

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System
Instruções de utilização

Estas Instruções de utilização aplicam-se às seguintes referências:

PRODUTO	REFERÊNCIA
VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444221

Tabela A1. Referência do produto a usar com o BD MAX™ System.

EN For download IFUS from other languages, please enter in **certest.es/viasure/labeling**. Once you be there, please following the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es.

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu **certest.es/viasure/labeling**. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en **certest.es/viasure/labeling**. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur **certest.es/viasure/labeling**. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebате dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a **certest.es/viasure/labeling** weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su **certest.es/viasure/labeling**. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į **certest.es/viasure/labeling**. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet **certest.es/viasure/labeling**. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse **certest.es/viasure/labeling**. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați **certest.es/viasure/labeling**. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på **certest.es/viasure/labeling**. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

TR IFU's'u diğer dillerden indirmek için lütfen **certest.es/viasure/labeling** adresine girin. Oraya girdikten sonra, lütfen ihtiyacınız olan dile erişim için talimatları takip edin. Daha fazla bilgiye ihtiyacınız varsa, lütfen viasure@certest.es adresinden iletişime geçin.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta **certest.es/viasure/labeling**. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Consulte **certest.es/viasure/labeling** caso o seu idioma não se encontre na lista. Contacte viasure@certest.es caso o seu idioma não se encontre no website.

Nota: O utilizador deve notificar o fabricante e as autoridades competentes do Estado-Membro no qual está estabelecido como utilizador e/ou doente de qualquer incidente grave relacionado com o produto.

Índice

1.	Finalidade prevista.....	6
2.	Introdução e explicação	6
3.	Princípio do procedimento.....	9
4.	Reagentes fornecidos	10
5.	Reagentes e equipamentos necessários e não fornecidos	10
6.	Condições de transporte, armazenamento e utilização	11
7.	Precauções para o utilizador.....	12
8.	Procedimento do teste.....	14
8.1.	Colheita, transporte e armazenamento de amostras.....	14
8.2.	Preparação da amostra e extração de NA.....	16
8.3.	Protocolo de PCR.....	16
8.3.1.	Criação de um programa de teste de PCR para o VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.....	16
8.3.2.	Preparação do suporte para tubos do BD MAX™ System.....	23
8.3.3.	Configuração do instrumento BD MAX™.....	24
8.3.4.	Relatório de resultados do BD MAX™.....	25
9.	Interpretação dos resultados.....	25
10.	Limitações do teste	30
11.	Controlo de qualidade	32
12.	Características de desempenho analítico	32
12.1.	Linearidade analítica.....	32
12.2.	Sensibilidade analítica. Limite de deteção (LoD).....	35
12.3.	Intervalo de medição.....	36
12.4.	Exatidão	36
12.4.1.	Veracidade	36
12.4.2.	Precisão.....	43
12.5.	Transferência	48
12.6.	Taxa de falha do sistema completo	48

12.7. Especificidade analítica e reatividade	49
12.7.1. Especificidade analítica.....	49
12.7.2. Reatividade analítica	55
12.8. Rastreabilidade metrológica	58
13. Características de desempenho clínico.....	59
 Bibliografia.....	 61
Símbolos para componentes IVD e reagentes.....	63
Marcas comerciais	63

PORTUGUÊS

1. Finalidade prevista

O VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System é um teste de RT-qPCR automatizado concebido para a deteção qualitativa simultânea de RNA/DNA de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus em esfregaços nasofaríngeos de doentes com suspeita de infeção respiratória pelo respetivo profissional de saúde (PS). Este teste destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico de infeção pelos microorganismos mencionados acima em combinação com os sinais e sintomas clínicos do doente e/ou os fatores de risco epidemiológicos. Os resultados positivos indicam a presença de ácidos nucleicos (NA) alvo, mas não excluem a presença de outros agentes patogénicos não detetados pelo teste. Os resultados negativos não excluem a presença dos NA alvo, e não devem ser utilizados como único fundamento para o tratamento ou outras decisões de gestão do doente. O teste utiliza o BD MAX™ System para a extração automatizada de RNA/DNA e posterior RT-qPCR, utilizando os reagentes fornecidos combinados com os reagentes universais e materiais descartáveis para o BD MAX™ System. O RNA/DNA é extraído a partir de amostras. O DNA complementar (cDNA) é sintetizado, e o DNA/cDNA é amplificado utilizando RT-qPCR e detetado utilizando sondas marcadas com moléculas fluorescentes específicas para SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus.

O produto destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório clínico qualificado e com formação específica nas técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro* (incluindo formação no instrumento de PCR em tempo real (termociclador) e no sistema de extração de ácido nucleico).

2. Introdução e explicação

O Coronavírus tipo 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave, ou SARS-CoV-2 tal como é comumente conhecido, é o vírus respiratório responsável pela doença COVID-19, que surgiu no final de 2019, e que foi posteriormente caracterizada como uma pandemia global pela OMS (Fernández-Pérez et al., 2021; Hu et al., 2021; WHO | World Health Organization, 2023a). Este novo coronavírus é um vírus de RNA de cadeia simples que foi incluído na *família Coronaviridae*, género beta (Fernández-Pérez et al., 2021). A infeção por SARS-CoV-2 pode afetar tanto os adultos como as crianças, embora as pessoas com mais de 60 anos de idade e aquelas que apresentam condições médicas pré-existentes sejam mais propensas a sofrer uma forma mais grave de COVID-19 (WHO | World Health Organization, 2023a). A infeção pode ser assintomática ou dar origem a vários sintomas de baixa a alta intensidade e gravidade, muito semelhantes aos da gripe (CDC |, 2023; Safiabadi Tali et al., 2021).

A gripe é uma infecção respiratória aguda causada pelo vírus influenza, que afeta o trato respiratório e pode ser encontrado em circulação por todo o mundo (Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). A gripe sazonal, em particular, é a desencadeada pelos vírus Influenza A e Influenza B sazonais, ambos responsáveis pelas epidemias sazonais que ocorrem normalmente nos períodos de inverno em climas temperados e ao longo do ano em áreas tropicais (Tyrrell et al., 2021; Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Os vírus influenza, que fazem parte da família *Orthomyxoviridae*, são vírus de RNA de cadeia simples de sentido negativo, segmentados em oito, que codificam 12 proteínas virais (Krammer et al., 2018; Uyeki et al., 2022). O envelope viral, derivado da membrana plasmática da célula hospedeira, consiste numa bicamada lipídica que contém as proteínas transmembrana, hemaglutinina (HA), neuraminidase (NA), nucleoproteína (NP) viral, proteína da matriz (M1) e proteína da membrana (M2) (Krammer et al., 2018).

O Vírus Sincicial Respiratório (RSV) é outro vírus respiratório e sazonal que afeta o trato respiratório inferior em todas as faixas etárias (WHO | World Health Organization, n.d.). Este vírus de RNA de cadeia simples, não segmentado e de sentido negativo, membro da família *Pneumoviridae*, é conhecido por afetar principalmente as crianças pequenas com menos de 2 anos de idade, mas também pode afetar gravemente os adultos com mais de 65 anos e/ou pessoas imunocomprometidas ou com comorbidades específicas (Abu-Raya et al., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | World Health Organization, n.d.).

O diagnóstico das doenças respiratórias mencionadas é difícil, porque estas, normalmente, apresentam sintomas comuns (Uyeki et al., 2022). Assim, o diagnóstico preciso é fundamental não só para saber a causa da doença, mas também para antecipar ondas epidémicas/pandémicas e para mitigar o impacto colateral nos sistemas de saúde e económicos (Safiabadi Tali et al., 2021; Uyeki et al., 2022). Estão disponíveis muitos tipos de testes de diagnóstico (de deteção no ponto de cuidados ou de deteção rápida de antígenos); no entanto, o RT-PCR é mais sensível e específico, e permite a deteção combinada de muitos vírus respiratórios cocirculantes ao mesmo tempo, reduzindo o tempo de diagnóstico (Uyeki et al., 2022).

A doença do trato respiratório inferior é responsável por, aproximadamente, quatro milhões de mortes anuais em todo o mundo. Uma grande variedade de vírus pode ser considerada responsável por isso, sendo um deles o Coronavírus, que pertence à família dos *Coronaviridae* (Friedman et al., 2018). Estes vírus distribuídos mundialmente são vírus grandes e encapsulados que contêm um genoma de RNA de cadeia única de polaridade positiva (Lim et al., 2016; Zeng et al., 2018). Estão diretamente relacionados com doenças do trato respiratório, gastrointestinal e sistema nervoso central. Os coronavírus são caracterizados pela respetiva divisão em três serotipos ou grupos. Os grupos 1 e 2 referem-se a coronavírus de mamíferos, ao passo que o grupo 3 consiste em coronavírus das aves. Os coronavírus humanos comuns são as estirpes HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1 (Zeng et al., 2018). Os HCoV são difíceis de detetar através de métodos de diagnóstico comuns porque normalmente são detetados em simultâneo com outros vírus respiratórios, como o HRSV ou os vírus influenza (Gaunt et al., 2010). Devido a todos estes fatores, a PCR em tempo real é um dos métodos preferidos para diagnosticar os Coronavírus devido à sua especificidade. Mais

concretamente, a PCR em tempo real que define o gene *N* para as estirpes 229E, OC43 e NL63, mais o gene *REP* para a estirpe HKU1 como alvos.

Os vírus da parainfluenza (VPI ou VPIH nos humanos) pertencem à família *Paramyxoviridae* e classificam-se, genética e antigenicamente, em quatro tipos. Estes vírus podem causar infeções respiratórias em lactentes, crianças e adultos, variando o tipo de infeção e os sintomas específicos de acordo com o tipo. O HPIV-1 e o HPIV-2 causam, ambos, doenças respiratórias nos tratos superior e inferior, como constipações e crupe, sendo o HPIV-1 identificado mais frequentemente em crianças. O HPIV-3 está mais frequentemente associado a doenças respiratórias inferiores, como bronquiolite, bronquite e pneumonia. O HPIV-4 é menos frequentemente reconhecido, mas ainda pode causar doenças respiratórias leves a graves (Henrickson, 2003). Os vírus Parainfluenza são vírus de tamanho médio e encapsulados, e os seus genomas estão organizados numa única cadeia de RNA de sentido negativo que codifica pelo menos seis proteínas estruturais comuns. Estes vírus transportam duas glicoproteínas de envelope: HN, que contém atividade de hemaglutinina e neuraminidase, e F, que contém atividade de fusão (Henrickson, 2003).

A cultura viral em combinação com a imunofluorescência é o método tradicional de diagnóstico, mas é moroso (Templeton et al., 2004). Os testes de deteção de antígenos são amplamente utilizados, mas são menos sensíveis e específicos do que outros instrumentos de diagnóstico, como os ensaios de PCR em tempo real (Jansen et al., 2011; Templeton et al., 2004), que atualmente estão a ser considerados um dos melhores métodos de eleição.

Os adenovírus pertencem à família *Adenoviridae* de vírus não encapsulados e de cadeia dupla (dsDNA) (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Existem mais de 50 serotipos de Adenovírus humanos imunologicamente distintos (Lynch & Kajon, 2016), classificados em 7 espécies (Adenovírus-A a Adenovírus-G), que podem causar infeções em humanos, desde doenças respiratórias (Adenovírus-E, C e algumas espécies B) a infeções do trato digestivo (principalmente as espécies Adenovírus-A e F), infeções do trato urinário (outras espécies Adenovírus-B) e conjuntivite (Adenovírus-D) (Buckwalter et al., 2012; Datta, 2023). A transmissão pode ocorrer por inalação de gotículas aerossolizadas, inoculação conjuntival direta, disseminação fecal-oral ou exposição a tecidos ou sangue infetados (Ison & Hayden, 2016).

Os Metapneumovirus humanos pertencem à família *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) e são uma causa importante de infeção respiratória superior e inferior. O Metapneumovirus é um vírus encapsulado de RNA de sentido negativo, de cadeia simples. Os sintomas clínicos de infeção por metapneumovírus incluem tosse, febre, congestão nasal e falta de ar, e podem progredir para bronquiolite ou pneumonia (Uddin & Thomas, 2020). O Metapneumovirus é transmitido principalmente por gotículas infecciosas transportadas pelo ar e foi relatado como o segundo vírus encontrado com mais frequência em infeções respiratórias, sendo as crianças com menos de cinco anos as mais suscetíveis à infeção (Schuster & Williams, 2013).

O diagnóstico clínico pode ser problemático, já que um grande número de agentes patogénicos causadores de infeções respiratórias agudas dão lugar a quadros clínicos semelhantes. Foram inicialmente identificados

por cultura celular, mas o diagnóstico através deste procedimento é moroso até ao desenvolvimento do efeito citopático. Os testes serológicos podem ser úteis em investigações epidemiológicas, mas têm um valor prático limitado em doentes individuais (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Kajon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Por conseguinte, o PCR em tempo real (RT-PCR) é atualmente o método utilizado para a identificação de Adenovírus e Metapneumovírus, devido à sua elevada sensibilidade e especificidade.

3. Princípio do procedimento

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi concebido para a deteção qualitativa simultânea de ácidos nucleicos de SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus em esfregaços nasofaríngeos. A deteção realiza-se através de um formato de RT-qPCR numa única etapa, no qual a transcrição reversa e subsequente amplificação da sequência-alvo específica ocorrem no mesmo poço de reação. O RNA-alvo isolado é transcrito gerando DNA complementar por transcriptase reversa. Após a síntese do cDNA ou o isolamento do DNA, a identificação destes microrganismos é realizada pela amplificação de uma região conservada dos genes *N* e *ORF1ab* do SARS-CoV-2, do gene *M* (proteína da matriz (M1)) da Influenza A/B, do gene *HA* da Influenza A subtipo H1N1, do gene *N* do RSV (tipos A e B), do gene *HN* da parainfluenza (tipos 1, 2 e 3), do gene *F* da parainfluenza (tipo 4), do gene *N* do coronavírus (229E, NL63, HKU1 e OC43), do gene *F* do metapneumovírus e do gene *hexon* do adenovírus, utilizando primers específicos e sondas marcadas com fluorescência.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System baseia-se na atividade da 5' exonuclease da DNA polimerase. Durante a amplificação do DNA, esta enzima hidrolisa a sonda ligada à sequência de DNA complementar, separando o fluoróforo do quencher. Esta reação gera um aumento no sinal fluorescente que é proporcional à quantidade do modelo-alvo. Esta fluorescência é monitorizada no BD MAX™ System.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contém em cada tubo todos os componentes necessários para o ensaio de PCR em tempo real (primers/sondas específicas, dNTPs, tampão, polimerase e retrotranscriptase) num formato estabilizado¹, bem como um **controlo interno endógeno (EIC)** (gene *RNAse P* humano) para controlar a integridade da amostra, monitorizar o processo de extração e/ou descartar a inibição da atividade da polimerase. Os genes de manutenção humanos estão envolvidos na manutenção celular básica e, por conseguinte, espera-se que estejam presentes em todas as células humanas nucleadas e mantenham níveis de expressão relativamente constantes.

¹Tenha em atenção que os termos “estabilizado” e “liofilizado” são utilizados de forma indistinta e como sinónimos ao longo de todo o documento.

	Alvo	Canal	Gene
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	Genes <i>Ne</i> e <i>ORF1ab</i>
	Influenza B	530/565	Gene <i>M1</i>
	Influenza A	585/630	Genes <i>M1</i> e <i>HA</i>
	RSV (A/B)	630/665	Gene <i>N</i>
	Endogenous internal control (EIC)	680/715	Gene <i>RNase P</i> humano
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Parainfluenza (tipos 1, 2 e 3)	475/520	Gene <i>HN</i>
	Parainfluenza (tipo 4)		Gene <i>F</i>
	Coronavírus (229E, NL63, HKU1 e OC43)	530/565	Gene <i>N</i>
	Metapneumovírus	585/630	Gene <i>F</i>
	Adenovírus	630/665	Gene <i>hexon</i>
	Endogenous internal control (EIC)	680/715	Gene <i>RNase P</i> humano

Tabela 1. Alvo, canais e genes.

