

Suplemento de gota de sangue seca (DBS) para o Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Instruções de utilização
Para utilização em diagnóstico *in vitro*
Apenas para exportação pelos EUA

| | |
|--|-----------|
| Informações gerais | 2 |
| Introdução | 2 |
| Utilização prevista | 2 |
| Resumo e explicação do teste da amostra de DBS | 2 |
| Resumo de segurança e desempenho | 3 |
| Advertências e precauções | 3 |
| Colheita e armazenamento de espécimes de DBS | 5 |
| Amostras dentro do Panther System | 6 |
| Transporte de espécimes | 6 |
| Panther System | 7 |
| Materiais necessários mas disponíveis separadamente para o tipo de amostra de DBS | 7 |
| Procedimento de teste no Panther System | 8 |
| Notas sobre procedimentos de calibradores e controlos | 11 |
| Controlo de qualidade | 12 |
| Calibração do ensaio | 12 |
| Controlos negativo e positivo | 12 |
| Calibrador interno/controlo interno | 12 |
| Interpretação dos resultados de DBS | 13 |
| Limitações | 15 |
| Desempenho da DBS | 16 |
| Limite de deteção (LoD) utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HIV-1 | 16 |
| Intervalo linear | 17 |
| Precisão | 19 |
| Substâncias potencialmente interferentes | 19 |
| Especificidade | 19 |
| Especificidade analítica | 20 |
| Desempenho clínico | 20 |
| Concordância de diagnóstico no diagnóstico precoce em bebés | 20 |
| Correlação de métodos | 20 |
| Bibliografia | 24 |
| Informações de contacto e histórico de revisões | 25 |

Informações gerais

Introdução

Este folheto informativo é um suplemento ao folheto informativo do *Aptima® HIV-1 Quant Dx assay*. Este documento fornece explicações, advertências e precauções e instruções para a preparação e teste do tipo de amostra de gota de sangue seca (DBS) no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx para a monitorização da carga viral (VL, viral load) de HIV-1 e diagnóstico precoce em bebés (EID, early infant diagnosis). Para advertências e precauções gerais, bem como para a preparação dos reagentes no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, consulte o folheto informativo do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Utilização prevista

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* para deteção e quantificação dos grupos M, N e O de RNA do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) no sistema Panther® totalmente automatizado. É indicado para utilização como auxiliar no diagnóstico de infeção pelo HIV-1, como confirmação da infeção pelo HIV-1 e como auxiliar na gestão clínica de pacientes infetados pelo HIV-1.

Para além disso, o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de infeção aguda ou primária pelo HIV-1. A presença de RNA do HIV-1 no plasma, soro ou sangue de pacientes sem anticorpos para o HIV-1 é indicadora de infeção aguda ou primária pelo HIV-1. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode ser utilizado como teste suplementar em espécimes que apresentem resultados reativos repetidos em imunoenaios de HIV aprovados. Se o espécime for reativo no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, está confirmada a infeção pelo HIV-1.

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode também ser utilizado em conjunto com o quadro clínico e outros marcadores laboratoriais para o prognóstico da doença em indivíduos infetados pelo HIV-1. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode também ser utilizado como auxiliar no EID de infeção pelo HIV-1 em bebés com menos de 18 meses de idade, através da utilização de DBS. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode ser utilizado como auxiliar na monitorização do efeito do tratamento antirretroviral através da medição das alterações de concentração de RNA do HIV-1 no plasma e em amostras de DBS.

Quando um ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx é utilizado como auxiliar no diagnóstico de infeção pelo HIV-1, o desempenho dos resultados qualitativos é aferido através de espécimes de plasma e de soro, bem como de amostras de DBS de bebés com menos de 18 meses de idade. Quando utilizado como auxiliar na monitorização do efeito da terapêutica antirretroviral, o desempenho dos resultados quantitativos é aferido apenas através de espécimes de plasma e de DBS. Os espécimes de soro não podem ser utilizados para obter resultados quantitativos.

Este ensaio não é indicado para utilização no rastreio de dadores de sangue ou plasma.

Resumo e explicação do teste da amostra de DBS

Os espécimes de DBS podem ser utilizados para a monitorização da carga viral e para a deteção de falência virológica com um "cut-off" de 1000 cópias/mL (1). Os espécimes de DBS podem também ser utilizados como auxiliar no EID de infeção pelo HIV-1 em bebés com menos de 18 meses de idade (2).

Os bebês infetados pelo HIV têm um elevado risco de morte no primeiro ano de vida, pelo que a introdução atempada do tratamento antirretroviral (ART) reduz significativamente a morbidade e a mortalidade. Não é recomendada a realização de testes serológicos de HIV para o EID, uma vez que os anticorpos IgG maternos podem ser transferidos através da placenta e permanecer num bebé não infetado até aos 18 meses de idade, dando origem a potenciais resultados falso-positivos no teste de anticorpos para o HIV. Para diagnosticar a infeção pelo HIV-1 em crianças com menos de 18 meses de idade, são necessários ensaios que detetem componentes do vírus HIV-1, como o seu RNA ou o antigénio p24. A OMS recomenda a testagem virológica de bebês com menos de 18 meses de idade através de ensaios de testagem de DNA, RNA ou do antigénio p24 do HIV-1. A DBS é o tipo de amostra recomendada para o EID, quando se utilizam métodos de deteção de RNA do HIV (2,3).

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 HIV-1 Quant Dx, consulte o Identificador único do dispositivo básico (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB.

Advertências e precauções

- A. Para efeitos de diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia atentamente todo o folheto informativo e o *Panther/Panther Fusion® System Operator's Manual* (Manual de instruções do Panther/Panther Fusion® System) antes de executar este ensaio.

Relacionadas com os espécimes de DBS

- D. Os espécimes podem ser infecciosos. Utilize as precauções universais (4, 5, 6) quando executar este ensaio. Devem ser estabelecidos métodos de manuseamento e eliminação adequados de acordo com os regulamentos locais (6). Este procedimento só deve ser executado por pessoal devidamente qualificado na utilização do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e no manuseamento de materiais infecciosos.
- E. Mantenha as condições de conservação adequadas durante o transporte de espécimes, para garantir a integridade do espécime. A estabilidade do espécime noutras condições de transporte que não as recomendadas não foi avaliada.
- F. Evite a contaminação cruzada durante os passos de manuseamento de espécimes. Tenha especial cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis quando desapertar ou destapar espécimes e quando processar amostras de DBS. Os espécimes podem conter níveis de organismos extremamente elevados. Certifique-se de que os recipientes de espécimes 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 o espécime.
- G. Colha e manuseie o sangue venoso (EDTA) e o sangue de uma picada no dedo ou calcanhar para preparação da DBS, bem como dos cartões de DBS, de acordo com as diretrizes locais de prevenção de transmissão de agentes patogénicos transmitidos pelo sangue.
- H. Recomenda-se a preparação de pelo menos três gotas DBS em cada cartão de DBS.

