas são raras. Analise novamente para confirmar o resultado.
Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido	Inválido. Ocorreu um erro na geração do resultado. Analise novamente a amostra.

Nota: o resultado POS será acompanhado por valores de limites cíclicos (Ct).

Nota: a detecção do controlo interno não é necessária para as amostras que são positivas para SARS-CoV-2, gripe A, gripe B e/ou RSV.

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 colheita, do transporte, da conservação e do 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. Os resultados negativos não excluem a presença de infeções por SARS-CoV-2, vírus influenza A, vírus influenza B ou RSV, e não devem ser usados como a única base para o tratamento ou outras decisões de gestão.
- E. Este teste não diferencia os subtipos de influenza A (ou seja: H1N1, H3N2) ou os subgrupos do RSV (ou seja: A ou B); é necessária a realização de mais testes para diferenciar quaisquer subtipos específicos de influenza A, ou estirpes ou subgrupos específicos do RSV, em consulta com departamentos de saúde pública locais.
- F. 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.

Desempenho do SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay

Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica (limite de detecção ou LoD) do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foi determinada testando diluições de matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo agrupado enriquecido com o Padrão internacional da OMS para o SARS-CoV-2, NIBSC (20/146), ou as seguintes culturas de vírus: influenza A (2 estirpes), influenza B (2 estirpes), RSV A e RSV B (1 estirpe cada). Foi testado um mínimo de 24 réplicas com cada um dos três lotes de reagentes, perfazendo um total combinado mínimo de 72 réplicas por diluição. Cada concentração de LoD específico do alvo foi confirmada testando 24 réplicas adicionais em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo com um lote de reagente. O LoD de cada uma foi determinado por análise proibit e o valor mais elevado entre três lotes de reagentes é resumido na Tabela 2.

Tabela 2: Sensibilidade analítica

Estirpe viral/Padrão	Concentração de LoD
Padrão internacional da OMS de SARS-CoV-2, NIBSC (20/146)	47,20 UI/ml
SARS-CoV-2 USA-WA1/2020	0,03 TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Brisbane/02/18 (H1N1)	0,06 TCID ₅₀ /ml
Influenza A/Kansas/14/17 (H3N2)	0,11 TCID ₅₀ /ml
Influenza B/Washington/02/19 (linhagem Victoria)	0,03 TCID ₅₀ /ml
Influenza B/Phuket/3073/13 (linhagem Yamagata)	0,002 TCID ₅₀ /ml
RSV A	0,02 TCID ₅₀ /ml
RSV B	0,03 TCID ₅₀ /ml

Reatividade

A reatividade do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foi determinada testando estirpes de vírus em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo. Cada estirpe foi testada em triplicado com um lote de reagente. A Tabela 3 mostra a concentração mais baixa de cada estirpe na qual foi observada positividade de 100%.

Tabela 3: Resumo da reatividade analítica das estirpes de SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B e RSV

Descrição	Subtipo	Concentração	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	RSV
USA-WA1/2020*	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA-CA1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA-AZ1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA-WI1/2020	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/OR-OHSU-PHL00037/ 2021 B.1.1.7	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
Uganda/MUWRP-20200195568/ 2020 A.23.1	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/PHC658/2021 B.1.617.2	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP05285/2021 B.1.617.2	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/CA/VRLC009/2021 B.1.427	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/CA/VRLC012/2021 P.2	SARS-CoV-2	0,3 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP03056/2021 B.1.525	SARS-CoV-2	0,3 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/CA-Stanford-16_S02/ 2021 B.1.617.1	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
Peru/un-CDC-2-4069945/ 2021 C.37	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/MD-HP20874/2021 B.1.1.529	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
USA/GA-EHC-2811C/ 2021 B.1.1.529	SARS-CoV-2	0,09 TCID ₅₀ /ml	+	-	-	-
A/Brisbane/02/18*	Gripe A (H1N1)	0,18 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Michigan/45/2015	Gripe A (H1N1)	0,18 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Christ Church/16/2010	Gripe A (H1N1)	180 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Kentucky/2/06	Gripe A (H1N1)	1,8 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Ilhas Salomão/03/06	Gripe A (H1N1)	1,8 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Guangdong-maonan/1536/2019	Gripe A (H1N1)	180 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Taiwan/42/2006	Gripe A (H1N1)	1,8 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Henan/8/05	Gripe A (H1N1)	1,8 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Havai/15/01	Gripe A (H1N1)	18 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Califórnia/07/2009	Gripe A (H1N1)	0,18 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Havai/66/2019	Gripe A (H1N1)	180 CEID ₅₀ /ml	-	+	-	-