4. Reagentes fornecidos

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System inclui os seguintes materiais e reagentes detalhados na Tabela 2:

Reagente/Material	Descrição	Intervalo de concentração	Código de barras	Quantidade
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Lioprotetores e estabilizadores	±6 g/100 mL*	Folha 1K	2 envelopes de 12 tubos transparentes
	Desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP)	±1 mM*		
	Oligonucleótidos e sondas	0,2-1 nMol/μL*		
	Enzimas	10-100 U/reação*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube	Lioprotetores e estabilizadores	±6 g/100 mL*	Folha 1M	2 envelopes de 12 tubos transparentes
	Desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP)	±1 mM*		
	Oligonucleótidos e sondas	0,2-1 nMol/μL*		
	Enzimas	10-100 U/reação*		
Rehydration Buffer tube	Mistura de solução salina	±13 mM	Selo 11	1 envelope de 24 tubos transparentes
	Tampões (TRIS, pH)	±67 mM		

Tabela 2. Reagentes e materiais fornecidos no VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System com Cat. N.º 444221.

* Para componente em formato estabilizado, o intervalo de concentração indica o intervalo após reidratação.

5. Reagentes e equipamentos necessários e não fornecidos

A lista seguinte inclui os materiais que são necessários para a utilização mas não vêm fornecidos no VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Equipamento de PCR em tempo real: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 ou 442828).

- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vórtex.
- Micropipetas (precisão entre 2 e 1000 µL).
- Água sem nuclease.
- Pontas com filtro.
- Luvas descartáveis sem pó.

Opcional:

- Os materiais de controlo externos podem ser utilizados como parte do procedimento de controlo de qualidade do desempenho do teste. Podem ser utilizados como controlo positivo externo (EPC) ou controlo negativo externo (ENC), respetivamente, materiais de controlo disponíveis no mercado e/ou amostras previamente caracterizadas como positivas ou negativas. A seleção e validação do CPE e do CNE devem ser feitas de acordo com os regulamentos locais, estaduais e/ou federais aplicáveis e com os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório. Além disso, ao utilizar materiais de controlo disponíveis no mercado, o utilizador deve seguir as respetivas instruções de utilização.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi validado utilizando ExK™ TNA-3 (Ref.: 442827 ou 442828) no instrumento de PCR em tempo real BD MAX™ System.

As amostras selecionadas para a avaliação do dispositivo foram amostras nasofaríngeas (NF) colhidas utilizando uma zaragatoa flexível de nylon estéril (doravante designada por esfregaço nasofaríngeo). Em seguida, o esfregaço é colocado no tubo do BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220) ou Universal Transport Media® (UTM®) (Copan).

6. Condições de transporte, armazenamento e utilização

- Os kits podem ser transportados e armazenados entre 2 a 30 °C até à data de validade indicada na etiqueta do kit.
- Evitar vibrações durante o transporte, de modo a prevenir fugas de líquido.
- Após a abertura dos envelopes de alumínio que contêm os tubos de reação, o produto pode ser utilizado até 28 dias a 2-30 °C. Manter o frasco afastado da luz.

A tabela seguinte resume as condições de transporte, armazenamento e utilização do kit no geral e de cada componente:

Componente	Condições de transporte	Condições de armazenamento	Condições em utilização
Kit completo VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	2-30 °C durante o prazo de validade indicado na etiqueta do kit.	Antes da utilização: 2-30 °C durante o prazo de validade indicado na etiqueta do kit.	<i>* Consultar as condições durante a utilização de cada componente.</i>
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube (folha 1K)		Antes da utilização: 2-30 °C durante o prazo de validade indicado na etiqueta do kit. Uma vez aberto o envelope com o gel de sílica: 2-30 °C por um período máximo de 28 dias.	Temperatura ambiente.
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube (folha 1M)		Antes da utilização: 2-30 °C durante o prazo de validade indicado na etiqueta do kit. Uma vez aberto o envelope com o gel de sílica: 2-30 °C por um período máximo de 28 dias.	Temperatura ambiente.
Rehydration Buffer tube		Antes da utilização: 2-30 °C durante o prazo de validade indicado na etiqueta do kit. Uma vez aberto o envelope com o gel de sílica: 2-30 °C por um período máximo de 28 dias.	Temperatura ambiente.

Tabela 3. Resumo das condições de transporte, armazenamento e utilização do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System e de cada componente.

7. Precauções para o utilizador

- O produto destina-se a ser utilizado por pessoal de laboratório qualificado e com formação, especificamente instruído e treinado nas técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro*.
- Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- As Instruções de utilização do produto VIASURE e o Manual do Utilizador do BD MAX™ System têm de ser lidos atentamente antes de utilizar o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Não realizar o ensaio antes de terem sido compreendidas as informações sobre procedimentos, precauções de segurança e limitações descritas neste documento.
- Não é recomendado utilizar o kit após a data de validade.
- Não utilizar o kit se a etiqueta de controlo da caixa exterior estiver rasgada ou danificada.
- Não utilizar os reagentes se o estojo exterior estiver aberto ou danificado aquando da receção.
- Não utilizar os reagentes se os envelopes ou os sacos que protegem os tubos estiverem abertos ou danificados aquando da receção.
- Não utilizar os tubos de reação se o material dessecante incluído em cada envelope de alumínio não existir ou estiver danificado.
- Não remover o material dessecante dos envelopes de alumínio.
- Não utilizar os tubos de reagentes se o alumínio protetor estiver rasgado ou danificado.
- Não misturar reagentes de diferentes envelopes e/ou kits e/ou lotes.

- Fechar os envelopes de alumínio que protegem os reagentes com o fecho hermético imediatamente depois de cada utilização, de modo a proteger a mistura principal da luz solar. Antes de fechar os envelopes, eliminar qualquer excesso de ar.
- Proteger os reagentes da humidade. Uma exposição prolongada à humidade pode afetar o desempenho do produto.
- Para evitar a deterioração da etiqueta, não utilizar o produto perto de solventes.
- O aparecimento da mistura de reação num formato estabilizado, normalmente depositada no fundo do tubo, diferente do habitual (sem um formato cónico, não homogénea, de tamanho menor/maior e/ou uma cor diferente de esbranquiçado) não altera a funcionalidade do teste.
- Assegurar que o tubo de reação e o tubo de tampão de rehidratação ficam bem encaixados durante a preparação do suporte para tubos do BD MAX™ System.
- Nos casos em que sejam realizados outros testes de PCR na mesma área geral do laboratório, deve proceder com cuidado para garantir que o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, o kit de extração BD MAX™ ExK™ TNA-3 ou quaisquer reagentes adicionais requeridos para o teste e o BD MAX™ System não são contaminados. Evitar sempre a contaminação microbiana e por ribonuclease (RNase)/desoxirribonuclease (DNase) dos reagentes. Recomenda-se a utilização de pontas de pipeta estéreis, descartáveis, sem RNase/DNase, resistentes a aerossóis ou de deslocamento positivo. Utilizar uma ponta nova para cada espécime. É necessário mudar de luvas antes da manipulação dos reagentes e dos cartuchos (BD MAX™ PCR Cartridge).
- De modo a evitar a contaminação do ambiente por amplicões, não quebrar o BD MAX™ PCR Cartridge após a utilização. Os selos do BD MAX™ PCR Cartridge foram concebidos para evitar a contaminação.
- Conceber um fluxo de trabalho unidirecional. Deve-se começar na área de extração e, em seguida, passar para a área de amplificação e de deteção. Não colocar as amostras, os equipamentos e os reagentes utilizados em contacto com a área onde foi realizado o passo anterior.
- Seguir as boas práticas do laboratório. Utilizar vestuário de proteção, luvas descartáveis, óculos e máscara. Não comer, beber, fumar ou aplicar produtos de cosmética na área de trabalho. Lavar as mãos após terminar o teste.
- As amostras devem ser tratadas como potencialmente infecciosas e/ou com risco biológico, bem como todos os reagentes e materiais que tenham sido expostos às amostras, e devem ser manuseados de acordo com os regulamentos de segurança nacionais. Tomar as precauções necessárias durante a colheita, transporte, armazenamento, tratamento e eliminação de amostras.
- As amostras e reagentes têm de ser manuseados numa câmara de segurança biológica. Utilizar equipamento de proteção individual (EPI) consistente com as orientações atuais para o manuseamento de amostras potencialmente infecciosas. Eliminar os resíduos em conformidade com os regulamentos locais e nacionais.
- Recomenda-se a descontaminação periódica dos equipamentos utilizados habitualmente, em especial de micropipetas e das superfícies de trabalho.

- Em conformidade com o Regulamento (CE) N.º 1907/2006 (REACH), VIASURE Real Time PCR Detection Kits for BD MAX™ System não requerem Fichas de Dados de Segurança do Material (Safety Data Sheets) tendo em conta a sua classificação como não perigosos para a saúde e para o ambiente, pois não contêm substâncias e/ou misturas que cumpram os critérios de classificação de risco disponíveis no Regulamento (CE) N.º 1272/2008 (CLP) ou que estejam presentes em concentrações superiores ao valor estabelecido no regulamento mencionado para a respetiva declaração. Pode ser solicitada à Certest Biotec S.L. uma declaração que indique a dispensa da Ficha de Dados de Segurança do Material.
- Assegurar que a definição do programa de teste de PCR no BD MAX™ System é feita seguindo as instruções da secção “Protocolo de PCR” (parâmetros de extração de amostras, códigos de barras personalizados, definições de PCR, etc.).
- Consultar o manual do utilizador do BD MAX™ System para obter informações sobre advertências, precauções e procedimentos adicionais.
- O certificado de análise não é fornecido juntamente com o dispositivo; no entanto, pode ser transferido a partir do website da Certest Biotec S.L. (www.certest.es) em caso de necessidade.

8. Procedimento do teste

8.1. Colheita, transporte e armazenamento de amostras

O VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi testado em esfregaços nasofaríngeos colhidos com nylon flexível estéril e colocados imediatamente num tubo estéril contendo 3 ml de BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU: 220220)² ou Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³. Outros tipos de amostras têm de ser validados pelo utilizador.

A colheita, armazenamento e transporte de espécimes devem ser realizados segundo as condições validadas pelo utilizador. No geral, as amostras clínicas devem ser colhidas e etiquetadas adequadamente em recipientes limpos com ou sem meio de transporte (dependendo do tipo de amostra). Após a colheita, os espécimes devem ser colocados num saco para materiais com risco biológico e devem ser transportados e processados assim que possível, de modo a garantir a qualidade do teste. Os espécimes devem ser transportados à temperatura ambiente (TA) por um período máximo de 2 horas, ou a 4 °C por um período máximo de 5 dias, em conformidade com os regulamentos locais e nacionais para o transporte de material patogénico. Para transportes de longa duração (mais de 5 dias), é recomendado o envio a uma temperatura de -20 °C ou inferior⁴. Os espécimes submetidos a testes moleculares têm de ser armazenados em condições

² BD universal viral transport system. <https://www.bd.com/en-us/products-and-solutions/products/product-families/bd-universal-viral-transport-system>

³ <https://www.copangroup.com/product-ranges/utm/>

⁴ IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

controladas, de modo a que os ácidos nucleicos não se degradem durante o armazenamento. Recomenda-se a utilização de amostras recentes para o teste, mas caso não seja possível ou em caso de um estudo retrospectivo, as amostras devem ser armazenadas preferencialmente a -70 ou -80 °C e, como segunda opção, a -20 °C⁵. Devem ser evitados ciclos de congelação-descongelação repetidos, de modo a prevenir a degradação da amostra e dos ácidos nucleicos.

Os espécimes clínicos têm de ser colhidos transportados e armazenados de acordo com orientações laboratoriais e/ou manuais de políticas de laboratório apropriados. Como exemplo, consultar o guia da IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) ou Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J., & Orta Mira, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>.

Nota: As condições de colheita, transporte e armazenamento de espécimes indicadas acima são sugeridas com base nas recomendações para amostras nasofaríngeas destinadas a serem utilizadas para a deteção de ácido nucleico, que surgem no relatório de recomendações da SEIMC referido para procedimentos gerais de colheita e transporte em microbiologia clínica, e no guia oficial da IDSA. No entanto, recomendamos que siga as diretrizes do laboratório e/ou o manual de políticas de laboratório para o transporte e conservação apropriados das amostras.

Foi realizado um estudo interno de estabilidade de amostras com o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System utilizando esfregaços nasofaríngeos negativos colhidos no BD™ Universal Viral Transport System positivos para os alvos do produto, cada estirpe a uma concentração de 2-3xLoD. A estabilidade foi analisada por meio de três ensaios diferentes: estabilidade primária (25 °C: 24 e 48 horas; 4 °C: 1, 2 e 7 dias; -20 °C: 2, 3 e 6 meses), estabilidade no tubo de tampão de amostra (3 e 7 dias a 25 °C e 4 °C) e estabilidade em cascata (as amostras foram incubadas a 4 °C e 25 °C durante 48 horas, e após isso, estas amostras foram adicionadas ao SBT e analisadas após 3 e 7 dias a 4 °C e 25 °C). Além disso, as amostras foram analisadas após serem submetidas a cinco ciclos de congelação (a -20 °C) e descongelação (a 25 °C) durante uma semana. Os resultados mostraram um bom desempenho das amostras armazenadas em todas as condições testadas.

⁵ Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin.* (English ed.) 37, 127–134 (2019).

8.2. Preparação da amostra e extração de NA

Realizar a preparação das amostras de acordo com as recomendações nas instruções de utilização do kit de extração utilizado, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipetar 400 µL de amostra para um tubo com tampão de amostra BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube e fechar o tubo com uma tampa septada. Assegurar uma mistura completa centrifugando a amostra durante 1 minuto a alta velocidade. Certifique-se de que a agitação em vórtex é realizada alguns minutos antes de iniciar a execução. Prosseguir com o BD MAX™ System Operation.

Ter em atenção que os procedimentos de preparação para a extração específica da aplicação devem ser desenvolvidos e validados pelo utilizador e que algumas outras amostras podem requerer pré-processamento.

8.3. Protocolo de PCR

Nota: Consultar o manual do utilizador do BD MAX™ System para obter instruções mais detalhadas.

8.3.1. Criação de um programa de teste de PCR para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Nota: Caso já tenha criado o teste para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, pode saltar o passo 8.3.1 e ir diretamente para o passo 8.3.2.

- 1) No ecrã “Run” (Executar) do BD MAX™ System, selecionar o separador “Test Editor” (Editor de testes).
- 2) Clicar no botão “Create” (Criar).

No separador “Basic Information” (Informações básicas):

- 3) No campo “Test Name” (Nome do teste), escrever o nome do teste: por ex., VIASURE Resp Virus.

Nota: O nome do teste tem de ser único e pode ter um máximo de vinte caracteres.

- 4) No menu de lista pendente “Extraction Type” (Tipo de extração), selecionar “ExK TNA-3”.
- 5) No menu de lista pendente “Master Mix Format” (Formato de mistura principal), escolher “Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5)” (Concentrado de mistura principal dupla liofilizado MM com tampão de reidratação (Tipo 5)). Quando se seleciona “Dual Master Mix” (Mistura principal dupla), a configuração do separador à direita do separador “Test Editor” (Editor de teste) altera-se. Existem separadores adicionais para “PCR settings” (Configurações de PCR), “Melt settings” (Configurações de fusão) e “Test Steps” (Passos do teste), considerando ambos os tubos de encaixe.