- I. A preparação, secagem, armazenamento e manuseamento inadequados de DBS pode dar origem a resultados de teste inexatos.
- J. Certifique-se de que os cartões de DBS estão totalmente secos antes de os armazenar em sacos com fecho de correr com dessecante. As amostras de DBS que não tenham ficado suficientemente secas podem ser mais instáveis e originar resultados inexatos.
- K. Certifique-se de que os cartões de DBS não utilizados são armazenados e manuseados de acordo com as instruções do fabricante de cartões de DBS.
- L. Para mais detalhes sobre a preparação e o manuseamento de DBS, consulte as instruções do fabricante de cartões de DBS.
- M. Para evitar a contaminação por transmissão, certifique-se de que os instrumentos utilizados para cortar e manusear os círculos com sangue seco são descontaminados antes e após o contacto com a amostra.
- N. Utilize apenas o tampão de extração Aptima DBS para a extração das amostras de DBS. Não utilize o diluente de espécimes Aptima nem outros tampões para extrair espécimes de DBS.
- O. Para outras advertências e precauções relacionadas com o laboratório, consulte o folheto informativo do *ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Relacionadas com o ensaio

- P. Os resultados quantitativos do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foram avaliados utilizando DBS e plasma. O soro não pode ser utilizado para obter resultados quantitativos. Os resultados qualitativos para o plasma, soro e DBS foram avaliados. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controlos após o prazo de validade.
- Q. Não utilize os cartões de DBS após a data indicada pelo fabricante. Não troque, misture, nem combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre 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 conserve todos os reagentes do ensaio às temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pela utilização de reagentes do ensaio conservados de forma incorreta. Consulte a secção *Procedimento de teste no Panther System* 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. Para obter informações sobre a comunicação de perigos, consulte o folheto informativo do *ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Nota: A informação sobre a comunicação de perigos reflete as classificações das Fichas de dados de segurança (SDS) da UE Para obter informações sobre as comunicações de perigo específicas da sua região, consulte as SDS específicas da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, no endereço www.hologicds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Colheita e armazenamento de espécimes de DBS

Nota: *Manuseie todos os espécimes 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.*

Podem ser utilizados espécimes de sangue total colhidos em EDTA ou sangue capilar colhido através de picada no dedo ou calcanhar.

A. Colheita e preparação de espécimes de DBS

- O sangue total colhido em tubos de colheita apropriados pode ser armazenado durante um máximo de 24 horas entre 2 °C e 30 °C antes da aplicação nos cartões de DBS. Antes de aplicar no cartão de DBS, homogeneíze cuidadosamente o sangue. O sangue capilar pode ser colhido através de picada no dedo ou calcanhar, de acordo com os procedimentos padrão e as práticas locais.
- Aplique aproximadamente 70 µL de sangue total no centro dos círculos de 12 milímetros dos cartões Ahlstrom/Munktel TFN ou equivalentes (por exemplo, Whatman 903). Se for utilizado sangue de uma picada no dedo ou calcanhar, aplique aproximadamente 3–5 gotas (aproximadamente 70 µL) em cada círculo, garantindo que toda a superfície do círculo (os dois lados do cartão de DBS) fica saturada.
- Deixe secar os cartões de DBS à temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) durante 4 a 24 horas. Tenha atenção para garantir que os cartões de DBS ficam protegidos da luz solar direta, que não entram em contacto entre si e que estão totalmente secos antes de os embalar, armazenar e transportar.

Nota: *A preparação de DBS com uma quantidade de sangue insuficiente, secagem insuficiente e/ou manuseamento ou armazenamento inapropriados pode dar origem a resultados de teste inexatos.*

B. Espécimes de DBS

Até 24 horas após a colheita do espécime, os tubos de colheita primários com sangue total podem ser armazenados entre 2 °C e 30 °C, antes da preparação de DBS (Figura 1, caixa superior).

A DBS preparada pode ser armazenada numa das condições seguintes (Figura 1, caixas inferiores):

- Cartão de DBS entre 2 °C e 30 °C à humidade ambiente, durante um máximo de 12 semanas, ou
- Cartão de DBS entre -15 °C e -35 °C, durante um máximo de 12 semanas, ou
- Cartão de DBS a 40 °C durante um máximo de 2 semanas, a uma humidade de 85%.

Antes do teste, a DBS extraída em tubos de alíquotas de espécime (SAT) pode ser conservada entre 15 °C e 30 °C, durante um máximo de 24 horas.

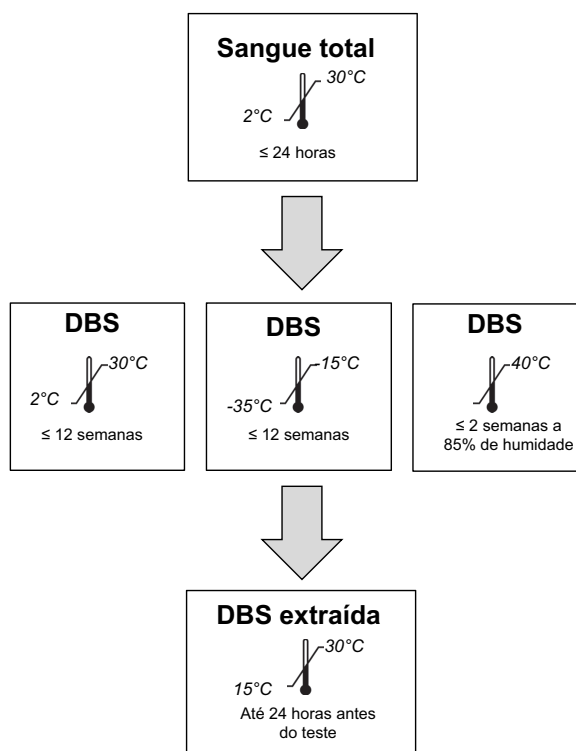


Figura 1. Condições de conservação de DBS

Amostras dentro do Panther System

A DBS extraída pode permanecer destapada no sistema Panther por um período máximo de 8 horas no total. 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 Panther System.

Transporte de espécimes

Mantenha as condições de conservação de amostras descritas em *Colheita e armazenamento de espécimes de DBS*.

