

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Instruções de uso
Para uso em diagnóstico *in vitro*
Apenas para exportação aos EUA

Informações gerais	3
Uso pretendido	3
Resumo e explicação do teste	3
Princípios do procedimento	4
Resumo de segurança e desempenho	5
Advertências e precauções	5
Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes	10
Coleta e armazenamento de amostras biológicas	11
Amostras no sistema Panther	14
Transporte de amostras biológicas	14
Sistema Panther	15
Reagentes e materiais fornecidos	15
Materiais necessários, mas disponibilizados em separado	17
Materiais opcionais	18
Procedimento de teste do sistema Panther	18
Notas de procedimento	23
Controle de qualidade	24
Calibração do ensaio	24
Controles positivos e negativos	24
Calibrador interno/Controle interno	24
Interpretação dos resultados	25
Limitações	27
Desempenho analítico	28
Limite de detecção (LoD) usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1	28
Limite de detecção em vários grupos e subtipos do HIV-1	29
Intervalo linear	30
Linearidade nos subtipos e grupos do HIV-1	31
Determinação do limite inferior de quantificação usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1	32
Verificação do LLoQ nos grupos e subtipos de HIV-1	33
Precisão	34
Substâncias endógenas e exógenas possivelmente interferentes	35
Desempenho com as amostras biológicas negativas de HIV-1	37
Contaminantes microbianos potencialmente interferentes	37
Repetibilidade de amostras biológicas clínicas	39
Diluição de amostras usando diluentes de amostras biológicas	40
Carryover	40
Painel de soroconversão	41
Estudo de equivalência de soro e plasma	42
Estudos de reprodutibilidade	42

Desempenho clínico	45
Validação da quantificação da carga viral	45
Estudos de especificidade clínica	46
Estudo de sensibilidade clínica	46
Positividade em amostras sorodiscordantes	47
Bibliografia	48
Informações de contato e histórico de revisões	50

Informações gerais

Uso pretendido

O ensaio Aptima® HIV-1 Quant Dx é um teste de amplificação do ácido nucleico *in vitro* para a detecção e quantificação dos grupos M, N e O do RNA do vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (HIV-1) no sistema Panther™ totalmente automatizado. É indicado para uso como auxílio no diagnóstico da infecção pelo HIV-1, como confirmação da infecção pelo HIV-1 e como auxílio no manejo clínico de pacientes infectados pelo HIV-1.

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode também ser usado como auxílio no diagnóstico da infecção pelo HIV-1, incluindo infecção aguda ou primária. A presença do RNA do HIV-1 no plasma ou soro de pacientes sem anticorpos para HIV-1 é indicativa de infecção aguda ou primária por HIV-1. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode ser usado como um teste complementar para amostras biológicas que apresentem resultados reativos repetidos em imunoenaios de HIV aprovados. Se a amostra biológica apresentar resultado reativo no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, a infecção pelo HIV-1 é confirmada.

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx também pode ser usado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais para o prognóstico da doença em indivíduos infectados pelo HIV-1. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx pode ser usado como auxílio no monitoramento do efeito do tratamento antirretroviral, medindo as alterações na concentração de RNA do HIV-1 no plasma.

Quando o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx é usado como auxílio no diagnóstico da infecção pelo HIV-1, o desempenho para resultados qualitativos é estabelecido com amostras biológicas tanto de plasma quanto de soro.* Quando usado como auxílio no monitoramento do efeito da terapia antirretroviral, o desempenho para resultados quantitativos é estabelecido apenas com amostras biológicas de plasma. Amostras biológicas de soro não podem ser utilizadas para resultados quantitativos.

Este ensaio não se destina ao uso na triagem de doadores de sangue ou plasma.