- 6) No campo “Sample Extraction Parameters” (Parâmetros de extração da amostra), selecionar “User Defined” (Definidos pelo utilizador) e ajustar os valores dos seguintes parâmetros (Tabela 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Parâmetros de extração da amostra)	<i>Value (units)</i> (Valor (unidades))
<i>Lysis Heat Time</i> (Tempo de lise por calor)	10 min
<i>Lysis Temperature</i> (Temperatura de lise)	60 °C
<i>Sample Tip Height</i> (Altura de ponta da amostra)	1600 passos
<i>Sample Volume</i> (Volume da amostra)	950 µl
<i>Wash Volume</i> (Volume de lavagem)	500 µl
<i>Neutralization Volume</i> (Volume de neutralização)	N/A
<i>DNase Heat Time</i> (Tempo de aquecimento de DNase)	N/A

Tabela 4. Parâmetros de extração de amostras realizada com o BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) No campo “Ct Calculation” (Cálculo Ct) selecionar “Call Ct at Threshold Crossing” (Ativar Ct aquando do cruzamento do limite) (selecionado por definição).
- 8) Se estiver a ser utilizada a versão 5.00 do software ou uma versão posterior e estiverem a ser utilizados tubos de encaixe com selo e código de barras, no campo “Custom Barcodes” (Personalizar códigos de barra) selecionar a configuração seguinte:
- Snap-In 2 Barcode (Código de barras da posição de encaixe 2): 1K (em relação a *Respiratory Virus Mix I* reaction tube).
 - Snap-In 3 Barcode (Código de barras da posição de encaixe 3): 11 (relativamente ao Rehydration Buffer tube).
 - Snap-In 4 Barcode (Código de barras da posição de encaixe 4): 1M (em relação a *Respiratory Virus Mix II* reaction tube).

Nos separadores “PCR Settings” (Definições de PCR):

- 9) No campo “PCR Settings” (Configurações de PCR), introduzir os seguintes parâmetros descritos nas Tabelas 5 e 6 para o encaixe 2 (snap-in 2) (codificação de cor verde no suporte) e o encaixe 4 (snap-in 4) (codificação de cor azul no suporte), respetivamente: “Alias” (até sete caracteres alfanuméricos), “PCR Gain” (Ganho de PCR), “Threshold” (Limite), “Ct Min” (Ct Mín.) e “Ct Max” (Ct Máx.).

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (Ganho de PCR)	<i>Threshold</i> (Limite)	<i>Ct Min</i> (Ct Mín.)	<i>Ct Max</i> (Ct Máx.)
475/520 (FAM)	SARS	80	150	0	40
530/565 (HEX)	FLUB	40	150	0	40
585/630 (ROX)	FLUA	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabela 5. “PCR settings” (Configurações de PCR) para o encaixe 2.

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (Ganho de PCR)	<i>Threshold</i> (Limite)	<i>Ct Min</i> (Ct Mín.)	<i>Ct Max</i> (Ct Máx.)
475/520 (FAM)	HPIV	60	150	0	40
530/565 (HEX)	HCOV	40	150	0	40
585/630 (ROX)	MPV	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	HADV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tabela 6. "PCR settings" (Configurações de PCR) para o encaixe 4.

Nota: Recomenda-se o estabelecimento dos valores-limite mínimos acima indicados para cada canal como valores de partida, mas os valores finais têm de ser determinados pelo utilizador final durante a interpretação do resultado, de modo a assegurar que os limites estão dentro da fase exponencial das curvas de fluorescência e acima de qualquer sinal de fundo. O valor-limite para diferentes instrumentos pode variar devido a diferentes intensidades do sinal.

- 10) No campo "Color compensation" (Compensação de cor), introduzir os seguintes parâmetros (Tabela 7 e 8).

		False Receiving Channel (Canal recetor falso)					
		Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal de excitação)	475/520	-	4	0	0	0	
	530/565	1	-	0	0	0	
	585/630	0	0	-	1	0	
	630/665	0	0	3	-	18	
	680/715	0	0	0	1,5	-	

Tabela 7. Parâmetros de "Color compensation" (Compensação de cor) para o encaixe 2.

		False Receiving Channel (Canal recetor falso)					
		Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal de excitação)	475/520	-	0	0	0	0	
	530/565	0	-	0	0	0	
	585/630	0	0	-	3	0	
	630/665	0	0	5	-	19	
	680/715	0	0	0	3	-	

Tabela 8. Parâmetros de "Color compensation" (Compensação de cor) para o encaixe 4.

Nos separadores "Melt Settings" (Definições de fusão) não é necessária qualquer ação, não é aplicável a este produto.

No separador "Test Steps" (Etapas do teste):

- 11) Introduzir o nome da etapa (até vinte caracteres) e programar os seguintes parâmetros para definir cada etapa do protocolo de PCR: "Profile Type" (Tipo de perfil), "Cycles" (Ciclos), "Time" (Tempo) e "Temperature" (Temperatura) e selecionar o campo "Detect" (Detetar) para definir a etapa de deteção (Tabela 9). Clicar no botão "Add" (Adicionar) para adicionar um novo passo e repetir até serem definidos todos os passos necessários.

Nota: O campo “Type” (Tipo) tem de estar vazio.

<i>Step</i> (Passo)	<i>Step name</i> (Nome do passo)	<i>Profile Type</i> (Tipo de perfil)	<i>Cycles</i> (Ciclos)	<i>Time (s)</i> (Tempo(s))	<i>Temperature</i> (Temperatura)	<i>Detect</i> (Detetar)
Reverse transcription (Transcrição reversa)	RV-transcription	<i>Hold</i>	1	900	45 °C	-
Initial denaturation (Desnaturação inicial)	IN-denaturation	<i>Hold</i>	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Desnaturação e hibridização/Extensão (recolha de dados))	Annealing/Extension	<i>2-Temperature</i>	45	10	95 °C	-
				61,1	63 °C	✓

Tabela 9. Protocolo de PCR para o encaixe 2 (snap-in 2) e o encaixe 4 (snap-in 4).

No separador “Result Logic” (Lógica de resultados):

- 12) No campo “Target” (Alvo), atribuir um nome ao seu alvo: ou seja, SARS (até sete caracteres alfanuméricos). Repetir os passos 12 a 15 para cada alvo (ou seja, SARS, FLUB, FLUA e RSV para o encaixe 2 (snap-in 2) ou HPIV, HCOV, MPV e HADV para o encaixe 4 (snap-in 4)), seguindo as tabelas específicas para o alvo que está a ser definido.

Nota: Selecionar o encaixe 2 (verde) (snap-in 2 (green)) no menu pendente “Master Mix” (Mistura principal) para estabelecer a lógica de resultados para a primeira mistura de reação e o encaixe 4 (azul) (snap-in 4 (blue)) para a segunda mistura de reação. Os nomes dos alvos devem ser diferentes para o encaixe 2 e o encaixe 4.

- 13) Clicar na caixa de verificação “Analyze” (Analisar) para incluir os comprimentos de onda desejados (canais de PCR) na análise de resultados do alvo (Tabelas 10-13 para o encaixe 2 e tabelas 14-17 para o encaixe 4).

Primeira master mix (Respiratory Virus Mix / reaction tube): Snap-in 2 (green)

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 10. Seleção de canais de PCR no separador “Result logic” (Lógica de resultados) para o alvo SARS (SARS-CoV-2).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 11. Seleção de canais de PCR em “Result logic” (Lógica de resultados) para o alvo FLUB (Influenza B).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 12. Seleção de canais de PCR em “Result logic” (Lógica de resultados) para o alvo FLUA (Influenza A).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 13. Seleção de canais de PCR em “Result logic” (Lógica de resultados B) para o alvo RSV (Vírus sincicial respiratório tipos A e B).

Segunda master mix (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Snap-in 4 (blue)

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 14. Seleção de canais de PCR no separador “Result logic” (Lógica de resultados B) para o alvo HPIV (Parainfluenza tipos 1, 2, 3 e 4).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 15. Seleção de canais de PCR no separador “Result logic” (Lógica de resultados B) para o alvo HCOV (Coronavírus 229E, NL63, HKU1 e OC43).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 16. Seleção de canais de PCR no separador “Result logic” (Lógica de resultados) para o alvo MPV (Metapneumovírus).

<i>Wavelength</i> (Comprimento de onda)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Tipo)	<i>Analyze</i> (Analisar)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tabela 17. Seleção de canais de PCR no separador “Result logic” (Lógica de resultados) para o alvo HADV (Adenovírus).

14) Clicar no botão “Edit Logic” (Editar lógica).

15) Na janela “Edit Logic” (Editar lógica), são listadas todas as combinações de tipos de resultados. Para cada linha, no menu pendente “Result” (Resultado), selecionar o resultado que é chamado quando se cumprem as condições dessa linha, seguindo as tabelas 18-21 para o encaixe 2 e as tabelas 22-25 para o encaixe 4.

Primeira master mix (*Respiratory Virus Mix* / reaction tube): Snap-in 2 (green)

<i>Result</i> (Resultado)	SARS (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 18. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo SARS (SARS-CoV-2). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	FLUB (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 19. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo FLUB (Influenza B). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	FLUA (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 20. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo FLUA (Influenza A). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	RSV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 21. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo RSV (Vírus sincicial respiratório tipos A e B). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

Nota: De acordo com o Ct Máx. definido previamente (tabela 5):

- O tipo de resultado para os canais SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) ou RSV (630/665) é considerado “Valid” (Válido) quando o valor de Ct obtido é ≤ 40 ; e “Invalid” (Inválido) quando o valor de Ct obtido é > 40 .
- O tipo de resultado para o canal EIC (680/715) é considerado “Valid” (Válido) quando o valor de Ct obtido é ≤ 35 ; e “Invalid” (Inválido) quando o valor de Ct obtido é > 35 .

Segunda master mix (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube): Snap-in 4 (blue).

<i>Result</i> (Resultado)	HPIV (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 22. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo HPIV (Parainfluenza tipos 1, 2, 3 e 4). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	HCOV (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 23. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo HCOV (Coronavírus 229E, NL63, HKU1 e OC43). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	MPV (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 24. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo MPV (Metapneumovírus). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

<i>Result</i> (Resultado)	HADV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Válido)	Valid (Válido)
UNR	Valid (Válido)	Invalid (Inválido)
NEG	Invalid (Inválido)	Valid (Válido)
UNR	Invalid (Inválido)	Invalid (Inválido)

Tabela 25. Lista da combinação de tipos de resultados e lógica de resultados para o alvo HADV (Adenovírus). Os resultados disponíveis são POS (Positivo), NEG (Negativo) e UNR (Não resolvido).

Nota: De acordo com o Ct Máx. definido previamente (tabela 6):

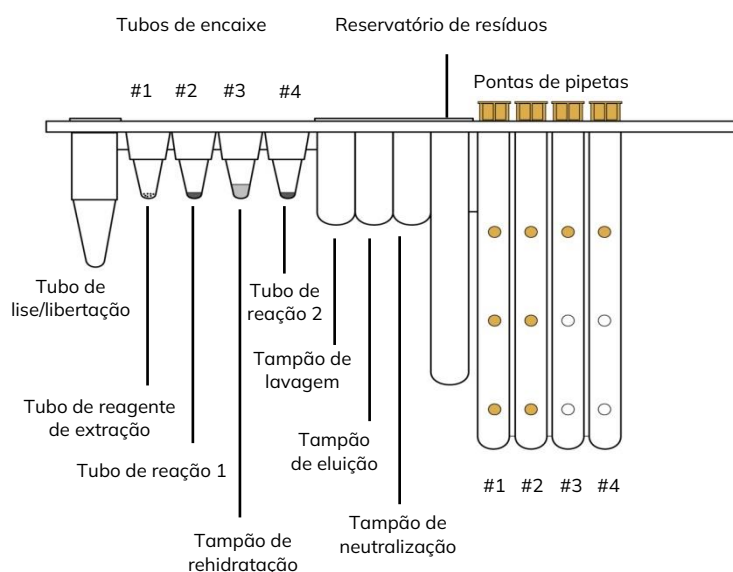
- i. O tipo de resultado para os canais HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) ou HADV (630/665) é considerado “Valid” (Válido) quando o valor de Ct obtido é ≤ 40 ; e “Invalid” (Inválido) quando o valor de Ct obtido é > 40 .
- ii. O tipo de resultado para o canal EIC (680/715) é considerado “Valid” (Válido) quando o valor de Ct obtido é ≤ 35 ; e “Invalid” (Inválido) quando o valor de Ct obtido é > 35 .

16) Clicar no botão “Save” (Guardar) para guardar o teste.

8.3.2. Preparação do suporte para tubos do BD MAX™ System

- 1) Para cada amostra a testar, retirar uma Unitized Reagent Strips (tira de reagentes individual) do BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit. Bater levemente cada tira sobre uma superfície dura para se certificar de que todos os líquidos se encontram no fundo dos tubos e colocar a tira de reagentes no suporte para tubos do BD MAX™ System.
- 2) Determinar e separar o número de BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (tubos de reagente de extração) (selo branco) necessários da sua bolsa protetora. Colocar o(s) Extraction Tubes (selo branco) na sua posição correspondente dentro da tira de reagentes TNA (Posição 1, código de cor branca no suporte para tubos. Ver Figura 1). Eliminar o excesso de ar e fechar as bolsas protetoras com o fecho hermético.
- 3) Determinar e separar o número apropriado de *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (folha 1K) e encaixá-los nas posições correspondentes na tira (posição de encaixe 2, código de cor verde no rack. Ver Figura 1).
 - a. Eliminar o excesso de ar e fechar os envelopes de alumínio com o fecho hermético.
 - b. Para uma reidratação correta, deve certificar-se de que o produto liofilizado está no fundo do tubo e não agarrado à área superior do tubo ou ao vedante de alumínio. Bater levemente cada tubo sobre uma superfície dura para se certificar que todo o produto se encontra no fundo do tubo.
- 4) Remover o número necessário de Rehydration Buffer Tubes (selo 11) e colocá-los nas posições correspondentes na tira (Posição de encaixe 3, código sem cor no suporte para tubos. Ver Figura 1).
 - a. Eliminar o excesso de ar e fechar os envelopes com o fecho hermético.
 - b. De modo a assegurar uma transferência correta, deve certificar-se de que o líquido está no fundo do tubo e não agarrado à área superior do tubo ou ao vedante de alumínio. Bater levemente cada tubo sobre uma superfície dura para se certificar que todo o tampão se encontra no fundo do tubo.
- 5) Determinar e separar o número apropriado de *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (folha 1M) e encaixá-los nas posições correspondentes na tira (posição de encaixe 4, código de cor verde no rack. Ver Figura 1).
 - a. Eliminar o excesso de ar e fechar os envelopes de alumínio com o fecho hermético.
 - b. Para uma reidratação correta, deve certificar-se de que o produto liofilizado está no fundo do tubo e não agarrado à área superior do tubo ou ao vedante de alumínio. Bater levemente cada tubo sobre uma superfície dura para se certificar que todo o produto se encontra no fundo do tubo.

Figura 1. BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) do BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Configuração do instrumento BD MAX™

- 1) Selecionar o separador “Work List” (Lista de trabalho) no ecrã “Run” (Executar) utilizando o software v4.50A ou superior do BD MAX™ System.
- 2) No menu de lista pendente “Test” (Teste), selecionar o teste pretendido, ou seja, VIASURE Resp virus (se ainda não tiver sido criado, consultar a secção 8.3.1).
- 3) No menu pendente “Kit Lot Number” (N.º de lote do kit), selecionar o número de lote apropriado para o kit (encontra-se na caixa exterior do kit de extração utilizado) (opcional).

Nota: Os números de lote têm de ser definidos no separador “Inventory” (Inventário) antes de poderem ser selecionados aqui.

- 4) Introduzir o número de identificação do Sample Buffer Tube no campo “Sample tube” (Tubo de amostra), quer através da digitalização do código de barras com o leitor ou através de entrada manual.
- 5) Preencher o campo “Patient ID” (ID do doente) e/ou “Accession” (Acesso) e clicar na tecla Tab ou Enter. Continuar até estarem introduzidos todos os códigos de barras dos Sample Buffer Tubes. Certificar-se de que a identificação do espécime/doente e dos Sample Buffer Tubes estão corretamente equiparados.
- 6) Colocar o Sample Buffer Tube preparado no(s) suportes BD MAX™.
- 7) Colocar o(s) suporte(s) no BD MAX™ System (o suporte para tubos A encontra-se no lado esquerdo do BD MAX™ System e o suporte para tubos B no lado direito).
- 8) Colocar o número necessário de BD MAX™ PCR Cartridge no BD MAX™ System.
- 9) Fechar a porta do BD MAX™ System.
- 10) Clicar em “Start” (Iniciar) para iniciar o procedimento.