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

Panther System

Os reagentes para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx para utilização no sistema Panther são fornecidos com o folheto informativo do *ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Materiais necessários mas disponíveis separadamente para o tipo de amostra de DBS

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

| Material | Código produto |
|--|--|
| Tampão de extração Aptima® DBS (100 mL) | PRD-04772 |
| Tubos de alíquotas de espécime (SAT) Aptima® (100 por embalagem) | FAB-18184 |
| Panther® System | 303095 |
| Panther Fusion® System | PRD-04172 |
| Panther System, Fluidos contínuos e resíduos (Panther Plus) | PRD-06067 |
| Tampa de tubo de transporte (100 por embalagem) | 504415 |
| <i>Tampa para SAT</i> | |
| Cartões de DBS disponíveis no mercado: | — |
| <i>Cartões Ahlstrom/Munktel TFN ou equivalentes (p. ex., Whatman 903)</i> | |
| Tesouras, pinças ou outros instrumentos para retirar a gota de DBS do cartão de DBS. | — |
| Pontas, 1000 µl, com filtro, condutoras, detecção de líquido e descartáveis | 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) | — |
| Luvas sem pó descartáveis | — |
| Tampas de substituição para reagentes | |
| <i>Frascos de reconstrução de amplificação, do reagente enzimático e do reagente promotor</i> | CL0041 (100 tampas) |
| <i>Frasco de TCR</i> | CL0040 (100 tampas) |
| Coberturas de bancada laboratorial com forro de plástico | — |
| Toalhetes que não libertem pelos | — |
| Pipetador | — |
| Pontas | — |
| Opções de tubo de colheita primário (ACD, EDTA, PPT): | |
| <i>13 mm x 100 mm</i> | — |
| <i>13 mm x 75 mm</i> | — |
| <i>16 mm x 100 mm</i> | — |
| Centrífuga | — |
| Dispositivo de agitação de tubos por oscilação | — |

Procedimento de teste no Panther System

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

A. Extração de espécimes de DBS

1. Deixe os espécimes atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do processamento.
2. Adicione 1 mL de tampão de extração de DBS no SAT.
3. Com um instrumento descontaminado (p. ex., ponta da pipeta, pinça ou tesoura), transfira o espécime de DBS para um SAT contendo o tampão de extração de DBS. Cada espécime de DBS deve ter aproximadamente 12 mm de diâmetro.

Nota: Em cartões de DBS não perfurados, certifique-se de que o espécime de DBS adere aos lados do SAT.

4. Feche completamente os SAT contendo o tampão de extração de DBS e a DBS, utilizando as tampas dos tubos de transporte.
5. Agite delicadamente a solução à temperatura ambiente durante 30 minutos. Certifique-se de que o tampão de extração de DBS submerge o espécime de DBS durante a agitação. Evite a formação excessiva de espuma.

Nota: A DBS extraída que se encontra no SAT pode ser armazenada durante um máximo de 24 horas entre 15 °C e 30 °C antes de ser testada.

6. Antes do carregamento no sistema Panther, centrifugue os SAT com a DBS extraída durante 2 minutos a 3000 g.
7. Carregue os SAT com a DBS no sistema Panther (a DBS extraída pode ser armazenada no sistema Panther durante um máximo de 8 horas).

Nota: Para evitar a contaminação por transmissão, certifique-se de que os instrumentos utilizados para preparar as amostras são descontaminados entre cada amostra.

Nota: As 8 horas de permanência no Panther System não devem ser somadas ao período de armazenamento de 24 horas após a extração.

B. Preparação do sistema para os espécimes de DBS

1. Configure o sistema de acordo com as instruções do Manual de instruções do Panther/Panther Fusion System.
2. Carregue o suporte de espécimes.
3. Aplique o **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fator de conversão de gota de sangue seca)** aos pedidos de teste de ensaio para os espécimes de DBS.

Para aplicar o Fator de conversão de gota de sangue seca a todo um suporte de espécimes de DBS:

- a. No ecrã *Sample Rack Loading* (Carregamento do suporte de amostras), seleccione **Dilute All (Diluir todos)**.

Aparece a janela *Dilution Factor* (Fator de diluição).

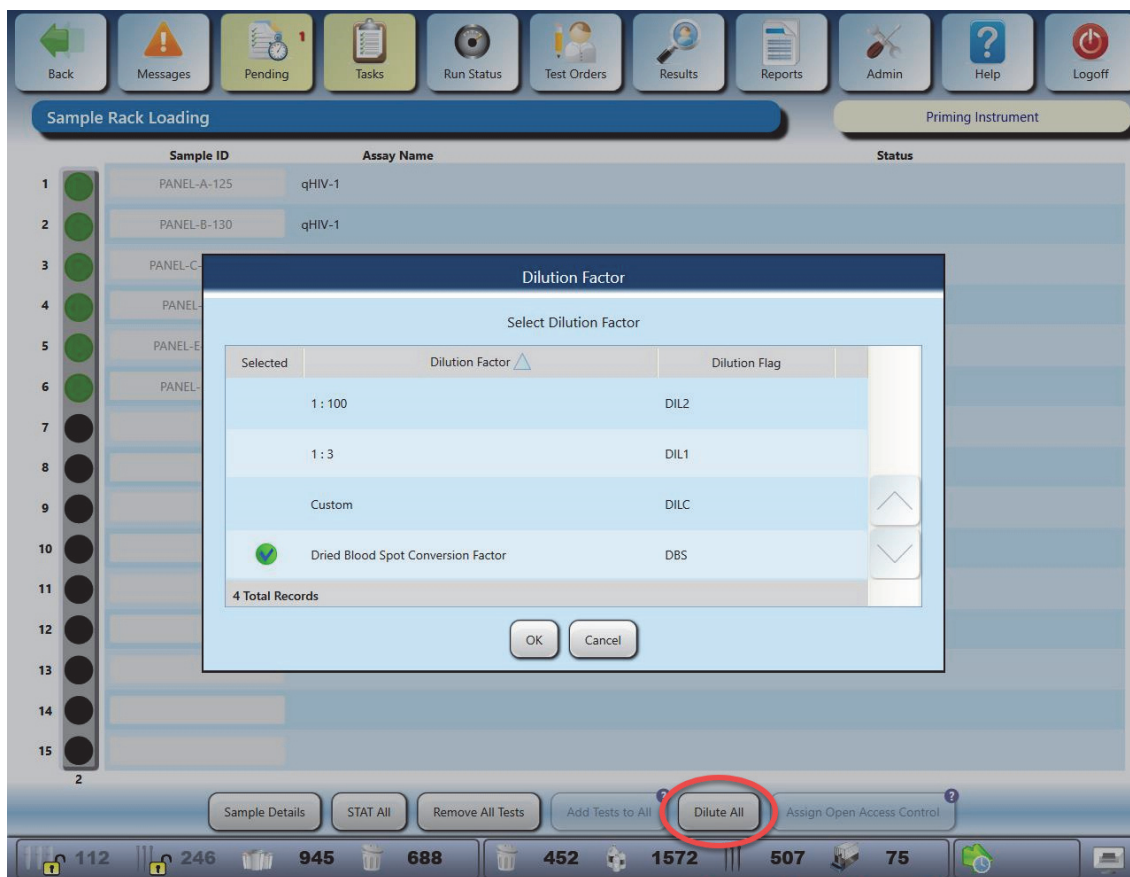


Figura 2. A janela *Dilution Factor* (Fator de diluição) no ecrã *Sample Rack Loading* (Carregamento do suporte de amostras)

