

Aptima® HBV Quant Assay

Instruções de utilização
Para utilização em diagnóstico *in vitro*
Exclusivamente para exportação dos EUA

Informações gerais	2
Utilização prevista	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes	9
Colheita e armazenamento de amostras biológicas	10
Amostras no sistema Panther	13
Transporte de amostras biológicas	13
Sistema Panther	14
Reagentes e materiais fornecidos	14
Materiais necessários, mas disponíveis separadamente	15
Materiais opcionais	16
Procedimento de teste do sistema Panther	17
Notas sobre o procedimento	21
Controlo de qualidade	22
Calibração do ensaio	22
Controlos negativo e positivo	22
Calibrador interno/controlo interno	22
Interpretação dos resultados	23
Limitações	24
Desempenho analítico	25
Limite de deteção utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS	25
Limite de deteção em vários genótipos do HBV	25
Intervalo linear	26
Linearidade nos vários genótipos do HBV	27
Limite de quantificação utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS	27
Limite inferior de quantificação em vários genótipos do HBV	29
Rastreabilidade ao 3.º Padrão Internacional da OMS	31
Precisão	31
Substâncias potencialmente interferentes	33
Especificidade analítica	35
Equivalência de matriz	36
Diluição de amostras utilizando diluente de amostras biológicas Aptima (1:3)	36
Diluição de amostras utilizando diluente de amostras biológicas Aptima (1:100)	37
Confirmação do LLoQ em amostras biológicas diluídas em diluente de amostras biológicas Aptima	39
Precisão das amostras diluídas	39
Contaminação por transferência	40
Reprodutibilidade	40
Desempenho clínico	42
Correlação de métodos	42
Utilidade clínica	42
Bibliografia	51
Informações de contacto e histórico de revisões	52

Informações gerais

Utilização prevista

O ensaio Aptima® HBV Quant é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* para a quantificação do DNA do vírus da hepatite B (HBV) em plasma e soro humanos, no sistema Panther™ totalmente automatizado.

O plasma pode ser preparado em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), solução de anticoagulante de citrato e dextrose (ACD) e tubos de preparação de plasma (PPT).

O soro pode ser preparado em tubos de soro e tubos de separação de soro (SST).

As amostras biológicas são testadas utilizando o sistema Panther totalmente automatizado para processamento, amplificação e quantificação de amostras. As amostras biológicas com os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H do HBV estão validadas para quantificação no ensaio.

O ensaio Aptima HBV Quant destina-se a ser utilizado como auxiliar no tratamento de doentes com infecções crônicas por HBV submetidos a terapia antiviral contra o HBV.

O ensaio pode ser utilizado para medir os níveis de DNA do HBV na linha basal e durante o tratamento para auxiliar na avaliação da resposta viral ao tratamento. Os resultados do ensaio Aptima HBV Quant devem ser interpretados no contexto de todas as descobertas relevantes clínicas e laboratoriais.

O ensaio Aptima HBV Quant não se destina a ser utilizado como teste de rastreio da presença de DNA do HBV no sangue ou em produtos sanguíneos ou como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção por HBV.

Resumo e explicação do teste

O vírus da Hepatite B, um de diversos vírus considerados como causadores de hepatite, está na origem da infecção crônica por HBV, cirrose hepática, cancro do fígado, insuficiência hepática e, possivelmente, morte. A Organização Mundial da Saúde (OMS) indica o HBV como uma das doenças infecciosas mais comuns do mundo. A prevalência da infecção por HBV e o método de transmissão variam de forma significativa por todo o mundo. Estima-se que, em 2019, em todo o mundo, 296 milhões de pessoas vivessem com infecção crônica por HBV.¹ A infecção por HBV resulta num aumento do risco de descompensação hepática, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) com uma mortalidade de 0,5 a 1,2 milhões de mortes e 5-10% de casos de transplante hepático a nível mundial, anualmente.^{2,3} Sem o tratamento, a intervenção e a monitorização adequados após o diagnóstico, a incidência cumulativa de cirrose após 5 anos varia entre 8 e 20%. Após o desenvolvimento de cirrose, o risco anual de carcinoma hepatocelular é de 2-5%.⁴

O HBV possui um genoma do DNA circular, parcialmente em cadeia dupla de aproximadamente 3200 pares de bases, que codificam quatro grelhas de leitura abertas (ORF) parcialmente sobrepostas que expressam as proteínas polimerase, de superfície, pré-core/core e X. A ORF da polimerase sobrepõe-se às restantes três ORF e codifica uma proteína chave da replicação viral, a polimerase. A ORF de superfície expressa três proteínas, que são essenciais para a morfogénese viral, a entrada viral nos hepatócitos, e provocar a resposta imunitária do anfitrião.⁵ Existem 8 genótipos do HBV (A-H) e estes encontram-se normalmente em diferentes locais geográficos.

Devido à natureza dinâmica da infecção por hepatite B crónica, a monitorização contínua dos níveis de DNA do HBV e de alanina aminotransferase (ALT) é importante.⁶ Para a maioria dos indivíduos infetados por HBV que estão a ser submetidos a tratamento antiviral, o objetivo é a supressão do DNA do HBV. Os testes de ácidos nucleicos quantitativos com um intervalo linear amplo são ferramentas eficazes para monitorizar a carga viral de DNA do HBV durante o tratamento.

Princípios do procedimento

O ensaio Aptima HBV Quant é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* que utiliza a tecnologia de amplificação mediada por transcrição (TMA) em tempo real no sistema Panther para quantificar o DNA do HBV, nos genótipos A, B, C, D, E, F, G e H. O ensaio Aptima HBV Quant destina-se a duas regiões altamente conservadas dos genes da polimerase e de superfície (para maior tolerância a eventuais mutações). O ensaio está padronizado de acordo com o 3.º Padrão Internacional da OMS para o vírus da Hepatite B (código NIBSC: 10/264).

O ensaio Aptima HBV Quant envolve três passos principais que decorrem todos num único tubo no sistema Panther: captura do alvo, amplificação do alvo por TMA e detecção dos produtos da amplificação (amplicon) através de sondas com marcadores fluorescentes.

Durante a captura do alvo, o DNA viral é isolado das amostras biológicas. O espécime é tratado com um detergente para solubilizar o envelope viral, desnaturar as proteínas e libertar o DNA genómico viral. Os oligonucleótidos de captura são hibridados com regiões altamente conservadas do DNA do HBV, caso estejam presentes na amostra biológica que está a ser testada. O alvo híbrido é então capturado em micropartículas magnéticas que são separadas da amostra biológica num campo magnético. Os passos de lavagem retiram componentes estranhos do tubo de reação.

A amplificação do alvo ocorre por meio da TMA, que é um método de amplificação do ácido nucleico mediado por transcrição que utiliza duas enzimas: transcriptase reversa da leucemia murínica de Moloney (MMLV) e a polimerase do RNA T7. A transcriptase reversa é usada para gerar uma cópia do DNA (que contém uma sequência promotora para a polimerase do RNA T7) da sequência alvo. A T7 RNA polimerase produz várias cópias do RNA amplicon a partir do modelo da cópia do DNA. O ensaio Aptima HBV Quant utiliza o método da TMA para amplificar duas regiões do genoma do HBV (o gene da polimerase e o gene de superfície). A amplificação dessas regiões é obtida através de "primers" específicos concebidos para amplificar os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H do HBV. A abordagem de região-alvo dupla e o design do "primer" direcionado para regiões altamente conservadas asseguram a quantificação precisa do DNA do HBV.

A detecção é conseguida utilizando "torches" de ácidos nucleicos de cadeia simples, presentes durante a amplificação do alvo, que se hibridam especificamente com o produto da amplificação em tempo real. Cada "torch" tem um fluoróforo e um agente extintor. Quando a sonda fluorescente não é hibridada com o produto da amplificação, o agente extintor fica em estreita proximidade com o fluoróforo e suprime a fluorescência. Quando a sonda fluorescente se liga ao produto da amplificação, o agente extintor é ainda mais afastado do fluoróforo e emite um sinal num determinado comprimento de onda quando excitado por uma fonte de luz. À medida que mais sondas fluorescentes se hibridizam no produto de amplificação, um sinal de fluorescência mais elevado é gerado. O tempo que demora até o sinal fluorescente atingir um limiar especificado é proporcional à concentração inicial de HBV. Cada reação tem um calibrador interno/controlo interno (internal control, IC) que controla as variações do processamento, da amplificação e da detecção de amostras biológicas. A concentração de uma amostra é determinada pelo software do sistema Panther utilizando os sinais do HBV e do IC para cada reação e comparando-os com as informações da calibração.

Resumo de segurança e desempenho

O Resumo de segurança e desempenho (SSP, Summary of Safety and Performance) está disponível na base de dados europeia de dispositivos médicos (Eudamed), onde está associado aos identificadores do dispositivo (UDI-DI básico). Para localizar o SSP do ensaio Aptima HBV Quant, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVAf.

Advertências e precauções

- A. Para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para utilização profissional.
- C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Manual de instruções do sistema Panther/Panther Fusion™* antes de executar este ensaio.
- D. O reagente estimulador do alvo (TER) é corrosivo. Consulte as informações da Ficha de dados de segurança no final desta secção.

Relativamente ao laboratório

- E. CUIDADO: Os controlos deste ensaio contêm plasma humano. O plasma é não reativo para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpos anti-HCV, anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2, e antígeno HIV quando testados com procedimentos licenciados pela Agência dos Medicamentos e Alimentos dos EUA. Além disso, o plasma é não reativo para o DNA do HBV, o RNA do HCV e o RNA do HIV-1 quando testado com testes de ácidos nucleicos licenciados. Todos os materiais com origem em sangue humano devem ser considerados como potencialmente infecciosos e devem ser manuseados de acordo com as Precauções universais.^{7,8,9}
- F. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do ensaio Aptima HBV Quant e no manuseamento de materiais infecciosos. Se ocorrer um derrame, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do local.
- G. Utilize apenas artigos de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- H. Adote precauções de laboratório de rotina. Não pipete com a boca. Não coma, beba ou fume em áreas de trabalho designadas. Use luvas sem talco descartáveis, proteção ocular e bata de laboratório ao manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit. Lave bem as mãos após manusear as amostras biológicas e os reagentes do kit.
- I. As superfícies de trabalho, pipetas e outros equipamentos devem ser descontaminados regularmente com solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M).
- J. Elimine todos os materiais que tenham estado em contacto com amostras biológicas e reagentes de acordo com os regulamentos europeus, nacionais e locais.^{7,8,9,10} Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.
- K. Os controlos contêm azida de sódio como conservante. Não utilize tubos de metal para a transferência de reagentes. Se as soluções com compostos de azida de sódio forem eliminadas num sistema de canalização, deverão antes ser diluídas e irrigadas com água corrente em abundância. Estas precauções são recomendadas para evitar a acumulação de depósitos em canos metálicos onde se poderiam desenvolver condições explosivas.
- L. As boas práticas padrão para os laboratórios moleculares incluem a monitorização ambiental. Para monitorizar o ambiente de um laboratório, sugere-se o seguinte procedimento:
 - 1. Obtenha uma zaragatoa com ponta de algodão e junte-a com um tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima (SAT).
 - 2. Identifique adequadamente cada SAT.
 - 3. Encha cada SAT com 1 ml de diluente de amostras biológicas Aptima.
 - 4. Para colher amostras de superfície, humedeça ligeiramente uma zaragatoa com água desionizada sem nuclease.

5. Colha a amostra da superfície relevante movimentando a zaragatoa verticalmente, de cima para baixo. Rode a zaragatoa cerca de meia volta enquanto colhe a amostra do local.
6. Coloque imediatamente a amostra em zaragatoa dentro do tubo e rode suavemente a zaragatoa no diluente para extrair materiais potencialmente colhidos. Prima a zaragatoa no lado do tubo de transporte para extrair o máximo de líquido possível. Elimine a zaragatoa e tape o tubo.
7. Repita os passos para as restantes amostras em zaragatoa.
8. Teste a zaragatoa com um ensaio molecular.


Relativamente às amostras biológicas

- M. As amostras biológicas podem ser infecciosas. Utilize as Precauções universais^{7,8,9} quando executar este ensaio. Devem estabelecer-se métodos adequados de manuseamento e de eliminação, de acordo com os regulamentos locais.¹⁰ Este procedimento só deve ser executado por pessoal com a devida qualificação na utilização do ensaio Aptima HBV Quant e com formação no manuseamento de materiais infecciosos.
- N. Mantenha condições de armazenamento apropriadas durante o transporte da amostra biológica para garantir a integridade da amostra. A estabilidade da amostra biológica em condições de transporte diferentes das recomendadas não foi avaliada.
- O. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de amostras biológicas. Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis quando desapertar ou destampar as amostras biológicas. As amostras biológicas podem conter níveis extremamente altos de organismos. Certifique-se de que os recipientes de amostras biológicas não entram em contacto uns com os outros e deite fora os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Mude de luvas se estas entrarem em contacto com a amostra biológica.

Relativamente ao ensaio

- P. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controlos após o prazo de validade.
- Q. Não troque, misture ou combine reagentes do ensaio de kits com números de lote principal diferentes. Os fluidos do ensaio podem pertencer a números de lote diferentes. Os controlos e o calibrador podem pertencer a números de lote diferentes.
- R. Evite a contaminação microbiana ou com nuclease dos reagentes.
- S. Tape e armazene todos os reagentes do ensaio às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes armazenados de forma incorreta. Consulte *Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes* e *Procedimento de teste do sistema Panther* para obter mais informações.
- T. Não combine quaisquer reagentes ou fluidos do ensaio sem instruções específicas para tal. Não adicione reagentes ou fluidos. O sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.
- U. Evite o contacto do TER com a pele, os olhos e as membranas mucosas. Lave a área afetada com água em caso de contacto com este reagente. Se ocorrerem derrames deste reagente, dilua com água e siga os procedimentos adequados do local.
- V. Alguns reagentes deste kit estão marcados com informações sobre perigos.

Nota: A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da União Europeia. Para obter informações sobre as comunicações de perigos específicas da sua região, consulte as SDS específicas da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança em www.hologic.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações sobre perigos para a América do Norte	
	Controlos do kit HBV VL <i>Soro humano / Plasma humano 95-100%</i> <i>Azoteto de sódio <1%</i> — —
	Reagente estimulador do alvo <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i> — — PERIGO H302 – Nocivo por ingestão. H314 – Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. P264 – Lavar cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer região de pele exposta após manuseamento. P270 – Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. P330 – Enxaguar a boca. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado. P260 – Não respirar as poeiras ou névoas. P280 – Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P301 + P330 + P331 – EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito. P303 + P361 + P353 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche. P304 + P340 – EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P305 + P351 + P338 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. P321 – Tratamento específico (ver instruções de primeiros socorros suplementares na Ficha de dados de segurança). P363 – Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar. P405 – Armazenar em local fechado à chave. P301 + P317 – EM CASO DE INGESTÃO: consulte um médico. P316 – Procure ajuda médica de emergência imediatamente.
 	