8.3.4. Relatório de resultados do BD MAX™

- 1) Na barra de menus, clicar no botão “Results” (Resultados).
- 2) Clicar duas vezes no teste incluído na lista de ensaios ou premir o botão “View” (Visualizar).
- 3) Os botões “Print” (Imprimir) e “Export” (Exportar) na parte inferior do ecrã serão ativados.

Para imprimir os resultados:

1. Clicar no botão “Print” (Imprimir).
2. Na janela de pré-visualização “Print” (Imprimir) do relatório de execução, selecionar: “Run Details” (Detalhes da execução), “Test Details” (Detalhes do teste) e “Plots” (Gráficos).
3. Clicar em “Print” (Imprimir) para imprimir o relatório ou clicar em “Export” (Exportar) para exportar um PDF do relatório para uma pen USB.

Para exportar os resultados:

1. Clicar no botão “Export” (Exportar) para transferir o relatório (ficheiro PDF e CSV) para uma pen USB.
2. Quando a exportação estiver concluída, o ícone de sucesso/falha aparece na janela “Results Export” (Exportação de resultados).

9. Interpretação dos resultados

Para uma descrição detalhada de como analisar os dados, consultar o manual do utilizador do BD MAX™ System.

A análise dos dados é realizada com o software BD MAX™ de acordo com as instruções de utilização do fabricante. O software do BD MAX™ System disponibiliza os valores de Ct e mostra as curvas de amplificação para cada um dos canais de deteção de cada amostra analisada da seguinte forma:

- Um valor de Ct de 0 indica que o software não calculou nenhum valor de Ct com o limiar especificado (consultar a Tabela 5). Se a curva de amplificação mostra um “0” como valor de Ct, é necessário analisá-la manualmente.
- Valor de Ct de -1 indica que não ocorreu nenhum processo de amplificação, que não foi calculado nenhum valor de Ct pelo software ou que o valor de Ct calculado está abaixo do limite especificado ou acima do Ct Máx. estabelecido (valor-limite).
- Qualquer outro valor de Ct deve ser interpretado em correlação com a curva de amplificação e de acordo com a lógica de resultados definida, segundo as orientações de interpretação descritas nas Tabelas 26 e 27.

Verificar a emissão do sinal do controlo interno endógeno para confirmar o funcionamento correto da mistura de amplificação. Para além disso, verificar se não há nenhum relatório de anomalia do BD MAX™ System.

Os resultados devem ser lidos e analisados utilizando as tabelas seguintes:

Primeira master mix (<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube): Snap-in 2				
SARS-CoV-2 (nome do alvo: SARS)	Influenza B (nome do alvo: FLUB)	Influenza A (nome do alvo: FLUA)	Vírus sincicial respiratório (nome do alvo: RSV)	Interpretação de amostras individuais do doente
POS	POS	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A e RSV detetado
POS	POS	POS	NEG	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B e Influenza A detetado, RNA de RSV não detetado
POS	POS	NEG	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B e RSV detetado, RNA de Influenza A não detetado
POS	NEG	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza A e RSV RNA detetado, RNA de Influenza B não detetado
NEG	POS	POS	POS	RNA de Influenza B, Influenza A e RSV detetado, RNA de SARS-CoV-2 não detetado
POS	POS	NEG	NEG	RNA de SARS-CoV-2 e Influenza B detetado, RNA de Influenza A e RSV RNA não detetado
POS	NEG	POS	NEG	RNA de SARS-CoV-2 e Influenza A detetado, RNA de Influenza B e RSV não detetado
POS	NEG	NEG	POS	RNA de SARS-CoV-2 e RSV detetado, RNA de Influenza B e Influenza A não detetado
NEG	POS	POS	NEG	RNA de Influenza B e Influenza A detetado, RNA de SARS-CoV-2 e RSV não detetado
NEG	POS	NEG	POS	RNA de Influenza B e RSV detetado, RNA de SARS-CoV-2 e Influenza A não detetado
NEG	NEG	POS	POS	RNA de Influenza A e RSV detetado, RNA de SARS-CoV-2 e Influenza B não detetado
POS	NEG	NEG	NEG	RNA de SARS-CoV-2 detetado, RNA de Influenza B, Influenza A e RSV não detetado
NEG	POS	NEG	NEG	RNA de Influenza B RNA detetado, RNA de SARS-CoV-2, Influenza A e RSV não detetado
NEG	NEG	POS	NEG	RNA de Influenza A detetado, RNA de SARS-CoV-2, Influenza B e RSV não detetado
NEG	NEG	NEG	POS	RNA de RSV detetado, RNA de SARS-CoV-2, Influenza B e Influenza A não detetado
NEG	NEG	NEG	NEG	RNA alvo não detetado

UNR	UNR	UNR	UNR	Resultado não resolvido (UNR) obtido na presença de inibidores na reação de PCR ou quando ocorre um problema geral (não indicado por um código de erro) nos passos de processamento e/ou amplificação da amostra. ¹
IND	IND	IND	IND	Resultado indeterminado do ensaio (IND). Devido a anomalia do BD MAX™ System. Resultado do ensaio apresentado no caso de falha do instrumento associado a um código de erro. ²
INC	INC	INC	INC	Resultado incompleto do ensaio (INC). Devido a anomalia do BD MAX™ System. Resultado do ensaio apresentado no caso de falha de uma execução completa. ²

Tabela 26. Interpretação da amostra.

1 O controlo interno endógeno (EIC) deve apresentar um sinal de amplificação com valor de Ct ≤ 35 para ser considerado. Se houver ausência de sinal para o EIC ou o valor de Ct for >35 , o resultado é considerado Não Resolvido (UNR) e é necessário repetir o teste. Verificar o relatório de resultados e os valores de Ct dos alvos selecionados e proceder em conformidade tendo em conta o seguinte:

- I. Quando os resultados dos genes-alvo forem inválidos (Ct > 40 , o que é indicado pelo software como um resultado “-1”), é necessário repetir o ensaio a partir da amostra primária, preparando novamente o tubo Sample Buffer Tube (SBT), se estiver disponível volume de amostra suficiente. Seguir as diretrizes do laboratório e/ou os manuais de políticas do laboratório de microbiologia.
- II. Quando os resultados dos genes-alvo são válidos (Ct ≤ 40), é possível não ver nenhuma amplificação ou amplificação de EIC com um valor de Ct > 35 (que o software apresenta como resultado “-1”) ao testar amostras altamente concentradas, devido a uma amplificação preferencial de ácidos nucleicos específicos do alvo. Se for considerado necessário, diluir estas amostras na proporção de 1/10, preparar novamente o Sample Buffer Tube (SBT) e repetir o teste. Seguir as diretrizes do laboratório e/ou os manuais de políticas do laboratório de microbiologia.

NOTA: Os esfregaços nasofaríngeos podem ser mantidos sem transferência para o SBT durante um período máximo de 2 dias, se armazenados a 25 °C, ou durante um período máximo de 7 dias, se armazenados a 4 °C.

2 Podem ser obtidos resultados Indeterminados (IND) ou Incompletos (INC) devido a uma falha do sistema e é necessário repetir o teste. Consultar o manual do utilizador do BD MAX™ System para a interpretação dos códigos de aviso e de erro.

Segunda master mix (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube): Snap-in 4				
Parainfluenza (nome do alvo: HPIV)	Coronavírus (nome do alvo: HCOV)	Metapneumovírus (nome do alvo: MPV)	Adenovírus (nome do alvo: HADV)	Interpretação de amostras individuais do doente
POS	POS	POS	POS	RNA/DNA de parainfluenza, coronavírus, metapneumovírus e adenovírus detetado
POS	POS	POS	NEG	RNA de parainfluenza, coronavírus e metapneumovírus detetado, DNA de adenovírus não detetado

POS	POS	NEG	POS	RNA/DNA de parainfluenza, coronavírus e adenovírus detetado, RNA de metapneumovírus não detetado
POS	NEG	POS	POS	RNA/DNA de parainfluenza, metapneumovírus e adenovírus detetado, RNA de coronavírus não detetado
NEG	POS	POS	POS	RNA/DNA de coronavírus, metapneumovírus e adenovírus detetado, RNA de parainfluenza não detetado
POS	POS	NEG	NEG	RNA de parainfluenza e coronavírus detetado, RNA/DNA de metapneumovírus e adenovírus não detetado
POS	NEG	POS	NEG	RNA de parainfluenza e metapneumovírus detetado, RNA/DNA de coronavírus e adenovírus não detetado
POS	NEG	NEG	POS	RNA/DNA de parainfluenza e adenovírus detetado, RNA de coronavírus e metapneumovírus não detetado
NEG	POS	POS	NEG	RNA de coronavírus e metapneumovírus detetado, RNA/DNA de parainfluenza e adenovírus não detetado
NEG	POS	NEG	POS	RNA/DNA de coronavírus e adenovírus detetado, RNA de parainfluenza e metapneumovírus não detetado
NEG	NEG	POS	POS	RNA/DNA de metapneumovírus e adenovírus detetado, RNA de parainfluenza e coronavírus não detetado
POS	NEG	NEG	NEG	RNA de parainfluenza detetado, RNA/DNA de coronavírus, metapneumovírus e adenovírus não detetado
NEG	POS	NEG	NEG	RNA de coronavírus detetado, RNA/DNA de parainfluenza, metapneumovírus e adenovírus não detetado
NEG	NEG	POS	NEG	RNA de metapneumovírus detetado, RNA/DNA de parainfluenza, coronavírus e adenovírus não detetado
NEG	NEG	NEG	POS	DNA de adenovírus detetado, RNA de parainfluenza, coronavírus e metapneumovírus não detetado
NEG	NEG	NEG	NEG	RNA alvo não detetado
UNR	UNR	UNR	UNR	Resultado não resolvido (UNR) obtido na presença de inibidores na reação de PCR ou quando ocorre um problema geral (não indicado por um código de erro) nos passos de processamento e/ou amplificação da amostra. ¹

IND	IND	IND	IND	Resultado indeterminado do ensaio (IND). Devido a anomalia do BD MAX™ System. Resultado do ensaio apresentado no caso de falha do instrumento associado a um código de erro. ²
INC	INC	INC	INC	Resultado incompleto do ensaio (INC). Devido a anomalia do BD MAX™ System. Resultado do ensaio apresentado no caso de falha de uma execução completa. ²

Tabela 27. Interpretação da amostra.

1 O controlo interno endógeno (EIC) deve apresentar um sinal de amplificação com valor de $Ct \leq 35$ para ser considerado. Se houver ausência de sinal para o EIC ou o valor de Ct for >35 , o resultado é considerado Não Resolvido (UNR) e é necessário repetir o teste. Verificar o relatório de resultados e os valores de Ct dos alvos selecionados e proceder em conformidade tendo em conta o seguinte:

- I. Quando os resultados dos genes-alvo forem inválidos ($Ct > 40$, o que é indicado pelo software como um resultado "-1"), é necessário repetir o ensaio a partir da amostra primária, preparando novamente o tubo Sample Buffer Tube (SBT), se estiver disponível volume de amostra suficiente. Seguir as diretrizes do laboratório e/ou os manuais de políticas do laboratório de microbiologia.
- II. Quando os resultados dos genes-alvo são válidos ($Ct \leq 40$), é possível não ver nenhuma amplificação ou amplificação de EIC com um valor de $Ct > 35$ (que o software apresenta como resultado "-1") ao testar amostras altamente concentradas, devido a uma amplificação preferencial de ácidos nucleicos específicos do alvo. Se for considerado necessário, diluir estas amostras na proporção de 1/10, preparar novamente o Sample Buffer Tube (SBT) e repetir o teste. Seguir as diretrizes do laboratório e/ou os manuais de políticas do laboratório de microbiologia.

NOTA: Os esfregaços nasofaríngeos podem ser mantidos sem transferência para o SBT durante um período máximo de 2 dias, se armazenados a 25 °C, ou durante um período máximo de 7 dias, se armazenados a 4 °C.

2 Podem ser obtidos resultados Indeterminados (IND) ou Incompletos (INC) devido a uma falha do sistema e é necessário repetir o teste. Consultar o manual do utilizador do BD MAX™ System para a interpretação dos códigos de aviso e de erro.

Nota: Quando utilizar controlos externos, estes devem produzir os seguintes resultados esperados: negativos para o ENC e positivos para o EPC (espera-se que os espécimes positivos conhecidos sejam positivos apenas para os microrganismos presentes no espécime). Um ENC que produza um resultado de teste positivo indica um evento de contaminação ou falha no manuseamento do espécime. Um EPC que produza um resultado negativo indica um problema de manuseamento/preparação do espécime. Rever a técnica de manuseamento/preparação do espécime. Quando ocorre uma falha de controlo externo, é necessário repetir o teste.

Em caso de um resultado ambíguo contínuo, é recomendável reler as instruções de utilização, o processo de extração usado pelo utilizador; para verificar o desempenho correto de cada passo da PCR e rever os parâmetros e para verificar a forma sigmoideia da curva e a intensidade da fluorescência.

Os resultados do teste devem ser avaliados por um profissional de saúde no contexto da história clínica, sintomas clínicos e outros testes diagnósticos.

10. Limitações do teste

- Os resultados do teste devem ser avaliados por um profissional de saúde no contexto da história clínica, sintomas clínicos e outros testes diagnósticos.
- Embora este ensaio possa ser utilizado com outros tipos de amostras, foi validado apenas com esfregaços nasofaríngeos.
- Para o bom desempenho do teste, o produto liofilizado deve estar no fundo do tubo e não agarrado à área superior do tubo ou ao vedante de alumínio. Bater levemente cada tubo sobre uma superfície dura para se certificar que todo o produto se encontra no fundo do tubo.
- A qualidade do teste depende da qualidade da amostra; o ácido nucleico tem de ser corretamente extraído das amostras clínicas.
- O teste é um teste qualitativo e não fornece valores quantitativos, nem indica o número de organismos presentes. Não é possível correlacionar os valores de Ct obtidos por PCR com a concentração da amostra, pois esses valores dependem do termociclador utilizado e do próprio ensaio.
- Podem ser detetados níveis extremamente baixos de alvos abaixo do limite de detecção, mas os resultados podem não ser reproduzíveis.
- Ter em atenção o intervalo de medição previsto do ensaio, pois amostras com concentrações acima ou abaixo deste intervalo podem apresentar resultados erróneos.
- Existe a possibilidade de resultados falsos positivos devido a contaminação cruzada por estirpes de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus contendo altas concentrações de RNA/DNA-alvo ou contaminação devido a produtos de PCR de reações anteriores.
- As combinações de primers e sondas específicas para detecção dos genes *N* e *ORF1ab* do SARS-CoV-2, do gene *M* (proteína da matriz (M1)) da Influenza A/B, do gene *HA* da Influenza A subtipo H1N1, do gene *N* do RSV (tipos A e B), do gene *HN* da parainfluenza (tipos 1, 2 e 3), do gene *F* da parainfluenza (tipo 4), do gene *N* do coronavírus (229E, NL63, HKU1 e OC43), do gene *F* do metapneumovírus e do gene *hexon* do adenovírus, utilizados no VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, não apresentam homologias combinadas significativas com o genoma humano, a microflora humana ou outros microrganismos respiratórios, que possam resultar em falsos positivos previsíveis.
- Resultados falsos negativos podem ser causados por vários fatores e respetivas combinações, incluindo:
 - Métodos incorretos de colheita, transporte, armazenamento e/ou manuseamento de espécimes.
 - Procedimentos de processamento incorretos (incluindo extração de RNA/DNA).
 - Degradação do RNA/DNA durante a expedição/armazenamento e/ou processamento das amostras.
 - Mutações ou polimorfismos em regiões de ligação de primers ou sondas podem afetar a detecção de estirpes novas ou desconhecidas de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV

(tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e/ou adenovírus.