**Amostras biológicas de sangue seco em papel filtro (DBS) também podem ser usadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. Para obter uma descrição completa do uso pretendido e informações sobre amostras biológicas de DBS, consulte o Suplemento para amostras de sangue seco na bula do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.*

Resumo e explicação do teste

Estudos epidemiológicos identificaram o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) como o agente etiológico da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS) (1-7). O HIV pode ser transmitido por contato sexual, exposição a sangue ou derivados do sangue infectados ou por transmissão mãe-filho (8). No prazo de 3 a 6 semanas da exposição ao HIV, os indivíduos infectados desenvolvem geralmente uma síndrome aguda breve que se caracteriza por sintomas gripais e está associada a níveis elevados de viremia no sangue periférico (9-12). Na maioria dos indivíduos infectados, essa fase precoce é seguida por uma resposta imune específica do HIV e uma redução da viremia plasmática, normalmente dentro de 4 a 6 semanas após o aparecimento dos sintomas (13-14). Após a soroconversão, os indivíduos infectados entram tipicamente em uma fase assintomática, clinicamente estável, que pode durar anos (15-17). O período assintomático é caracterizado por viremia plasmática persistente e de baixo nível (18) e uma depleção gradual de linfócitos T CD4+. Essa depleção leva a uma imunodeficiência grave, a múltiplas infecções oportunistas, a tumores malignos e à morte (19). Apesar de os níveis de vírus no sangue periférico serem relativamente baixos durante a fase assintomática da infecção, a replicação e a eliminação do vírus parecem ser processos dinâmicos nos quais as

velocidades elevadas de produção do vírus e de infecção das células CD4+ são equilibradas por velocidades igualmente elevadas da eliminação do vírus, da morte de células infectadas e da substituição das células CD4+, resultando em níveis relativamente estáveis de viremia plasmática e das células CD4+ (20-22).

As medições quantitativas do HIV no sangue periférico demonstraram que níveis de vírus mais elevados podem estar correlacionados com o aumento do risco de progressão clínica da doença associada ao HIV e que reduções nos níveis virais plasmáticos podem estar associadas à diminuição do risco de progressão clínica (23-25). Os níveis de vírus no sangue periférico podem ser quantificados por medição do antígeno p24 do HIV no soro, por cultura quantitativa do HIV no plasma ou por medição direta do RNA viral no plasma utilizando amplificação de ácidos nucleicos ou tecnologias de amplificação do sinal (26-30).

As técnicas moleculares, como a amplificação mediada pela transcrição (TMA), têm sido amplamente usadas para amplificar os ácidos nucleicos (31). A TMA usa uma captura alvo específica e amplificação isotérmica para detectar ácidos nucleicos em várias doenças transmissíveis, incluindo CT, NG, HPV, Trich e HIV/HCV/HBV para o teste de doadores de sangue (32).

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, por meio da TMA, utiliza primários múltiplos e longos que têm como alvo diversas regiões do genoma HIV-1 para compensar a alta taxa de mutação do HIV-1. O ensaio inclui sistemas de detecção e amplificação de alvos duplos, direcionados independentemente para duas regiões do genoma HIV-1 (pol e LTR). O software do ensaio não faz a média dos sinais dos dois sistemas.

O sistema de dois alvos da Aptima foi criado para aumentar as chances de detectar e quantificar as amostras com precisão.

Princípios do procedimento

O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx envolve três etapas principais, todas executadas em um único tubo no sistema Panther: captura do alvo, amplificação do alvo pela amplificação mediada por transcrição (TMA) e detecção de produtos de amplificação (amplicon) pelas sondas fluorescentes rotuladas (torches).

Durante a captura do alvo, os ácidos nucleicos virais são isolados das amostras biológicas. As amostras biológicas são tratadas com um detergente para solubilizar o envelope viral, desnaturar as proteínas e liberar o RNA genômico viral. Os oligonucleótidos capturados hibridizam para regiões altamente conservadas do genoma HIV-1, se estiverem presentes, na amostra biológica de teste. O alvo híbrido é então capturado em micropartículas magnéticas que são separadas da amostra biológica em um campo magnético. As etapas de lavagem removem as impurezas 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 polimerase de RNA T7 produz várias cópias do amplicon de RNA com base no modelo de cópia do DNA. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx utiliza o método TMA para amplificar as duas regiões do RNA no HIV-1 (pol e LTR). Um sinal independente é gerado da amplificação de cada região usando primários, que são designados para amplificar os grupos M, N e O do HIV-1.