Informações sobre perigos para a UE	
— —	Reagente de amplificação <i>Magnesium Chloride 60-65%</i> H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.
	Reagente enzimático <i>HEPES 1-5%</i> <i>Triton X-100 1-5%</i> — — H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

—	<p>Solução de reconstituição enzimática <i>Glicerina 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Reagente promotor <i>Magnesium Chloride 60-65%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Reagente de captura do alvo <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
—	<p>Calibradores do kit HBV VL <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 – Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.</p>
  	<p>Controlos do kit HBV VL <i>Soro humano / Plasma humano 95-100%</i> <i>Azoteto de sódio <1%</i></p> <p>—</p> <p>PERIGO H300 – Mortal por ingestão. H410 – Muito tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P264 – Lavar cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer região de pele exposta após manuseamento. P273 – Evitar a libertação para o ambiente. P301 + P310 – EM CASO DE INGESTÃO: contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. P321 – Tratamento específico (ver instruções de primeiros socorros suplementares no presente rótulo). P330 – Enxaguar a boca. P391 – Recolher o produto derramado.</p>

Reagente estimulador do alvo

Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%

PERIGO



H302 – Nocivo por ingestão.

H314 – Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves.

P264 – Lavar cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer região de pele exposta após manuseamento.

P270 – Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.

P330 – Enxaguar a boca.

P501 – Eliminar o conteúdo/recipiente num centro de eliminação de resíduos aprovado.

P260 – Não respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P280 – Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P301 + P330 + P331 – EM CASO DE INGESTÃO: Enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito.

P303 + P361 + P353 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): Retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água [ou tomar um duche].

P304 + P340 – EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração.

P305 + P351 + P338 – SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível.

Continue a enxaguar.

P310 – Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

P321 – Tratamento específico (ver as instruções de primeiros socorros suplementares neste rótulo).

P363 – Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar.

P405 – Armazenar em local fechado à chave.

Requisitos de armazenamento e manuseamento de reagentes

- A. A tabela abaixo mostra as condições de armazenamento e a estabilidade para reagentes, controles e calibradores.

Reagente	Armazenamento, por abrir	Kit aberto (reconstituído)	
		Armazenamento	Estabilidade
Reagente de amplificação qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente de amplificação qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente enzimático qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente enzimático qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente promotor qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição do reagente promotor qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente de captura do alvo qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
qHBV PCAL (calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHBV NC CONTROL – (controlo negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHBV LPC CONTROL + (controlo positivo baixo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
qHBV HPC CONTROL + (controlo positivo alto)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de utilização única Utilizar num período de 24 horas
Reagente estimulador do alvo qHBV	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	30 dias ^a

^a Quando os reagentes são removidos do sistema Panther, devem ser imediatamente devolvidos às respetivas temperaturas de armazenamento adequadas.

- B. Deite fora quaisquer reagentes reconstituídos, reagente de captura do alvo (TCR) e reagente estimulador do alvo (TER) não usados, após 30 dias ou após a data de validade do lote mestre, conforme o que ocorrer primeiro.
- C. Os reagentes conservados dentro do sistema Panther têm 72 horas de estabilidade. Os reagentes podem ser carregados no sistema Panther até 8 vezes. O sistema Panther regista cada uma das vezes que os reagentes são carregados.
- D. Depois de descongelar o calibrador, a solução deve estar límpida, ou seja, sem turvação ou precipitados. Certifique-se de que os precipitados se dissolveram. Não utilize o calibrador se apresentar formação de gel, precipitado ou um tom turvo.
- E. O reagente promotor e o reagente promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja estes reagentes da luz durante o seu armazenamento e a preparação para utilização.
- F. O reagente estimulador do alvo qHBV deve estar a uma temperatura situada entre 15 °C e 30 °C antes de ser utilizado.

Colheita e armazenamento de amostras biológicas

Nota: Manuseie todas as amostras biológicas como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Respeite as precauções universais.

Nota: Tenha cuidado para evitar a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento das amostras. Por exemplo, elimine o material usado sem passar por cima de tubos abertos.

Nota: Para o armazenamento, só são recomendados tubos secundários de plástico.

Podem utilizar-se amostras biológicas de sangue total colhidas nos seguintes tubos de vidro ou de plástico:

- Tubos com anticoagulantes de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou ácido de citrato e dextrose (ACD)
- Tubos de preparação de plasma
- Tubos de soro
- Tubos de separação de soro

No caso de soro, aguarde até o coágulo se formar antes de continuar o processamento.

A. Colheita de amostras biológicas

O sangue total pode ser conservado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C durante um máximo de 24 horas, e o plasma deve ser separado através de centrifugação num tubo primário antes do processamento. Separe o plasma ou o soro dos glóbulos vermelhos seguindo as instruções do fabricante do tubo utilizado. O plasma ou o soro pode ser testado no sistema Panther, num tubo primário, ou transferido para um tubo secundário, como, por exemplo, o tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima®. Para obter o volume de reação de 500 µl, o volume mínimo de plasma ou de soro é de até 1200 µl para tubos de colheita primários e de 700 µl para tubos secundários. A tabela abaixo identifica os requisitos do volume morto para cada tipo de tubo principal e secundário.

Tubo (tamanho e tipo)	Volume morto no Panther
Tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm com Gel	0,3 ml
16 x 100 mm com Gel	0,7 ml

Se não forem testados imediatamente, o plasma e o soro podem ser conservados de acordo com as especificações a seguir descritas. Se forem transferidos para um SAT ou um tubo secundário, o plasma ou o soro podem ser congelados a -20 °C. Não exceda 3 ciclos de congelação/descongelação. Não congele as amostras biológicas em EDTA, ACD nem em tubos de colheita de soro primários.

B. Condições de armazenamento das amostras biológicas

1. Amostras biológicas de plasma EDTA e ACD

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 24 horas após a colheita da amostra biológica.

O plasma pode depois ser armazenado numa das seguintes condições:

- No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
- No tubo de colheita primário ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
- No tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

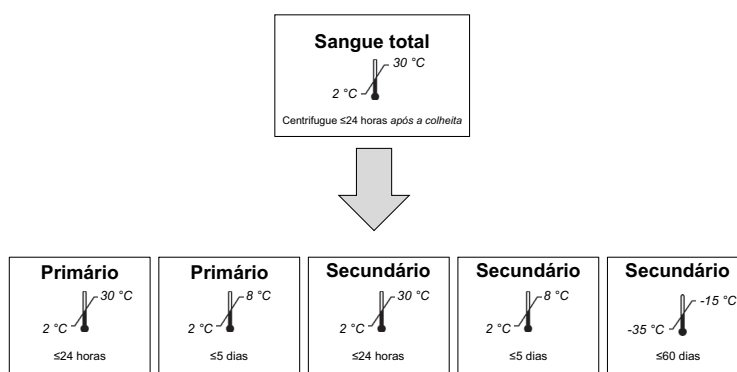


Figura 1. Condições de armazenamento dos tubos EDTA/ACD

2. Amostras biológicas em PPT

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 24 horas após a colheita da amostra biológica.

O plasma pode depois ser armazenado numa das seguintes condições:

- No PPT ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
- No PPT ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
- No PPT ou no tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

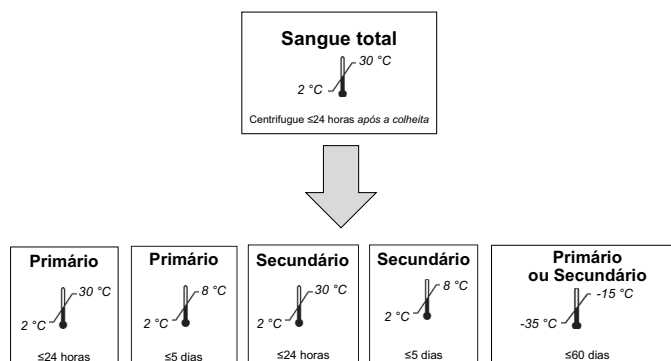


Figura 2. Condições de armazenamento para PPT

3. Amostras biológicas do tubo de soro

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 24 horas após a colheita da amostra biológica. O soro pode ser armazenado numa das seguintes condições:

- No tubo de soro ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
- No tubo de soro ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
- No tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

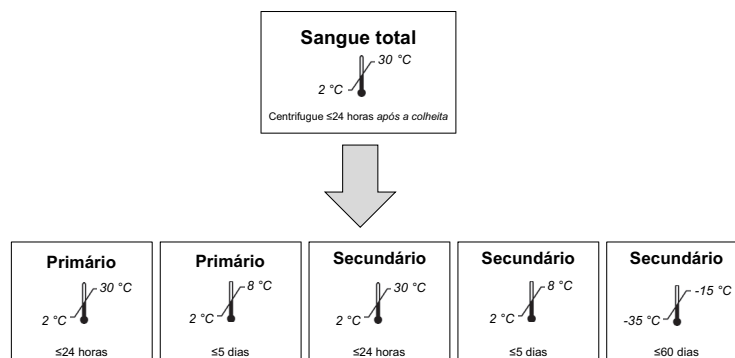


Figura 3. Condições de armazenamento para tubos de soro

4. Amostras biológicas em SST

O sangue total pode ser armazenado a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C e deve ser centrifugado no prazo de 24 horas após a colheita da amostra biológica. O soro pode ser armazenado numa das seguintes condições:

- No SST ou no tubo secundário de 2 °C a 30 °C durante até 24 horas,
- No SST ou no tubo secundário de 2 °C a 8 °C durante até 5 dias ou
- No SST ou no tubo secundário a -20 °C durante até 60 dias.

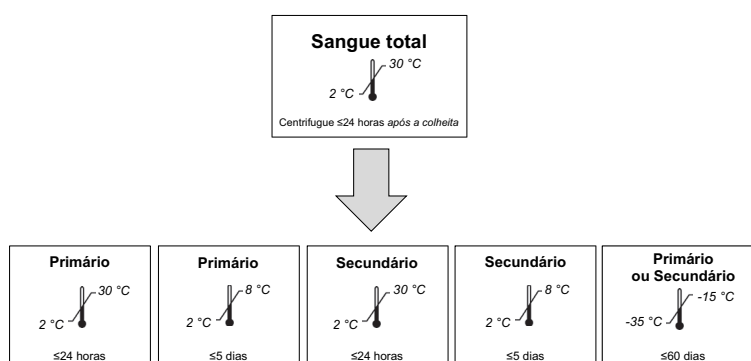


Figura 4. Condições de armazenamento para SST

C. Armazenamento em congelamento de longo prazo

As amostras de plasma ou de soro podem ser armazenadas a -70 °C até um máximo de 60 dias em SAT.

D. Diluição de amostras biológicas de plasma e soro

As amostras biológicas de plasma e soro podem ser diluídas no SAT ou num tubo secundário para teste no sistema Panther. Consulte *Procedimento de teste do sistema Panther*, passo E.5 abaixo para obter mais informações.

Nota: Uma amostra biológica, se diluída, deverá ser testada imediatamente após a diluição. Não congele amostras biológicas diluídas.

Amostras no sistema Panther

As amostras podem permanecer destapadas no sistema Panther por um período máximo de 8 horas. As amostras podem ser removidas do sistema Panther e testadas, desde que o tempo total no instrumento não exceda as 8 horas antes da pipetagem da amostra pelo sistema Panther.

Transporte de amostras biológicas

Mantenha as condições de armazenamento das amostras, conforme descrito em *Colheita e armazenamento de amostras biológicas*.

Nota: As amostras biológicas devem ser transportadas em conformidade com os regulamentos de transporte nacionais, internacionais e regionais aplicáveis.

Sistema Panther

Os reagentes do ensaio Aptima HBV Quant para o sistema Panther são indicados abaixo. Os símbolos de identificação de reagentes também estão listados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit do ensaio Aptima HBV Quant, 100 testes (Código de produto PRD-03424)
(1 caixa de ensaio, 1 kit de calibrador, 1 kit de controlos e 1 caixa de reagente estimulador do alvo)

É possível encomendar calibradores e controlos adicionais em separado. Consulte os códigos de produto individuais abaixo.

Caixa do ensaio Aptima HBV Quant

(armazenar a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação qHBV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático qHBV <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA liofilizadas em solução tamponada HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Reagente promotor qHBV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos liofilizados em solução tamponada.</i>	1 frasco
AR	Solução de reconstituição do reagente de amplificação qHBV <i>Solução aquosa contendo glicerina e conservantes.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Solução de reconstituição do reagente enzimático qHBV <i>Solução tamponada com HEPES com um agente tensoativo e glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Solução de reconstituição do reagente promotor qHBV <i>Solução aquosa contendo glicerina e conservantes.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reagente de captura do alvo qHBV <i>Ácidos nucleicos numa solução salina tamponada que contém fase sólida, ácidos nucleicos não infecciosos e calibrador interno.</i>	1 x 72 ml
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do lote principal	1 folha

Kit do calibrador do Aptima HBV Quant (Código de produto PRD-03425)

(armazenar a uma temperatura entre -15 °C e -35 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador positivo qHBV <i>DNA plasmídico em solução tamponada</i>	5 x 2,5 ml
	Etiqueta de código de barras do calibrador	—

Kit de controlos do Aptima HBV Quant (Código de produto PRD-03426)
(armazenar a uma temperatura entre -15 °C e -35 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	Controlo negativo qHBV <i>Plasma humano desfibrinado HBV negativo com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Controlo positivo baixo qHBV <i>Plasma HBV positivo inativado em plasma humano desfibrinado com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Controlo positivo alto qHBV <i>Plasma HBV positivo inativado em plasma humano desfibrinado com gentamicina e azida de sódio a 0,2% como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
	Etiqueta de código de barras do controlo	—

Caixa de reagente estimulador do alvo do Aptima HBV Quant
(armazenar a uma temperatura entre 15 °C e 30 °C após a receção)

Símbolo	Componente	Quantidade
TER	Reagente estimulador do alvo qHBV <i>Uma solução concentrada de hidróxido de lítio</i>	1 x 46,0 ml

Material necessário, mas disponíveis separadamente

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

Material	Código de produto
Sistema Panther™	303095
Sistema Panther Fusion™	PRD-04172
Sistema Panther™ com fluidos e resíduos contínuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit do calibrador do Aptima® HBV Quant	PRD-03425
Kit de controlos do Aptima® HBV Quant	PRD-03426
Kit de execução Panther para ensaios em tempo real (apenas para ensaios em tempo real)	PRD-03455 (5000 testes)
Kit de fluidos do ensaio Aptima® (também conhecido como Kit de fluidos universais) <i>contém solução de lavagem Aptima®, tampão para o fluido de desativação Aptima® e reagente de óleo Aptima®</i>	303014 (1000 testes)
<i>Unidades multitubos (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit de sacos de resíduos Panther™</i>	902731
<i>Tampa do recipiente de resíduos Panther™</i>	504405
Ou kit de execução do sistema Panther™ <i>(ao realizar ensaios TMA diferidos em paralelo com ensaios TMA em tempo real)</i> <i>contém MTU, sacos de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, detetores automáticos e fluidos de ensaio</i>	303096 (5000 testes)