- Uma carga viral no espécime abaixo do limite de detecção para o ensaio.
- A presença de inibidores de RT-qPCR ou de outros tipos de substâncias interferentes. Não foram avaliados os efeitos de vacinas, algumas terapêuticas antivirais, antibióticos, fármacos quimioterapêuticos ou imunossupressores, ou de antifúngicos utilizados para prevenir infecções ou utilizados durante o tratamento da infecção.
- O efeito de substâncias interferentes apenas foi avaliado para as indicadas na secção 12.7.1 (estudo de substâncias interferentes) destas Instruções de utilização. Foi observada interferência ao testar fluticasona (1,26E-06 mg/ml) e nicotina (3,00E-02 mg/ml) tanto no *Respiratory Virus Mix I* reaction tube como no *Respiratory Virus Mix II* reaction tube. Consultar esta secção para obter informações sobre as substâncias endógenas e exógenas mais comuns que induzem interferência total ou parcial na reação de RT-qPCR. Outras substâncias não indicadas nesta parte podem conduzir a resultados erróneos.
- A não observância das instruções de utilização e do procedimento do ensaio.
- Um resultado de teste positivo não indica necessariamente a presença de vírus viáveis e não significa que estes vírus são infecciosos ou que são os agentes causadores de sintomas clínicos. Contudo, um resultado positivo é indicador da presença de sequências víricas-alvo.
- Resultados negativos não excluem a presença de RNA/DNA de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e/ou adenovírus numa amostra clínica e não devem ser utilizados como único fundamento para o tratamento ou a tomada de outras decisões de gestão do doente. Não foram determinados os tipos de amostras ideais e o momento em que se alcançam os níveis máximos de carga viral durante as infecções causadas por estes microorganismos. Pode ser necessária a colheita de vários espécimes (tipos e pontos temporais) do mesmo doente para detetar o agente patogénico.
- É possível que a detecção de algumas estirpes pertencentes à linhagem Victoria do vírus Influenza B que circulam desde 2019 seja comprometida, devido a mutações pontuais nestas novas estirpes. A inclusividade do vírus Influenza B apenas foi testada para variantes contendo mutações C54T, C55T e C120T (sequência de referência NC002210.1).
- Se os testes de diagnóstico de outras doenças respiratórias forem negativos e as observações clínicas, o historial do doente e as informações epidemiológicas sugerirem a possibilidade de infeção por SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e/ou adenovírus, então deve considerar-se o resultado como um falso negativo e deve discutir-se a possibilidade de testar novamente o doente.
- Os valores de fluorescência podem variar devido a vários fatores, tais como: equipamento de PCR (mesmo que seja do mesmo modelo), sistema de extração, tipo de amostra, tratamento prévio da amostra, etc., entre outros.

- O dispositivo inclui oligonucleótidos e sondas que detetam especificamente a estirpe H1N1pdm09 de Influenza A. Não pode ser excluída a estirpe de Influenza pandémica, devendo ser considerados testes adicionais no caso de um resultado positivo para Influenza.
- Os valores preditivos positivos e negativos são altamente dependentes da prevalência em todos os testes de diagnóstico *in vitro*. O desempenho do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pode variar dependendo da prevalência e da população testada.
- Em caso de obtenção de resultados não resolvidos, indeterminados ou incompletos com o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, é necessário voltar a testar. Os resultados não resolvidos podem dever-se à presença de inibidores na amostra ou a uma reidratação incorreta do tubo de mistura da reação liofilizada. Se ocorrer uma avaria no instrumento, serão obtidos resultados indeterminados ou incompletos.

11. Controlo de qualidade

O VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contém um controlo interno endógeno (EIC) em cada tubo de reação, que confirma a aplicação correta da técnica. Além disso, a utilização de controlos externos (EPC e ENC) permite confirmar o desempenho do teste. Os controlos externos não são utilizados pelo BD MAX™ System para fins de interpretação de resultados, mas são considerados como uma amostra. O Controlo Positivo Externo (EPC) destina-se a monitorizar uma possível falha dos reagentes do teste, enquanto o Controlo Negativo Externo (ENC) se destina a detetar a contaminação ambiental ou de reagentes por ácidos nucleicos-alvo.

12. Características de desempenho analítico

12.1. Linearidade analítica

A linearidade do ensaio foi determinada e confirmada testando uma série de diluições de dez vezes de amostras de esfregaços nasofaríngeos com uma concentração conhecida de RNA/DNA específico e sintético pertencente a de SARS-CoV-2, vírus Influenza A, vírus Influenza B, vírus sincicial respiratório, vírus parainfluenza, coronavírus, metapneumovírus e adenovírus (variando de $2E+07$ para $2E+00$ cópias por μL). Apresenta-se abaixo um exemplo do gráficos de amplificação resultante de um ensaio:

Figura 2. Diluições em série do modelo de SARS-CoV-2 ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

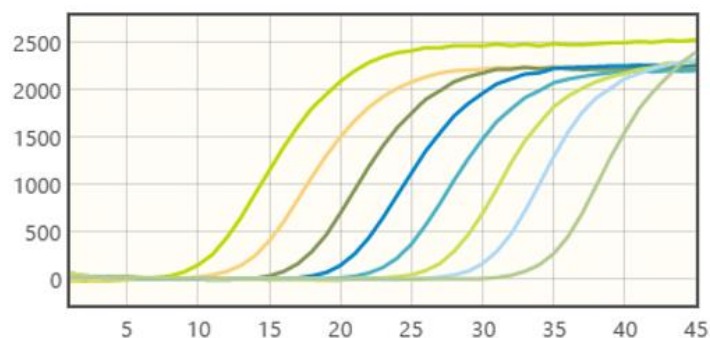


Figura 3. Diluições em série do modelo de Influenza B ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

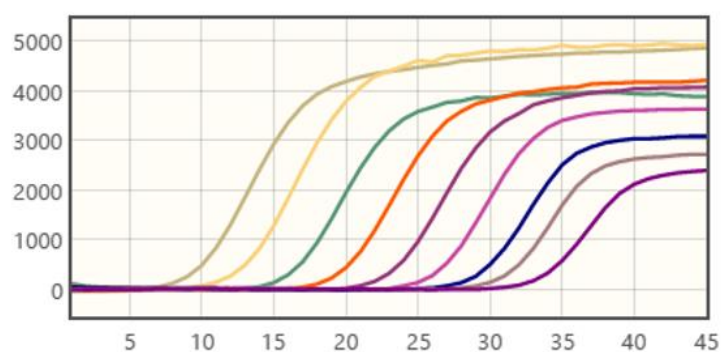


Figura 4. Diluições em série do modelo de Influenza A ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 585/630 (ROX)).

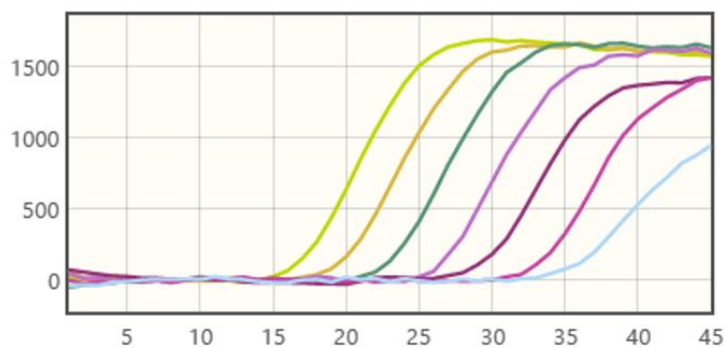


Figura 5. Diluições em série do modelo de RSV ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 630/665 (Cy5)).

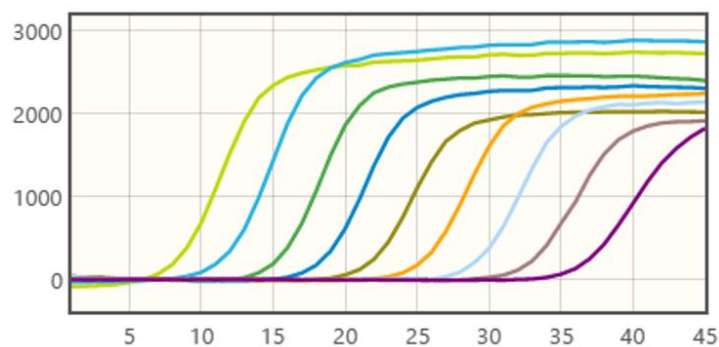


Figura 6. Diluições em série do modelo de parainfluenza ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

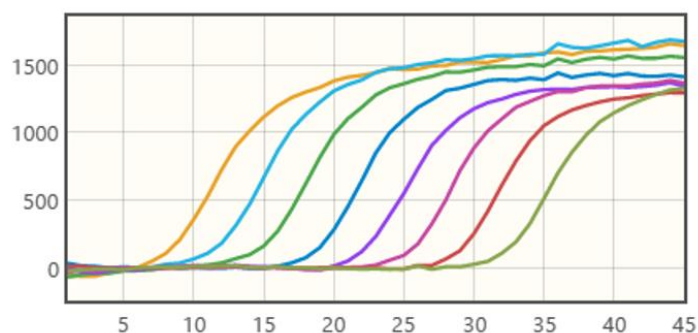


Figura 7. Diluições em série do modelo de coronavírus ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

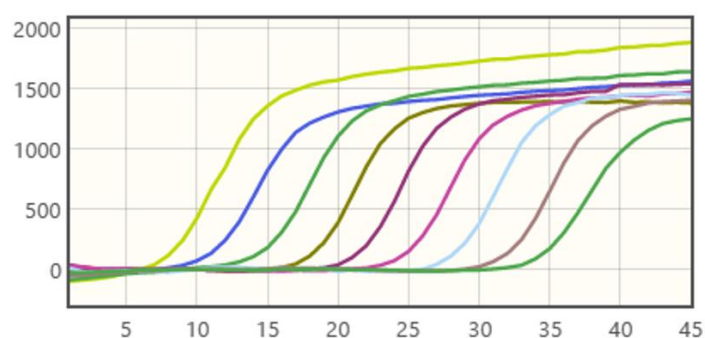


Figura 8. Diluições em série do modelo de metapneumovírus ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 585/630 (ROX)).

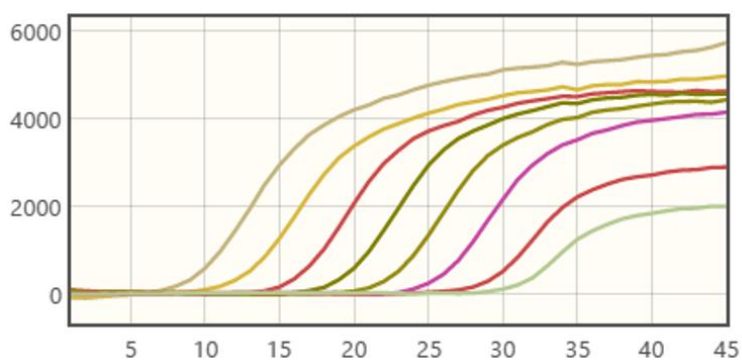
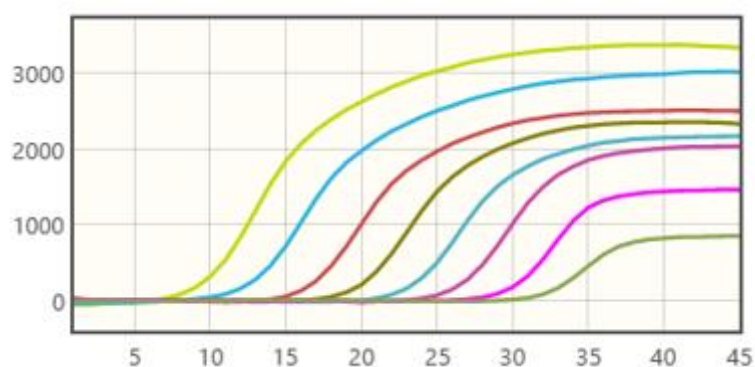


Figura 9. Diluições em série do modelo de adenovírus ($2E+07$ to $2E+00$ copies/ μ l). Ensaio realizado no BD MAX™ System (canal 630/665 (Cy5)).



12.2. Sensibilidade analítica. Limite de detecção (LoD)

A sensibilidade analítica ou limite de detecção (LoD) do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi analisada com três lotes utilizando amostras nasofaríngeas negativas colhidas no BD™ Universal Viral Transport System enriquecidas com as estirpes de referência ou RNA sintético detalhado na seguinte tabela:

Vírus	Estirpe/RNA sintético	Referência externa
SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2 estirpe 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Influenza A	Influenza A virus (H1N1) estirpe A/PR/8/34	VR-95PQ
Influenza B	Influenza B virus (Yamagata Lineage) estirpe B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV A	Vírus sincicial respiratório humano A estirpe Long	VR-26PQ
RSV B	Vírus sincicial respiratório humano B estirpe 9320	FR-293
Parainfluenza vírus tipo 1	Vírus parainfluenza humano 1 estirpe C35	VR-94
Parainfluenza vírus tipo 2	Vírus parainfluenza humano 2 estirpe Greer	VR-92
Parainfluenza vírus tipo 3	Vírus parainfluenza humano 3 estirpe C 243	VR-93
Parainfluenza vírus tipo 4	Vírus parainfluenza humano 4b estirpe CH 19503	VR-1377
Coronavírus OC43	Betacoronavírus 1	VR-1558
Coronavírus 229E	Coronavírus 229E humano	VR-740
Coronavírus NL63	Coronavírus humano, estirpe NL63	FR-304
Coronavírus HKU1	RNA sintético quantitativo de coronavírus humano HKU1	ATCC-VR3262SD
Metapneumovírus	Cultura do líquido de Metapneumovírus humano 8 (hMPV-8) Tipo B2 (inativado por calor)	0810159CF
Adenovírus	Adenovírus humano 1 estirpe Adenoid 71	VR-1

Tabela 28. Estirpes de referência e RNA sintético utilizados para os ensaios de desempenho do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (ensaio LoD).

Além disso, no caso do alvo SARS-CoV-2, o LoD (UI/μl) foi analisado utilizando o 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (código NIBSC 20/146). Os resultados de LoD obtidos para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System são detalhados na seguinte tabela:

Esfregaço nasofaríngeo			
Respiratory Virus Mix I reaction tube			
SARS	FLUA	FLUB	RSV
4.5E+00 IU/μl	6.7E-01 cópias/μl*	7.29E+00 cópias/μl*	1.35E+00 cópias/μl* 2.52E+01 TCID50/ml RSV B
Respiratory Virus Mix II reaction tube			
HPIV	HCOV	MPV	HADV
5.33E+00 TCID50/ml HPIV 1 4.80E+00 TCID50/ml HPIV 2 9.00E+02 TCID50/ml HPIV 3 1.44E+01 TCID50/ml HPIV 4	4.80E-02 TCID50/ml HCOV OC43 1.60E-01 TCID50/ml HCOV 229E 4.80E-03 TCID50/ml HCOV NL63 6.00E+00 cópias/μl HCOV HKU1	5.10E-02 TCID50/ml	6.00E+00 TCID50/ml

Tabela 29. Resultados do limite de detecção do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. UI = Unidade internacional, TCID50 = Median Tissue Culture Infection Dose (Dose infecciosa média em cultura de tecidos).

12.3. Intervalo de medição

O intervalo de medição do ensaio foi determinado testando uma série de diluições de dez vezes continham uma concentração conhecida de NA específico e sintético pertencente a SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus. Os resultados permitiram confirmar a detecção correta dos alvos no intervalo de medição de 2E+07 a 2E+00 cópias/μl, exceto para HCoV-HKU1, cujo intervalo de medição varia de 2E+06 a 2E+00 cópias/μl.

Em conclusão, o intervalo de medição do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi determinado com sucesso, garantindo resultados fiáveis, precisos e reproduzíveis num amplo espectro de cargas virais, o que confirma a sua utilidade em vários cenários de diagnóstico clínico.

12.4. Exatidão

12.4.1. Veracidade

A veracidade do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi avaliada testando o material de referência listado abaixo adicionado a amostras nasofaríngeas negativas colhidas no BD™ Universal Viral Transport System.