Tabela 3: Resumo da reatividade analítica das estirpes de SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B e RSV (Continuação)

Descrição	Subtipo	Concentração	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	RSV
A/Indiana/02/2020	Gripe A (H1N1)	60 CEID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Michigan/45/2015	Gripe A (H1N1)	1,8 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Kansas/14/17*	Gripe A (H3N2)	0,33 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Arizona/45/2018	Gripe A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Nova Iorque/21/2020	Gripe A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/45/2019	Gripe A (H3N2)	3,3 FFU/ml	-	+	-	-
A/Singapura/INFIMH-16-0019/2016	Gripe A (H3N2)	110 CEID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/2671/2019	Gripe A (H3N2)	33 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Hiroshima/52/05	Gripe A (H3N2)	3,3 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Costa Rica/07/99	Gripe A (H3N2)	33 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Port Chalmers/1/73	Gripe A (H3N2)	3,3 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Brasil/113/99	Gripe A (H3N2)	3,3 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Perth/16/2009	Gripe A (H3N2)	0,33 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Texas/50/2012	Gripe A (H3N2)	0,33 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/4801/2014	Gripe A (H3N2)	3,3 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Indiana/08/2011	Gripe A (H3N2)	3,3 TCID ₅₀ /ml	-	+	-	-
A/Hong Kong/486/97	Gripe A (H5N1)	0,01 ng/ml	-	+	-	-
B/Washington/02/2019*	Gripe B (Victoria)	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Colorado/06/2017	Gripe B (Victoria)	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Flórida/78/2015	Gripe B (Victoria)	0,9 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Alabama/2/17	Gripe B (Victoria)	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Ohio/1/2005	Gripe B (Victoria)	0,9 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Michigan/09/2011	Gripe B (Victoria)	3 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Havai/01/2018 (NA D197N)	Gripe B (Victoria)	0,9 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Brisbane/33/08	Gripe B (Victoria)	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Phuket/3073/2013*	Gripe B (Yamagata)	0,006 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Wisconsin/1/2010	Gripe B (Yamagata)	2 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Utah/9/14	Gripe B (Yamagata)	0,006 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/São Petersburgo/04/06	Gripe B (Yamagata)	0,06 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Texas/81/2016	Gripe B (Yamagata)	20 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Indiana/17/2017	Gripe B (Yamagata)	0,6 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-

Tabela 3: Resumo da reatividade analítica das estirpes de SARS-CoV-2, Gripe A e Gripe B e RSV (Continuação)

Descrição	Subtipo	Concentração	SARS-CoV-2	Gripe A	Gripe B	RSV
B/Oklahoma/10/2018	Gripe B (Yamagata)	2 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Massachusetts/02/2012	Gripe B (Yamagata)	0,2 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
B/Lee/40	Gripe B	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	+	-
Isolado de RSV-A/2006*	RSVA	0,06 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
Isolado de RSV A/4/2015 #1	RSVA	0,06 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
RSV A/A2	RSVA	0,06 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
Isolado de RSV A/12/2014 #2	RSVA	0,06 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
RSV-B/CH93(18)-18*	RSVB	0,3 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
Isolado de RSV B/3/2015 #1	RSVB	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+
RSV B/9320	RSVB	0,09 TCID ₅₀ /ml	-	-	-	+

*Estirpe utilizada para estabelecer o LoD.

Especificidade analítica e interferência microbiana

A especificidade analítica (reatividade cruzada) e a interferência microbiana com o Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foram avaliadas na presença de organismos estreitamente relacionados e não alvo. Foram testados painéis compostos por 41 organismos (Tabela 4) em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo agrupado na ausência ou presença de 3x LoD de SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B e RSV. As bactérias foram testadas a 10⁶ CFU/ml e os vírus foram testados a 10⁵ TCID₅₀/ml, exceto indicação em contrário. Não se observou qualquer reatividade cruzada ou interferência microbiana para qualquer dos 41 organismos testados no Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay nas concentrações seguintes.