Material	Código de produto
Pontas, condutoras de 1000 µl, detecção de líquido	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Contacte o seu representante para obter informações específicas da região.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Lixívia, solução de hipoclorito de sódio de 5% a 8,25% (0,7 M a 1,16 M)	—
Luvras sem pó descartáveis	—
Tampas não perfuráveis para substituição	103036A
Tampas de reagentes para substituição	
<i>Frascos de reconstituição do reagente de amplificação, do reagente enzimático e do reagente promotor</i>	CL0041 (100 tampas)
<i>Frasco de TCR</i>	CL0040 (100 tampas)
<i>Frasco de TER</i>	501604 (100 tampas)
Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico	—
Toalhetes que não libertem pelos	—
Pipetador	—
Pontas	—
Opções de tubo de colheita primário:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifugadora	—
Agitador de vórtex	—

Materiais opcionais

Material	Código de produto
Opções de tubos secundários:	
<i>12 mm x 75 mm</i>	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
<i>Tubos de alíquota de amostras biológicas Aptima® (SAT)</i> <i>(embalagem com 100)</i>	FAB-18184
Tampa do tubo de transporte (embalagem com 100) <i>tampa para SAT</i>	504415
Diluyente de amostras biológicas Aptima®	PRD-03003
Kit de diluyente de amostras biológicas Aptima® <i>contém diluyente da amostra biológica, 100 SAT e 100 tampas</i>	PRD-03478
Pipetas de transferência	—
Zaragatoas com ponta de algodão	—
Dispositivo de agitação de tubos por oscilação	PRD-03488

Procedimento de teste do sistema Panther

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

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho nas quais os reagentes serão preparados. Limpe as superfícies de trabalho com uma solução de hipoclorito de sódio de 2,5% a 3,5% (0,35 M a 0,5 M). Deixe a solução de hipoclorito de sódio entrar em contacto com as superfícies durante, pelo menos, 1 minuto e depois enxague com água desionizada (DI). Não deixe secar a solução de hipoclorito de sódio. Cubra a superfície da bancada com capas limpas, absorventes, com forro de plástico, indicadas para bancadas de laboratórios.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada onde as amostras serão preparadas. Siga o procedimento supramencionado (passo A.1).
3. Limpe os pipetadores. Siga o procedimento de limpeza supramencionado (passo A.1).

B. Preparação do calibrador e dos controlos

Deixe o calibrador e os controlos atingirem uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes de efetuar o processamento da seguinte forma:

1. Remova o calibrador e os controlos do armazenamento (-15 °C a -35 °C) e coloque-os a uma temperatura de 15 °C a 30 °C. Ao longo do processo de descongelação, inverta suavemente cada tubo para misturar bem. Certifique-se de que o conteúdo do tubo está totalmente descongelado antes da utilização.

Opcional. Os tubos de calibrador e controlo podem ser colocados num dispositivo de agitação de tubos por oscilação para misturar bem. Certifique-se de que o conteúdo do tubo está totalmente descongelado antes da utilização.

Nota: Evite criar espuma excessiva quando inverter o calibrador e os controlos. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.

2. Quando o conteúdo do tubo tiver descongelado, seque a parte de fora do tubo com um toalhete descartável, limpo e seco.
3. Para prevenir a contaminação, não abra os tubos agora.

C. Reconstituição/preparação dos reagentes de um novo kit

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

1. Para preparar o TCR, proceda da seguinte forma:
 - a. Remova o TCR do armazenamento (2 °C a 8 °C). Verifique o número de lote no frasco de TCR para se certificar de que corresponde ao número de lote da folha do código de barras do lote principal.
 - b. Agite imediata e vigorosamente o frasco de TCR 10 vezes. Deixe o frasco de TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer durante, pelo menos, 45 minutos. Durante este período, gire e inverta o tubo de TCR pelo menos a cada 10 minutos.

Opcional. O frasco de TCR pode ser preparado num dispositivo de agitação de tubos por oscilação seguindo estas instruções: Remova o TCR do armazenamento (2 °C a 8 °C) e agite imediata e vigorosamente 10 vezes. Coloque o frasco de TCR num dispositivo de agitação de tubos por oscilação e deixe o TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer durante, pelo menos, 45 minutos.

- c. Antes da utilização, assegure-se de que todo o precipitado está dissolvido e que as partículas magnéticas estão em suspensão.

2. Para reconstituir o reagente de amplificação, o reagente enzimático e o reagente promotor, proceda da seguinte forma:
 - a. Remova os reagentes liofilizados e as soluções de reconstituição correspondentes do armazenamento (2 °C a 8 °C). Emparelhe cada solução de reconstituição com o respetivo reagente liofilizado.
 - b. Certifique-se de que a solução de reconstituição e os reagentes liofilizados têm cores de rótulo correspondentes. Verifique os números do lote na Folha de códigos de barras do lote principal para garantir que estão emparelhados os reagentes adequados.
 - i. Abra o frasco de reagente liofilizado removendo o selo metálico e a rolha de borracha.
 - ii. Insira com firmeza a extremidade ranhurada do aro de reconstituição (preto) no frasco (Figura 5, passo 1).
 - iii. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa numa superfície de trabalho limpa e coberta.
 - iv. Coloque o frasco da solução de reconstituição numa superfície estável (por exemplo, a bancada). Em seguida, inverta o frasco de reagente liofilizado sobre o frasco da solução de reconstituição e fixe firmemente o aro ao frasco da solução de reconstituição (Figura 5, passo 2).
 - v. Inverta lentamente os frascos montados (frasco ligado ao frasco de solução) para permitir que a solução seja drenada para o frasco de vidro (Figura 5, passo 3).
 - vi. Recolha os frascos montados e gire-os durante pelo menos 10 segundos (Figura 5, passo 4).
 - vii. Aguarde pelo menos 30 minutos para que o reagente liofilizado passe para a solução.
 - viii. Depois de o reagente liofilizado estar na solução, gire os frascos montados durante pelo menos 10 segundos e, em seguida, oscile a solução no interior do frasco de vidro para a frente e para trás para misturar totalmente.
 - c. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada para dentro do frasco da solução de reconstituição (Figura 5, passo 5).
 - d. Remova cuidadosamente o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, passo 6).
 - e. Volte a colocar a tampa do frasco. Grave as iniciais do operador e a data de reconstituição na etiqueta (Figura 5, passo 7).
 - f. Elimine o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, passo 8).

Advertência: Evite formar espuma excessiva quando reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.

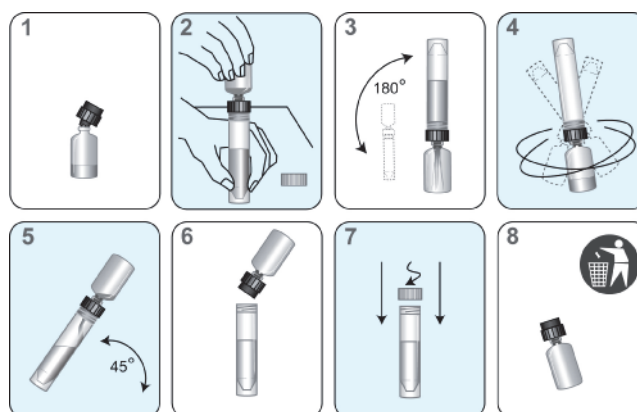


Figura 5. Processo de reconstituição de reagentes

3. Remova o reagente estimulador do alvo qHBV do armazenamento (15 °C a 30 °C). Registre as iniciais do operador e a data de abertura na etiqueta. Verifique o número de lote no frasco de TER para se certificar de que corresponde ao número de lote da folha do código de barras do lote principal.

D. Preparação de reagentes para reagentes previamente preparados

1. Remova os reagentes previamente preparados do armazenamento (2 °C a 8 °C). Os reagentes de amplificação, enzimático, promotor e TCR previamente preparados devem atingir uma temperatura situada entre 15 °C e 30 °C antes do início do ensaio.
2. Retire o TER do armazenamento (15 °C a 30 °C).
3. No caso de TCR previamente preparado, execute o passo C.1 anterior antes de o colocar no sistema.
4. Misture bem os reagentes de amplificação, enzimático e promotor girando-os e invertendo-os antes de os colocar no sistema. Evite criar espuma excessiva quando inverter os reagentes.

Opção: os reagentes previamente preparados podem ser preparados num dispositivo de agitação de tubos por oscilação seguindo estas instruções: remova os reagentes do armazenamento (2 °C a 8 °C). Coloque os reagentes num dispositivo de agitação de tubos por oscilação e deixe aquecer entre 15 °C e 30°C durante pelo menos 30 minutos.

5. Não ateste frascos de reagente. O sistema Panther reconhece e rejeita os frascos que tenham sido atestados.

E. Manuseamento de amostras biológicas

1. Certifique-se de que as amostras biológicas processadas em tubos primários ou as amostras biológicas de plasma não diluídas em tubos secundários foram armazenadas corretamente de acordo com *Colheita de amostras biológicas*.
2. Verifique se as amostras biológicas congeladas foram totalmente descongeladas. Agite as amostras biológicas descongeladas em vórtex durante 3 a 5 segundos para misturar bem.
3. Deixe as amostras biológicas atingirem uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do processamento. Consulte *Amostras no sistema Panther* para obter mais informações sobre a introdução no sistema.
4. Certifique-se de que cada tubo de colheita primário contém até 1200 µl de amostra biológica ou de que cada SAT contém, pelo menos, 700 µl de amostra biológica.

Consulte a tabela fornecida em *Colheita de amostras biológicas* para identificar os requisitos de volume morto para cada tipo de tubo primário e secundário. Se for necessária a diluição de amostras biológicas, consulte o passo E.5 abaixo para obter mais informações.

5. Dilua uma amostras biológica de plasma ou de soro a 1:3 num SAT ou a 1:100 num tubo secundário.

Uma amostra biológica pode ser diluída em um tubo secundário para teste no sistema Panther.

Nota: Se uma amostra biológica for diluída, ela deverá ser testada imediatamente após a diluição.

- a. Diluição de amostras biológicas com volume reduzido

O volume de amostras biológicas pode ser aumentado para o volume mínimo necessário (700 µl) usando o diluente de amostras biológicas Aptima. As amostras biológicas com pelo menos 240 µl de plasma podem ser diluídas com duas partes de diluente de amostras biológicas (1:3) da seguinte forma:

- i. Coloque 240 µl de amostra biológica no SAT.
- ii. Adicione 480 µl de diluente de amostras biológicas Aptima.
- iii. Tape o tubo.
- iv. Inverta suavemente 5 vezes para misturar.

As amostras biológicas diluídas a 1:3 podem ser testadas usando a opção 1:3 no sistema Panther (consulte o *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion* para obter mais informações). O software irá comunicar automaticamente um resultado final ao aplicar o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

- b. Diluição de amostras biológicas de titulação alta

Se o resultado da amostra biológica estiver acima do limite de quantificação (ULoQ), poderá ser diluído com 99 partes de diluente de amostras biológicas Aptima (1:100), da seguinte forma:

- i. Coloque 30 µl de amostra biológica no SAT ou num tubo secundário.
- ii. Adicione 2970 µl de diluente de amostras biológicas Aptima.
- iii. Tape o tubo.
- iv. Inverta suavemente 5 vezes para misturar.

As amostras biológicas diluídas a 1:100 podem ser testadas usando a opção 1:100 no sistema Panther (consulte o *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion* para obter mais informações). O software irá comunicar automaticamente um resultado final ao aplicar o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

Nota: Nas amostras biológicas diluídas com concentrações puras superiores ao ULoQ, os resultados serão relatados com uma notação científica.

6. Imediatamente antes de carregar as amostras biológicas num suporte de amostras, centrifugue cada amostra biológica de 1000 a 3000 g durante 10 minutos. Não remova as tampas. A existência de bolhas no tubo pode comprometer a detecção de nível do sistema Panther. Consulte a secção *Preparação do sistema*, passo F.2 abaixo, para obter mais informações sobre o carregamento do suporte e a remoção das tampas.

F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções no *Manual de instruções do sistema Panther/Panther Fusion* e nas *Notas sobre o procedimento*. Certifique-se de que são utilizados suportes de reagente e adaptadores de TCR de dimensão adequada.
2. Carregue as amostras no suporte de amostras. Execute os seguintes passos para cada tubo de amostra (amostra biológica e, quando necessário, calibrador e controlos):
 - a. Desaperte a tampa de um tubo de amostra, mas não a remova já.
Nota: *Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis. Desaperte as tampas das amostras com cuidado.*
 - b. Carregue o tubo de amostra no suporte de amostras.
 - c. Repita os passos 2.a e 2.b para cada amostra restante.
 - d. Depois de as amostras terem sido carregadas no suporte de amostras, remova e elimine a tampa de cada tubo de amostra num suporte de amostras. Para evitar a contaminação, não passe uma tampa sobre quaisquer outros suportes de amostras ou tubos de amostras.
 - e. Se necessário, use uma pipeta de transferência descartável e nova para remover quaisquer bolhas ou espuma.
 - f. Quando a última tampa tiver sido removida, carregue o suporte de amostras na zona de amostras.
Nota: *Se tentar executar outros tipos de ensaios e de amostras ao mesmo tempo, fixe o retentor de amostras antes de carregar o suporte de amostras na zona de amostras.*
 - g. Repita os passos 2.a a 2.f para o suporte de amostras seguinte.

Notas sobre o procedimento

A. Calibrador e controlos

1. O calibrador positivo de qHBV, o controlo positivo baixo de qHBV, o controlo positivo alto de qHBV e os tubos de controlo negativo de qHBV podem ser carregados em qualquer posição no suporte de amostras e em qualquer corredor da zona de amostras do sistema Panther. A pipetagem de amostras biológicas começa quando se verificar uma das duas condições seguintes:
 - a. Os calibradores e os controlos estão atualmente a ser processados pelo sistema.
 - b. Os resultados válidos para os controlos e calibrador são registados no sistema.
2. Depois dos tubos de controlo e do calibrador terem sido pipetados e estarem a ser processados pelo kit de reagente do ensaio Aptima HBV Quant, as amostras biológicas podem ser testadas com o kit reconstituído associado até um máximo de 24 horas, **a não ser que:**
 - a. O calibrador ou resultados do controlo sejam inválidos.
 - b. O respetivo kit de reagente de ensaio seja retirado do sistema.
 - c. O respetivo kit de reagente de ensaio tenha ultrapassado os limites de estabilidade.
3. O calibrador e cada tubo de controlo só podem ser usados uma única vez. As tentativas para usar o tubo mais do que uma vez podem dar origem a erros de processamento.