- b. Seleccione **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fator de conversão de gota de sangue seca)**.
- c. Seleccione **OK**.

Aparece uma janela *Set Dilution Factor for Rack* (Definir fator de diluição para suporte).

- d. Seleccione **Yes (Sim)** para aplicar o sinalizador de Fator de conversão de gota de sangue seca a todo o suporte de espécimes de DBS.

Para aplicar o Fator de conversão de gota de sangue seca a um único pedido de teste (por exemplo, à terceira amostra no suporte; consulte a imagem abaixo):

- a. A partir do ecrã *Sample Details* (Detalhes da amostra), seleccione os pedidos de teste a processar e seleccione **Apply Dilution (Aplicar diluição)**.

Aparece a janela *Dilution Factor* (Fator de diluição).

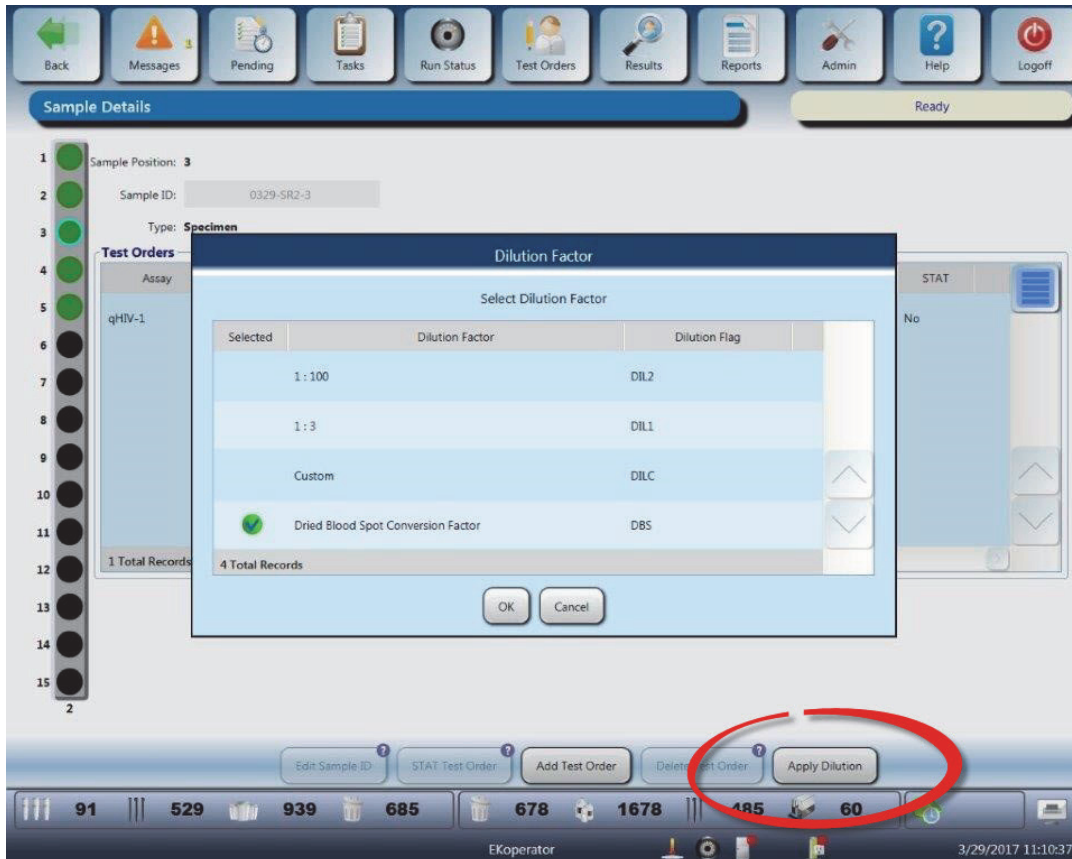


Figura 3. A janela *Dilution Factor* (Fator de diluição) no ecrã *Sample Details* (Detalhes da amostra)

- b. Seleccione **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fator de conversão de gota de sangue seca)**.
- c. Seleccione **OK** para aplicar o sinalizador de Fator de conversão de gota de sangue seca a todos os pedidos de teste seleccionados.

Se for necessário, o Fator de conversão de gota de sangue seca pode ser removido dos pedidos de teste antes do início do processamento.

Para eliminar o Fator de conversão de gota de sangue seca de todo um suporte:

1. No ecrã *Sample Rack Bay* (Zona dos suportes de amostras), faça duplo clique no suporte relevante.
É apresentado o ecrã *Sample Rack Loading* (Carregamento do suporte de amostras) relativo ao suporte seleccionado.
2. Seleccione **Dilute All (Diluir todos)**.

3. Na janela *Dilution Factor* (Fator de diluição), desmarque o **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fator de conversão de gota de sangue seca)**.
4. Selecione **OK**.
Aparece uma janela *Set Dilution Factor for Rack* (Definir fator de diluição para suporte).
5. Selecione **Yes (Sim)** para eliminar o Fator de conversão de gota de sangue seca de todo um suporte.

Para eliminar os pedidos de teste de ensaio do Fator de conversão de gota de sangue seca:

1. No ecrã *Sample Rack Bay* (Zona dos suportes de amostras), faça duplo clique no suporte carregado com o(s) espécime(s) relevante(s).
Aparece o ecrã *Sample Rack Loading* (Carregamento do suporte de amostras) relativo ao suporte selecionado.
2. No ecrã *Sample Rack Loading* (Carregamento do suporte de amostras), faça duplo clique no espécime relevante.
Aparece o ecrã *Sample Details* (Detalhes da amostra) com os pedidos de teste atuais para o espécime selecionado.
3. Selecione o pedido de teste relevante no painel *Test Orders* (Pedidos de teste).
4. Selecione **Apply Dilution (Aplicar diluição)**.
5. Na janela *Dilution Factor* (Fator de diluição), desmarque o **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fator de conversão de gota de sangue seca)**.
6. Selecione **OK** para eliminar o Fator de conversão de gota de sangue seca do pedido de teste.

