

Xpert® Flu

REF GXFLU-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

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

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

Neo-Synephrine[®] is a trademark of Bayer HealthCare LLC.

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

Tamiflu[®] is a trademark of Genentech USA.

Armored RNA[®] is a patented technology jointly developed by Asuragen Inc. and Cenetron Diagnostics, LLC under U.S. Patent Nos. 5,677,124, 5,919,625, 5,939,262 and other patents pending.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

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

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

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

Neo-Synephrine[®] é uma marca registada da Bayer HealthCare LLC.

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

Tamiflu[®] é uma marca registada da Genentech USA.

Armored RNA[®] é uma tecnologia patenteada desenvolvida em conjunto pela Asuragen Inc. e pela Cenetron Diagnostics, LLC ao abrigo dos números de patente nos EUA 5,677,124, 5,919,625 e 5,939,262 e de outras patentes pendentes.

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

Copyright © Cepheid 2020. Todos os direitos reservados.



Cepheid AB

Rontgenvagen 5

SE-171 54 Solna

Sweden

Phone: + 46 8 6843 7000

Fax: + 46 8 6843 7010

Ensaio Xpert® Flu

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1. Nome sujeito a direito de propriedade

Xpert® Flu

2. Nome comum ou habitual

Ensaio Xpert Flu

3. Utilização prevista

O Ensaio Cepheid® Xpert Flu, executado nos sistemas do instrumento GeneXpert®, é um ensaio RT-PCR automatizado, múltiplo em tempo real destinado à detecção e diferenciação qualitativa *in vitro* do RNA dos vírus da gripe A, gripe B e gripe H1N1 2009. O Ensaio Xpert Flu usa amostras de lavagens ou aspirados nasais e zaragatoas nasofaríngeas colhidas de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória em conjunto com factores de risco clínicos e epidemiológicos. O Ensaio Xpert Flu destina-se a ajudar no diagnóstico da gripe.

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

As características de desempenho relativamente à gripe A foram estabelecidas durante a época gripal de 2012-2013. Quando emergem outros vírus da gripe A, as características de desempenho podem variar.

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

4. Resumo e explicação

A gripe (influenza) é uma infecção viral contagiosa do tracto respiratório, que ocorre frequentemente no inverno. A transmissão da gripe processa-se principalmente através do ar (*isto é*, através da tosse e de espirros). Os sintomas incluem normalmente febre, tremores, cefaleias, mal-estar, tosse e congestão dos seios nasais. Podem também ocorrer sintomas gastrointestinais (*por ex.* náuseas, vómitos ou diarreia), principalmente em crianças, mas são menos comuns. Os sintomas surgem geralmente no prazo de até dois dias após a exposição a um indivíduo infectado. Pode verificar-se o desenvolvimento de pneumonia como complicação após uma infecção gripal, causando um aumento da morbidade e da mortalidade em populações de crianças, idosos e imunocomprometidos.

Os vírus da gripe são classificados nos tipos A, B e C, sendo que os dois primeiros causam a maioria das infecções em seres humanos. O vírus da gripe A é o tipo mais comum de vírus da gripe em seres humanos, é geralmente responsável por epidemias de gripe sazonais e tem o potencial de causar pandemias. Os vírus da gripe A também podem infectar animais como aves, suínos e equídeos. As infecções pelo vírus da gripe B limitam-se geralmente aos seres humanos e é mais raro causarem epidemias. Os vírus da gripe A dividem-se ainda em subtipos com base em duas proteínas de superfície: a hemaglutinina (H) e a neuraminidase (N). A gripe sazonal é normalmente provocada por vírus que contêm os subtipos de hemaglutinina H1, H2 ou H3 combinados com os subtipos de neuraminidase N1 ou N2, p. ex., tipo H3N1. Além dos vírus das gripes sazonais já em circulação, identificou-se uma nova estirpe em seres humanos no começo de 2009, o H1N1, que surgiu no México.

Programas de vigilância activa em conjunto com precauções para o controlo de infecções são componentes importantes na prevenção da transmissão da gripe.

5. Princípio do procedimento


O Ensaio Xpert Flu é um teste de diagnóstico automatizado *in vitro* para a detecção qualitativa dos vírus da gripe A, gripe B e do subtipo H1N1 2009 da gripe A. O ensaio é realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert da Cepheid.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram o processamento/lise de amostras, a purificação, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas utilizando ensaios por RT (transcriptase reversa) PCR e PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única que contêm os reagentes para RT-PCR e PCR e onde decorrem os processos de RT-PCR e PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte os devidos Manual do Utilizador do Sistema GeneXpert Dx ou Manual do Utilizador do Sistema GeneXpert Infinity.

O Ensaio Xpert Flu contém reagentes para a detecção e diferenciação da gripe A, gripe B e do subtipo H1N1 2009 da gripe A diretamente a partir de amostras de aspirados e lavagens nasais (NA/W), e de zaragatoas nasofaríngeas (NP) de pacientes com sinais e sintomas de infecção respiratória. Também estão incluídos no cartucho um Controlo de processamento da amostra (SPC) e um Controlo de verificação da sonda (PCC). O SPC é um controlo do processamento adequado dos vírus-alvo e destina-se a monitorizar a presença de inibidores na PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o preenchimento do tubo da PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

6. Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos

 O kit do Ensaio Xpert Flu contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade.

O kit contém o seguinte:

Cartuchos do Ensaio Xpert Flu com tubos de reacção integrados

- | | |
|---|------------------------|
| | 10 |
| • Esfera 1, Esfera 2 e das Esfera 3 (liofilizada) | 1 de cada por cartucho |
| • Reagente para lise | 2,0 mL por cartucho |
| • Tiocianato de guanidina | |
| • Reagente de fixação | 1,5 mL por cartucho |
| • Reagente de eluição: | 2,0 mL por cartucho |

Pipetas de transferência 300 µL descartáveis

2 sacos de 12 por kit

CD

1 por kit

- Ficheiro de definição do ensaio (ADF — assay definition file)
- Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert
- Instruções de utilização (folheto informativo)

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

Nota A seroalbumina bovina (BSA — bovine serum albumin) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. O fabrico da BSA também se processou nos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

6.2 Conservação e manuseamento



- Conserve os cartuchos do Ensaio Xpert Flu e os respetivos reagentes a 2 °C-28 °C até à data indicada no rótulo.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.
- Não utilize um cartucho com fuga.

6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistemas do instrumento GeneXpert Dx ou sistemas GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador, leitor de código de barras, manual do utilizador.
 - Para o sistema GeneXpert Dx: Software GeneXpert Dx versão 4.3 ou superior
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora validada.

6.4 Materiais disponíveis mas não fornecidos

- Kit de colheita nasal, número de catálogo da Cepheid NASL-100N-100 ou kit de colheita de amostras nasofaríngeas Xpert, número de catálogo da Cepheid SWAB/B-100.
- Controlos à base de vírus inactivados da ZeptoMetrix:
 - Números de catálogo NATFLUA/B-6MC e das NATFLUAH1N1-6MC como controlos positivos externos.
 - Número de catálogo NATCXVA9-6MC (vírus Coxsackie) como controlo negativo externo.