B. Pó das luvas

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

Controlo de qualidade

Um resultado de uma execução ou amostra biológica pode ser invalidado por um operador se tiverem sido observadas dificuldades técnicas, do operador ou do instrumento, durante a execução do ensaio e se estas estiverem documentadas. Nesse caso, as amostras biológicas deverão ser testadas novamente.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, é necessário concluir uma calibração do ensaio. Um calibrador positivo único é executado em triplicado de cada vez que um kit de reagente é carregado no sistema Panther. Depois de estabelecida, a calibração é válida durante um máximo de 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando uma calibração for necessária. O operador lê um coeficiente de calibração que se encontra na folha de códigos de barras do lote principal fornecida com cada kit de reagente.

Durante o processamento, os critérios de aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Se menos do que duas réplicas do calibrador forem válidas, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Controlos negativo e positivo

Para gerar resultados válidos, deve ser testado um conjunto de controlos de ensaio. Deve ser testada uma réplica do controlo negativo, uma do controlo positivo baixo e outra do controlo positivo alto sempre que um kit de reagente for carregado no sistema Panther. Depois de estabelecidos, os controlos são válidos durante um máximo de 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando os controlos forem necessários.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controlos são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Para gerar resultados válidos, o controlo negativo deve apresentar um resultado de "Não detetado" e os controlos positivos devem obter resultados dentro dos parâmetros predefinidos (alvo nominal do LPC: $2,7 \log_{10}$ UI/ml, alvo nominal do HPC: $4,6 \log_{10}$ UI/ml). Se algum dos controlos tiver um resultado inválido, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras de uma execução invalidada devem ser novamente testadas com um calibrador e controlos recém-preparados.

Calibrador interno/controlo interno

Cada amostra contém um calibrador interno/controlo interno (IC). Durante o processamento, os critérios de aceitação do IC são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Se um resultado de IC for inválido, o resultado da amostra é invalidado. É necessário repetir o teste de cada amostra com um resultado de IC inválido para obter um resultado válido.

O software do sistema Panther foi criado para verificar com precisão os processos quando os procedimentos são realizados seguindo as instruções fornecidas neste folheto informativo e no *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion*.

Interpretação dos resultados

O sistema Panther determina automaticamente a concentração de DNA do HBV para amostras biológicas e controlos mediante comparação dos resultados com uma curva de calibração. As concentrações de DNA do HBV são relatadas em UI/ml e \log_{10} UI/ml. A interpretação de resultados é fornecida na Tabela 1. Se utilizar a opção de diluição, o sistema Panther calcula automaticamente a concentração de DNA do HBV para a amostra biológica não diluída, multiplicando a concentração diluída pelo fator de diluição, e as amostras diluídas serão assinaladas como diluídas.

Nota: Para as amostras biológicas diluídas, os resultados listados como "Não detetado" ou "<10 detetados" podem ser gerados diluindo uma amostra biológica com a concentração acima, porém próximo ao limite de deteção (LoD) ou ao limite baixo de quantificação (LLoQ). Caso não se obtenha um resultado quantitativo, recomenda-se a colheita e teste de outra amostra biológica não diluída.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado do ensaio Aptima HBV Quant apresentado		Interpretação
UI/ml	\log_{10} UI/ml ^a	
Não detetado	Não detetado	DNA do HBV não detetado.
<10 detetado	<1,00	Foi detetado DNA do HBV, mas num nível abaixo do LLoQ.
10 to 1.000.000.000	1,00 a 9,00	A concentração de DNA do HBV situa-se dentro do intervalo linear de 10 a 1.000.000.000 UI/ml.
>1.000.000.000	>9,00	A concentração de DNA do HBV está acima do ULoQ.
Inválido ^b	Inválido ^b	Erro indicado na geração do resultado. A amostra biológica deve ser testada novamente.

^a O valor é truncado para duas casas decimais.

^b Os resultados inválidos são apresentados em letra de cor azul.

Nas amostras biológicas diluídas com concentrações puras superiores ao ULoQ, os resultados serão relatados com uma notação científica.

Os critérios de aceitação para cada um dos controlos do ensaio Aptima HBV Quant são descritos na Tabela 2 abaixo.

Nota: O intervalo de recuperação apresentado abaixo varia com base no valor atribuído a cada lote específico. Consulte a concentração atribuída apresentada na Folha do código de barras do controlo fornecida com cada caixa de controlo.

Tabela 2: Critérios de aceitação para o intervalo de recuperação dos controlos do ensaio Aptima HBV Quant

Componente	Intervalo de recuperação para execuções válidas
Controlo negativo	n/a
Controlo positivo baixo	+/- 0,55 \log_{10} UI/ml
Controlo positivo alto	+/- 0,5 \log_{10} UI/ml

Limitações

- A. A utilização deste ensaio está limitada a pessoal que tenha recebido formação relativa ao procedimento. O não cumprimento das instruções fornecidas neste folheto informativo pode levar a resultados erróneos.
- B. A fiabilidade dos resultados depende da colheita, do transporte, do armazenamento e do processamento adequados das amostras biológicas.

Desempenho analítico

Limite de detecção utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS

O limite de detecção (LoD) do ensaio é definido como a concentração de DNA do HBV que é detectada com uma probabilidade igual ou superior a 95% de acordo com a norma CLSI EP17-A2.¹¹

O LoD foi determinado através do teste de painéis de acordo com o 3.º Padrão Internacional da OMS para o DNA do vírus da hepatite B (NIBSC 10/264, genótipo A) diluído em soro e plasma humano EDTA HBV negativo. Testaram-se um mínimo de 36 réplicas de cada diluição com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 108 réplicas por diluição. Realizou-se a análise Probit para gerar os limites de detecção previstos de 95%. Os valores de LoD são os resultados do lote de reagentes com o limite de detecção previsto mais elevado. O LoD do ensaio Aptima HBV Quant utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS é 4,8 UI/ml para o plasma e de 5,9 UI/ml para o soro.

Limite de detecção em vários genótipos do HBV

O LoD foi determinado através do teste de diluições de amostras biológicas clínicas HBV positivas para os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H em plasma e soro humano HBV negativo. As concentrações foram determinadas utilizando um ensaio aprovado. Testaram-se um mínimo de 24 réplicas de cada membro do painel com cada um dos dois lotes de reagentes, para um mínimo de 48 réplicas por membro do painel. Realizou-se a análise Probit para gerar os limites de detecção previstos de 95%. Os valores de LoD mostrados na Tabela 3 são os resultados do lote de reagentes com o limite de detecção previsto mais elevado.

Tabela 3: Limite de detecção (limite de detecção previsto de 95%) em vários genótipos do HBV utilizando amostras biológicas clínicas

Genótipo	Concentração (UI/ml)	
	Plasma	Soro
A	3,3	4,1
B	2,9	3,9
C	4,9	5,2
D	5,7	5,4
E	5,8	5,8
F	3,0	4,0
G	2,8	7,4
H	5,5	6,3

Intervalo linear

O intervalo linear foi estabelecido testando painéis de vírus do genótipo A do HBV ($0,78 \log_{10}$ UI/ml a $7,30 \log_{10}$ UI/ml) e DNA plasmídico ($5,30 \log_{10}$ UI/ml a $9,18 \log_{10}$ UI/ml) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HBV, de acordo com a CLSI EP06-A.¹² O ensaio Aptima HBV Quant demonstrou linearidade em todo o intervalo testado, com um limite superior de quantificação (ULoQ) de $9 \log_{10}$ UI/ml conforme mostrado na Figura 6.

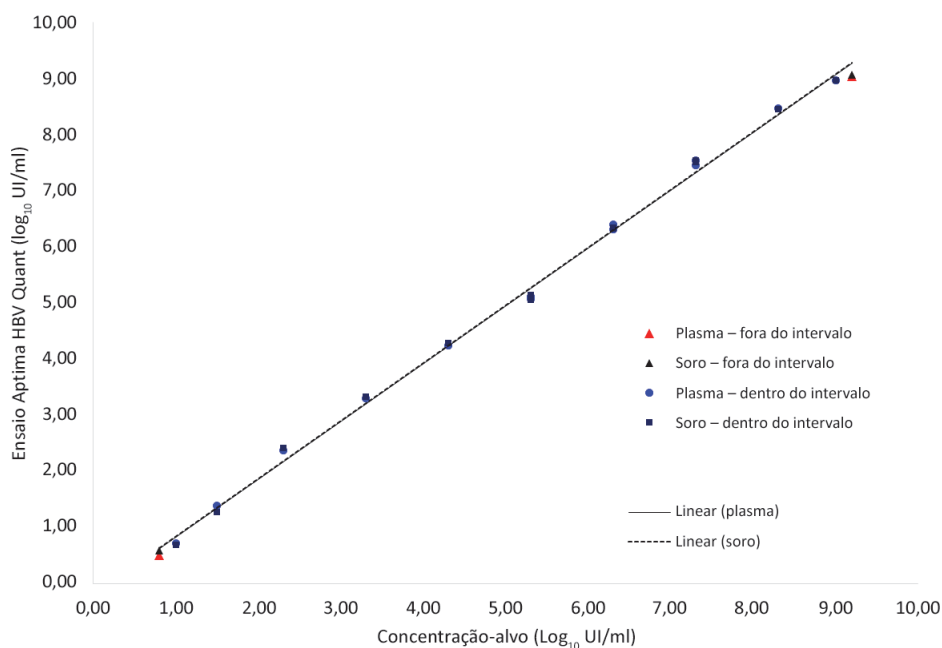


Figura 6. Linearidade no plasma e soro

Linearidade nos vários genótipos do HBV

A linearidade dos genótipos do HBV foi estabelecida testando amostras clínicas individuais positivas dos genótipos A, E, F, G e H e painéis da 1.^a referência da OMS PEI (PEI 5086/08) dos genótipos B, C e D. Foi utilizado vírus para o intervalo inferior do ensaio ($4 \log_{10}$ UI/ml e abaixo para os genótipos A-G, $3 \log_{10}$ UI/ml e abaixo para o genótipo H). Foi utilizado DNA plasmídico para o intervalo superior com uma sobreposição de $2 \log_{10}$. Foram testadas diluições em plasma humano negativo para todos os genótipos. Foi demonstrada linearidade em todo o intervalo testado para todos os genótipos testados, conforme mostrado na Figura 7.

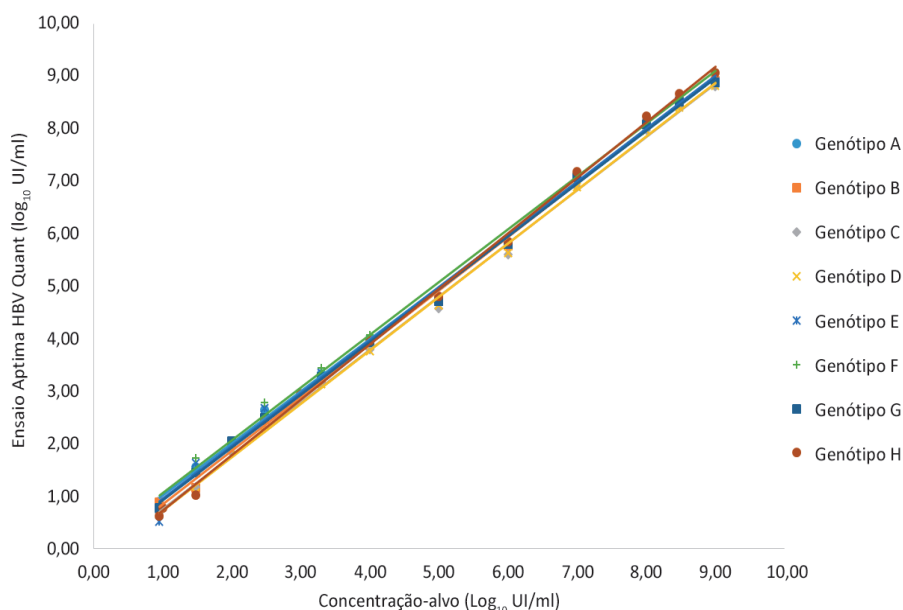


Figura 7. Intervalo linear e linearidade (Plasma)

Limite de quantificação utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS

O limite inferior de quantificação é definido como a concentração mais baixa na qual o DNA do HBV é quantificado com fiabilidade dentro de um erro total, de acordo com a norma CLSI EP17-A2.¹¹ O erro total foi calculado utilizando os dois métodos seguintes:

Erro Analítico Total (EAT) = |desvio sistemático| + 2DP e Erro Total (ET) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{DP}$.

Para garantir a exatidão e a precisão das medições, o erro total do ensaio Aptima HBV Quant foi definido para $1 \log_{10}$ UI/ml (ou seja, no LLoQ, a diferença entre duas medições superior a $1 \log_{10}$ UI/ml é estatisticamente significativa).

O LLoQ foi determinado através do teste de painéis de acordo com o 3º Padrão Internacional da OMS para o DNA do vírus da hepatite B (NIBSC 10/264, genótipo A) diluído em soro e plasma humano HBV negativo. Testaram-se quarenta e cinco (45) réplicas de cada diluição com cada um dos três lotes de reagentes, para um mínimo de 135 réplicas por diluição. Os resultados dos três lotes de reagentes são apresentados na Tabela 4 para o plasma e na Tabela 5 para o soro. Os resultados da concentração observada mais baixa que cumpriu o objetivo de exatidão ($\text{ET} \leq 1 \log_{10}$ UI/ml e $\text{ET} \leq 1 \log_{10}$ UI/ml) com uma detecção >95% e superior ou igual ao LoD são apresentados a sombreado em ambas as tabelas e são resumidos na Tabela 6.

O LLoQ calculado para o 3.º Padrão Internacional da OMS para o vírus da Hepatite B é de 6 UI/ml (0,79 log₁₀ UI/ml) no plasma e 8 UI/ml (0,88 log₁₀ UI/ml) no soro, valores baseados na concentração calculada mais alta entre os três lotes de reagentes de acordo com a norma CLSI EP17-A2. O LLoQ foi estabelecido em vários genótipos (consulte *Limite inferior de quantificação em vários genótipos do HBV*). Estes dados de genótipos estabelecem o LLoQ global para o ensaio como 10 UI/ml.