Tabela 4: Reatividade cruzada e micro-organismos de interferência microbiana

Micro-organismo	Concentração ¹	Micro-organismo	Concentração ¹
Adenovírus 1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Bordetella pertussis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Adenovírus 7a	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Candida albicans</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Estirpe CMV AD 169	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1x10 ⁶ IFU/ml
Coronavírus humano 229E	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavírus humano NL63	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Escherichia coli</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavírus humano OC43	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Haemophilus influenzae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus Epstein-Barr (EBV)	1x10 ⁶ cópias/ml	<i>Lactobacillus plantarum</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Enterovírus (por ex., EV68)	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Legionella pneumophila</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Coronavírus humano HKU1 ²	1x10 ⁶ cópias/ml	<i>Moraxella catarrhalis</i>	1x10 ⁵ CFU/ml
Metapneumovírus humano (hMPV)	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1x10 ⁹ cópias de rRNA/ml
HPIV-1	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1x10 ⁹ cópias de rRNA/ml
HPIV-2	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria spp</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
HPIV-3	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria meningitidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
HPIV-4	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Neisseria mucosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Sarampo	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
MERS-coronavírus	5x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus da papeira	1x10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Rinovírus 1A	1x10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
SARS-coronavírus 1 ²	1x10 ⁶ cópias/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
Vírus da varicela zóster	1x10 ³ TCID ₅₀ /ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1x10 ⁶ CFU/ml
		<i>Streptococcus salivarius</i>	1x10 ⁶ CFU/ml

¹CFU = Unidades formadoras de colônias; IFU = Unidades formadoras de inclusão; TCID₅₀ = Dose infecciosa de cultura do tecido mediana

² Não estão prontamente disponíveis vírus em cultura e ácido nucleico purificado de genoma completo para coronavírus humano HKU1 e SARS. Utilizou-se transcrito *in vitro* (IVT) de coronavírus HKU1 e SARS correspondente às regiões do gene ORF1a alvo do ensaio para avaliar a reatividade cruzada e a interferência microbiana.

Interferência competitiva

A interferência competitiva do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foi avaliada utilizando pares de vírus alvo a concentrações baixas/altas em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo agrupado. A concentração baixa foi testada a 3x LoD, enquanto que os vírus de concentração alta foram testados a 1000x LoD. Os resultados do estudo são apresentados na Tabela 5. A presença de dois vírus em concentrações variáveis não exerceu nenhum efeito sobre a sensibilidade analítica de um alvo na presença de concentrações altas do outro alvo.

Tabela 5: Interferência competitiva

Alvo baixo		Alvo alto		SARS-CoV-2 (detetado)	Gripe A (detetado)	Gripe B (detetado)	RSV (detetado)
Vírus	3x LoD (TCID ₅₀ /ml)	Vírus	1000x LoD (TCID ₅₀ /ml)				
SARS-CoV-2	0,09	Gripe A	110	+	+	-	-
SARS-CoV-2	0,09	Gripe B	30	+	-	+	-
SARS-CoV-2	0,09	RSV	30	+	-	-	+
Gripe A	0,33	SARS-CoV-2	30	+	+	-	-
Gripe A	0,33	Gripe B	30	-	+	+	-
Gripe A	0,33	RSV	30	-	+	-	+
Gripe B	0,09	SARS-CoV-2	30	+	-	+	-
Gripe B	0,09	Gripe A	110	-	+	+	-
Gripe B	0,09	RSV	30	-	-	+	+
RSV	0,09	SARS-CoV-2	30	+	-	-	+
RSV	0,09	Gripe A	110	-	+	-	+
RSV	0,09	Gripe B	30	-	-	+	+

Interferência

As substâncias endógenas e exógenas interferentes (mucina, sangue total, outros potenciais medicamentos e medicamentos de venda livre) que podem estar presentes num espécime foram avaliadas no Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay. Foram adicionadas concentrações clinicamente relevantes de substâncias potencialmente interferentes à matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo agrupado e testadas na ausência e presença de vírus SARS-CoV-2, Gripe A, Gripe B e RSV em cultura nas respetivas concentrações de 3x LoD. As substâncias e concentrações são apresentadas na Tabela 6.

Não foi observado impacto no desempenho do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay de qualquer das substâncias nas concentrações testadas.