Notas sobre procedimentos de calibradores e controlos

Para amostras de DBS, não são fornecidos controlos positivos e negativos de DBS. As amostras de DBS requerem a utilização dos mesmos calibradores e controlos utilizados para os tipos de amostra de soro e plasma. Consulte o folheto informativo do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Controlo de qualidade

Um resultado de uma execução ou espécime 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. Neste caso, será necessário testar novamente os espécimes.

Calibração do ensaio

As amostras de DBS requerem a utilização dos mesmos calibradores utilizados para os tipos de amostra de soro e plasma. Consulte o folheto informativo do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Controlos negativo e positivo

As amostras de DBS requerem a utilização dos mesmos controlos utilizados para os tipos de amostra de soro e plasma. Consulte o folheto informativo do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Calibrador interno/controlo interno

Cada amostra contém um calibrador interno/controlo interno (IC). Consulte o folheto informativo do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interpretação dos resultados de DBS

O sistema Panther determina automaticamente a concentração de RNA do HIV-1 dos espécimes e controlos mediante a comparação dos resultados com uma curva de calibração. Para os espécimes de DBS testados, o sistema Panther comunica automaticamente os resultados em cópias/mL e \log_{10} cópias/mL de RNA do HIV-1, com base no fator de conversão de DBS. A conversão logarítmica do LoD de DBS de 883 cópias/mL é de 2,95 log cópias/mL. A interpretação dos resultados de carga viral é apresentada na Tabela 1.

O sistema Panther não fornece um resultado qualitativo (isto é, "Reativo" ou "Não reativo") para utilização no diagnóstico (EID). O operador deve interpretar a concentração de RNA do HIV-1 convertendo-a num resultado qualitativo (consulte Tabela 2). Os espécimes com resultados apresentados como "Não detetado" são não reativos para o RNA do HIV-1. Os espécimes com resultados apresentados como "<883 detetado" ou os espécimes com resultados dentro do intervalo linear indicam que foi detetado RNA do HIV-1 e que estes espécimes foram reativos para o RNA do HIV-1. Os espécimes com resultados de <1900 cópias/mL devem ser testados novamente para confirmar a sua reatividade para o diagnóstico de HIV.

Tabela 1: Interpretação de resultados de carga viral de espécimes de DBS

| Resultado apresentado do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx | | Interpretação da concentração de RNA do HIV-1 |
|--|--------------------------------|---|
| Cópias/mL | Valor \log_{10} ^a | |
| Não detetado | Não detetado | RNA do HIV-1 não detetado. |
| <883 detetado | <2,95 | Foi detetado RNA do HIV-1, mas num nível abaixo do limite inferior de quantificação para DBS (LLoQ DBS 883 cópias/mL) |
| 883 a 10 000 000 | 2,95 a 7,00 | A concentração de RNA do HIV-1 encontra-se dentro do intervalo linear do ensaio de DBS (883 cópias/mL até 10 000 000) |
| >10 000 000 | >7,00 | A concentração de RNA do HIV-1 é acima do limite superior de quantificação (ULoQ). |
| Inálido ^c | Inálido ^c | Ocorreu um erro na produção do resultado. O espécime deve ser novamente testado. |

^aO valor é truncado para duas casas decimais.

^bOs resultados inválidos são apresentados em letra de cor azul.

Tabela 2: Interpretação dos resultados para espécimes de diagnóstico por DBS

| Resultado apresentado do Aptima HIV-1 Quant Dx Assay | | Interpretação qualitativa do diagnóstico do utilizador |
|--|--------------------------------------|---|
| Cópias/mL | Valor log ₁₀ ^a | |
| Não detetado | Não detetado | RNA do HIV-1 não detetado. |
| <883 detetado ou 883 a 1900 | <2,95 ou 2,95 a 3,28 | Realizar novamente o teste, para confirmar resultados reativos de diagnóstico. Apenas os resultados positivos confirmados são considerados reativos. ^b |
| 1901 a 10 000 000 | 3,28 a 7,00 | Reativo para o RNA do HIV-1 |
| >10 000 000 | >7,00 | Reativo para o RNA do HIV-1 |
| Inválido ^c | Inválido ^c | Ocorreu um erro na produção do resultado. O espécime deve ser novamente testado. |

^aO valor é truncado para duas casas decimais.

^bWorld Health Organization, Policy Brief. Julho de 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Geneva, Switzerland (7).

^cOs resultados inválidos são apresentados em letra de cor azul.

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. Certifique-se de que este ensaio é utilizado com o software do Panther System, versão 6.2 ou superior.
- C. A utilização de metodologias de teste diferentes pode dar origem a valores apresentados diferentes. Para minimizar o risco de interpretações erradas de resultados ao mudar para um novo ensaio, recomenda-se que as novas metodologias sejam validadas de modo a estabelecer as diferenças nos resultados apresentados, sendo que tais diferenças devem ser tidas em consideração.
- D. A colheita, transporte, armazenamento e processamento inadequados de espécimes pode originar resultados inexatos.
- E. Este ensaio foi validado para ser utilizado com cartões de DBS Ahlstrom/Munktel TFN e Whatman 903. Certifique-se de que os cartões de DBS são validados de acordo com os requisitos laboratoriais.
- F. Certifique-se de que os cartões de DBS são manuseados e armazenados de acordo com as instruções do fabricante.

Desempenho da DBS

Limite de detecção (LoD) utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HIV-1

O limite de detecção (Limit of detection, LoD) define-se como a concentração de RNA do HIV-1 que é detetada com uma probabilidade igual ou superior a 95%, de acordo com o documento EP17-A2 do CLSI (8). O LoD foi estabelecido através de testes de painéis que consistiram em diluições do 3.º Padrão Internacional da OMS para o HIV-1 (subtipo B, código NIBSC: 10/152) em amostras de sangue total negativas para o HIV-1. Foram processadas trinta réplicas de cada diluição em três sistemas Panther utilizando três lotes de reagentes, num total de 90 réplicas para cada diluição. De acordo com o documento EP17-A2 do CLSI, os resultados do lote de reagentes com a concentração mais elevada para o limite de detecção previsto ficaram definidos como o LoD e são apresentados na Tabela 3. Aplicando a análise de Probit, o LoD para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx é de 848,4 cópias/mL (com um intervalo de confiança de 95% 660,7–1.208,8 cópias/mL) ou 2424,0 UI/mL (com um intervalo de confiança de 95% 1887,8–3453,8 UI/mL, 0,35 cópias = 1 UI).