Tabela 4: Determinação do LLoQ utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HBV diluído em plasma

Lote de reagentes	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ UI/ml)	DP (Log ₁₀ UI/ml)	Desvio sistemático (Log ₁₀ UI/ml)	ET calculado (Log ₁₀ UI/ml)	EAT calculado (Log ₁₀ UI/ml)
1	3	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	3	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	5	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71
2	6	0,76	0,26	0,09	0,73	0,60
	5	0,69	0,22	0,21	0,63	0,65
	6	0,77	0,25	0,18	0,70	0,68
3	6	0,79	0,31	0,05	0,88	0,68
	8	0,88	0,23	0,02	0,66	0,48
	9	0,96	0,23	0,00	0,66	0,47

DP = desvio padrão.

Os membros do painel coincidentes com o objetivo de exatidão (ET ≤ 1 e EAT ≤ 1), >LoD e detecção >95% para os lotes de reagentes 1, 2 e 3 estão sombreados.

Tabela 5: Determinação do LLoQ utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HBV diluído em soro

Lote de reagentes	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ UI/ml)	DP (Log ₁₀ UI/ml)	Desvio sistemático (Log ₁₀ UI/ml)	ET calculado (Log ₁₀ UI/ml)	EAT calculado (Log ₁₀ UI/ml)
1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	5	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	5	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73
2	5	0,70	0,29	0,14	0,82	0,72
	5	0,72	0,27	0,18	0,77	0,72
	6	0,75	0,24	0,20	0,68	0,68
3	8	0,88	0,29	0,04	0,83	0,63
	10	0,98	0,23	0,08	0,66	0,55
	11	1,02	0,28	0,07	0,78	0,62

DP = desvio padrão.

Os membros do painel coincidentes com o objetivo de exatidão (ET ≤ 1 e EAT ≤ 1), >LoD e detecção >95% para os lotes de reagentes 1, 2 e 3 estão sombreados.

Tabela 6: Resumo do LLoQ calculado utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HBV

Lote de reagentes	LLoQ do plasma		LLoQ do soro	
	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
1	5	0,70	4	0,65
2	5	0,69	5	0,72
3	6	0,79	8	0,88

Limite inferior de quantificação em vários genótipos do HBV

O LLoQ foi determinado através do teste de diluições de amostras biológicas clínicas HBV positivas para os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H em plasma e soro humano HBV negativo. A atribuição da concentração das amostras biológicas clínicas foi determinada utilizando um ensaio de comparação. Testaram-se um total de 36 réplicas de cada membro do painel com cada um dos dois lotes de reagentes, para um mínimo de 72 réplicas por membro do painel. Os resultados para a concentração mais baixa observada que cumpriu o objetivo de precisão ($ET \leq 1 \log_{10}$ UI/ml e $EAT \leq 1 \log_{10}$ UI/ml) com detecção $>95\%$ para cada lote de reagente são mostrados na Tabela 7 para plasma e na Tabela 8 para soro. A concentração observada mais alta entre os lotes de reagentes para cada genótipo é resumida na Tabela 9. O genótipo D no soro apresentou o LLoQ mais elevado a 9 UI/ml ($0,96 \log_{10}$ UI/ml). Estes dados sustentaram o LLoQ global para o ensaio como sendo de 10 UI/ml.

Tabela 7: Determinação do LLoQ em vários genótipos do HBV no plasma

Genótipo do HBV	Lote de reagentes	Aptima HBV Quant ^a (UI/ml)	Aptima HBV Quant ^a (\log_{10} UI/ml)	DP (\log_{10} UI/ml)	Desvio sistemático (\log_{10} UI/ml)	ET calculado (\log_{10} UI/ml)	EAT calculado (\log_{10} UI/ml)
A	1	6	0,74	0,24	0,10	0,67	0,58
	2	7	0,85	0,20	0,00	0,57	0,40
B	1	4	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	2	6	0,75	0,25	0,10	0,70	0,59
C	1	4	0,61	0,21	0,35	0,60	0,77
	2	6	0,75	0,30	0,20	0,84	0,80
D	1	7	0,87	0,28	0,31	0,81	0,88
	2	8	0,91	0,30	0,26	0,86	0,87
E	1	8	0,88	0,32	0,29	0,89	0,92
	2	7	0,82	0,21	0,36	0,60	0,78
F	1	6	0,76	0,27	0,08	0,76	0,62
	2	7	0,86	0,30	0,01	0,84	0,60
G	1	4	0,59	0,21	0,25	0,60	0,68
	2	4	0,65	0,23	0,19	0,64	0,64
H	1	6	0,78	0,28	0,39	0,80	0,96
	2	7	0,83	0,27	0,34	0,78	0,89

DP = desvio padrão.

^a Foram executados níveis adicionais, mas os dados não estão indicados na tabela.

Tabela 8: Determinação do LLoQ em vários genótipos do HBV no soro

Genótipo do HBV	Lote de reagentes	Aptima HBV Quant ^a (UI/ml)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ UI/ml)	DP (Log ₁₀ UI/ml)	Desvio sistemático (Log ₁₀ UI/ml)	ET calculado (Log ₁₀ UI/ml)	EAT calculado (Log ₁₀ UI/ml)
A	1	4	0,65	0,26	0,25	0,73	0,77
	2	6	0,81	0,26	0,04	0,74	0,56
B	1	5	0,70	0,19	0,26	0,54	0,64
	2	5	0,72	0,25	0,18	0,72	0,69
C	1	5	0,66	0,26	0,30	0,74	0,82
	2	6	0,81	0,26	0,10	0,74	0,62
D	1	7	0,84	0,27	0,42	0,75	0,95
	2	9	0,96	0,27	0,29	0,76	0,83
E	1	6	0,79	0,26	0,38	0,75	0,91
	2	8	0,89	0,28	0,29	0,79	0,84
F	1	6	0,76	0,23	0,08	0,66	0,55
	2	5	0,71	0,26	0,14	0,72	0,65
G	1	8	0,89	0,28	0,29	0,80	0,85
	2	5	0,66	0,24	0,29	0,67	0,77
H	1	6	0,74	0,24	0,43	0,67	0,90
	2	6	0,81	0,29	0,37	0,82	0,95

DP = desvio padrão.

^a Foram executados níveis adicionais, mas os dados não estão indicados na tabela.

Tabela 9: Resumo do LLoQ em vários genótipos no plasma e no soro

Genótipo	LLoQ do plasma		LLoQ do soro	
	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
A	7	0,85	6	0,81
B	6	0,75	5	0,72
C	6	0,75	6	0,81
D	8	0,91	9	0,96
E	8	0,88	8	0,89
F	7	0,86	6	0,76
G	4	0,65	8	0,89
H	7	0,83	6	0,81

Rastreabilidade ao 3.º Padrão Internacional da OMS

Durante o desenvolvimento e o fabrico do produto, foi utilizada uma série de padrões secundários com concentrações conhecidas para estabelecer a rastreabilidade ao padrão da OMS. As concentrações testadas para o padrão da OMS para HBV estavam entre 2,0 e 4,0 \log_{10} UI/ml, os padrões secundários variaram em concentração de 2,4 a 8,4 \log_{10} UI/ml. Os controlos e os calibradores do ensaio Aptima HBV Quant também foram testados, juntamente com os padrões secundários e o padrão da OMS. Todos os painéis tiveram resultados semelhantes e distribuíram-se de forma linear pelo intervalo linear, conforme apresentado na Figura 8.

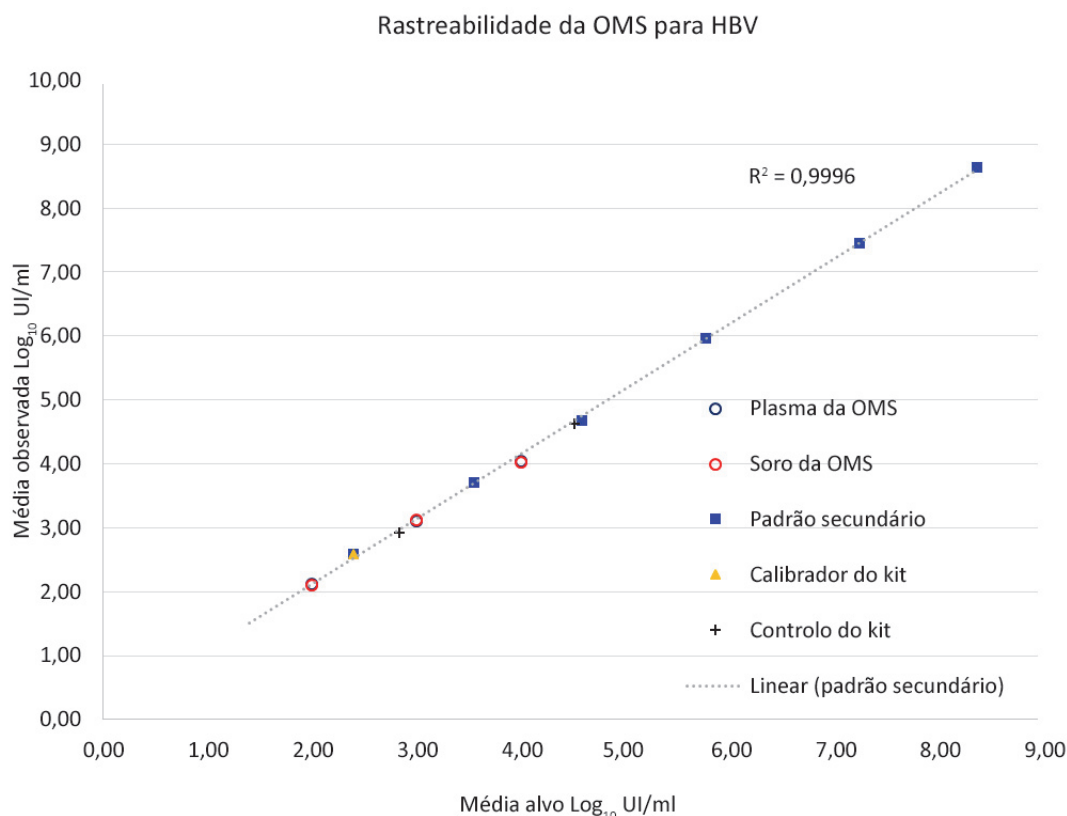


Figura 8. Rastreabilidade entre as concentrações-alvo do 3.º Padrão da OMS para HBV e a concentração observada do ensaio Aptima HBV Quant

Precisão

O painel de precisão do Aptima HBV Quant foi criado diluindo genótipo A do vírus HBV e DNA plasmídico do HBV em plasma clínico HBV negativo e soro clínico HBV negativo (os quatro membros do painel mais altos em cada matriz foram de DNA plasmídico). Onze membros do painel em cada matriz abrangeram o intervalo do ensaio (concentrações-alvo de 1,30 \log_{10} UI/ml a 8,90 \log_{10} UI/ml) e foram testados em três réplicas por execução por um operador, utilizando três lotes de reagentes num sistema Panther ao longo de três dias, duas execuções por dia.

A Tabela 10 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em \log_{10} UI/ml) entre dias, entre lotes, entre execuções, intraexecuções e globais. A variabilidade total ficou a dever-se principalmente à medição intraexecução (por exemplo, erro aleatório).

Tabela 10: Precisão do ensaio Aptima HBV Quant

Matriz	Amostra	N	Concen- tração média	Concen- tração média	Entre lotes	Entre lotes	Entre dias	Entre dias	Entre execu- ções	Entre execu- ções	Intra- execu- ção	Intra- execu- ção	Total	Total
			(UI/ml)	(log ₁₀ UI/ml)	DP	CV (%) log- normal	DP	CV (%) log- normal	DP	CV (%) log- normal	DP	CV (%) log- normal	DP	CV (%) log- normal
Plasma	Vírus	34 ^a	32	1,21	0,07	16,2	0,07	16,2	0,05	11,7	0,28	71,8	0,28	78,2
		54	97	1,95	0,05	11,7	0,03	6,8	0,02	5,7	0,15	36,8	0,17	39,9
		54	1.474	3,16	0	1,0	0,02	3,8	0,02	4,8	0,07	15,6	0,07	16,8
		54	10.602	4,02	0,02	4,8	0,02	3,6	0,01	2,4	0,06	14,9	0,07	16,2
		54	429.428	5,63	0,03	6,7	0,01	2,7	0,01	2,4	0,06	14,1	0,07	16,1
	DNA plasmídico	54	652.103	5,8	0,06	14,2	0,01	3,4	0,01	2,0	0,06	13,1	0,09	19,8
	Vírus	54	7.617.612	6,88	0,02	5,6	0,00	0,4	0,02	4,2	0,06	13,4	0,07	15,1
	DNA plasmídico	54	10.662.942	7,02	0,02	5,3	0,01	2,3	0,01	2,6	0,06	13,1	0,06	14,5
	Vírus	54	89.149.358	7,95	0,01	3,4	0,01	2,7	0,01	1,6	0,04	9,7	0,05	10,8
	DNA plasmídico	54	103.400.000	8,01	0,04	9,4	0,02	3,7	0,01	2,1	0,05	12,0	0,07	15,9
Soro	Vírus	54	612.200.000	8,78	0,03	7,6	0,01	1,9	0,01	1,5	0,04	9,0	0,05	12,0
		29 ^a	33	1,27	0,13	31,0	0,08	18,6	0,06	13,9	0,29	75,0	0,33	88,4
		54	88	1,92	0,05	11,2	0,02	4,8	0,02	5,5	0,12	29,1	0,14	32,3
		54	1.446	3,15	0,02	3,7	0,01	1,9	0,00	1,1	0,08	17,8	0,08	18,3
		54	7.873	3,89	0,02	4,8	0,01	2,6	0,01	2,1	0,06	13,4	0,06	14,6
	DNA plasmídico	54	313.518	5,49	0,01	3,3	0,01	3,0	0,01	3,2	0,08	17,4	0,08	18,3
	Vírus	54	599.225	5,77	0,04	8,5	0,01	2,5	0,01	2,5	0,06	14,7	0,08	17,4
	DNA plasmídico	54	7.011.440	6,84	0,02	3,5	0,01	3,2	0,01	3,3	0,07	16,9	0,08	17,9
	Vírus	54	8.845.332	6,94	0,05	11,9	0,01	2,2	0,01	2,2	0,05	12,2	0,07	17,4
	DNA plasmídico	54	70.350.774	7,84	0,03	6,3	0,02	3,5	0,02	4,4	0,06	14,4	0,07	16,7
DNA plasmídico	53 ^b	122.800.000	8,08	0,04	9,9	0,01	2,2	0,01	1,8	0,04	10,4	0,06	14,6	
	54	678.700.000	8,83	0,02	3,6	0,01	2,2	0,01	1,8	0,05	11,7	0,05	12,5	

DP = desvio padrão.

^a Réplicas detetadas com resultado quantificável, total de réplicas detetadas = 54.

^b Uma réplica teve um resultado inválido.