1. Fragmentos de DNA sintético

- Fragmento de DNA sintético para o gene *ORF1* da SARS-CoV-2: NCOXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* da SARS-CoV-2: NCOXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *M1* da Flu A: YIAXPC, canal ROX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *HA* da Flu A: HNVXPC, canal ROX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *M1* da Flu B: YIBXPC, canal HEX.

- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* da RSV A: RSAXPC, canal Cy5.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* da RSV B: RSBXPC, canal Cy5.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *H/N* da parainfluenza 1: PIXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *H/N* da parainfluenza 2: PIXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *H/N* da parainfluenza 3: PIXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *F* da parainfluenza 4: PIXPC, canal FAM.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* de coronavírus OC43: CORXPC, canal HEX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* de coronavírus - 229E: CORXPC, canal HEX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* de coronavírus - NL63: CORXPC, canal HEX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *N* de coronavírus HKU1: CORXPC, canal HEX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *F* da metapneumovírus: MPVXPC, canal ROX.
- Fragmento de DNA sintético para o gene *hexon* da adenovírus: ADVXPC, canal Cy5.

Todos os fragmentos de DNA sintético foram detetados corretamente no canal adequado.

2. American Type Culture Collection ("ATCC®")

Referência externa	Microrganismo	Nome do produto	Variedade	Resultado
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Detetado
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N	N/A	Detetado
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	SARS-Related Coronavirus 2, isolado USA-WA1/2020	Detetado
VR-95PQ	Flu A	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Detetado
VR-1804PQ	Flu B	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Detetado
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Estirpe Long	Detetado
VR-94	Vírus Parainfluenza 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Estirpe C35	Detetado
VR-92	Vírus Parainfluenza 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Estirpe Greer	Detetado
VR-93	Vírus Parainfluenza 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Estirpe C 243	Detetado
VR-1377	Vírus Parainfluenza 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Estirpe CH 19503	Detetado

VR-1558	Coronavírus OC43	Betacoronavirus 1	Estirpe OC43	Detetado
VR-740	Coronavírus 229E	Human coronavirus 229E	Estirpe 229E	Detetado
VR-3262SD	Coronavírus HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Estirpe HKU1	Detetado
VR-3263SD	Coronavírus NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Estirpe NL63	Detetado
VR-3250SD	Metapneumovírus	Synthetic Human metapneumovirus RNA	N/A	Detetado
VR-1	Adenovírus	Human Adenovirus 1	Adenoid 71	Detetado
VR-6	Adenovírus	Human Adenovirus 6	Tipo 6 (Espécie C) estirpe Tonsil 99	Detetado
VR-16	Adenovírus	Human Adenovirus 15	Tipo 15 (Espécie D) estirpe 305 [955, CH. 38]	Detetado
VR-3343	Adenovírus	Human adenovirus 31	Tipo 31 (Espécie A) estirpe 1315/ 63	Detetado

Tabela 30. Material de referência da American Type Culture Collection (ATCC®).

Todas as estirpes da ATCC foram corretamente detetadas no canal adequado e o EIC apresentou amplificação com um valor de Ct $\leq$ 35.

3. International Reagent Resource (IRR™)

Referência externa	Microrganismo	Nome do produto	Variedade	Resultado
FR-293	RSV-B	Respiratory Syncytial Virus B humano	Estirpe 9320	Detetado
FR-304	Coronavírus NL63	Human Coronavirus, Strain NL63	Estirpe NL63	Detetado
FR-1	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Detetado
FR-3	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Detetado
FR-5	Flu A	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Detetado
FR-6	Flu A	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Detetado
FR-7	Flu A	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Detetado
FR-8	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Detetado
FR-12	Flu A	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Detetado

FR-13	Flu A	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Detetado
FR-27	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Detetado
FR-28	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Detetado
FR-29	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Detetado
FR-201	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	Detetado
FR-202	Flu A	Influenza A virus	A/California/08/2009 (H1N1)pdm09	Detetado
FR-203	Flu A	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Detetado
FR-245	Flu A	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Detetado
FR-246	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Detetado
FR-16	Flu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/7/2007 (linhagem Yamagata)	Detetado
FR-17	Flu B	Influenza B virus	B/Santiago/4364/2007 (linhagem Yamagata)	Detetado
FR-18	Flu B	Influenza B virus	B/Brisbane/3/2007 (linhagem Yamagata)	Detetado
FR-19	Flu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/5/2007 (linhagem Victoria)	Detetado
FR-20	Flu B	Influenza B virus	B/Victoria/304/2006 (linhagem Victoria)	Detetado
FR-183	Flu B	Influenza B virus	B/Bangladesh/3333/2007 (linhagem Yamagata)	Detetado
FR-294	RSV A	Human Respiratory Syncytial Virus	Estirpe A-2	Detetado

Tabela 31. Material de referência de International Reagent Resource (IRR™).

Todas as estirpes da IRR foram corretamente detetadas no canal adequado e o EIC apresentou amplificação com um valor de $Ct \leq 35$.

4. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Referência externa	Microrganismo	Nome do produto	Variedade	Resultado
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	Isolado - England/02/2020	Detetado

20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	N/A	Detetado
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	N/A	Detetado
08/176	Vírus Parainfluenza 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	N/A	Detetado
08/178	Vírus Parainfluenza 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	N/A	Detetado
08/180	Vírus Parainfluenza 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	N/A	Detetado
08/320	Metapneumovírus	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	N/A	Detetado
16/324	Adenovírus	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Tipo 2	Detetado

Tabela 32. Material de referência do Instituto Nacional de Normas e Controlos Biológicos (NIBSC, National Institute for Biological Standards and Control).

Todas as estirpes do NIBSC foram corretamente detetadas no canal adequado e o EIC apresentou amplificação com um valor de Ct $\leq$ 35.

5. BEI Resources

Referência externa	Microrganismo	Nome do produto	Variedade	Resultado
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Isolado USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated	Detetado
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	A2000/3-4	Detetado
NR-22227	Metapneumovírus	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Detetado

Tabela 33. Material de referência da BEI Resources.

Todas as estirpes da BEI Resources foram corretamente detetadas no canal adequado e o EIC apresentou amplificação com um valor de Ct $\leq$ 35.

6. Material de controlo

Referência externa	Microrganismo	Nome do produto	Variedade	Resultado
Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Victoria/2570/2019 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Detetado
Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Victoria/4897/2022 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Detetado

102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	SARS-CoV-2 isolado Australia/VIC01/2020	Detetado
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	Isolado de SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1	Detetado
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	Variante do RU (B.1.1.7_710528)	Detetado
103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	Variante do RU (B.1.1.7_601443)	Detetado
104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Variante da África do Sul	Detetado
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Variante do Japão/Brasil	Detetado
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel	N/A	Detetado
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Linhagem B.1.351	Detetado
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Linhagem B.1.351	Detetado
MBTC031-R	SARS-CoV-2, Flu A, Flu B e RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Influenza A H3N2 (A/Perth/16/2009), Influenza B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Detetado
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Linhagem B1	Detetado
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Variante delta B.1.617.2	Detetado
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem XBB	Detetado
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BQ1.1	Detetado
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.2.75	Detetado
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.5	Detetado
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BQ.1	Detetado
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.4	Detetado
SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.5	Detetado
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.4	Detetado
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.2	Detetado
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.2.75	Detetado
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BQ.1	Detetado
SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BQ1.1	Detetado
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem XBB	Detetado
SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.2	Detetado
SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.5	Detetado
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.2	Detetado

SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.5	Detetado
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sublinhagem BA.4	Detetado
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Estirpe A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Detetado
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	N/A	Detetado
PINFRNA101S-06	Parainfluenza virus tipo 2	PIV-2	N/A	Detetado
PINFRNA22S-02	Parainfluenza virus tipo 3	PIV-3	N/A	Detetado
CVRNA22S-04	Coronavírus	Coronavirus HKU	Estirpe HKU	Detetado
0810110CF	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Tipo 2 (Espécie C)	Detetado
0810062CFHI	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Tipo 3 (Espécie B)	Detetado
0810070CFHI	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Tipo 4 (Espécie E)	Detetado
0810020CF	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Tipo 5 (Espécie C)	Detetado
0810021CFHI	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Tipo 7A (Espécie B)	Detetado
0810119CFHI	Adenovírus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Tipo 37	Detetado
0810084CFHI	Adenovírus	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Tipo 40, estirpe Dugan	Detetado
0810085CFHI	Adenovírus	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Tipo 41 (Espécie F), estirpe Tak	Detetado
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Tipo B2	Detetado

Tabela 34. Material de controlo para SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV, parainfluenza, coronavírus, metapneumovírus e adenovírus.

Todas as estirpes da foram corretamente detetadas no canal adequado e o EIC apresentou amplificação com um valor de $Ct \leq 35$.

7. Programas de Avaliação Externa da Qualidade (EQA)

Foram analisadas no total 85 amostras que continham SARS-Cov-2, Influenza A, Influenza B, RSV, vírus parainfluenza, coronavírus, metapneumovírus e/ou adenovírus, entre outros microrganismos não-alvo, a partir de programas QCMD, INSTAND, CAP e RCPA, apresentando uma elevada concordância.

12.4.2. Precisão

Para determinar a precisão do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, foram realizados ensaios intraensaio (repetibilidade), interensaios, interlotes e interequipamentos (reprodutibilidade) com esfregaços nasofaríngeos colhidos com o BD™ Universal Viral Transport System enriquecido com as estirpes de referência mencionadas na tabela 28 para os alvos representativos selecionados para cada canal de fluorescência: SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, vírus parainfluenza tipo 3, coronavírus OC43, metapneumovírus e adenovírus.

Intraensaio

O intraensaio foi testado analisando seis réplicas de todas as amostras no mesmo ensaio, utilizando o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. As tabelas seguintes apresentam um resumo dos resultados.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,31	1,02
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,15	0,45	1,53
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,98	0,53	1,62
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,32	0,52	1,68
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,45	1,35	4,03
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,37	0,67	2,15
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,18	1,49	4,64
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,02	0,56	1,79
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	26,17	0,38	1,46
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,97	0,50	1,93
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	26,37	0,91	3,46

Tabela 35. Resultados intraensaio do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza vírus	2xLoD	475/520 (FAM)	32,13	0,56	1,76
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,97	1,16	3,88
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A

Coronavírus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,23	0,73	2,14
	5xLoD	530/565 (HEX)	32,03	0,85	2,65
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Metapneumovírus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,53	0,66	2,09
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,63	0,77	2,61
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
Adenovírus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,35	0,10	0,31
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,55	1,39	4,15
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,72	0,53	2,08
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,61	2,39
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,63	0,23	0,91

Tabela 36. Resultados intraensaio do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Interensaios

O ensaio interensaios foi testado analisando quatro réplicas das diferentes amostras em três dias diferentes, por três operadores diferentes, utilizando o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. As tabelas seguintes apresentam um resumo dos resultados.

Respiratory Virus Mix / reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,33	0,38	1,27
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,28	0,97
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Tabela 37. Resultados interensaios do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

<i>Respiratory Virus Mix II reaction tube</i>					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza vírus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5xLoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Coronavírus	2xLoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Metapneumovírus	2xLoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
Adenovírus	2xLoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Tabela 38. Resultados interensaios do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Interlotes

Os valores de interlotes foram determinados com seis réplicas das diferentes amostras, utilizando três lotes do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. As tabelas seguintes apresentam um resumo dos resultados.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	29,07	0,45	1,53
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,14	0,59	2,01
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A

EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Tabela 39. Resultados de interlotes do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Respiratory Virus Mix II reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza vírus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Coronavírus	2xLoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5xLoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Metapneumovírus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
Adenovírus	2xLoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Tabela 40. Resultados de interlotes do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Intertermocicladores.

Os valores intertermocicladores foram determinados com seis réplicas das mesmas amostras utilizadas para os testes intraensaio, interensaios e inter-lotes, utilizando o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Estes ensaios foram executados em dois centros laboratoriais com dois BD MAX™ System diferentes. As tabelas seguintes apresentam um resumo dos resultados.

Respiratory Virus Mix I reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,29	0,96
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,24	0,82
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A

Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,70	0,42	1,29
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,26	0,45	1,43
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,33	1,47	4,42
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,52	0,61	1,92
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,76	2,33
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,88	1,30	4,20
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	35,97	0,32	1,24
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,71	0,33	1,28
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,96	0,37	1,44

Tabela 41. Resultados intertermocicladores do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Respiratory Virus Mix II reaction tube					
Alvo	Amostras	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza vírus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,95	0,83	2,61
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,79	0,95	3,18
	Controlo negativo	475/520 (FAM)	Neg.	N/A	N/A
Coronavírus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,26	0,74	2,15
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,95	0,61	1,91
	Controlo negativo	530/565 (HEX)	Neg.	N/A	N/A
Metapneumovírus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,59	0,50	1,58
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,51	1,03	3,48
	Controlo negativo	585/630 (ROX)	Neg.	N/A	N/A
Adenovírus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,14	0,72	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,31	0,36	1,13
	Controlo negativo	630/665 (CY5)	Neg.	N/A	N/A
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,35	0,22	0,85
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,10	0,22	0,87
	Controlo negativo	680/715 (CY5.5)	25,73	0,28	1,11

Tabela 42. Resultados intertermocicladores do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = Ciclo-limite. ($\bar{x}$) = média aritmética do valor Ct, (σ) = desvio padrão, (CV %) = coeficiente de variação, Neg. = negativo, N/A = não aplicável.

Em conclusão, o estudo de precisão confirmou o desempenho fiável e a consistência do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Transferência

A robustez (parâmetro de transferência) foi analisada de acordo com as especificações comuns para determinados dispositivos de IVD da classe D em conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746; em particular, o Anexo XIII, que estabelece as especificações comuns para dispositivos destinados à detecção ou quantificação de marcadores de infecção por vírus SARS-CoV-2. Estas recomendações apenas se aplicaram ao alvo do vírus SARS-CoV-2, não tendo sido analisados os restantes alvos do tubo de reação *Respiratory Virus Mix I* neste ensaio. No entanto, o vírus da parainfluenza tipo 3 também foi analisado como um alvo do tubo de reação *Respiratory Virus Mix II* para realizar o ensaio com ambas Master Mixes.

A taxa de contaminação por transferência foi determinada testando 60 réplicas de amostras de esfregaços nasofaríngeos negativos e 60 réplicas de uma amostra de RNA positiva para SARS-CoV-2, com um título elevado de RNA viral de SARS-CoV-2 (First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC code: 20/146), a 1E+02 IU/ml) e uma amostra de RNA positiva para o vírus parainfluenza humano tipo 3, com um título elevado de RNA viral de HPIV 3 (Human parainfluenza virus 3 (ATCC code: VR-93™), a 1E+05 TCID50/ml). No total, foram realizados cinco ensaios com amostras positivas e negativas utilizando um método de ensaio baseado no padrão de tabuleiro de xadrez, que permite dispor as amostras de forma alternada.

No caso do *Respiratory Virus Mix I* reaction tube, 60 das 60 amostras positivas foram corretamente detetadas e 59 das 60 amostras negativas apresentaram um resultado negativo, o que representa uma taxa de concordância de 98,33%. No caso do *Respiratory Virus Mix II* reaction tube, todas as amostras positivas foram corretamente detetadas e todas as amostras negativas apresentaram um resultado negativo. De acordo com os resultados de ambos os tubos de reação, a taxa de contaminação cruzada foi quase de 0%.

12.6. Taxa de falha do sistema completo

A robustez (parâmetro da taxa de falha do sistema completo) foi analisada de acordo com as indicações das especificações-comuns para dispositivos destinados à detecção ou quantificação de marcadores de infecção por vírus SARS-CoV-2. Estas recomendações apenas se aplicaram ao alvo do vírus SARS-CoV-2, não tendo sido analisados os restantes alvos neste ensaio.

Para demonstrar que o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System deteta amostras de RNA de SARS-CoV-2 de baixa positividade, foram testadas 119 amostras de esfregaços nasofaríngeos negativos, enriquecidas com o First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC code: 20/146) a uma concentração de vírus equivalente a três vezes o LoD (3xLoD), com o ensaio VIASURE.