Tabela 3: LoD do Aptima HIV-1 Quant Dx Assay com DBS utilizando o 3.º padrão internacional da OMS para o HIV-1

| Limite de detecção previsto | Concentração (cópias/mL) | Concentração (UI/mL) |
|-----------------------------|--------------------------|----------------------|
| 10% | 34,4 | 98,3 |
| 20% | 68,7 | 196,3 |
| 30% | 105,7 | 302,0 |
| 40% | 147,2 | 420,6 |
| 50% | 194,9 | 556,9 |
| 60% | 251,9 | 719,8 |
| 70% | 323,9 | 925,5 |
| 80% | 423,1 | 1208,9 |
| 90% | 625,4 | 1786,9 |
| 95% | 848,4 | 2424,0 |

Intervalo linear

O intervalo linear do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi estabelecido através de testes de painéis que consistiram na diluição do subtipo B do vírus do HIV-1 em cultura em amostras de sangue total negativo para HIV-1, de acordo com o documento EP06-A do CLSI (9). A concentração dos painéis variou entre 2,70 e 7,60 log cópias/mL. Os testes foram realizados em quatro sistemas Panther com dois lotes de reagentes do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. Como se pode ver na Figura 4, o ensaio Aptima Quant Dx demonstrou linearidade em todo o intervalo testado.

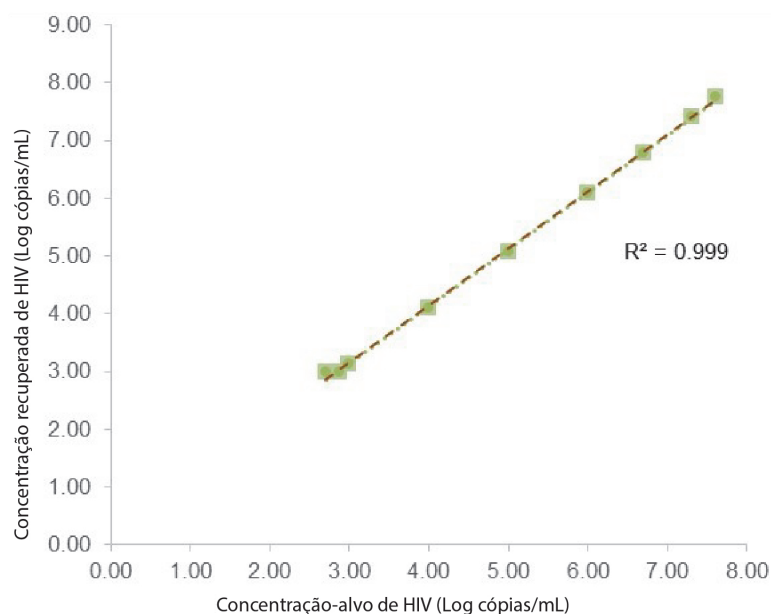


Figura 4. Linearidade do Aptima HIV-1 Quant Dx Assay com DBS

Limite inferior de quantificação utilizando o 3.º Padrão Internacional da OMS para o HIV-1

O limite inferior de quantificação (Lower limit of quantitation, LLoQ) é de 883 cópias/mL.

O LLoQ foi estabelecido tal como descrito no documento EP-17-A2 do CLSI, de modo a garantir os requisitos de LLoQ de reatividade de >95% e um erro total de ≤1 log cópias/mL.

Tabela 4: Determinação do limite inferior de quantificação com um tipo de amostra de DBS utilizando o 3.º padrão internacional da OMS para o HIV-1 e 3 lotes de reagentes

| Lote de reagente | % Positivo | Concentração-alvo (Log cópias/mL) | Aptima HIV-1 Quant Dx (log cópias/mL) | DP (log cópias/mL) | Desvio sistemático (log cópias/mL) | ET calculado utilizando o modelo Westgard (log cópias/mL) |
|------------------|------------|-----------------------------------|---------------------------------------|--------------------|--------------------------------------|---|
| 1 | 90% | 2,78 | 2,61 | 0,60 | 0,17 | 1,37 |
| | 93% | 2,85 | 2,66 | 0,54 | 0,18 | 1,26 |
| | 93% | 2,90 | 2,83 | 0,40 | 0,07 | 0,87 |
| | 97% | 2,95 | 2,90 | 0,18 | 0,06 | 0,43 |
| | 100% | 3,00 | 2,98 | 0,22 | 0,02 | 0,46 |
| | 100% | 3,08 | 3,03 | 0,22 | 0,05 | 0,48 |
| 2 | 93% | 2,78 | 2,57 | 0,59 | 0,20 | 1,38 |
| | 97% | 2,85 | 2,76 | 0,44 | 0,09 | 0,97 |
| | 93% | 2,90 | 2,66 | 0,54 | 0,24 | 1,32 |
| | 97% | 2,95 | 2,79 | 0,47 | 0,17 | 1,10 |
| | 97% | 3,00 | 2,78 | 0,46 | 0,22 | 1,15 |
| | 97% | 3,08 | 2,91 | 0,37 | 0,17 | 0,91 |
| 3 | 100% | 2,78 | 2,80 | 0,52 | 0,02 | 1,05 |
| | 100% | 2,85 | 2,83 | 0,36 | 0,01 | 0,74 |
| | 100% | 2,90 | 2,89 | 0,36 | 0,02 | 0,74 |
| | 100% | 2,95 | 2,94 | 0,50 | 0,02 | 1,01 |
| | 100% | 3,00 | 2,95 | 0,23 | 0,05 | 0,51 |
| | 97% | 3,08 | 3,07 | 0,16 | 0,01 | 0,33 |

Tabela 5: Resumo do LLoQ

| Lote de reagente | LLoQ (log cópias/mL) | LLoQ (cópias/mL) |
|------------------|----------------------|------------------|
| 1 | 2,90 | 787 |
| 2 | 2,91 | 817 |
| 3 | 2,95 | 883 |