7. Advertências e precauções



- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centros para o Controlo e a Prevenção de Doenças (Centers for Disease Control and Prevention) e no Instituto de Normas Laboratoriais e Clínicas (Clinical and Laboratory Standards Institute) dos EUA.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Não substitua os reagentes do Ensaio Xpert Flu por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Ensaio Xpert Flu, excepto ao adicionar a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha caído ou sido agitado depois de ter adicionado a amostra.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
- ② • Cada cartucho de utilização única do Ensaio Xpert Flu é utilizado para processar apenas um teste. Não reutilize cartuchos gastos.
- As amostras biológicas, os dispositivos de transferência e os cartuchos usados devem ser considerados como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correcta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correcta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as directrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório e a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de pacientes diferentes para evitar a contaminação das amostras.



- Conservar o kit do Ensaio Xpert Flu entre 2 °C e 28 °C.


8. Perigos químicos^{8,9}

- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Pode ser nocivo se ingerido
 - Provoca irritação cutânea ligeira
 - Causa irritação ocular
- **Declarações de precaução**
 - **Prevenção**
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento
 - **Resposta**
 - Em caso de irritação cutânea: Procure aconselhamento/consulte um médico
 - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.

- Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

9. Colheita, transporte e conservação de amostras

As amostras de NA/W (aspirados e lavagens nasais) ou de zaragatoas NP (nasofaríngeas) podem ser colhidas de acordo com os procedimentos padrão da instituição do utilizador e colocadas em meio de transporte universal (tubos UTM – Universal Transport Medium – de 3 mL).

 As amostras devem ser transportadas entre 2 °C e 8 °C. As amostras podem ser conservadas até 72 horas entre 2 °C e 8 °C antes de serem processadas.

10. Procedimento

10.1 Preparação do cartucho

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

Para amostras de zaragatoas NP

1. Misture a amostra invertendo o tubo UTM cinco vezes.
2. Remova o cartucho da embalagem.
3. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 300 µL da amostra (de uma só vez) para a câmara com abertura grande do cartucho. Consulte Figura 1.
4. Feche a tampa do cartucho. Consulte Figura 1.

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

1. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 600 µL da amostra (em duas vezes) para o tubo UTM de 3 mL, fechando-o em seguida.
2. Misture a amostra invertendo o tubo cinco vezes.
3. Remova o cartucho da embalagem.
4. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 300 µL da amostra diluída (de uma só vez) para a câmara com a abertura grande do cartucho. Consulte Figura 1.
5. Feche a tampa do cartucho. Consulte Figura 1.

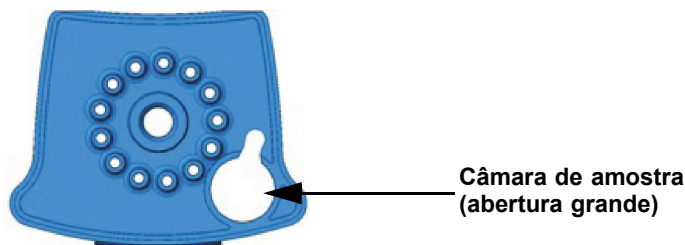


Figura 1. Cartucho do Ensaio Xpert Flu (Vista de cima)

10.2 Iniciar o teste

Nota Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do Ensaio Xpert Flu foi importado para o software do GeneXpert.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, consoante o modelo que utilizar.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Caso esteja a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, ligue-o primeiro e ligue depois o computador. O software do GeneXpert arranca automaticamente ou pode requerer duplo clique no ícone de atalho do software do GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Caso utilize o instrumento GeneXpert Infinity, ligue a alimentação do instrumento. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows.

2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (Infinity).
4. Digitalize ou introduza a ID do Paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correcta. A ID do paciente (Patient ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
5. Digitalize ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se introduzir a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que introduz a ID da amostra (Sample ID) correcta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado do teste.
6. Digitalize o código de barras do cartucho do Ensaio Xpert Flu. Utilizando as informações do código de barras, o software vai preencher automaticamente as caixas dos campos seguintes: ID do lote de reagente (Reagent Lot ID), N.º série do cartucho (Cartridge SN), Prazo de validade (Expiration Date) e Ensaio seleccionado (Selected Assay).
7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou em **Submeter (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho é automaticamente carregado, o teste é executado e o cartucho usado será colocado no recipiente de resíduos.

ou

No caso do instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e introduza o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste começa e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
- C. A guarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retire o cartucho.
- D. Elimine os cartuchos usados para um recipiente adequado a resíduos de amostras de acordo com as práticas convencionadas na sua instituição.

11. Visualização e impressão de resultados

Esta secção indica as etapas básicas para a visualização e a impressão de resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre a forma de visualizar e imprimir resultados, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do GeneXpert Infinity*, consoante o instrumento que utilizar.

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

12. Controlo de qualidade

CONTROL Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (SPC) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control)** – assegura que a amostra foi processada correctamente. O SPC é um Armored RNA[®] sob a forma de uma esfera seca que está incluída em cada cartucho para verificar o processamento adequado dos vírus da amostra. O SPC verifica se ocorreu a lise dos vírus da gripe quando presentes e verifica se o processamento da amostra foi adequado. Além disso, este controlo detecta a inibição associada à amostra das reacções RT-PCR e PCR. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control)** – Antes do início da reacção PCR, o sistema do instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlos externos** – Devem ser utilizados controlos externos de acordo com as exigências de organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

13. Interpretação dos resultados

Os resultados são automaticamente interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert por meio da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados de forma clara na janela Ver resultados (View Results). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

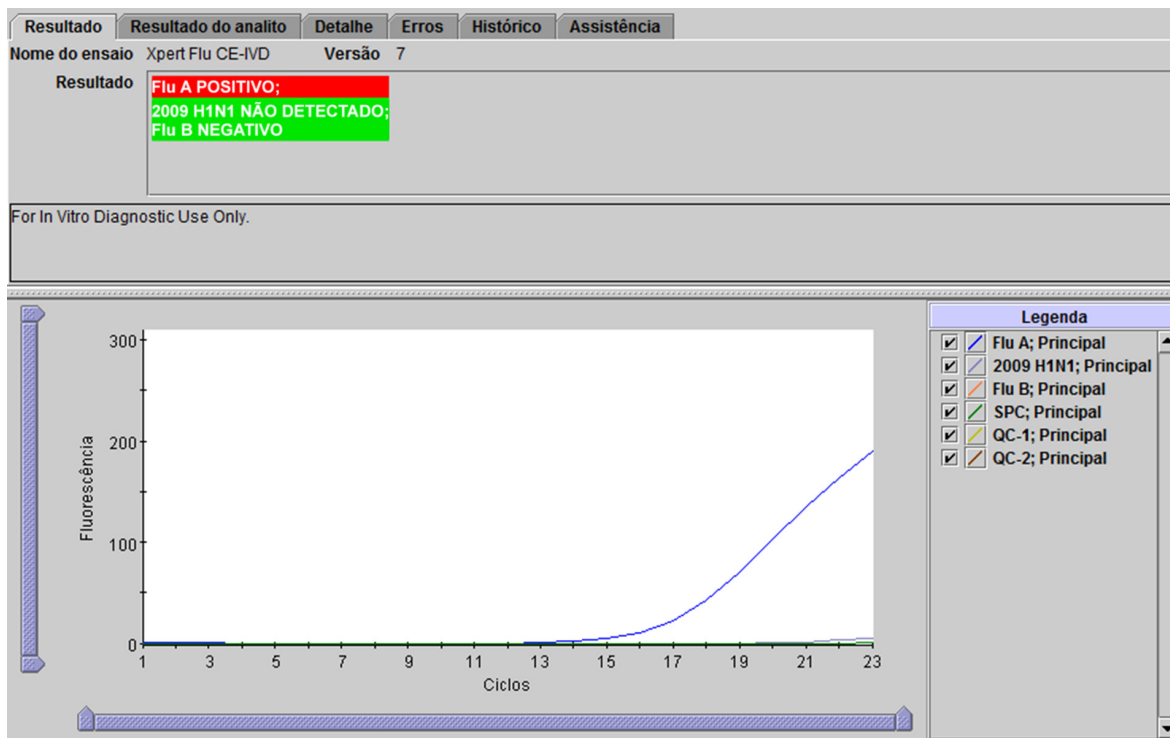


Figura 2. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: Exemplo de um resultado positivo para a gripe A