Tabela 6: Substâncias potencialmente interferentes

Tipo de substâncias	Nome da substância	Ingrediente(s) ativos(s)	Concentração ¹
Endógeno	Mucina	Proteína de mucina purificada	60 µg/ml
	Sangue (humano)	N/D	2% v/v
Sprays ou gotas nasais	Neo-Sinefrina [®]	Fenilefrina	15% v/v
	Anefrina	Oximetazolina	15% v/v
	Soro fisiológico	Cloreto de sódio	15% v/v
	Ventolin HFA ²	Albuterol	45 ng/ml
	QVAR [®] Beconase AQ ²	Beclometasona	15 ng/ml
Corticosteroides nasais	Dexacort ²	Dexametasona	12 µg/ml
	Nasacort	Triancinolona	5% v/v
	Flonase	Fluticasona	5% v/v
	Rhinocort	Budesonida	5% v/v
	Nasonex ²	Mometasona	0,5 ng/ml
	AEROSPAN ^{®2}	Flunisolida	10 µg/ml
Gel nasal	Zicam [®] (Alívio de Alergias)	Luffa operculata, Galphimia, Glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur	5% v/v
Pastilhas para a garganta	Cepacol Extra Strength	Benzocaína, Mentol	0,7 mg/ml
Medicamentos antivirais	Relenza ^{®2}	Zanamivir	3,3 mg/ml
	TamiFlu ²	Oseltamivir	400 µg/ml
	Virazole ²	Ribavirina	10,5 µg/ml
Antibiótico (pomada nasal)	Creme Bactroban ²	Mupirocina	1,6 µg/ml
Antibiótico (sistêmico)	Tobramicina	Tobramicina	33,1 µg/ml

¹ v/v: volume por volume² Ingredientes ativos testados

Precisão do ensaio

A precisão no laboratório do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foi avaliada com um painel de 5 membros composto por vírus em matriz de VTM/UTM de esfregaço nasofaríngeo clínico negativo. Os painéis foram testados por dois operadores, em duas execuções por dia, utilizando três lotes de reagentes em três Panther Fusion Systems, durante doze dias.

Os membros do painel são descritos na Tabela 7, juntamente com um resumo da concordância com os resultados esperados e a média do Ct e a análise de variabilidade entre lotes de reagentes, operadores, instrumentos, entre e dentro de execuções e global (total).

Tabela 7: Variabilidade do sinal do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay por membro do painel

Painel	Descrição	Análito	Concordaram/N*	Concordância (%)	Média do Ct	Entre lotes		Entre instrumentos		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Dentro da execução		Total	
						DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
1	Neg	Controlo interno	95/96	99	33,7	0,19	0,57	0,08	0,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,21	0,62	0,29	0,86	0,42	1,23
2	SARS-CoV-2/ Gripe A Pos. baixo	Gripe A	96/96	100	35,1	0,33	0,93	0,06	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30	0,85	0,56	1,59	0,72	2,04
		SARS-CoV-2	96/96	100	35,9	0,00	0,00	0,13	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	1,67	0,61	1,71
3	Gripe B/ RSV Pos. baixo	Gripe B	96/96	100	36,0	0,14	0,40	0,09	0,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,36	0,99	0,39	1,09
		RSV	96/96	100	36,1	0,12	0,33	0,28	0,77	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	1,04	0,53	1,46	0,71	1,97
4	SARS-CoV-2/ Gripe A Pos. mod.	Gripe A	96/96	100	33,9	0,23	0,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,56	0,00	0,00	0,47	1,37	0,55	1,63
		SARS-CoV-2	96/96	100	34,7	0,21	0,62	0,16	0,45	0,06	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,45	1,30	0,52	1,51
5	Gripe B/ RSV Pos. mod.	Gripe B	96/96	100	34,7	0,15	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,18	0,28	0,80	0,32	0,93
		RSV	96/96	100	34,5	0,10	0,30	0,18	0,51	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,40	1,15	0,44	1,29

*Concordância com o resultado esperado de positividade do painel.

Pos. baixo = Positivo baixo 1-2x LoD.

Pos. mod. = Positivo moderado 3-5x LoD.

Nota: a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal ocorre, DP=0 e CV=0%.

Desempenho clínico

O desempenho clínico do Panther Fusion SARS-CoV-2/Flu A/B/RSV Assay foi avaliado em comparação com um ensaio de teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) com autorização de utilização de emergência (EUA) da FDA e um ensaio NAAT de Flu/RSV aprovado pela FDA utilizando resíduos de espécimes nasofaríngeos clínicos individuais em VTM/UTM colhidos de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória. Para a avaliação, foi testada com cada ensaio uma combinação de espécimes negativos, positivos a SARS-CoV-2, positivos a Gripe A, positivos a Gripe B e positivos a RSV.