CV(%) log-normal = $\sqrt{10^{(DP^2 * \ln(10)) - 1}}} * 100$

Substâncias potencialmente interferentes

Foi avaliada a suscetibilidade do ensaio Aptima HBV Quant à interferência por níveis elevados de substâncias endógenas ou fármacos frequentemente receitados a indivíduos infectados pelo HBV. Foram testadas amostras de plasma HBV negativas e amostras aditivadas com HBV a concentrações de aproximadamente 30 UI/ml ($1,48 \log_{10}$ UI/ml) e 20.000 UI/ml ($4,30 \log_{10}$ UI/ml).

Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio na presença de albumina (90 mg/ml), hemoglobina (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml) ou bilirrubina não conjugada (0,2 mg/ml).

Foram testadas com o ensaio Aptima HBV Quant amostras biológicas de plasma clínicas de doentes com níveis elevados de substâncias definidas ou de pacientes com as doenças, dez amostras para cada substância, listadas na Tabela 11. Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio.

Tabela 11: Tipos de amostras biológicas clínicas testadas

Tipos de amostras biológicas clínicas	
1	Anticorpo antinuclear (ANA)
2	Fator reumatoide (FR)
3	Cirrose alcoólica (CA)
4	Hepatite alcoólica
5	Hepatite não alcoólica
6	Hepatite autoimune
7	Alanina aminotransferase (ALT) elevada
8	Carcinoma hepatocelular (CHC)
9	Esclerose múltipla (EM)
10	Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
11	Hiperglobulinemia
12	Artrite reumatoide (AR)
13	Anticorpos anti-Jo1 (JO-1)
14	Mieloma múltiplo (MM)
15	Hemolisada (hemoglobina elevada)
16	Ictérica (bilirrubina elevada)
17	Lipémica (lípidos elevados)
18	Proteínas elevadas

Não foi observada qualquer interferência no desempenho do ensaio na presença das substâncias exógenas indicadas na Tabela 12 em concentrações pelo menos três vezes a $C_{m\acute{a}x}$ (plasma humano).

Tabela 12: Substâncias exógenas

Grupo de substâncias exógenas	Substâncias exógenas testadas
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, mesilato de nelfinavir
2	Claritromicina, cloridrato de valganciclovir, efavirenz, nevirapina
3	Paroxetina HCl, enfuvirtida, zidovudina, didanosina, sulfato de abacavir
4	Ribavirina, entecavir, dipivoxilo de adefovir, fumarato disoproxílico de tenofovir, lamivudina, ganciclovir, aciclovir
5	Estavudina, ciprofloxacina, fluoxetina, azitromicina, valaciclovir, sertralina, zalcitabina
6	Interferão alfa-2a, interferão alfa-2b, interferão alfa-2b peguilado

Especificidade analítica

A potencial reatividade cruzada com os agentes patogénicos listados na Tabela 13 foi avaliada em plasma humano HBV negativo na presença ou ausência de 30 UI/ml ($1,5 \log_{10}$ UI/ml) e 20.000 ($4,3 \log_{10}$ UI/ml) de DNA do HBV. Não foi observada reatividade cruzada. Não foi observada interferência na presença de agentes patogénicos.

Tabela 13: Agentes patogénicos testados para a especificidade analítica

Microrganismo/agente patogénico	Concentração	Microrganismo/agente patogénico	Concentração
Adenovírus 5	100.000 TCID50/ml ^a	<i>Candida albicans</i>	1000000 UFC/ml ^e
Poliomavírus humano BK	1.000 TCID50/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1000000 UFI/ml ^f
Citomegalovírus	100.000 TCID50/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1000000 UFC/ml
Vírus da dengue 1	10.000 TCID50/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1000000 UFC/ml
Vírus da dengue 2	10.000 TCID50/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1000000 UFC/ml
Vírus da dengue 3	10.000 TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1000000 UFC/ml
Vírus da dengue 4	100.000 TCID50/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000000 UFC/ml
Vírus Epstein-Barr	100.000 cópias/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1000000 UFC/ml
Gripe H1N1	100.000 TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1000000 UFC/ml
Vírus da hepatite A	100.000 TCID50/ml	^a TCID50/ml = Unidades de dose infecciosa de cultura do tecido por ml	
Vírus da hepatite C	100.000 UI/ml ^b	^b UI/ml = Unidades internacionais por ml	
Vírus da hepatite G	100.000 cópias/ml	^c vp/ml = Partículas virais por ml	
Vírus herpes 6B humano	100.000 cópias/ml	^d LD50/ml = Dose letal por ml	
Vírus herpes 8 humano	100.000 cópias/ml	^e UFC/ml = Unidades formadoras de colónias por ml	
HIV-1	100.000 UI/ml	^f UFI/ml = Unidades formadoras de inclusão por ml	
HIV-2	10.000 TCID50/ml		
Vírus do papiloma humano	100.000 cópias/ml		
Vírus Herpes simples 1 (HSV-1)	100.000 TCID50/ml		
Vírus Herpes simples 2 (HSV-2)	100.000 TCID50/ml		
Vírus linfotrópico de células T humanas 1 (HTLV-1)	100.000 vp/ml ^c		
Vírus linfotrópico de células T humanas 2 (HTLV-2)	100.000 vp/ml		
Vírus da encefalite Japonês	N/A		
Vírus da encefalite Murray Valley	2.000 LD50/ml ^d		
Parvovírus B19	100.000 UI/ml		
Vírus da rubéola	10.000 TCID50/ml		
Vírus da encefalite de St. Louis	100.000 TCID50/ml		
Vírus Vaccinia	1.000 TCID50/ml		
Vírus do Nilo Ocidental	100.000 TCID50/ml		
Vírus da febre amarela	100.000 TCID50/ml		

Equivalência de matriz

Foram avaliados cento e dezoito conjuntos de amostras de tubos de colheita de sangue correspondentes (tubo de soro, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) relativamente à equivalência de matriz. Destes, 44 conjuntos eram HBV positivos infectados naturalmente e 74 conjuntos eram HBV negativos aditivados com HBV. A correlação para cada tipo de tubo de colheita de sangue, conforme medida utilizando o tubo de colheita de soro como comparador, é mostrada na Tabela 14.

Tabela 14: Estudo de equivalência de matriz

Tubo de colheita Tubo	Regressão de Deming	IC de 95% da inclinação		IC de 95% da interceção		R ²	Diferença média (Log ₁₀)
		Limite inferior	Limite superior	Limite inferior	Limite superior		
ACD	$y = 1,01x - 0,04$	1,00	1,02	-0,10	0,01	0,998	-0,01
K2 EDTA	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,20	-0,07	0,997	-0,07
K3 EDTA	$y = 1,01x - 0,12$	1,00	1,03	-0,18	-0,06	0,997	-0,06
PPT	$y = 1,02x - 0,14$	1,00	1,03	-0,21	-0,07	0,996	-0,06
SST	$y = 1,00x - 0,03$	0,99	1,01	-0,07	0,03	0,999	-0,01

IC = intervalo de confiança.

Diluição de amostras utilizando diluente de amostras biológicas Aptima (1:3)

Para avaliar a exatidão da detecção de DNA do HBV em amostras diluídas com diluente de amostras biológicas Aptima, amostras que abrangiam o intervalo linear foram diluídas na proporção de 1:3 com o diluente de amostras biológicas Aptima (como, por exemplo, 240 µl de amostra combinados com 480 µl de diluente de amostras biológicas Aptima). Cada amostra foi testada não diluída e diluída (1:3) em triplicado. Os testes foram realizados utilizando um lote de reagentes do ensaio em dois sistemas Panther com dois lotes de diluente de amostras biológicas Aptima. As diferenças entre a concentração média apresentada em matriz nativa (fator de diluição aplicado ao resultado da amostra diluída) e a concentração média em diluente de amostras biológicas Aptima são mostradas na Tabela 15 para o plasma e na Tabela 16 para o soro. As concentrações da amostra foram recuperadas com precisão nas amostras diluídas.

Tabela 15: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:3 de amostras biológicas de plasma

Matriz de plasma Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 9	Diluyente Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 18	Diferença Diluyente da matriz de plasma (Log ₁₀ UI/ml)
1,20 ^a	1,11 ^b	-0,09
1,56 ^a	1,36 ^b	-0,20
2,15	2,04	-0,11
3,10	2,97	-0,13
3,92	3,89	-0,03
4,82	4,79	-0,03
5,70	5,70	0,00
7,07	6,98	-0,09
7,74	7,60	-0,14
8,74	8,62	-0,12
9,29	9,19	-0,10
9,39	9,29	-0,10

^a n=21.

^b n=42.

Tabela 16: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:3 de amostras biológicas de soro

Matriz de soro Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 9	Diluyente Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 18	Diferença Diluyente da matriz de soro (Log ₁₀ UI/ml)
1,21 ^a	1,11 ^b	-0,10
1,54 ^a	1,36 ^b	-0,18
2,21	2,03	-0,18
3,06	2,98	-0,08
3,90	3,83	-0,07
4,77	4,76	-0,01
5,77	5,74	-0,03
7,03	7,00	-0,03
7,85	7,71	-0,14
8,87	8,76	-0,11
9,37	9,30	-0,07
9,46	9,36	-0,10

^a n=21.

^b n=42.

Diluição de amostras utilizando diluyente de amostras biológicas Aptima (1:100)

Para avaliar a exatidão da detecção de DNA do HBV em amostras diluídas com diluyente de amostras biológicas Aptima, plasma ou soro, foram testados em 5 réplicas oito amostras biológicas de plasma individuais e oito amostras biológicas de soro individuais aditivadas com HBV tendo como alvo entre 6 e 8 log₁₀ UI/ml, juntamente com oito amostras biológicas de plasma individuais e oito amostras biológicas de soro individuais aditivadas com DNA plasmídico do HBV tendo como alvo 9,16 log₁₀ UI/ml. Foi realizada uma diluição na proporção de 1:100 com uma parte de amostra e 99 partes de diluyente de amostras biológicas Aptima imediatamente antes dos testes. Os testes foram realizados utilizando um lote de reagentes do ensaio em dois sistemas Panther com dois lotes de diluyente de

amostras biológicas Aptima. A diferença entre a concentração média apresentada em matriz nativa (fator de diluição aplicado ao resultado da amostra diluída) e a concentração média em diluente de amostras biológicas Aptima foram calculadas para cada conjunto de amostras como mostrado na Tabela 17 para o plasma e na Tabela 18 para o soro.

Tabela 17: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:100 de amostras biológicas de plasma

Matriz de plasma Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 5	Diluyente Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 10	Diferença Diluyente da matriz de plasma (Log ₁₀ UI/ml)
7,86	7,85	-0,01
7,84	7,83	-0,01
7,78	7,75	-0,03
7,80	7,80	0,00
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,52	-0,06
6,58	6,53	-0,05
6,58	6,53	-0,05
9,24 ^a	9,05 ^a	-0,19
9,21 ^a	9,05 ^a	-0,16
9,25 ^a	9,03 ^a	-0,22
9,27 ^a	9,04 ^a	-0,23
9,13 ^a	8,82 ^a	-0,31
9,12 ^a	8,81 ^a	-0,31
9,09 ^a	8,84 ^a	-0,25
9,05 ^a	8,84 ^a	-0,21

^a Aditivado utilizando DNA plasmídico

Tabela 18: Resumo da comparação de matrizes de diluição na proporção de 1:100 de amostras biológicas de soro

Matriz de soro Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 5	Diluyente Concentração média apresentada (Log ₁₀ UI/ml) n = 10	Diferença Diluyente da matriz de soro (Log ₁₀ UI/ml)
7,70	7,85	0,15
7,84	7,85	0,01
7,79	7,82	0,03
7,75	7,79	0,04
6,77	6,77	0,00
6,75	6,80	0,05
6,75	6,71	-0,04
6,70	6,73	0,03
9,27 ^a	9,08 ^a	-0,19
9,24 ^a	9,06 ^a	-0,18
9,29 ^a	9,08 ^a	-0,21
9,31 ^a	9,11 ^a	-0,20
9,14 ^a	8,91 ^a	-0,23
9,18 ^a	8,92 ^a	-0,26
9,19 ^a	8,90 ^a	-0,29
9,08 ^a	8,84 ^a	-0,24

^a Aditivado utilizando DNA plasmídico

Confirmação do LLoQ em amostras biológicas diluídas em diluente de amostras biológicas Aptima

O LLoQ do ensaio Aptima HBV Quant foi confirmado com amostras biológicas clínicas do genótipo A do HBV diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima. As amostras biológicas foram preparadas em soro e plasma humano HBV negativo a 21, 30 e 45 UI/ml. Cada painel foi diluído na proporção de 1:3 em diluente de amostras biológicas Aptima antes dos testes de forma a obter concentrações finais de aproximadamente 7, 10 e 15 UI/ml. Foi testado um total 36 réplicas de cada membro do painel com um lote de reagente em três dias. Foi confirmado um LLoQ ≤ 10 UI/ml para soro e plasma HBV diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima como mostra a Tabela 19.

Tabela 19: Confirmação do LLoQ - amostras em diluente de amostras biológicas Aptima

Matriz	% de detecção	Aptima HBV Quant (UI/ml)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ UI/ml)	DP (Log ₁₀ UI/ml)	Desvio sistemático (Log ₁₀ UI/ml)	ET calculado (Log ₁₀ UI/ml)	EAT calculado (Log ₁₀ UI/ml)
Plasma	100%	3	0,50	0,19	0,10	0,54	0,48
Soro	100%	2	0,38	0,12	0,46	0,33	0,70

Precisão das amostras diluídas

O painel de precisão do Aptima HBV Quant foi criado diluindo plasma HBV positivo e DNA plasmídico do HBV em soro e plasma clínico HBV negativo. Os painéis positivos foram diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima. Estes foram testados em cinco réplicas por execução por um operador, utilizando três lotes de diluente de amostras biológicas Aptima num sistema Panther ao longo de três dias, duas execuções por dia.

A Tabela 20 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em DP log₁₀ UI/ml) para três lotes de diluente de amostras biológicas Aptima. A variabilidade total foi de $\leq 0,15$ DP em todos os membros do painel e lotes de diluente.

Tabela 20: Precisão dos painéis diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima

Matriz	Concentração-alvo (Log ₁₀ UI/ml)	Diluição	Lote 1 de diluente de amostras biológicas (n=10)		Lote 2 de diluente de amostras biológicas (n=10)		Lote 3 de diluente de amostras biológicas (n=10)		Lotes combinados (n=30)	
			Log ₁₀ UI/ml médio	DP	Log ₁₀ UI/ml médio	DP	Log ₁₀ UI/ml médio	DP	Log ₁₀ UI/ml médio	DP
Plasma	3,30	Sem diluição	3,46	0,07	3,43	0,08	3,46	0,06	3,45	0,07
		1:3	3,36	0,09	3,35	0,07	3,39	0,09	3,37	0,08
	4,30	Sem diluição	4,33	0,06	4,27	0,03	4,41	0,05	4,34	0,08
		1:3	4,34	0,05	4,35	0,05	4,38	0,10	4,35	0,07
	9,18	Sem diluição	9,13	0,05	9,10	0,03	9,26 ^a	0,15	9,16 ^a	0,11
		1:100	9,18	0,03	9,14	0,04	9,33	0,10	9,21	0,10
Soro	3,30	Sem diluição	3,52	0,05	3,48	0,06	3,50	0,07	3,50	0,06
		1:3	3,45	0,08	3,40	0,06	3,39	0,08	3,41	0,07
	4,30	Sem diluição	4,35	0,05	4,37	0,06	4,43	0,06	4,38	0,06
		1:3	4,35	0,05	4,37	0,05	4,41	0,04	4,37	0,05
	9,18	Sem diluição	9,08	0,03	9,14	0,05	9,31 ^b	0,12	9,17 ^b	0,12
		1:100	9,18	0,02	9,14	0,03	9,33	0,09	9,22	0,10

DP = desvio padrão.