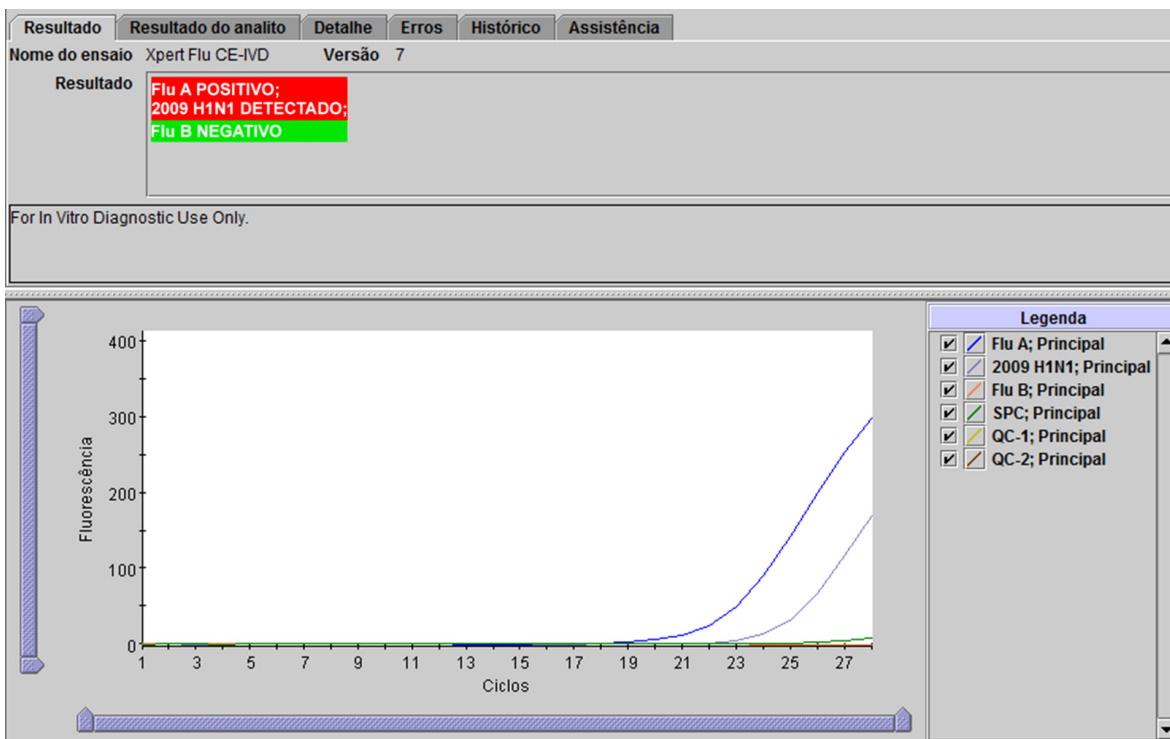


Figura 3. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: Exemplo de um resultado positivo para a gripe H1N1 2009

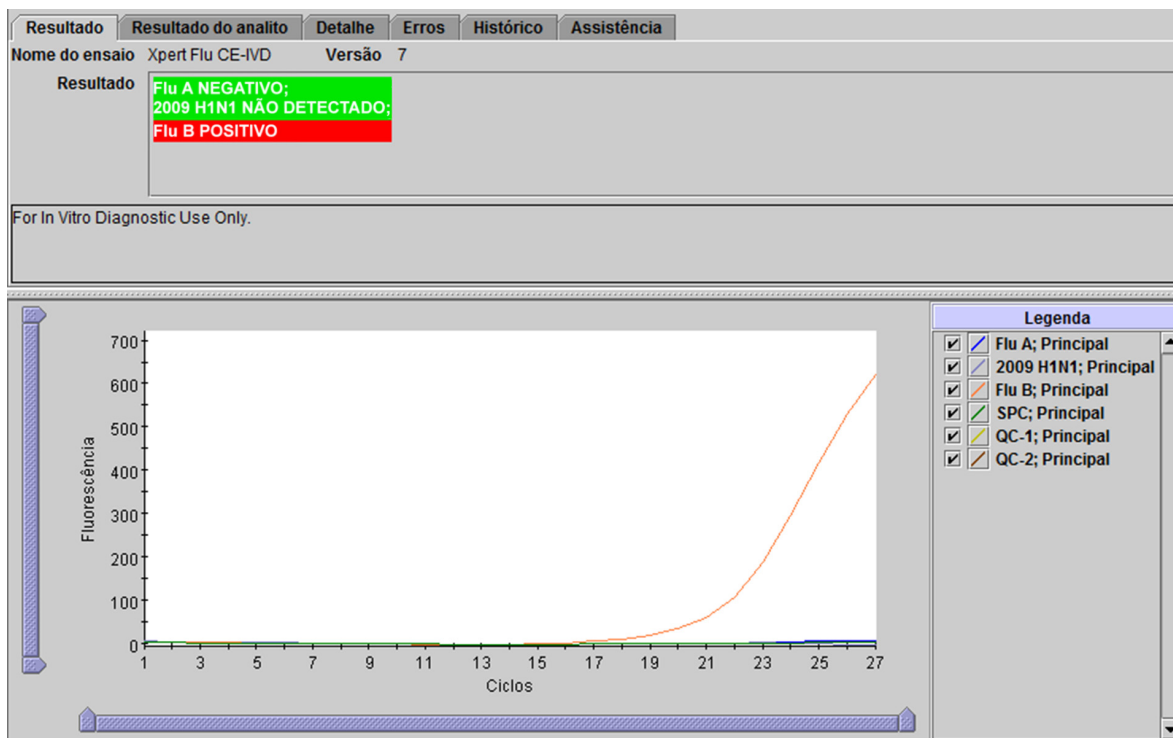


Figura 4. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: Exemplo de um resultado positivo para a gripe B