Os resultados do estudo indicam que todas as réplicas foram reativas para o alvo de SARS-CoV-2 RNA, o que corresponde a uma taxa de concordância de 100%. Em conclusão, a taxa de falha do sistema completo é de 0%.

12.7. Especificidade analítica e reatividade

A especificidade analítica e a reatividade analítica foram avaliadas para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System *in silico* e experimentalmente, utilizando diferentes materiais de partida, como estirpes de referência certificadas, RNA/DNA de referência certificados, bem como materiais de programas de avaliação de qualidade externa (EQA).

12.7.1. Especificidade analítica

A especificidade analítica é a capacidade do ensaio para detetar o alvo pretendido. Existem dois componentes a considerar para a especificidade analítica: reatividade cruzada e interferência. A reatividade cruzada pode ocorrer quando estão presentes sequências geneticamente relacionadas numa amostra de um doente, enquanto a interferência pode ocorrer se a presença de substâncias específicas potencialmente presentes nas matrizes da amostra afetar o desempenho da RT-qPCR.

Análise *in silico* da reatividade cruzada

A reatividade cruzada foi avaliada utilizando sequências de referência de agentes patogénicos do NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e um software interno de análise bioinformática. Foi realizada a análise BLAST para cada primer e sonda utilizando a base de dados de nucleótidos do NCBI GenBank e um software interno de análise bioinformática.

As sequências alinhadas com uma percentagem de alinhamento inferior a 80% de homologia foram consideradas como sendo de deteção improvável. Os resultados obtidos demonstraram que **todas as sequências analisadas apresentavam uma percentagem de homologia inferior a 80% com os conjuntos de primers e sondas de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B e RSV (tipos A e B) incluídos no *Respiratory Virus Mix* / reaction tube; conjuntos de primers e sondas de parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63 e HKU1), metapneumovírus e adenovírus incluídos no *Respiratory Virus Mix II* reaction tube.**

No caso do coronavírus OC43, foram obtidos os seguintes resultados:

Coronavírus OC43

A análise BLAST filtrada por coronavírus OC43 (excluindo OC43 Identificação taxonómica: 31631) mostra uma elevada homologia entre os primers e sondas e sequências de betacoronavírus 1 de diferentes estirpes de bovino, búfalo, órix, girafa, camelo, canino, equino, suíno, coelho, antílope-sabão, veado-sambar, anta, veado-d'água, cudo, watusi, veado-de-cauda-branca e iaque. No entanto, estes vírus não foram identificados em humanos e não são considerados vírus zoonóticos por enquanto, pelo que não interferem na deteção do coronavírus OC43.

Portanto, nenhuma das sequências analisadas, incluindo as que apresentam uma homologia superior a 80%, pode afetar a deteção correta do coronavírus OC43.

Em conclusão, os desenhos alvo de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus humano (229E, NL63, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System não devem causar falsos positivos na deteção destes microrganismos quando estão presentes outros organismos.

Especificidade analítica: teste experimental

Reatividade cruzada: teste experimental

A reatividade cruzada do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi confirmada através do teste de um painel de diferentes microorganismos associados a infeções respiratórias adicionados a amostras nasofaríngeas negativas colhidas com o BD™ Universal Viral Transport System. Quando possível e estando disponíveis dados de concentração, os vírus e bactérias interferentes foram avaliados a níveis clinicamente relevantes (habitualmente de 1E+05 – 1E+06 ufc (unidade formadora de colónias)/ml no caso de bactérias e de 1E+04 – 1E+05 ufp (unidade formadora de placa)/ml no caso de vírus). Não foi detetada nenhuma reatividade cruzada entre nenhum dos seguintes microrganismos testados, exceto os microrganismos visados.

Teste de reatividade cruzada					
Adenovirus tipo 15 (espécie D), estirpe 35 [955, CH.38]	+/-	Influenza A virus A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus tipo 2, estirpe C	+/-	Influenza A Virus A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus tipo 3, estirpe B	+/-	Influenza A Virus A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, variante UK	+/-
Adenovirus tipo 31 (espécie A), estirpe 1315/63	+/-	Influenza A Virus A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, variante UK	+/-
Adenovirus, Tipo 37	+/-	Influenza A Virus A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 B.1.351	+/-
Adenovirus tipo 4, estirpe E	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 Coronavirus 2 estirpe 2019-nCoV/USA-WA1/2020	+/-
Adenovirus Tipo 40, estirpe Dugan	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 variante Delta B.1.617.2	+/-
Adenovirus tipo 41 (espécie F), estirpe Tak	+/-	Influenza A Virus A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2	+/-
Adenovirus tipo 5, estirpe C	+/-	Influenza A Virus A/Texas/71/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2	+/-
Adenovirus tipo 6 (espécie C), estirpe Tonsil 99	+/-	Influenza B Virus B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2	+/-
Adenovirus tipo 7A, espécie B	+/-	Influenza B Virus B/Brisbane/3/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2.75	+/-

Teste de reatividade cruzada					
Adenovirus humano DNA tipo 2	+/-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2.75	+/-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.4	+/-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Santiago/4364/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Victoria/304/2006 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i> , estirpe-tipo	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Pneumoniae</i> , estirpe PCI 602	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST47)	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5	+/-
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> , estirpe CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST62)	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5	+/-
Coronavirus HKU	+/-	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>Pneumophila</i> , estirpe Philadelphia-1	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5	+/-
Coronavirus NL63	+/-	MERS-CoV estirpe Florida/USA-2_Saudi Arabia_2014	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ.1	+/-
Enterovirus D58 US/MO/14-18949	-	<i>Moraxella catarrhalis</i> estirpe 59632	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> estirpe PI 1428	-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i> , estirpe L-378	-	Parainfluenza virus tipo 2	+/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem XBB	+/-
Human rinovirus 17, estirpe 33342	-	Parainfluenza virus tipo 3	- +/-	SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem XBB	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	+/-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 isolado Australia/VIC01/2020	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	+/-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , estirpe RH 815	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 isolado Wuhan-Hu-1	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	+/-	RSV A 2000/3-4	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	+/-	RSV, estirpe A-2	+/-	<i>Staphylococcus epidermis</i> , estirpe PCI 1200	-
Influenza A Virus A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	+/-	RSV tipo B	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-

Teste de reatividade cruzada					
Influenza A Virus A/California/07/2009 NYMC X- 179A (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-1, estirpe Frankfurt 1	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> estirpe [CIP 104225]	-
Influenza A Virus A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	+/-				

Tabela 43. Microrganismos patogênicos de referência incluídos no ensaio de reatividade cruzada. O resultado + ou - refere-se ao resultado positivo ou negativo obtido nos diferentes canais, consoante o alvo detetado. No caso de um microrganismo testado ser um dos alvos detetados pelo dispositivo, obtém-se um resultado positivo no canal correspondente, mas obtém-se um resultado negativo nos outros canais.

Em conclusão, os resultados dos ensaios de reatividade cruzada indicam uma elevada especificidade do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para a deteção dos microrganismos-alvo, reduzindo assim o risco de resultados falsos positivos. Uma vez que não foram observadas amplificações não específicas com outros microrganismos relacionados, isto sugere que o dispositivo é capaz de distinguir com precisão os alvos.

Estudo de coinfeção

Foi realizado um estudo de coinfeção utilizando as estirpes de referência detalhadas na Tabela 28 para os alvos representativos selecionados para cada canal de fluorescência: SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, vírus parainfluenza tipo 3, coronavírus OC43, metapneumovírus e adenovírus; em diferentes concentrações, para confirmar que a presença de qualquer um deles, independentemente da concentração, não altera a deteção entre eles. Foram analisadas nove amostras nasofaríngeas enriquecidas com o material de referência, um alvo em baixa concentração (3xLoD) e os outros alvos numa concentração muito alta, geralmente 1E+04 – 1E+05 unidades/ml, se possível.

Os resultados confirmam que a deteção dos microrganismos-alvo não se altera quando analisada com o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System em coinfeção em diferentes concentrações.

Estudo de agentes microbianos interferentes

Foi realizado um estudo de agentes microbianos interferentes para analisar os potenciais agentes microbianos interferentes para VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Foi testado um painel de diferentes microrganismos associados a doenças respiratórias na presença de vírus SARS-CoV-2, vírus Influenza A e B, RSV B, vírus parainfluenza tipo 3, coronavírus OC43, metapneumovírus e adenovírus (estirpes de referência detalhadas na tabela 28) a uma concentração de 3xLoD. Quando possível e estando disponíveis dados de concentração, os vírus e bactérias interferentes foram avaliados a níveis clinicamente relevantes (habitualmente de 1E+05 – 1E+06 ufc (unidade formadora de colónias)/ml no caso de bactérias e de 1E+04 – 1E+05 ufp (unidade formadora de placa)/ml no caso de vírus). Cada análise pontual foi conduzida duas vezes por amostra.

Um controlo de matriz positiva (Positive Matrix Control, PMC) e um controlo de matriz negativa (Negative Matrix Control, NMC) foram incluídos como controlos do teste. O PMC corresponde à matriz nasofaríngea negativa enriquecida (spiked) com estirpes-alvo específicas sem qualquer agente microbiano interferente, enquanto o NMC corresponde à matriz nasofaríngea negativa sem qualquer agente microbiano interferente.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube e <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nome do microrganismo	Concentração testada	Resultado
PMC	N/A	N.I
NMC	N/A	N.I
Rhinovirus humano 17	1,60E+04 TCID50/ml	N.I
Enterovirus D58	4,00E+04 TCID50/ml	N.I
MERS-CoV	3,55E+03 TCID50/ml	N.I
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	3,16E+04 TCID50/ml	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+03 CFU/μl	N.I
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 CFU/ml	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 CFU/ml	N.I
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 CFU/ml	N.I
SARS-CoV 1	5,20E+02 cóp/ml	N.I
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 CFU/ml	N.I
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 CFU/ml	N.I
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 CFU/ml	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 CFU/μl	N.I
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/ml	N.I
<i>Legionella pneumophila subsp. pneumophila</i>	5,60E+04 CFU/μl	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 CFU/μl	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 CFU/ml	N.I
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 cóp/μl	N.I

Tabela 44. Ensaio de agentes microbianos interferentes. N.I. = Não interfere.

Em conclusão, não foi observada nenhuma interferência na deteção do ácido nucleico-alvo com nenhum dos microrganismos testados.

Estudo de substâncias interferentes

Foi realizado um estudo de substâncias interferentes para testar o possível efeito interferente de substâncias endógenas e exógenas sobre o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Foi adicionada um total de vinte substâncias potencialmente interferentes à matriz nasofaríngea negativa enriquecida com as estirpes de referência detalhadas na Tabela 28 para SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, parainfluenza vírus tipo 3, coronavírus OC43, metapneumovírus e adenovírus e avaliadas com seis réplicas.

Um controlo de matriz positiva (Positive Matrix Control, PMC) e um controlo de matriz negativa (Negative Matrix Control, NMC) foram incluídos como controlos do teste. O PMC corresponde à matriz nasofaríngea negativa enriquecida (spiked) com estirpes-alvo específicas sem substâncias interferentes, enquanto o NMC corresponde à matriz nasofaríngea negativa sem substâncias interferentes potenciais nem microrganismos/material de referência adicionados. Os resultados seguintes foram obtidos:

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube e <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nome da substância	Concentração testada	Resultado
PMC	N/A	N.I.
NMC	N/A	N.I.
Oseltamivir	3,99E-04 mg/ml	N.I.
Zanamivir	3,30 mg/ml	N.I.
Azitromicina	1,10E-02 mg/ml	N.I.
Mupirocina	1,50E-03 mg/ml	N.I.
Tobramicina	3,30E-02 mg/ml	N.I.
Albumina	1,00E+01mg/ml	N.I.
DNA genómico	3,50E-03 mg/ml	N.I.
Muco humano	1,00% (v/v)	N.I.
Mucina	2,50E+00 mg/ml	N.I.
Triglicéridos	1,50E+01 mg/ml	N.I.
Sangue total	1,00% (v/v)	N.I.
Carbocisteína	5,00E+00 mg/ml	N.I.
N-acetilcisteína	1,50E-01 mg/ml	N.I.
Fenilefrina	3,00E-05 mg/ml	N.I.
Fluticasona	1,26E-06 mg/ml	I
	3,15E-07 mg/ml	N.I.
Galphimia glauca, luffa operculata	1,25E+01 mg/ml	N.I.
Cloridrato de oximetazolina	1,00E-01mg/ml	N.I.
Cloreto de sódio	9,00E-01 mg/ml	N.I.
Nicotina	3,00E-02 mg/ml	I
	7,50E-04 mg/ml	N.I.
Benzocaína	3,00E+00 mg/ml	N.I.

Tabela 45. Potenciais substâncias interferentes. N.I.: Sem interferência notificável, I: Interferência.

Diferentes substâncias potencialmente interferentes, tanto endógenas como exógenas, foram testadas com o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Foi observada interferência ao testar fluticasona (1,26E-06 mg/ml) e nicotina (3,00E-02 mg/ml) tanto no *Respiratory Virus Mix I* reaction tube como no *Respiratory Virus Mix II* reaction tube e foi realizada uma diluição 1/4 para avaliar se este efeito de interferência não é observado em concentrações mais baixas. Os resultados obtidos conduziram à conclusão de que, nas concentrações finais testadas, não se observa nenhuma interferência de nenhuma das substâncias avaliadas nas concentrações testadas.

12.7.2. Reatividade analítica

A reatividade analítica pode ser definida como a percentagem de estirpes microbianas-alvo ou de amostras de DNA/RNA que fornecem o resultado positivo correto. A reatividade analítica foi estudada *in silico* e através de análises experimentais.

Análise *in silico* da reatividade analítica

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi avaliada utilizando bases de dados de sequências de nucleótidos de acesso público, como NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (GISAID EpiCoV database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID EpiFlu database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All RSV Data (GISAID EpiRSV database (<https://www.gisaid.org/>)), e um software interno de análise bioinformática, de modo a demonstrar que os genes-alvo podem ser corretamente detetados pelo dispositivo em estudo. A análise *in silico* do desenho dos oligonucleótidos/*primers* e sondas foi realizada através do alinhamento com sequências disponíveis na base de dados nucleotide collection (nr/nt). Os resultados obtidos após a análise das sequências incluídas são apresentados na tabela seguinte:

Microrganismo	Gene	% de sequências detetadas experimentalmente sem discrepâncias	% de sequências detetadas experimentalmente com discrepâncias	Número de sequências alinhadas
SARS-CoV-2	Gene <i>N</i> , região <i>N1</i> e região <i>N2</i>	98,08%	-	22.404
Influenza A	Gen <i>HA</i> + Gene <i>M1</i>	0,88%	32,92%	99.326
Influenza B	Gene <i>M1</i>	21,63%	70,58%	24.369
RSV A	Gene <i>N</i>	2,32%	80,83%	4.002
RSV B	Gene <i>N</i>	2,61%	80,11%	4.172
Parainfluenza 1 Parainfluenza 2 Parainfluenza 3 Parainfluenza 4	Gen <i>HN</i> Gen <i>HN</i> Gen <i>HN</i> Gene <i>F</i>	19,23%	-	1451
Coronavírus OC43	Gen <i>N</i>	76,32%	-	380
Coronavírus 229E	Gen <i>N</i>	0,00%*	-	266
Coronavírus NL63	Gen <i>N</i>	48,12%	-	293
Coronavírus HKU1	Gen <i>N</i>	46,51%	-	215
Metapneumovírus	Gene <i>F</i>	93,7%	-	2.144
Adenovírus A	Gene <i>Hexon</i>	98,7%	-	154

Adenovírus B	Gene <i>Hexon</i>	98,75%	-	718
Adenovírus C	Gene <i>Hexon</i>	96,17%	-	392
Adenovírus D	Gene <i>Hexon</i>	97,74%	-	310
Adenovírus E	Gene <i>Hexon</i>	89,53%	-	172
Adenovírus F	Gene <i>Hexon</i>	96,40%	-	250
Adenovírus G	Gene <i>Hexon</i>	90,48%	-	21

Tabela 46. Reatividade analítica, ensaio *in silico*.