^a 1 réplica excluída (acima do intervalo calculável).

^b 2 réplicas excluídas (acima do intervalo calculável).

Contaminação por transferência

Para estabelecer se o sistema Panther minimiza o risco de resultados positivos falsos decorrentes de contaminação por transferência, foi realizado um estudo utilizando painéis com vírus adicionado em três sistemas Panther. A contaminação por transferência foi avaliada utilizando amostras de plasma com adição de DNA do HBV de titulação elevada ($8 \log_{10}$ UI/ml) dispersas entre amostras HBV negativas num padrão em tabuleiro de damas. Os testes foram realizados ao longo de quinze execuções. A taxa geral de contaminação por transferência foi de 0,14% (1/705).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada no sistema Panther em três locais externos nos EUA. Dois operadores realizaram os testes em cada centro. Cada operador realizou duas execuções por dia durante três dias, utilizando três lotes de reagentes durante os testes. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel. No geral, foram testadas 108 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada utilizando membros do painel preparados utilizando plasma HBV negativo. Os membros do painel positivo eram positivos para os genótipos A ou C do HBV. As concentrações de DNA do HBV abrangiam o intervalo linear do ensaio.

A Tabela 21 mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados do ensaio para cada membro do painel positivo entre centros, entre operadores/dias, entre lotes, entre execuções, intraexecuções e globais.

O coeficiente de variação foi calculado utilizando a equação seguinte em que σ^2 é a variação da amostra dos dados após a transformação \log_{10} .

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma^2 \ln(10)} - 1)}$$

Para todos os membros do painel HBV positivos, os valores de concordância foram de 100%.

Tabela 21: Reprodutibilidade dos níveis de DNA do HBV do ensaio Aptima HBV Quant no sistema Panther nos membros do painel positivo

Contribuição percentual para a variação total DP (%CV)									
Média observada									
GT	N	UI/ml	Log ₁₀ UI/ml	Entre centros	Entre operadores/ dias ^a	Entre lotes	Entre execuções	Intra- execuções	DP de variação total (%CV)
A	108	17,6	1,2	0,059 (13,578)	<0,001 (<0,001)	0,138 (32,693)	0,090 (20,869)	0,178 (42,883)	0,250 (62,666)
	108	129,4	2,1	0,009 (2,162)	0 (0)	0,074 (17,109)	0,051 (11,869)	0,106 (24,736)	0,139 (32,886)
	107	1056,0	3,0	0,035 (7,994)	0,032 (7,432)	0,014 (3,246)	0,032 (7,356)	0,085 (19,666)	0,103 (24,060)
	108	7663,0	3,9	0 (0)	0,027 (6,262)	0,040 (9,235)	0,044 (10,088)	0,066 (15,194)	0,092 (21,540)
	108	188172,1	5,3	0,027 (6,281)	0,042 (9,707)	0,042 (9,787)	0,030 (6,829)	0,072 (16,689)	0,102 (23,772)
	108	9389094,1	7,0	0,038 (8,846)	0 (0)	0,031 (7,237)	0,064 (14,791)	0,068 (15,756)	0,106 (24,692)
	107	86664677,2	7,9	0,038 (8,692)	0,029 (6,753)	0,020 (4,584)	0,037 (8,635)	0,049 (11,375)	0,081 (18,725)
	107	753726183,2	8,9	0,024 (5,476)	0,052 (11,997)	0,015 (3,499)	0,045 (10,304)	0,053 (12,187)	0,091 (21,163)
C	107	17,0	1,2	0,041 (9,521)	0,041 (9,392)	0,074 (17,147)	0,092 (21,438)	0,189 (45,704)	0,230 (57,010)
	108	152,9	2,2	0,035 (8,127)	0 (0)	0,055 (12,706)	0,064 (14,925)	0,131 (30,748)	0,160 (38,013)
	108	1363,8	3,1	0,042 (9,583)	0,023 (5,316)	0 (0)	0,061 (14,033)	0,055 (12,623)	0,094 (22,002)
	108	9871,9	4,0	0,011 (2,472)	0,014 (3,270)	0,040 (9,337)	0,038 (8,801)	0,059 (13,651)	0,083 (19,291)
	108	217400,5	5,3	0,031 (7,255)	0,047 (10,843)	0,016 (3,791)	0,026 (6,023)	0,063 (14,685)	0,090 (21,044)
	108	12087179,5	7,1	0,046 (10,543)	0 (0)	0,020 (4,652)	0,064 (14,762)	0,073 (16,922)	0,109 (25,501)
	108	57743712,8	7,8	0,044 (10,232)	0,028 (6,472)	0,013 (2,944)	0,043 (10,026)	0,052 (12,010)	0,087 (20,146)
	108	572184754,9	8,7	0,042 (9,711)	0,048 (11,160)	0,028 (6,374)	0,034 (7,740)	0,048 (11,081)	0,091 (21,208)

%CV = coeficiente de variação log-normal, GT = genótipo, DP = desvio padrão

Nota: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa. Tal ocorreu quando a variabilidade devido a esses fatores foi muito pequena. Nesses casos, o DP e o CV são mostrados como 0.

^a Entre operadores pode ser confundido com Entre dias; assim, as estimativas Entre operadores e Entre dias são combinadas em Entre operadores/dias.

Desempenho clínico

Correlação de métodos

O desempenho do ensaio Aptima HBV Quant foi avaliado em relação a um ensaio comparador com marcação CE e licenciado pela Health Canada testando amostras biológicas clínicas não diluídas de doentes infetados com HBV. Para a regressão linear, foi utilizado um total de 614 amostras biológicas clínicas dentro do intervalo linear comum a ambos os ensaios, tal como mostrado na Figura 9.

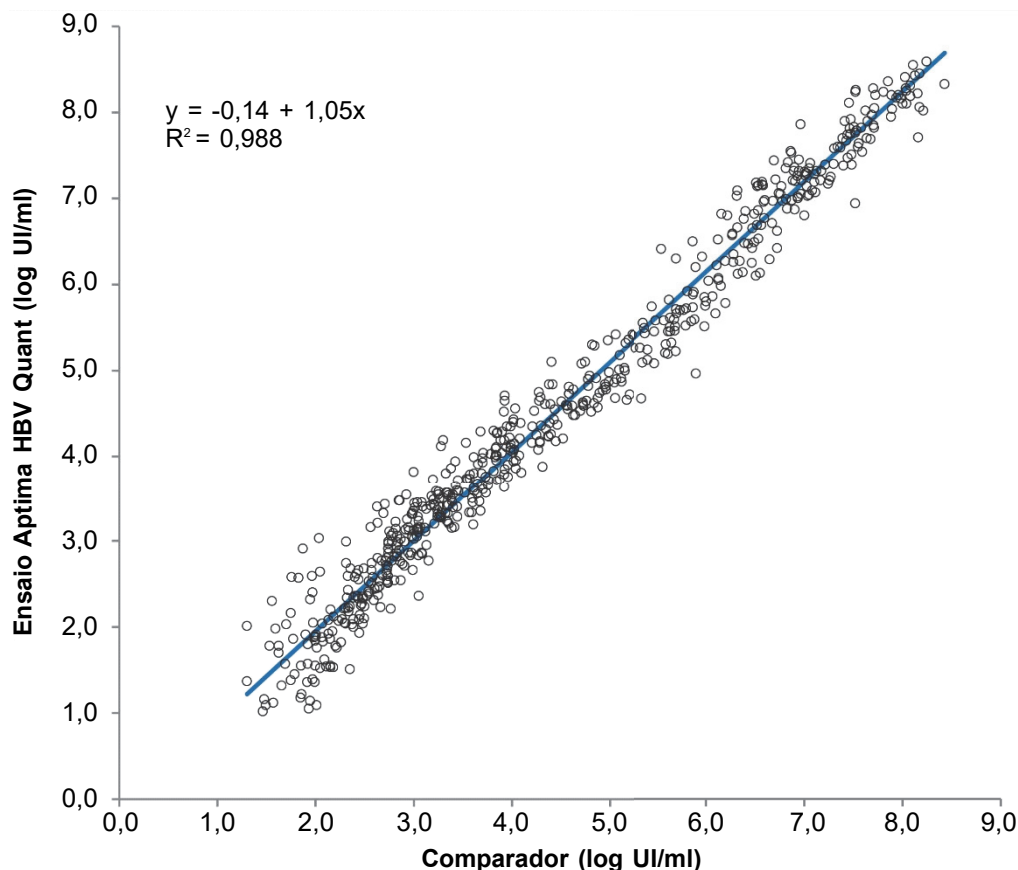


Figura 9. Correlação entre o ensaio Aptima HBV Quant e o ensaio de comparação

Utilidade clínica

O estudo foi desenhado para avaliar a capacidade do ensaio Aptima HBV Quant para prever "endpoints" virológicos, bioquímicos e serológicos de utilidade clínica 48 semanas após o início da terapia. As amostras biológicas foram colhidas prospetivamente de doentes com infeção crónica por HBV que estavam a iniciar a monoterapia com entecavir ou tenofovir como parte do seu tratamento de cuidados padrão.

Dos 331 doentes registados, 86 não foram avaliáveis devido a retirada, descontinuação, paragem precoce do tratamento, resultados da semana 48 em falta ou cargas virais de DNA do HBV na linha basal inexistentes ou baixas. Os 245 doentes restantes foram avaliáveis relativamente a, pelo menos, um dos "endpoints" de utilidade clínica e incluíam 126 doentes HBeAg(+) e 119 doentes HBeAg(-). A Tabela 22 mostra as características demográficas e clínicas na linha de base dos doentes avaliáveis. A distribuição demográfica dos doentes neste estudo foi consistente com a dos doentes com HBV crónico nos EUA.¹³ Os dados dos doentes HBeAg(+) e HBeAg(-) foram analisados separadamente.

Tabela 22: Características demográficas e clínicas na linha de base dos doentes avaliáveis

Características	Total	
Total, N	N	245
Entecavir	n (%)	94 (38,4)
Tenofovir	n (%)	151 (61,6)
Sexo, n (%)	Masculino	154 (62,9)
	Feminino	91 (37,1)
Idade (anos)	Média ± DP	43,5 ± 13,63
	Mediana	44,0
	Intervalo	18 – 83
Faixa etária (anos), n (%)	18 – 29	40 (16,3)
	30 – 49, n (%)	120 (49,0)
	50 – 70, n (%)	80 (32,7)
	>70, n (%)	5 (2,0)
Etnia, n (%)	Hispânica ou latina	7 (2,9)
	Não hispânica ou latina	236 (96,3)
	Desconhecido/Recusado	2 (0,8)
Raça ^a , n (%)	Caucasiano	89 (36,3)
	Negro ou afro-americano	16 (6,5)
	Asiático	132 (53,9)
	Americano nativo/nativo do Alasca	0 (0,0)
	Nativo do Havai/das ilhas do Pacífico	6 (2,4)
	Outro	1 (0,4)
	Desconhecido/Recusado	1 (0,4)
Genótipo, n (%)	A	28 (11,4)
	B	64 (26,1)
	C	36 (14,7)
	D	47 (19,2)
	E	2 (0,8)
	F	0 (0,0)
	G	0 (0,0)
	H	3 (1,2)
	Desconhecida	65 (26,5)
Estado de tratamento do HBV, n (%)	Com experiência de tratamento	27 (11,0)
	Sem tratamento prévio	218 (89,0)
Tratamento medicamentoso anterior, n (%)	Tenofovir	5 (18,5)
	Entecavir	4 (14,8)
	Adefovir	2 (7,4)
	Lamivudina	1 (3,7)
	Telbivudina	0 (0,0)
	Interferão	10 (37,0)
	Outros ^b	5 (18,5)
Resultado do tratamento anterior, n (%)	Falha	1 (3,7)
	Sucesso	0 (0,0)
	Descontinuou por outras razões	26 (96,3)
Estado serológico HBsAg, n (%)	Positivo/reactivo	210 (85,7)
	Não realizado	35 (14,3)

Tabela 22: Características demográficas e clínicas na linha de base dos doentes avaliáveis (continuação)

Características	Total
Estado cirrótico, n (%)	Cirrótico
	26 (10,6)
	Não cirrótico
Carga viral do HBV (log ₁₀ UI/ml)	201 (82,0)
	Não realizado
	18 (7,3)
ALT (U/l)	Média ± DP
	6,3 ± 1,93
	Mediana
ALT (U/l)	6,4
	Intervalo
	3 – 9
ALT (U/l)	Média ± DP
	102,4 ± 175,97
	Número acima do LSN ^c
	177 (85,9)

^a Os doentes podem declarar várias raças.

^b Várias combinações dos medicamentos específicos indicados.

^c O intervalo do limite superior do normal (LSN) para alanina aminotransferase (ALT) era de 30 U/l para indivíduos do sexo masculino e 19 U/l para indivíduos do sexo feminino.

Previsão da resposta à terapêutica antiviral

A utilidade clínica do ensaio Aptima HBV Quant foi avaliada em indivíduos tratados com tenofovir e entecavir. Não estão disponíveis informações sobre a utilidade clínica do ensaio quando são utilizadas outras terapêuticas antivirais HBV.