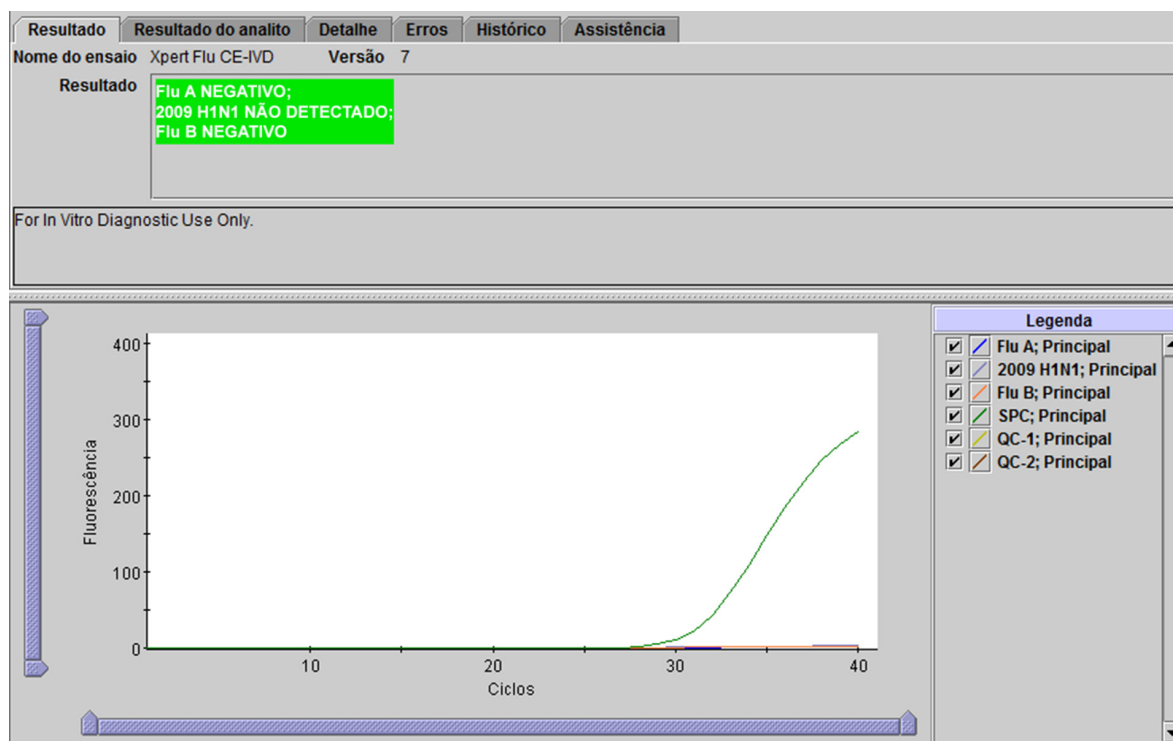
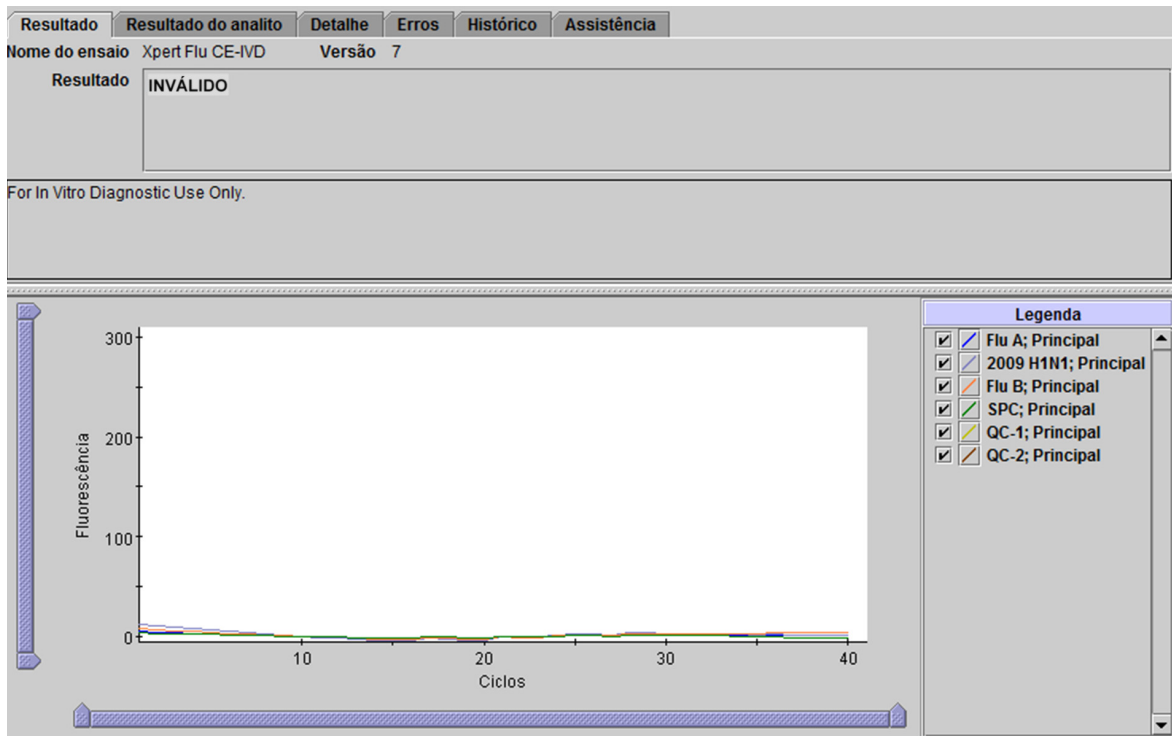
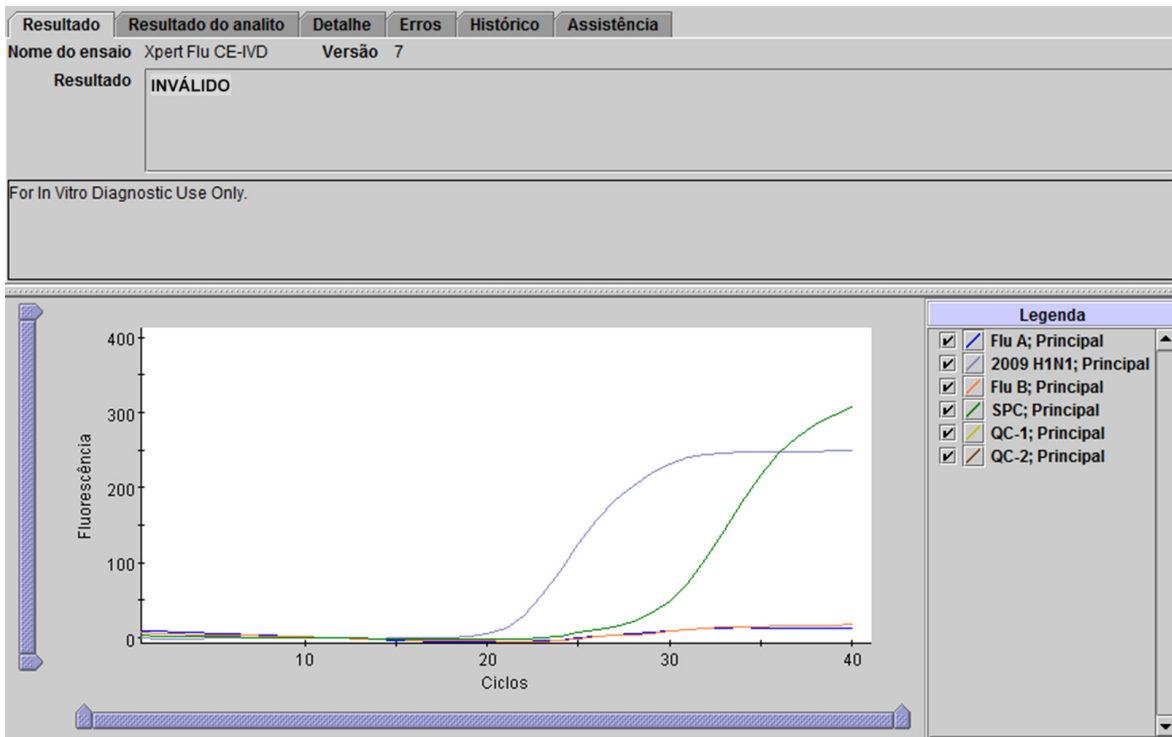