Precisão

Para avaliar a precisão do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, foi realizado um painel pela adição do subtipo B do vírus do HIV-1 em cultura numa amostra de sangue total negativa para o HIV-1. Três operadores utilizaram três lotes de reagentes e testaram os painéis em três sistemas Panther durante 20 dias (consultar a Tabela 6). O painel era constituído por um membro do painel negativo para o HIV-1 e cinco membros do painel positivo para o HIV-1. A atribuição da concentração para espécimes clínicos ou stocks de culturas de vírus foi determinada através do teste de um tipo de amostra de DBS com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabela 6: Precisão do Aptima HIV-1 Quant Dx Assay com DBS

| Número de réplicas válidas | Concentração média (log cópias/mL) | Entre instrumentos (DP) | Entre operadores (DP) | Entre lotes (DP) | Entre execuções (DP) | Intra-execução (DP) | Total (DP) |
|----------------------------|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------|----------------------|---------------------|------------|
| 78 | 3,46 | 0,00 | 0,00 | 0,07 | 0,00 | 0,19 | 0,19 |
| 81 | 3,94 | 0,00 | 0,00 | 0,07 | 0,08 | 0,13 | 0,13 |
| 81 | 4,81 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,07 | 0,07 | 0,07 |
| 81 | 5,89 | 0,00 | 0,03 | 0,01 | 0,07 | 0,05 | 0,05 |
| 81 | 6,72 | 0,00 | 0,02 | 0,02 | 0,06 | 0,05 | 0,05 |

DP=desvio padrão

Nota: a variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando tal ocorre, DP=0. O total de réplicas testadas para cada membro do painel foi de 81; apenas as réplicas com resultados quantificáveis foram utilizadas para avaliar a precisão.

Substâncias potencialmente interferentes

A suscetibilidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx à interferência por valores elevados de hemoglobina e DNA humano foi avaliada através do teste de DBS preparado a partir de sangue total na ausência de HIV-1 e na presença de 3,42 e 4,7 log cópias/mL de HIV-1. Não foi observada nenhuma interferência no desempenho na presença de hemoglobina (5 mg/mL) e de DNA genómico humano (2 µg/mL).

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi também avaliado em relação à interferência dos espécimes de plasma, não tendo sido observada interferência no desempenho na presença de substâncias endógenas ou exógenas. Para uma listagem completa de substâncias potencialmente interferentes que foram avaliadas para o tipo de amostra de plasma, consulte o folheto informativo do *ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Especificidade

A especificidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi determinada através de testes de espécimes de DBS preparados com sangue de 500 dadores negativos para HIV-1, utilizando três lotes de reagentes. A especificidade do ensaio com DBS foi de 99,6% (com um intervalo de confiança de 95% entre 98,6% e 99,9%).

Especificidade analítica

A potencial reatividade cruzada com agentes patogênicos no sangue total foi avaliada no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx através de testes de DBS preparados a partir de sangue total com adição de 1e6 células/mL de cada organismo na ausência de HIV-1 e na presença de 3,42 e 4,7 log cópias/mL de HIV-1. Não foi observada qualquer interferência nos testes de DBS com *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti* Gray, *Plasmodium falciparum* e *Toxoplasma gondii*, na presença ou na ausência de HIV-1.

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx também foi avaliado em relação à reatividade cruzada em espécimes de plasma, não tendo sido observada interferência no desempenho na presença de agentes patogênicos. Para uma listagem completa dos agentes patogênicos avaliados para o tipo de amostra de plasma, consulte o folheto informativo do *ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Desempenho clínico

Concordância de diagnóstico no diagnóstico precoce em bebês

Para avaliar a concordância do diagnóstico, foram preparados espécimes de DBS de picadas no dedo ou calcanhar de bebês com idade \leq a 18 meses, com mães HIV-1 positivas no Quênia, em África. Estes bebês foram testados utilizando uma única DBS por teste com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e um ensaio qualitativo de comparação para o HIV-1 com marcação CE. Como se pode ver na Tabela 7, 1975 espécimes originaram resultados válidos em ambos os ensaios. No ensaio qualitativo de comparação com marcação CE, todos os espécimes com resultados reativos foram testados novamente e apenas os resultados reativos confirmados foram categorizados como "Detetado". Todas as amostras não reativas foram categorizadas como "Alvo não detetado". No ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, os resultados do ensaio interpretados como equívocos (consulte a Tabela 2) foram testados novamente. A concordância de diagnóstico no diagnóstico precoce em bebês entre os dois ensaios foi de 99,6%.

Tabela 7: Concordância de diagnóstico entre o Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e o ensaio de comparação

| | | Ensaio de comparação com marcação CE | |
|--------------------------------|-------------------|--------------------------------------|----------|
| | | Alvo não detetado | Detetado |
| Aptima HIV-1 Quant Dx Assay | Alvo não detetado | 1888 | 4 |
| | Detetado | 3 | 80 |

Correlação de métodos

O desempenho do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx com o tipo de amostra de DBS foi avaliado por comparação dos resultados de DBS com os resultados do ensaio Aptima com plasma. Estavam inscritos neste estudo um total de 258 pacientes infetados pelo HIV-1, distribuídos por 5 locais de colheita no Quênia, África. Foram preparados espécimes de DBS de cada paciente utilizando sangue capilar (através de uma picada no dedo) e sangue venoso. Foi também obtido plasma do mesmo paciente. Todos os testes do ensaio Aptima de espécimes de DBS e plasma foram conduzidos utilizando um lote de reagentes. Os resultados dos espécimes que foram quantificados para cada tipo de amostra foram analisados através de uma regressão linear dos mínimos quadrados, como se pode observar nas Figuras 5, 6 e 7.