A Percentagem de concordância positiva (PPA) e a Percentagem de concordância negativa (NPA) para SARS-CoV-2 foram calculadas em relação ao ensaio NAAT com EUA da FDA como o resultado de referência, como mostra a Tabela 8. O ensaio mostrou percentagens de concordância positiva e negativa de 98,1% e 98,5%, respectivamente, para SARS-CoV-2.

Para Gripe A, Gripe B e RSV, a PPA e a NPA foram calculadas em relação ao ensaio NAAT de Flu/RSV aprovado pela FDA como o resultado de referência, como mostram a Tabela 9 para a Gripe A, a Tabela 10 para a Gripe B e a Tabela 11 para RSV. O ensaio mostrou percentagens de concordância positiva e negativa de 100,0% e 99,6% respectivamente, para Gripe A, 98,1% e 99,6% para Gripe B e 98,1% e 100,0% para RSV.

Tabela 8: Desempenho clínico para SARS-CoV-2

SARS-CoV-2		Ensaio NAAT autorizado pela EUA da FDA		
		Positivo	Negativo	Total
Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV Assay	Positivo	52	4	56
	Negativo	1	256	257
	Total	53	260	313
Concordância positiva (IC de 95%)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Concordância negativa (IC de 95%)		98,5%	(96,1% - 99,4%)	

Tabela 9: Desempenho clínico para Gripe A

Gripe A		Ensaio aprovado pela FDA		
		Positivo	Negativo	Total
Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV Assay	Positivo	52	1	53
	Negativo	0	260	260
	Total	52	261	313
Concordância positiva (IC de 95%)		100,0%	(93,1% - 100,0%)	
Concordância negativa (IC de 95%)		99,6%	(97,9% - 99,9%)	

Tabela 10: Desempenho clínico para Gripe B

Gripe B		Ensaio aprovado pela FDA		
		Positivo	Negativo	Total
Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV Assay	Positivo	52	1	53
	Negativo	1	259	260
	Total	53	260	313
Concordância positiva (IC de 95%)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Concordância negativa (IC de 95%)		99,6%	(97,9% - 99,9%)	

Tabela 11: Desempenho clínico para RSV

RSV		Ensaio aprovado pela FDA		
		Positivo	Negativo	Total
Panther Fusion SARS/Flu A/B/RSV Assay	Positivo	52	0	52
	Negativo	1	260	261
	Total	53	260	313
Concordância positiva (IC de 95%)		98,1%	(90,1% - 99,7%)	
Concordância negativa (IC de 95%)		100,0%	(98,5% - 100,0%)	

Bibliografia

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado em 17 de agosto de 2021.
2. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/rsv/about/symptoms.html>. Consultado em 17 de agosto de 2021.
3. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/summary-clinicians.htm>.
4. Akers IE, Weber R, Sax H, Böni J, Trkola A, Kuster SP. Influence of time to diagnosis of severe influenza on antibiotic use, length of stay, isolation precautions, and mortality: a retrospective study. *Influenza Other Respir Viruses*. 2017;11(4):337-344. doi:10.1111/irv.12454.
5. Couch, R.B. and Kasel, J.A. 1995. Influenza in *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections*. 7.ª edição. 431-446.
6. Harper, S.A., Fukuda, K., Uyeki, T.M., Cox, N.J., and Bridges, C.B. 2005. Prevention and Control of Influenza. *MMWR*. 54(RR08):1-40.
7. Organização Mundial da Saúde. Influenza (Seasonal). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/>.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory Syncytial Virus (RSV) Research & Surveillance. <https://www.cdc.gov/rsv/research/us-surveillance.html>. Consultado em 30 de agosto de 2021.
9. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/flu/symptoms/index.html>. Consultado em 17 de agosto de 2021.
10. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/symptoms-testing/symptoms.html>. Consultado em 17 de agosto de 2021.
11. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. *Acta Biomed*. 2020 Mar 19;91(1):157-160. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397. PMID: 32191675; PMCID: PMC7569573.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Apoio ao Cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Suporte Técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para mais informações de contacto, visite www.hologic.com.

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 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-25328-601 Rev. 001
2022-05