Figura 5. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx: Exemplo de um resultado negativo



**Figura 6. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx:
Exemplo de um resultado inválido (O SPC não cumpre os critérios de aceitação)**



**Figura 7. Janela Ver resultados (View Results) do GeneXpert Dx:
Exemplo de um resultado inválido (Negativo para a gripe A e positivo para a gripe H1N1 2009)**

Tabela 1. Resultados do Ensaio Xpert Flu e respectiva interpretação

Resultado	Interpretação
POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE) (Figura 2)	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 Não é detectado RNA-alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. SPC – não aplicável (NAI); o SPS é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 DETECTADO (2009 H1N1 DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE) (Figura 3)	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 É detectado RNA alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. O alvo do H1N1 2009 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. SPC – não aplicável (NAI); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e do H1N1 2009 poderá competir com este controlo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
NEGATIVO para gripe A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE) (Figura 4)	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 Não é detectado RNA-alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. SPC – não aplicável (NAI); o SPS é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe B poderá interferir com este controlo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
NEGATIVO para gripe A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE) (Figura 5)	<p>Não é detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 Não é detectado RNA-alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B. O SPC preenche os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> Os RNA-alvo da gripe A, do H1N1 2009 e da gripe B não foram detectados. SPC – APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior à definição mínima. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.

Nota Os dois resultados seguintes, embora possíveis, consistem em infecções mistas raras.

Resultado	Interpretação
POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE)	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 Não é detectado RNA-alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. SPC – não aplicável (NAI); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e do H1N1 2009 poderá competir com este controlo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 DETECTADO (2009 H1N1 DETECTED); POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE)	<p>É detectado RNA-alvo da gripe A; 2009 É detectado RNA alvo do H1N1; não é detectado RNA-alvo da gripe B.</p> <ul style="list-style-type: none"> O alvo da gripe A tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. O alvo do H1N1 2009 tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. O alvo da gripe B tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um parâmetro de avaliação superior ao mínimo definido. SPC – não aplicável (NAI); o SPC é ignorado porque a amplificação do alvo da gripe A e da gripe B poderá competir com este controlo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
INVÁLIDO (INVALID) (Figura 6 e das Figura 7)	<ol style="list-style-type: none"> O SPC não preenche os critérios de aceitação. A presença ou ausência de RNA-alvo não pode ser determinada (Figura 6). Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14.2, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> SPC – FALHOU (FAIL); o resultado do SPC é negativo, o Ct (limiar de ciclo) do SPC não está dentro do intervalo válido e o parâmetro de avaliação é inferior ao mínimo definido. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados. <p style="text-align: center;">ou</p> A presença ou ausência de RNA-alvo do H1N1 2009 não pode ser determinada (Figura 7). Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14.2, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> O RNA-alvo da gripe A e da gripe B não foram detectados e o RNA-alvo do H1N1 2009 foi detectado. SPC – não aplicável (NAI); o SPC é ignorado porque foi amplificado um alvo. Verificação da sonda (Probe Check) – APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
ERRO (ERROR)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de RNA-alvo da gripe A, do H1N1 2009 e da gripe B. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14.2, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> 2009 H1N1 – SEM RESULTADO (NO RESULT) Gripe A – SEM RESULTADO (NO RESULT) Gripe B – SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC – SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda (Probe Check) – FALHOU (FAIL)^a; todos ou um dos resultados da verificação da sonda falharam.

Resultado	Interpretação
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>Não é possível determinar a presença ou ausência de RNA-alvo da gripe A, do H1N1 2009 e da gripe B. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14.2, Procedimento de repetição do teste. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2009 H1N1 – SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe A – SEM RESULTADO (NO RESULT) • Gripe B – SEM RESULTADO (NO RESULT) • SPC – SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda (Probe Check) – não aplicável (NAI).

- a. Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável ou porque houve falha de um componente do sistema.

14. Repetição de um teste

14.1 Motivos para repetir um ensaio

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste de acordo com as instruções da Secção 14.2, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica uma ou mais das ocorrências abaixo:
 - O SPC de controlo foi reprovado;
 - O RNA-alvo da gripe A não foi detectado e o RNA-alvo do H1N1 2009 foi detectado;
 - A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o ensaio foi abortado. Algumas das causas possíveis são: o tubo de reacção não estava devidamente cheio; foi detectado um problema de integridade da sonda de reagente; ou o limite máximo de pressão foi excedido.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.

14.2 Procedimento de repetição do teste

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

Para zaragatoas NP utilize 300 µL do restante da amostra do tubo UTM original.

Para NA/W utilize 300 µL da amostra diluída restante do tubo UTM de 3 mL.

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Misture a amostra invertendo o tubo cinco vezes.
3. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa de 300 µL (fornecida), transfira 300 µL da amostra diluída (de uma só vez) para a câmara com a abertura grande do cartucho, destinada à amostra. (consulte Figura 1).
4. Feche a tampa do cartucho.

15. Limitações

- O desempenho do Ensaio Xpert Flu foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório e a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação de amostras ou de reagentes.
- Os resultados do Ensaio Xpert Flu devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos disponíveis ao médico.
- Resultados de teste incorrectos podem ser originados por uma incorrecta colheita de amostras, incumprimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de organismos na amostra é demasiado baixo para ser detectado pelo teste. Para se evitarem resultados incorrectos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Os resultados negativos não excluem a infecção por vírus da gripe e não devem ser utilizados como base única para o tratamento ou outras decisões sobre o atendimento dos pacientes.
- Os resultados do Ensaio Xpert Flu devem ser correlacionados com o histórico clínico, dados epidemiológicos e outros dados disponíveis ao médico que avalia o paciente.
- O ácido nucleico viral pode persistir *in vivo*, independentemente da viabilidade do vírus. A detecção do(s) analito(s)-alvo não implica que o(s) vírus correspondente(s) seja(m) infeccioso(s), ou seja(m) o(s) agente(s) causador(es) dos sintomas clínicos.
- Este teste foi avaliado para utilização exclusiva com material de amostras humanas.
- Se o vírus sofrer mutação na região-alvo, o vírus da gripe pode não ser detectado ou pode ser detectado com menor previsibilidade.
- Este é um teste qualitativo e não proporciona o valor quantitativo da presença do organismo detectado.
- Este teste não foi avaliado para pacientes sem sinais e sintomas de infecção por gripe.
- Este teste não foi avaliado para monitorização do tratamento de infecção por gripe.
- Este teste não foi avaliado para despistagem de sangue ou de derivados de sangue quanto à presença do vírus da gripe.
- Este teste não pode eliminar a possibilidade de doenças causadas por outros agentes patogénicos bacterianos ou virais.
- O efeito das substâncias interferentes foi avaliado apenas para aquelas aqui referidas. A interferência por substâncias além das que são descritas pode causar resultados falsos.
- A reactividade cruzada com outros organismos do trato respiratório além daqueles aqui incluídos pode levar a resultados falsos.
- Este ensaio não foi avaliado em pacientes sujeitos a vacina contra a gripe por via intranasal.
- Este ensaio não foi avaliado em indivíduos imunocomprometidos.