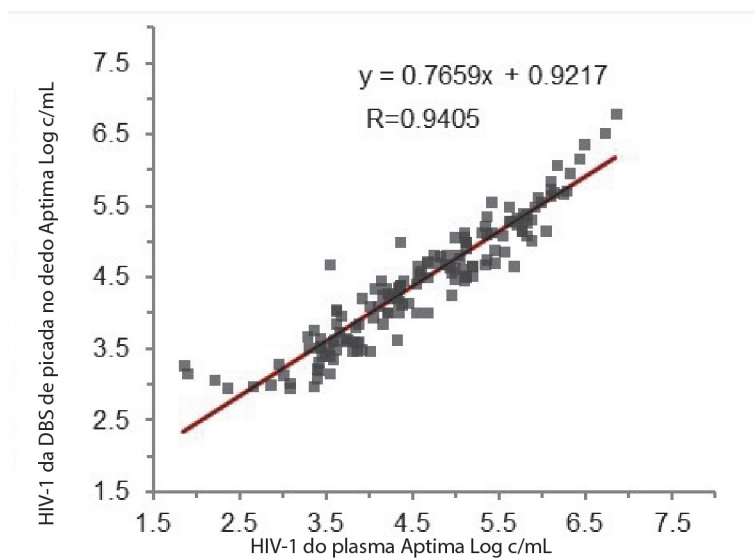


Figura 5. Correlação entre a DBS de picada no dedo e o plasma

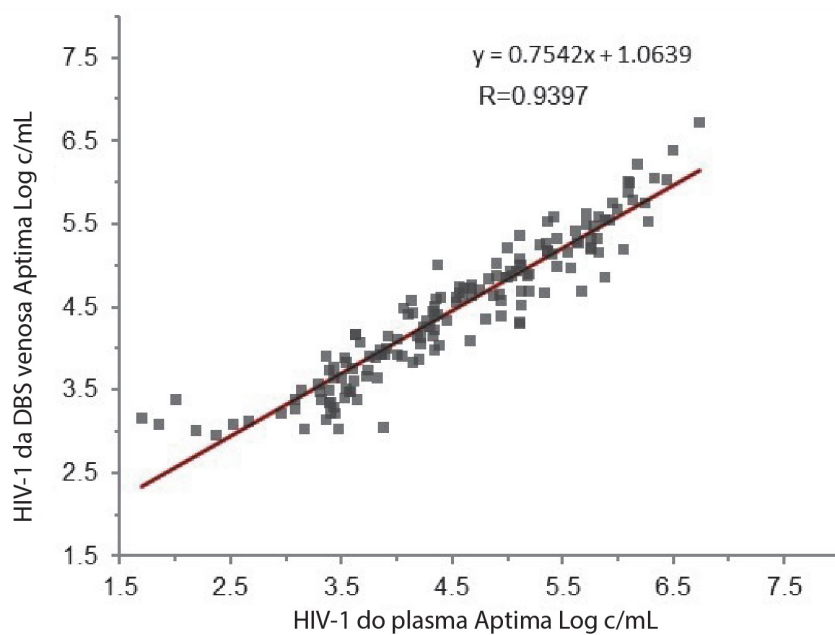


Figura 6. Correlação entre a DBS de sangue venoso e o plasma

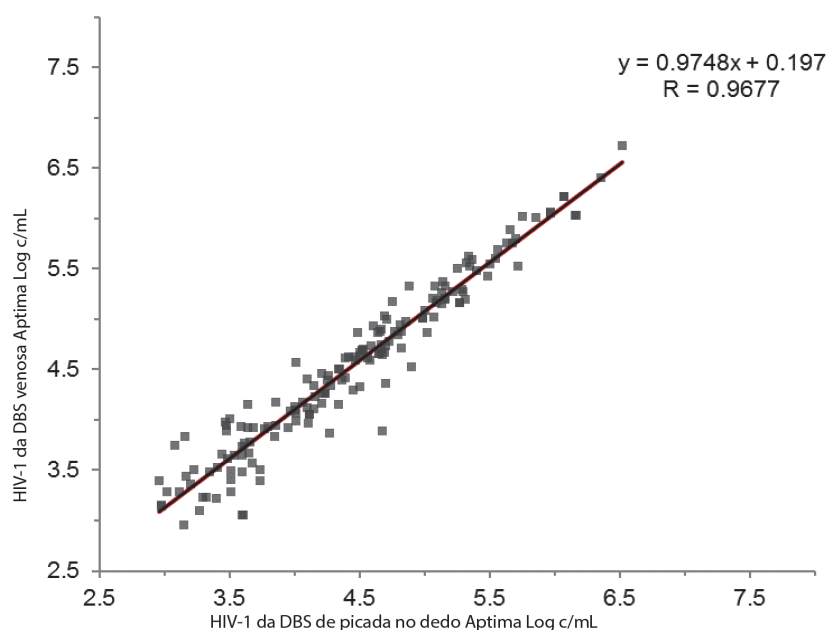


Figura 7. Correlação entre a DBS de picada no dedo e a DBS venosa

A concordância entre os resultados da DBS e do plasma foi também avaliada com um limiar de 1000 cópias/mL. (Tabelas 8 e 9). A concordância positiva e negativa entre os resultados da DBS de picada no dedo e do plasma foi de 92,95% e 93,14%, respectivamente. A concordância positiva e negativa entre os resultados da DBS venosa e do plasma foi de 96,15% e 90,20%, respectivamente. A concordância positiva e negativa entre os resultados da DBS venosa e da DBS de picada no dedo foi de 91,25% e 93,88%, respectivamente (Tabela 10). A concordância total dos resultados do HIV-1 do plasma com resultados de HIV-1 da DBS de picada no dedo e da DBS venosa foi de 93,02% e 93,80%, respectivamente.

Tabela 8: Concordância entre a DBS de picada no dedo e o plasma no Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

| | | Plasma Aptima | |
|------------------------------------|-------|---------------|-------|
| | | <1000 | >1000 |
| Aptima DBS de picada no dedo | <1000 | 95 | 11 |
| | >1000 | 7 | 145 |

Tabela 9: Concordância entre a DBS venosa e o plasma no Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

| | | Plasma Aptima | |
|----------------------|-------|---------------|-------|
| | | <1000 | >1000 |
| Aptima DBS venosa | <1000 | 92 | 6 |
| | >1000 | 10 | 150 |

Tabela 10: Concordância entre a DBS venosa e a DBS de picada no dedo no Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

| | | DBS venosa Aptima | |
|------------------------------------|-------|-------------------|-------|
| | | <1000 | >1000 |
| Aptima DBS de picada no dedo | <1000 | 92 | 14 |
| | >1000 | 6 | 146 |

Bibliografia

1. **World Health Organization, Access to HIV Diagnostics.** Julho de 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
2. **World Health Organization and Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).** 2010. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
3. **Marston M et al.** Net Survival of Perinatally and Postnatally HIV-infected Children: a Pooled Analysis of Individual Data from Sub-Saharan Africa. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40:385-396.
4. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
5. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
6. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP05-A3. Wayne, PA.
7. **World Health Organization, Policy Brief.** Julho de 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Geneva, Switzerland.
8. **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.
9. **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.

Informações de contacto e histórico de revisões



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
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 nacionais específicos, visite www.hologic.com/support.

Os incidentes graves relacionados com o dispositivo na União Europeia devem ser comunicados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram estabelecidos.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e logótipos associados são marcas comerciais e/ou marcas registadas da Hologic, Inc. e/ou respetivas subsidiárias nos EUA e/ou em outros países.

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.

© 2018-2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.

AW-29377-601 Rev. 001

2025-08

| Histórico de Revisões | Data | Descrição |
|-----------------------|----------------|-------------------|
| AW-29377-601 Rev. 001 | Agosto de 2025 | • Versão inicial. |