Definições:

Resultados de resposta virológica precoce

Resposta virológica na semana 12 e na semana 24 = DNA do HBV <10 UI/ml (<LLOQ) conforme avaliado pelo ensaio Aptima HBV Quant no sistema Panther

Resposta virológica alternativa na semana 12 = Diminuição de DNA do HBV ≥2 log₁₀ desde a linha de base

Resposta virológica alternativa na semana 24 = DNA do HBV <2000 UI/ml (para HBeAg+) ou <50 UI/ml (para HBeAg-)

"Endpoints" de utilidade clínica

Resposta virológica na semana 48 = DNA do HBV <10 UI/ml (<LLOQ) conforme avaliado por um ensaio quantitativo do HBV aprovado

Resposta virológica alternativa na semana 48 = DNA do HBV <50 UI/ml conforme avaliado por um ensaio quantitativo do HBV aprovado

Resposta bioquímica = Normalização dos resultados de teste de ALT na semana 48 (ALT <30 U/l para indivíduos do sexo masculino e <19 U/l para indivíduos do sexo feminino)

Resposta serológica = Perda de HBeAg (resultados HBeAg negativo) na semana 48

Medições de associação e valor preditivo

Valor preditivo positivo (VPP) = Positivo verdadeiro / (Positivo verdadeiro + Positivo falso) ou a probabilidade de resposta na semana 48 (para o "endpoint" de utilidade clínica em avaliação) em doentes com resposta virológica no ponto temporal precoce

Valor preditivo negativo (VPN) = Negativo verdadeiro / (Negativo falso + Negativo verdadeiro) ou a probabilidade de não resposta na semana 48 (para o "endpoint" de utilidade clínica em avaliação) em doentes sem resposta virológica no ponto temporal precoce

Relação de probabilidade (Odds Ratio, OR) = (Positivo verdadeiro × Negativo verdadeiro) / (Negativo falso × Negativo falso)

Prever a resposta virológica na semana 48, definida como DNA do HBV <10 UI/ml

Neste estudo, a definição primária de resposta virológica era DNA do HBV <10 UI/ml, e esta definição foi utilizada para a resposta virológica precoce nas semanas 12 e 24, bem como para a resposta virológica na semana 48. Foi avaliada a associação entre as respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 e os "endpoints" de utilidade clínica da semana 48 (resposta virológica, resposta bioquímica, resposta serológica).

Prever a resposta virológica na semana 48

As associações entre a resposta virológica na semana 48 e a resposta virológica na semana 12 e na semana 24 estão resumidas na Tabela 23.

As respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como indicadores da resposta virológica na semana 48 variaram por semana e tratamento.

Tabela 23: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta virológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	0,0 (0,0, 93,2)	0/1	82,5 (80,0, 88,4)	33/40	1,49 (<0,01, 30,95)
		Tenofovir	100 (27,3, 100)	2/2	74,4 (72,6, 78,7)	61/82	14,30 (1,11, >999,99)
		Todos	66,7 (15,4, 98,2)	2/3	77,0 (75,7, 79,9)	94/122	6,71 (0,62, 147,55)
	24	Entecavir	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofovir	75,0 (52,7, 92,3)	12/16	84,1 (78,5, 90,0)	58/69	15,81 (4,62, 65,54)
		Todos	70,0 (50,3, 88,1)	14/20	85,4 (81,3, 90,1)	88/103	13,69 (4,74, 44,16)
HBeAg(-)	12	Entecavir	94,1 (87,1, 99,0)	32/34	22,2 (7,6, 36,0)	4/18	4,57 (0,80, 35,85)
		Tenofovir	83,3 (70,5, 93,2)	25/30	46,9 (35,0, 58,9)	15/32	4,41 (1,42, 15,71)
		Todos	89,1 (82,1, 94,7)	57/64	38,0 (29,0, 47,1)	19/50	4,99 (1,96, 14,00)
	24	Entecavir	93,0 (88,0, 98,1)	40/43	37,5 (6,4, 67,2)	3/8	8,00 (1,21, 55,54)
		Tenofovir	82,6 (74,3, 90,4)	38/46	75,0 (54,1, 92,0)	12/16	14,25 (3,92, 62,71)
		Todos	87,6 (82,7, 92,6)	78/89	62,5 (44,8, 78,0)	15/24	11,82 (4,30, 34,94)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil

^a O sombreado indica o significado estatístico das relações de probabilidade.

^b Para o cálculo das relações de probabilidade e respectivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero.

Prever a resposta bioquímica na semana 48

As associações entre a resposta bioquímica na semana 48 e a resposta virológica na semana 12 e na semana 24 estão resumidas na Tabela 24.

O valor das respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como indicador da resposta bioquímica na semana 48 variou por semana e tratamento.

Tabela 24: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta bioquímica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	NC (NC)	0/0	67,9 (63,4-76,1)	19/28	2,05 (0,01-393,52)
		Tenofovir	100 (27,6, 100)	2/2	58,5 (55,1, 63,9)	31/53	7,00 (0,54, 983,90)
		Todos	100 (27,3, 100)	2/2	61,7 (59,7, 65,5)	50/81	8,02 (0,63, >999,99)
	24	Entecavir	66,7 (16,4-98,2)	2/3	68,2 (60,1-80,0)	15/22	4,29 (0,35-101,82)
		Tenofovir	58,3 (33,2, 81,0)	7/12	61,4 (54,3, 69,7)	27/44	2,22 (0,61, 8,61)
		Todos	60,0 (36,6, 80,9)	9/15	63,6 (58,2, 70,0)	42/66	2,62 (0,84, 8,70)
HBeAg(-)	12	Entecavir	43,8 (25,1, 61,2)	7/16	50,0 (25,1, 74,9)	6/12	0,78 (0,17, 3,53)
		Tenofovir	52,9 (35,1, 72,2)	9/17	76,2 (61,2, 89,8)	16/21	3,60 (0,93, 15,39)
		Todos	48,5 (36,0, 60,9)	16/33	66,7 (54,5, 78,6)	22/33	1,88 (0,70, 5,20)
	24	Entecavir	45,8 (36,0, 56,0)	11/24	75,0 (25,2, 98,7)	3/4	2,54 (0,28, 55,45)
		Tenofovir	42,9 (32,8, 53,1)	12/28	80,0 (53,0, 97,1)	8/10	3,00 (0,61, 22,34)
		Todos	44,2 (37,8, 50,8)	23/52	78,6 (55,1, 95,0)	11/14	2,91 (0,80, 13,98)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil, NC = não calculável

^a Para o cálculo das relações de probabilidade e respetivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero.

Prever a resposta serológica na semana 48

As associações entre a resposta serológica na semana 48 e a resposta virológica na semana 12 e na semana 24 estão resumidas na Tabela 25.

O valor das respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como indicador da resposta serológica na semana 48 variou por semana e tratamento.

Tabela 25: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta serológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	100 (6,5, 100)	1/1	86,8 (84,2, 93,9)	33/38	18,27 (0,86, >999,99)
		Tenofovir	0,0 (0,0, 72,0)	0/2	82,9 (81,7, 86,0)	68/82	0,95 (<0,01, 12,45)
		Todos	33,3 (1,8, 84,3)	1/3	84,2 (83,1, 86,8)	101/120	2,66 (0,12, 29,11)
	24	Entecavir	50,0 (6,4, 93,2)	2/4	88,2 (83,5, 95,4)	30/34	7,50 (0,74, 79,76)
		Tenofovir	18,8 (3,1, 39,1)	3/16	84,1 (80,6, 89,1)	58/69	1,22 (0,25, 4,59)
		Todos	25,0 (8,5, 43,6)	5/20	85,4 (82,5, 89,4)	88/103	1,96 (0,57, 5,94)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil

^a Para o cálculo das relações de probabilidade e respetivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero.

Prever a resposta virológica na semana 48, definida como DNA do HBV <50 UI/ml (definição alternativa)

As definições alternativas das respostas virológicas precoces (semanas 12 e 24) e da semana 48 também foram avaliadas (consulte as definições de resposta alternativa acima).

As associações entre os "endpoints" de utilidade clínica e a resposta virológica na semana 12 e na semana 24, utilizando estas definições alternativas de resposta virológica, são resumidas na Tabela 26 (resposta virológica), na Tabela 27 (resposta bioquímica) e na Tabela 28 (resposta serológica).

Tabela 26: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta virológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	34,2 (26,9, 39,2)	13/38	66,7 (16,1, 98,2)	2/3	1,04 (0,09, 23,60)
		Tenofovir	55,1 (51,9, 59,4)	43/78	83,3 (43,5, 99,2)	5/6	6,14 (0,93, 120,54)
		Todos	48,3 (45,6, 51,3)	56/116	77,8 (45,3, 97,1)	7/9	3,27 (0,75, 22,54)
	24	Entecavir	65,0 (51,3, 81,2)	13/20	100 (86,3, 100)	18/18	66,59 (7,20, >999,99)
		Tenofovir	72,4 (64,7, 80,6)	42/58	88,9 (74,6, 97,2)	24/27	21,00 (6,28, 97,36)
		Todos	70,5 (63,5, 77,9)	55/78	93,3 (84,0, 98,3)	42/45	33,47 (10,81, 148,13)
HBeAg(-)	12	Entecavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofovir	93,0 (89,1, 97,5)	53/57	60,0 (21,3, 93,3)	3/5	19,87 (2,62, 191,49)
		Todos	96,3 (94,4, 98,7)	105/109	60,0 (21,1, 93,3)	3/5	39,37 (5,24, 376,77)
	24	Entecavir	100 (NC)	47/47	0,0 (NC)	0/4	NC
		Tenofovir	93,9 (88,6, 98,3)	46/49	30,8 (6,7, 52,4)	4/13	6,81 (1,30, 39,97)
		Todos	96,9 (93,8, 99,2)	93/96	23,5 (7,0, 39,8)	4/17	9,54 (1,91, 53,22)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil, NC = não calculável

^a O sombreado indica o significado estatístico das relações de probabilidade.

^b Para o cálculo das relações de probabilidade e respectivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero, exceto se não houvesse respostas na semana 48 ou nenhuma não resposta na semana 48, o que resultou na indicação da relação de probabilidade como NC.

Tabela 27: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta bioquímica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP		VPN		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	33,3 (25,1-39,0)	9/27	100 (6,7-100)	1/1	1,54 (0,07-233,77)
		Tenofovir	44,2 (39,6, 48,6)	23/52	66,7 (15,7, 98,2)	2/3	1,59 (0,14, 35,36)
		Todos	40,5 (37,1, 43,7)	32/79	75,0 (23,9, 98,7)	3/4	2,04 (0,25, 42,30)
	24	Entecavir	50,0 (31,2-69,5)	7/14	81,8 (58,9-97,1)	9/11	4,50 (0,79-37,15)
		Tenofovir	52,5 (44,0, 61,8)	21/40	81,3 (60,1-96,7)	13/16	4,79 (1,30, 23,28)
		Todos	51,9 (44,1, 60,2)	28/54	81,5 (66,4, 93,1)	22/27	4,74 (1,66, 15,82)
HBeAg(-)	12	Entecavir	46,4 (39,5, 52,6)	13/28	NC (NC)	0/0	0,87 (<0,01, 166,17)
		Tenofovir	40,0 (33,6, 46,3)	14/35	100 (41,4, 100)	3/3	4,72 (0,41, 653,11)
		Todos	42,9 (39,6, 46,7)	27/63	100 (41,2, 100)	3/3	5,27 (0,48, 720,38)
	24	Entecavir	44,0 (34,4, 52,7)	11/25	66,7 (16,3-98,2)	2/3	1,57 (0,13, 36,42)
		Tenofovir	41,4 (31,3, 51,1)	12/29	77,8 (48,6, 97,1)	7/9	2,47 (0,49, 18,57)
		Todos	42,6 (36,4, 48,9)	23/54	75,0 (48,8, 93,7)	9/12	2,23 (0,59, 10,87)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil

^a O sombreado indica o significado estatístico das relações de probabilidade.

^b Para o cálculo das relações de probabilidade e respectivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero.

Tabela 28: VPP, VPN e relação de probabilidade para a resposta serológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/ml

Estado HBeAg	Semana da resposta virológica precoce	Tratamento	VPP		VPN		OU
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	16,7 (10,4, 19,6)	6/36	100 (44,1, 100)	3/3	1,49 (0,12, 209,89)
		Tenofovir	16,7 (12,9, 18,6)	13/78	83,3 (44,2, 99,2)	5/6	1,00 (0,14, 19,98)
		Todos	16,7 (13,9, 18,1)	19/114	88,9 (58,8, 99,5)	8/9	1,60 (0,27, 30,56)
	24	Entecavir	30,0 (16,5, 41,6)	6/20	100 (86,3, 100)	18/18	16,59 (1,72, >999,99)
		Tenofovir	22,4 (16,9, 26,8)	13/58	96,3 (84,7, 99,9)	26/27	7,51 (1,37, 140,31)
		Todos	24,4 (20,0, 28,4)	19/78	97,8 (90,4, 99,9)	44/45	14,17 (2,77, 259,25)

IC = Intervalo de confiança de 95% de probabilidade do perfil

^a O sombreado indica o significado estatístico das relações de probabilidade.

^b Para o cálculo das relações de probabilidade e respectivos intervalos de confiança, foi adicionado 0,5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula era zero.

Conclusão

De um modo geral, os resultados demonstram que o ensaio Aptima HBV Quant consegue quantificar os níveis de DNA do HBV na linha basal e durante o tratamento para auxiliar na avaliação da resposta viral ao tratamento. Este estudo demonstrou que as respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como indicadores da resposta virológica na semana 48 variaram por semana e tratamento.

O ensaio Aptima HBV Quant pode ser utilizado como um auxiliar no controlo de doentes crónicos infetados por HBV que estão a seguir a terapia de medicamentos antivirais HBV.

Bibliografia

1. **World Health Organization.** Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2021. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Consultado em setembro de 2022.
2. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. *Lancet*. 2009;373(9663):582-592.
3. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology* 2012; 57:167-185.
4. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
5. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. *Topics in Antiviral Medicine* 2014; 21(5): 157-163.
6. **Terrault NA, Bzowej NH, Chang KM, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH; American Association for the Study of Liver Diseases.** AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2016 Jan;63(1):261-83.
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
8. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
9. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); versão atual.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. **Ghany MG, Perrillo R, Li R, et al.** Characteristics of adults in the Hepatitis B Research Network in North America reflect their country of origin and hepatitis B virus genotype. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2015;13(1):183-192. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.028>.

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Bélgica

Promotor australiano
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

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

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro onde o utilizador e/ou doente residem.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas comerciais registadas da Hologic, Inc. e/ou das respetivas subsidiárias nos EUA e/ou noutros países. Quaisquer outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo pertencem aos respetivos proprietários.

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

Este produto pode estar abrangido por uma ou mais das seguintes patentes nos EUA identificadas em www.hologic.com/patents.

© 2017-2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-28215-601 Rev. 003

2025-10

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-28215-601 Rev. 001	Julho de 2025	<ul style="list-style-type: none">Lançamento inicial das instruções de utilização do novo ensaio Aptima HBV AW-28215 Rev. 001 para conformidade regulamentar com IVDR e substituirá o AW-13182.
AW-28215-601 Rev. 002	Agosto de 2025	<ul style="list-style-type: none">Atualizações de marcas comerciais para cumprir os requisitos do BSI.
AW-28215-601 Rev. 003	Outubro de 2025	<ul style="list-style-type: none">Adição da opção de dispositivo de agitação de tubos por oscilação.Atualização da SDS.