16. Características do desempenho

16.1 Desempenho clínico

As características de desempenho do Ensaio Xpert Flu foram avaliadas em quatro instituições dos EUA. Devido à baixa prevalência dos vírus da gripe e à dificuldade de se obterem amostras recentes positivas para os mesmos, a população de amostras para este estudo foi suplementada com amostras conservadas por congelação.

Foram incluídos indivíduos cujos cuidados habituais exigiam a colheita de amostras de NA/W ou de zaragoas NP para teste ao vírus da gripe. Aliquotas de restantes das amostras dos sujeitos elegíveis foram obtidas para serem testadas com o Ensaio Xpert Flu e testes de referência, e os cuidados com o paciente continuaram no local do estudo de acordo com os procedimentos padrão.

O desempenho do Ensaio Xpert Flu (para fins desta secção de Desempenho Clínico, designado por Novo Ensaio Xpert Flu) foi comparado com o do Ensaio Xpert Flu actualmente comercializado nos EUA (para fins desta secção de Desempenho clínico, designado por Ensaio Xpert Flu). Foi realizada sequenciação bidireccional para solucionar eventuais discrepâncias entre ensaios.

16.2 Resultados totais

No total, foram testadas através de ambos os Ensaios Xpert Flu 482 amostras (255 zaragoas NP e 227 NA/W).

Relativamente ao Ensaio Xpert Flu, o Novo Ensaio Xpert Flu demonstrou uma concordância positiva e negativa para a detecção de gripe A nas zaragoas NP de 100% e 98,6%, respectivamente (Tabela 2). A concordância positiva e negativa do Novo Ensaio Xpert Flu relativamente ao subtipo de gripe A H1N1 2009 em zaragoas NP foi de 100% e de 99,6% (Tabela 3). A concordância positiva e negativa do Novo Ensaio Xpert Flu relativamente à gripe B em zaragoas NP foi de 100% e de 95,7%, respectivamente (consulte Tabela 4).

Tabela 2. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras de zaragoas NP: Gripe A

Novo Xpert Flu	Xpert Flu			
		Pos	Neg	Total
Pos		48	3 ^a	51
Neg		0	204	204
Total		48	207	255
Concordância positiva:		100% (95% IC: 94,7-100)		
Concordância negativa:		98,6% (95% IC: 95,8-99,5)		

- a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 3 de 3 Gripe A positiva (1 de o 3 também foi positivo para H1N1).

Tabela 3. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras de zaragoas NP: Gripe A, 2009 H1N1

Novo Xpert Flu	Xpert Flu			
		Pos	Neg	Total
Pos		21	1 ^a	22
Neg		0	233	233
Total		21	234	255
Concordância positiva:		100% (95% IC: 88,6-100)		
Concordância negativa:		99,6% (95% IC: 97,6-99,9)		

- a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 1 de 1 H1N1 positiva.

Tabela 4. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras de zaragoas NP: Gripe B

Novo Xpert Flu	Xpert Flu			
		Pos	Neg	Total
Pos		67	8 ^a	75
Neg		0	180	180
Total		67	188	255
Concordância positiva:		100% (95% IC: 96,1-100)		
Concordância negativa:		95,7% (95% IC: 91,8-97,8)		

- a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 8 de 8 Gripe B positiva.

Relativamente ao Ensaio Xpert Flu, o Novo Ensaio Xpert Flu demonstrou uma concordância positiva e negativa para a detecção de gripe A nas amostras NA/W de 100% e 96,0%, respectivamente (Tabela 5). A concordância positiva e negativa do Novo Ensaio Xpert Flu para o vírus da gripe A subtipo H1N1 2009 em amostras de NA/W foi de 100% e das 99,5% (Tabela 6). A concordância positiva e negativa do Novo Ensaio Xpert Flu relativamente à gripe B em amostras NA/W foi de 100% e de 98,9%, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 5. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras NA/W: Gripe A

		Xpert Flu		
		Pos	Neg	Total
Novo Xpert Flu	Pos	101	5 ^a	106
	Neg	0	121	121
	Total	101	126	227
	Concordância positiva:		100% (95% IC: 97,4-100)	
Concordância negativa:		96,0% (95% IC: 91,1-98,3)		

a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 5 de 5 Gripe A positiva (1 de o 5 também foi positivo para H1N1).

Tabela 6. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras NA/W: Gripe A, 2009 H1N1

		Xpert Flu		
		Pos	Neg	Total
Novo Xpert Flu	Pos	20	1 ^a	21
	Neg	0	206	206
	Total	20	207	227
	Concordância positiva:		100% (95% IC: 88,1-100)	
Concordância negativa:		99,5% (95% IC: 97,3-99,9)		

a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 1 de 1 H1N1 positiva.

Tabela 7. Desempenho do Novo Ensaio Xpert Flu em amostras NA/W: Gripe B

		Xpert Flu		
		Pos	Neg	Total
Novo Xpert Flu	Pos	47	2 ^a	49
	Neg	0	178	178
	Total	47	180	227
	Concordância positiva:		100% (95% IC: 94,6-100)	
Concordância negativa:		98,9% (95% IC: 96,0-99,7)		

a. Resultados de testes discrepantes segundo a sequenciação: 2 de 2 Gripe B positiva.

17. Desempenho analítico

17.1 Sensibilidade analítica (Limite de detecção)

Realizaram-se estudos para se determinar o limite analítico de detecção (LoD) de 2 estirpes sazonais da gripe A (H1N1), 2 sazonais da gripe A (H3N2), 2 da gripe A H1N1 2009 e 2 da gripe B diluídas numa matriz nasofaríngea substituta. O limite de detecção (LoD) é definido como a menor concentração (dose infectante de cultura de tecido [TCID]₅₀/mL) por amostra que pode ser distinguida de forma reprodutível de amostras negativas com 95% de confiança, ou como a menor concentração à qual 19 de 20 réplicas são positivas. Cada estirpe foi testada em réplicas de 20 por concentração de vírus.

O LoD foi determinado empiricamente como a primeira concentração que produziu 19/20 ou 20/20 resultados positivos. Os valores individuais dos LoD para cada estirpe testada são resumidos da Tabela 8 à Tabela 11.