* A maioria das sequências de coronavírus 229E do NCBI GenBank incluídas na análise *in silico* apresentam 1 ou 2 discrepâncias que não afetam a detecção correta do alvo. Além disso, o DNA sintético de Coronavírus 229E utilizado durante a validação analítica do produto apresenta 100% de homologia com o conjunto de oligonucleótidos/*primers* e sondas, demonstrando experimentalmente a sua detecção correta.

Em resumo, a análise de inclusividade demonstrou uma detecção correta de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus (NL63, 229E, HKU1 e OC43), metapneumovírus e adenovírus com o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Reatividade analítica: teste experimental

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para SARS-CoV-2 foi avaliada em relação ao RNA das seguintes estirpes, enriquecido em esfregaços nasofaríngeos colhidos com o BD™ Universal Viral Transport System, apresentando resultados positivos:

SARS-Related Coronavirus 2, isolado USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated (NR-52287), Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA: ORF, E, N (VR-3276SD), Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus (VR-1986D), 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for Nucleic Acid Amplification Testing (NAT) (NIBSC 20/110), Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC 19/304), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1 (MT007544.1): SARS-CoV-2 isolado Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3): SARS-CoV-2 isolado Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14 (B.1.1.7_710528), variante do RU (Twist Bioscience 103907), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15 (B.1.1.7_601443), variante do RU (Twist Bioscience 103909), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16 (EPI_ISL_678597), variante da África do Sul (Twist Bioscience 104043), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17 (EPI_ISL_792683), variante do Japão/Brasil (Twist Bioscience 104044), Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel (SeraCare c0505-0129), AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL (MBC139-R), AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL (SWAB) (MBTC030-R), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2 (SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 variante Omicron,

sublinhagem BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5 (SCV2_23C1B-03, SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 variante Delta B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2.75 (SCV2_23C1C-01), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ.1 (SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BQ.1 (SCV2_23C1D-04) e SARS-CoV-2 variante Omicron, sublinhagem BA.5 (SCV2_23C1D-05).

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System no caso do Influenza A foi avaliada em relação ao RNA das seguintes estirpes, apresentando resultados positivos:

Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (FR-1), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) (FR-3), Influenza A Virus, A/Hawaii/31/2007 (H1N1) (FR-5), Influenza A Virus, A/Qatar/1123/2007 (H1N1) (FR-6), Influenza A Virus, A/Cambodia/0371/2007 (H1N1) (FR-7), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (FR-8), Influenza A Virus, A/Taiwan/760/2007 (H3N2) (FR-12), Influenza A Virus, A/Texas/71/2007 (H3N2) (FR-13), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2) (FR-27), Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1) (FR-28), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1) (FR-29), Influenza A Virus, A/California/07/2009 (H1N1)pdm09 (FR-201), Influenza A Virus, A/California/08/2009 (H1N1)pdm09 (FR-202), Influenza A Virus, A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09 (FR-203), Influenza A Virus, A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09 (FR-245), Influenza A Virus, A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09 (FR-246), Influenza A/Victoria/2570/2019 (H1N1) e/ou Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza A/Victoria/4897/2022 (H1N1) e/ou Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (Viracell MBTC031-R) e Influenza A Virus, H3/H2N2 (CAP ID3-09 2023).

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System no caso do Influenza B foi avaliada em relação ao RNA das seguintes estirpes, apresentando resultados positivos:

Influenza B Virus, B/Pennsylvania/7/2007 (linhagem Yamagata) (FR-16), Influenza B Virus, B/Santiago/4364/2007 (linhagem Yamagata) (FR-17), Influenza B Virus, B/Brisbane/3/2007 (linhagem Yamagata) (FR-18), Influenza B Virus, B/Pennsylvania/5/2007 (linhagem Victoria) (FR-19), Influenza B Virus, B/Victoria/304/2006 (linhagem Victoria) (FR-20), Influenza B Virus, B/Bangladesh/3333/2007 (linhagem Yamagata) (FR-183), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), Influenza

B/Austria/1359417/2021 e/ou Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza B/Austria/1359417/2021 e/ou Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024).

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para RSV foi avaliada em relação ao RNA de Human Respiratory Syncytial Virus A (Strain A-2) (FR-294), Human Respiratory Syncytial Virus, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), e Human Respiratory Syncytial Virus, B (INSTAND 359043), apresentando resultados positivos.

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para parainfluenza foi avaliada em relação ao RNA de Parainfluenza Virus serotipo 1 (NIBSC 08/176), Parainfluenza Virus serotipo 2 (NIBSC 08/178), Parainfluenza Virus serotipo 4 (NIBSC 08/180), Parainfluenza Virus 2 (PINFRNA101S-06) e Parainfluenza Virus 3 (PINFRNA22S-02), apresentando resultados positivos.

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para coronavírus foi avaliada em relação ao RNA de Quantitative Synthetic Human coronavírus, estirpe NL63 RNA (VR-3263SD) e Coronavírus HKU (CVRNA22S-04), apresentando resultados positivos.

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para metapneumovírus foi avaliada em relação ao RNA de AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), Human metapneumovírus (NIBSC 08/320) e Quantitative Synthetic Human metapneumovírus hMPV RNA (VR-3250SD), apresentando resultados positivos.

A reatividade analítica do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System para adenovírus foi avaliada em relação ao DNA das seguintes estirpes, apresentando resultados positivos:

Adenovírus tipo 2, espécie C (0810110CF), Adenovírus tipo 3, espécie B (0810062CFHI), Adenovírus tipo 4, espécie E (0810070CFHI), Adenovírus tipo 5, espécie C (0810020CF), Adenovírus tipo 6 (espécie C), estirpe Tonsil 99 (VR-6), Adenovírus tipo 7A, espécie B (0810021CFHI), Adenovírus tipo 15 (espécie D), estirpe 35 [955, CH.38] (VR-16), Adenovírus tipo 31 (espécie A), estirpe 1315/63 (VR-3343), Adenovírus tipo 37 (0810119CFHI), Adenovírus tipo 40, estirpe Dugan (0810084CFHI), Adenovírus tipo 41 (espécie F), estirpe Tak (0810085CFHI) e First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA (NIBSC code: 16/324).

12.8. Rastreabilidade metrológica

Este ensaio não foi concebido para fins de medição.

13. Características de desempenho clínico

O desempenho clínico do VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foi testado utilizando esfregaços nasofaríngeos colhidos pela equipa de enfermagem utilizando uma zaragatoa flexível de nylon e colocados num tubo estéril com 3 ml de Universal Transport Media® (UTM®) (Copan). Os resultados foram os seguintes:

	Centro	Tipo de amostra	Fluxo de trabalho	Alvo
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, Espanha)	Esfregaços nasofaríngeos (Estudo retrospectivo)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza A
				Influenza B
				RSV (tipos A e B)
				Parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4)
				Coronavírus (OC43, NL63, 229 e HKU1)
				Metapneumovírus
				Adenovírus

Tabela 47. Centro, tipo de amostra, fluxo de trabalho e alvo.

Os valores positivos e negativos verdadeiros, valores positivos e negativos falsos, valores de sensibilidade, valores de especificidade, valores preditivos positivos (PPV), valores preditivos negativos (NPV) e razões de probabilidade (LR) para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System foram calculados em relação a cada ensaio comparador conforme indicado na tabela seguinte:

Centro	Ensaio comparador	Alvo	TP	TN	FP	FN	Sensibilidade	Especificidade	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Cobas® SARS-CoV-2 & Influenza A/B assay (Roche)	SARS-CoV-2	110	733	7	6	0,95 (0,89-0,98)	0,99 (0,98-0,99)	0,94 (0,88-0,97)	0,99 (0,98-0,99)	100,3 (47,9-209,8)	0,052 (0,02-0,11)
		Flu A	143	699	4	10	0,94 (0,88-0,97)	0,99 (0,98-0,99)	0,97 (0,93-0,99)	0,99 (0,97-0,99)	164,3 (61,8-436,8)	0,066 (0,04-0,12)
		Flu B	29	826	0	1	0,97 (0,83-0,99)	1 (0,99-1)	1 (0,88-1)	0,99 (0,99-1)	1574 (98,4-25172)	0,048 (0,01-0,23)
	Allplex™ RV Essential Assay (Seegene)	Influenza A	143	699	4	10	0,94 (0,88-0,97)	0,99 (0,98-0,99)	0,97 (0,93-0,99)	0,99 (0,97-0,99)	164,3 (61,8-436,8)	0,066 (0,04-0,12)
		Influenza B	29	826	0	1	0,97 (0,83-0,99)	1 (0,99-1)	1 (0,88-1)	0,99 (0,99-1)	1574 (98,4-25172)	0,048 (0,01-0,23)
		RSV (tipos A e B)	60	787	6	3	0,95 (0,87-0,99)	0,99 (0,98-0,99)	0,91 (0,82-0,96)	0,99 (0,98-0,99)	125,9 (56,61-279,9)	0,048 (0,01-0,15)

		Parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4)	74	765	9	8	0,90 (0,82-0,96)	0,99 (0,98-0,99)	0,90 (0,82-0,95)	0,99 (0,98-0,99)	77,61 (40,38-149,2)	0,099 (0,05-0,19)
		Metapneumo vírus	73	778	1	4	0,95 (0,87-0,99)	0,99 (0,99-1)	0,99 (0,93-0,99)	0,99 (0,98-0,99)	738,5 (104,1-5240)	0,052 (0,02-0,14)
		Adenovírus	64	786	5	1	0,99 (0,92-1)	0,99 (0,98-0,99)	0,93 (0,84-0,97)	0,99 (0,99-1)	155,8 (65-373,4)	0,015 (0,002-0,11)
	Allplex™ Respiratory Panel 3 (Seegene) + sequencing	Coronavírus (OC43, NL63, 229 e HKU1)	39	813	2	2	0,95 (0,84-0,99)	0,99 (0,99-1)	0,95 (0,84-0,99)	0,99 (0,99-1)	387,6 (96,9-1549,9)	0,049 (0,013-0,189)

Tabela 48. Valores positivos verdadeiros (TP) e valores negativos verdadeiros (TN), valores positivos falsos (FP) e negativos falsos (FN), sensibilidade, especificidade, Valores Preditivos Positivos (PPV) e Valores Preditivos Negativos (NPV), e razões de probabilidade (LR) para o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Em conclusão, os resultados mostram uma elevada concordância para detetar SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (tipos A e B), parainfluenza (tipos 1, 2, 3 e 4), coronavírus (OC43, NL63, 229E e HKU1), metapneumovírus e adenovírus utilizando o VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Bibliografía

- Abu-Raya, B., Viñeta Paramo, M., Reicherz, F., & Lavoie, P. M. (2023). Why has the epidemiology of RSV changed during the COVID-19 pandemic? *EClinicalMedicine*, *61*, 102089. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102089>
- Bergeron, H. C., & Tripp, R. A. (2021). Immunopathology of RSV: An Updated Review. *Viruses*, *13*, 2478. <https://doi.org/10.3390/v13122478>
- Buckwalter, S. P., Teo, R., Espy, M. J., Sloan, L. M., Smith, T. F., & Pritt, B. S. (2012). Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. *Journal of Clinical Microbiology*, *50*(3), 766–771. <https://doi.org/10.1128/JCM.05629-11>
- CDC |. (2023). *COVID-19*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19.html>
- Datta, N. (2023). A review of molecular biology detection methods for human adenovirus. *AIMS Biophysics*, *10*(1), 95–120. <https://doi.org/10.3934/BIOPHY.2023008>
- Fernández-Pérez, G. C., Oñate Miranda, M., Fernández-Rodríguez, P., Velasco Casares, M., Corral de la Calle, M., Franco López, Díez Blanco, M., & Cuchat, J. M. O. (2021). SARS-CoV-2: cómo es, cómo actúa y cómo se expresa en la imagen. *Radiología*, *63*, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2020.10.006>
- Friedman, N., Alter, H., Hindiyeh, M., Mendelson, E., Avni, Y. S., & Mandelboim, M. (2018). Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*, *10*. <https://doi.org/10.3390/v10100515>
- Gaunt, E. R., Hardie, A., Claas, E. C. J., Simmonds, P., & Templeton, K. E. (2010). Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, *48*(8), 2940–2947. <https://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
- Henrickson, K. J. (2003). Parainfluenza Viruses. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, *16*(2), 242–264. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.242-264.2003>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, *19*, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Ison, M. G., & Hayden, R. T. (2016). Adenovirus. *Microbiology Spectrum*, *4*(4), DMIH2-0020–2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- Jansen, R. R., Schinkel, J., Koekkoek, S., Pajkrt, D., Beld, M., De Jong, M. D., & Molenkamp, R. (2011). Development and evaluation of a four-tube real time multiplex PCR assay covering fourteen respiratory viruses, and comparison to its corresponding single target counterparts. *Journal of Clinical Virology*, *51*, 179–

185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.04.010>

Krammer, F., Smith, G. J. D., Fouchier, R. A. M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P. C., Palese, P., Shaw, M. L., Treanor, J., Webster, R. G., & García-Sastre, A. (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(3), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>

Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases*, 4(26), 1–28. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>

Lynch, J. P., & Kajon, A. E. (2016). Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 37, 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>

Safiabadi Tali, S. H., LeBlance, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpuor, B., Armanfard, N., Sagan, S. M., & Jahanshahi-Anbuhi, S. (2021). Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00228–20.

Schuster, J. E., & Williams, J. V. (2013). Human Metapneumovirus. *Pediatrics in Review*, 34(12), 558–565.

Templeton, K. E., Scheltinga, S. A., Beersma, M. F. C., Kroes, A. C. M., & Claas, E. C. J. (2004). Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 42(4), 1564–1569. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1564-1569.2004>

Tyrrell, carina S., Allen, J. L. Y., & Gkrania-Klotsas, E. (2021). Influenza: epidemiology and hospital management. *Medicine (Abingdon, England : UK Ed.)*, 49(12), 797–804.

Uddin, S., & Thomas, M. (2020). Human Metapneumovirus. In *StatsPearls*. StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00226-7>

Uyeki, T. M., Hui, D. S., Zambon, M., Wentworth, D. E., & Monto, A. S. (2022). Influenza. *The Lancet*, 400, 693–706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00982-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00982-5)

WHO | World Health Organization. (n.d.). *Respiratory Syncytial Virus (RSV) disease*. Retrieved August 10, 2023, from <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/respiratory-syncytial-virus-disease>

WHO | World Health Organization. (2023a). *Coronavirus disease (COVID-19)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-(covid-19))

WHO | World Health Organization. (2023b). *Influenza (Seasonal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))

Zeng, Z.-Q., Chen, D.-H., Tan, W.-P., Qiu, S.-Y., Xu, D., Liang, H.-X., Chen, M.-X., Li, X., Lin, Z.-S., Liu, W.-K., & Zhou, R. (2018). Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37, 363–369. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3144-z>

Símbolos para componentes IVD e reagentes

 IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Armazenar em local seco		Data de validade		Fabricante	 LOT	Número de lote
	Consultar as instruções de utilização		Limitação de temperatura		Contém <n> teste(s)	 UDI	Identificação única de dispositivo	 REF	Número de referência
	Marcação CE		Manter ao abrigo da luz solar						

Marcas comerciais

BD MAX™ é uma marca registada da Becton, Dickinson and Company.

Direitos de modificação reservados. Todos os direitos reservados. © Certest Biotec, S.L.

Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos respetivos titulares.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Espanha)

Tel. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Informação do promotor na Austrália

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.

Macquarie Park NSW 2113, Austrália

Informação do promotor na Nova Zelândia

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.

Mt. Wellington Auckland 1060, Nova Zelândia

Controlo de alterações		
Versão n.º	Alterações	Data
00	Versão original. Esta versão é uma tradução do documento original em inglês: IUo-444221en0825.00	01-08-2025

Tabela A2. Tabela de controlo de alterações.

Revisão: 1 de agosto de 2025

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.