Tabela 8. LoD (TCID₅₀/mL) – Gripe A sazonal H1N1

ID da estirpe - Subtipo de gripe A H1N1	LoD confirmado (TCID ₅₀ /mL) [pelo menos 19/20 positiva]	Regressão probit (TCID ₅₀ /mL)		
		LoD Estimativa pontual	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
A/Brisbane/59/07	0,2 (19/20)	0,2	0,14	0,23
A/NovaCaledónia/20/1999	30 (20/20)	12,7	10,4	17,01

Tabela 9. LoD (TCID₅₀/mL) – Gripe A sazonal H3N2

ID da estirpe - Subtipo de gripe A H3N2	LoD confirmado (TCID ₅₀ /mL) [pelo menos 19/20 positiva]	Regressão probit (TCID ₅₀ /mL)		
		LoD Estimativa pontual	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
A/Perth/16/2009	1 (20/20)	0,2	0,1	0,3
A/Victória/361/2011	0,5 (20/20)	0,4	0,3	0,6

Tabela 10. LoD (TCID₅₀/mL) – Gripe A 2009 H1N1

ID da estirpe - Subtipo de gripe A 2009 H1N1	LoD confirmado (TCID ₅₀ /mL) [pelo menos 19/20 positiva]	Regressão probit (TCID ₅₀ /mL)		
		LoD Estimativa pontual	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
A/SuínaNI/01/2009	0,5 (20/20)	0,4	0,3	0,6
A/SuínaCanadá/6294	100 (20/20)	93,3	82,5	113,3

Tabela 11. LoD (TCID₅₀/mL) – Gripe B

ID da estirpe - Gripe B	LoD confirmado (TCID ₅₀ /mL) [pelo menos 19/20 positiva]	Regressão probit (TCID ₅₀ /mL)		
		LoD Estimativa pontual	IC de 95% inferior	IC de 95% superior
B/Flórida/07/04	0,9 (20/20)	0,4	0,3	0,5
B/Wisconsin/01/10	25 (19/20)	18,1	14,2	26,9

17.2 Especificidade analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do Ensaio Xpert Flu foi avaliada ao testar um painel de 40 culturas, sendo 18 virais, 21 bacterianas e uma de leveduras, representando agentes patogênicos respiratórios comuns ou os potencialmente encontrados na nasofaringe. Foram testadas três réplicas de todas as estirpes de bactérias e leveduras a concentrações $\geq 10^6$ CFU/mL. Foram testadas três réplicas de todos os vírus a concentrações $\geq 10^4$ TCID₅₀/mL. Foram testados ácidos nucleicos purificados (cópias/mL) relativamente a uma estirpe viral (citomegalovírus) e uma estirpe bacteriana (*Bordetella pertussis*). A especificidade analítica foi de 100%. Os resultados são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12. Especificidade analítica do Ensaio Xpert Flu^a

Estirpe	Concentração (por cartucho)	Gripe A	Gripe A 2009 H1N1	Gripe B
Adenovírus tipo 7A	1,1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Adenovírus tipo 1	1,0x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coronavírus humano 229E	2,5x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Coronavírus humano OC43	5,6x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Citomegalovírus ^b	4,7x10 ⁷ Cópias/mL	-	-	-
Tipo de enterovírus 71	3,5x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus de Epstein-Barr	7,1x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus parainfluenza tipo 1	1,1x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus parainfluenza tipo 2	3,1x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus parainfluenza tipo 3	1,9x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus do sarampo	6,3x10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Metapneumovírus humano	3,8x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus da papeira	6,3x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus respiratório sincicial A	5,3x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Vírus respiratório sincicial B	1,2x10 ⁷ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
HSV humano tipo 1	3,1x10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Rinovírus humano tipo 4	1,2x10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Ecovírus 11	3,3x10 ⁸ TCID ₅₀ /mL	-	-	-
Bordetella pertussis ^c	5000 ng/mL	-	-	-
Chlamydia pneumoniae	5x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Corynebacterium xerosis	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Escherichia coli	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Proteus vulgaris	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Proteus mirabilis	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Haemophilus influenzae	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Lactobacillus crispatus	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Legionella pneumophila	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-

Tabela 12. Especificidade analítica do Ensaio Xpert Flu^a (Continuação)

Estirpe	Concentração (por cartucho)	Gripe A	Gripe A 2009 H1N1	Gripe B
Moraxella catarrhalis	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Mycobacterium tuberculosis (estirpe BCG)	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Mycoplasma pneumoniae	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Neisseria meningitides	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Neisseria cinneria	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Staphylococcus aureus	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Staphylococcus epidermidis	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Streptococcus pneumoniae	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Streptococcus pyogenes	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Streptococcus salivarius	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-
Candida albicans	1x10 ⁶ CFU/mL	-	-	-

- a. Não foi testada a reatividade cruzada com outras estirpes de origem suína.
b. O ácido nucleico foi testado quanto a citomegalovírus.
c. O ácido nucleico foi testado quanto a *Bordetella pertussis*.

17.3 Reactividade analítica (Inclusividade)

A reatividade analítica do Ensaio Xpert Flu foi avaliada em relação a quarenta e uma (41) estirpes do vírus da gripe A (subtipos H1N1, H3N2, H5N1 e H7N3), gripe A H1N1 2009 e gripe B. Entre essas estirpes, incluíram-se estirpes de gripe A subtipo H1N1 (10), gripe A subtipo H3N2 (8), gripe A subtipo H2N2v (2), gripe A subtipo H1N1 2009 (6), gripe A subtipo H5N1 (1), gripe A subtipo H5N2 (1), gripe A subtipo H7N3 (1) e gripe B (12). Oito das quarenta e uma estirpes gripais avaliadas neste estudo foram testadas na concentração correspondente ao LoD, tendo todas as estirpes restantes sido restadas utilizando depósitos virais a 5-250 TCID₅₀/mL. Foram testadas três (3) réplicas para cada estirpe. Os resultados são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13. Reactividade analítica (inclusividade) do Ensaio Expert Flu

Estirpe	TCID ₅₀ /mL	Gripe A	Gripe A 2009 H1N1	Gripe B
A/Suína/lowa/15/30 (H1N1 suína)	50	+	-	-
A/Mal/302/54 (H1N1)	50	+	-	-
A/NovaJérsia/8/76 (H1N1)	250	+	-	-
A/Novalorque/55/2004 (H1N1)	50	+	-	-
A/PR/8/34 (H1N1)	100	+	-	-
A/Denver/1/57 (H1N1)	250	+	-	-
A/Brisbane/59/07 ^a (H1N1)	0,2	+	-	-
A/Nova Caledónia/20/1999 ^a (H1N1)	30	+	-	-
A/WS/33 (H1N1)	5	+	-	-
A/Taiwan/42/06 (H1N1)	50	+	-	-
A/Aichi/2/68 (H3N2)	100	+	-	-
A/Havai/15/2001 (H3N2)	50	+	-	-

Tabela 13. Reactividade analítica (inclusividade) do Ensaio Expert Flu (Continuação)

Estirpe	TCID ₅₀ /mL	Gripe A	Gripe A 2009 H1N1	Gripe B
A/Hong Kong/8/68 (H3N2)	50	+	-	-
A/Port Chalmers/1/73 (H3N2)	50	+	-	-
A/Wisconsin/67/05 (H3N2)	50	+	-	-
A/Perth/16/2009 ^a (H3N2)	1	+	-	-
A/Victória/361/2011 ^a (H3N2)	0,5	+	-	-
A/Brisbane/10/07 (H3N2)	25	+	-	-
A/Indiana/08/2011 (H3N2v)	5	+	-	-
A/Minesota/11/2010 (H3N2v)	250	+	-	-
A/Califórnia/7/2009 (09 H1N1)	0,5	+	+	-
A/Suína NI/03/2009 (09 H1N1)	250	+	+	-
A/WI/929-S1 (09 H1N1)	50	+	+	-
A/Canadá/6294 ^a (09 H1N1)	100	+	+	-
A/SuínaNI/01/2009 ^a (09 H1N1)	0,5	+	+	-
A/SuínaNI/02/2009 (09 H1N1)	100	+	+	-
A/Anhui/02/2005/PR8-IBCDC-RG5 (H5N1) ^b	1,2e-4 ^b	+	-	-
A/galinha/NJ/15086-3/94 (H7N3) ^b	1,2e-4 ^b	+	-	-
A/Patos reais/WI/34/75 (H5N2) ^b	3,9e-4 ^b	+	-	-
B/Allen/45	50	-	-	+
B/Flórida/04/06	50	-	-	+
B/Flórida/02/06	25	-	-	+
B/GL/1739/54	50	-	-	+
B/Hong Kong/5/72	250	-	-	+
B/Lee/40	50	-	-	+
B/Malásia/2506/04	50	-	-	+
B/Taiwan/2/62	50	-	-	+
B/Maryland/1/59	5	-	-	+
B/Panamá/45/90	5	-	-	+
B/Flórida/07/04 ^a	0,9	-	-	+
B/Wisconsin/01/2010 ^a	25	-	-	+

a. Estirpes (n=8) utilizadas no estudo do LoD analítico (D16266) e testadas na concentração correspondente ao limite de detecção.

b. Concentração expressa em picogramas/μL.

17.4 Estudo de substâncias que interferem

Num estudo não clínico, foram avaliadas potenciais substâncias que interferem passíveis de estarem presentes na nasofaringe directamente em relação ao desempenho do Ensaio Xpert Flu. As potenciais substâncias interferentes na nasofaringe podem incluir, entre outras: sangue, secreções nasais ou muco e medicamentos nasais e faríngeos utilizados para aliviar a congestão, a secura nasal, a irritação ou a asma e sintomas alérgicos, assim como antibióticos e antiviricos. Estas substâncias estão discriminadas na Tabela 11, com indicação dos princípios activos e concentrações testadas.

Foram testadas amostras negativas (n=8) em cada substância para determinar o efeito no desempenho do controlo de processamento da amostra (sample processing control, SPC). Foram testadas amostras positivas (n=8) por substância com 2 estirpes da gripe A sazonal A H1N1 (A/Brisbane/59/07 e A/Nova Caledónia/20/1999), 2 estirpes da gripe A sazonal H3N2 (A/Perth/16/09 e A/Victoria/361/2011), 2 estirpes da gripe A 2009 H1N1 A/SuínaNI/01/2009 e A/SuínaNI/02/2009 e 2 estirpes da gripe B (B/Wisconsin/01/2011 e B/Flórida/07/04) adicionadas a cerca do LoD determinado para cada isolado.

Todos os resultados foram comparados com controlos positivos e negativos preparados em meio de transporte universal (UTM). Todas as amostras positivas e negativas foram correctamente indicadas no relatório do Ensaio Xpert Flu.

Nenhuma das potenciais substâncias interferentes resultou numa diferença de Ct ≥ 1 ciclo relativamente aos controlos de tampão, não tendo sido relatados quaisquer resultados falsos negativos.

Nenhuma das substâncias potencialmente interferentes apresentou um efeito inibidor estatisticamente significativo no desempenho do SPC em amostras negativas (valor de p = $>0,05$).

Todas as amostras de gripe A positivas foram correctamente indicadas no relatório **“POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE)”** usando o Ensaio Xpert Flu.

Todas as amostras de gripe A H1N1 2009 positivas foram correctamente indicadas no relatório **“POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 DETECTADO (2009 H1N1 DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE)”** usando o Ensaio Xpert Flu.

Todas as amostras de gripe B positivas foram correctamente indicadas no relatório **“NEGATIVO para gripe A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE)”** usando o Ensaio Xpert Flu.

Tabela 14. Substâncias que podem interferir no Ensaio Xpert Flu

Substância	Descrição/princípio activo	Concentração testada
Sangue (humano)	NA	1% (v/v)
Mucina	Proteína mucina purificada (glândula submaxilar bovina ou suína)	2,5% (p/v)
Gotas nasais Neo-Synephrine®	Fenilefrina HCl	15% (v/v)
Spray nasal Anefrin	Cloridrato de oximetazolina	15% (v/v)
Zicam® Gel nasal	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Sulfur	15% (v/v)
Soro fisiológico em spray nasal	Cloreto de sódio com conservantes	15% (v/v)
Antibiótico, pomada nasal	Mupirocina	10 mg/mL
Antibacteriano, sistémico	Tobramicina	4,0 µg/mL
Antivírico	Fosfato de oseltamivir (Tamiflu®)	7,5 mg/mL
Pastilhas para a garganta, anestésico e analgésico oral	Mentol	1,7 mg/mL

17.5 Estudo de contaminação cruzada (carry-over)

Foi realizado um estudo para demonstrar que os cartuchos GeneXpert independentes, de utilização única, impedem a contaminação por transferência de amostras negativas processadas no mesmo módulo GeneXpert após amostras positivas muito elevadas. O estudo consistiu na análise de amostra negativa processada no mesmo módulo GeneXpert imediatamente após uma amostra positiva muito elevada para a gripe A subtipo H1N1 2009 (10^6 TCID₅₀/teste) e para a gripe B (aproximadamente 10^6 TCID₅₀/teste). Este esquema de teste foi repetido 20 vezes num único módulo GeneXpert, perfazendo um total de 41 processamentos, resultando em 20 amostras positivas e 21 negativas. Todas as 20 amostras positivas surgiram correctamente no relatório **POSITIVO para gripe A (Flu A POSITIVE); 2009 H1N1 DETECTADO (2009 H1N1 DETECTED); POSITIVO para gripe B (Flu B POSITIVE)**. Todas as 21 amostras negativas surgiram correctamente no relatório **NEGATIVO para gripe A (Flu A NEGATIVE); 2009 H1N1 NÃO DETECTADO (2009 H1N1 NOT DETECTED); NEGATIVO para gripe B (Flu B NEGATIVE)**.

18. Referências

1. Petric M, Comanor L, Petti CA. Role of the laboratory in diagnosis of influenza during seasonal epidemics and potential pandemics. *J Infect Dis.* 2006;194:S98-110.
2. Schweiger B, Zadow I, Heckler R, et al. Application of a fluorogenic PCR assay for typing and subtyping of influenza viruses in respiratory samples. *J Clin Micro.* 2000;38:1552-1558.
3. Center for Disease Control and Prevention, Seasonal Influenza. <http://www.cdc.gov>
4. Accessed on September 19, 2012.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
6. Interim Biosafety Guidance for All Individuals Handling Clinical Specimens or Isolates Containing 2009-H1N1 influenza A Virus (Novel H1N1), including Vaccine Strains, August 15, 2009; (http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidelines_labworkers.htm).
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

19. Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa

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

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França
Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

20. Assistência Técnica

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

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










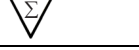




Informações de contacto

Estados Unidos da América
Telefone: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

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

21. Tabela de símbolos

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



Cepheid AB
 Rontgenvagen 5
 SE-171 54 Solna
 Suécia
 Produto da Suécia