A detecção é feita usando as sondas fluorescentes do ácido nucleico de cadeia única, presentes durante a amplificação de cada alvo, que hibridizam especificamente nos produtos de amplificação em tempo real. Cada sonda fluorescente tem um fluoróforo e um agente de extinção. Quando a sonda fluorescente não for hibridizada no produto de amplificação, o agente de extinção estará próximo do fluoróforo e conterà a fluorescência. Quando a sonda fluorescente se une ao produto de amplificação, o agente de extinção é movido para ainda mais longe do fluoróforo e emitirá um sinal em um determinado comprimento de onda quando for animado 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 necessário para que o sinal fluorescente atinja um limite especificado ("tTime") é proporcional à concentração inicial de HIV-1. Cada reação tem um calibrador interno / controle interno (CI) que controla as variações potenciais do processamento, da amostra biológica, da amplificação e da detecção. A concentração de uma amostra é calculada usando os tTimes para a amplificação pol e LTR pelo software do sistema Panther. Por meio do algoritmo e da comparação com as informações de calibração armazenadas, o software do sistema Panther retorna um resultado único, validado clinicamente para cada amostra.

Resumo de segurança e desempenho

O SSP (Summary of Safety and Performance, Resumo de segurança e desempenho) está disponível no banco de dados europeu sobre dispositivos médicos (Eudamed), onde está vinculado aos identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar o SSP para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, consulte o Identificador Básico Único de Dispositivo (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Advertências e precauções

- A. Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx não deve ser usado como teste de rastreamento da presença do HIV-1 em sangue doado.
- D. Para reduzir o risco de resultados inválidos, leia cuidadosamente o folheto informativo completo e o *Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion™* antes de realizar esse ensaio.

Relacionados ao laboratório

- E.  CUIDADO: Os controles para esse ensaio contêm plasma humano. O plasma é negativo 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 US Food and Drug Administration dos EUA. Além disso, o plasma não é reativo para o RNA do HCV e o RNA do HIV-1 quando testado com testes de ácidos nucleicos licenciados utilizando amostras agrupadas. Todos os materiais com origem em sangue humano devem ser considerados como potencialmente infecciosos e devem ser manuseados de acordo com as Precauções Universais (33-35).

- F. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com o devido treinamento no uso do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e no manuseio de materiais potencialmente infecciosos. Se ocorrer um derramamento, desinfete imediatamente seguindo os procedimentos adequados do local.
- G. Use somente os utensílios de laboratório descartáveis fornecidos ou especificados.
- H. Siga as precauções de rotina do laboratório. Não pipete com a boca. Não coma, beba ou fume nas áreas de trabalho designadas. Use luvas sem talco descartáveis, proteção ocular e jaleco 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% (0.35M a 0.5M).
- J. Descarte todos os materiais que tenham entrado em contato com as amostras biológicas e reagentes de acordo com os regulamentos regionais (33-36). Limpe e desinfete minuciosamente todas as superfícies de trabalho.
- K. Os controles contêm azida de sódio como conservante. Não utilize tubos de metal para a transferência de reagentes. Se as soluções que contêm compostos de azida de sódio forem descartadas em um sistema de encanamento, elas deverão ser diluídas e eliminadas com água corrente em abundância. Essas precauções são recomendadas para evitar o acúmulo de depósitos em canos metálicos onde condições explosivas podem se desenvolver.
- L. Boas práticas padronizadas para os laboratórios moleculares incluem o monitoramento do ambiente. Para monitorar o ambiente de um laboratório, sugerimos o seguinte procedimento:
 1. Pegue um swab do tipo cotonete e use-o com o tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima™ (SAT).
 2. Identifique adequadamente cada SAT com um rótulo.
 3. Encha cada SAT com 1 mL do diluente da amostra biológica Aptima™.
 4. Para coletar amostras de superfície, umedeça ligeiramente um swab com água deionizada sem nuclease.
 5. Colha a amostra da superfície relevante movimentando o swab verticalmente, de cima para baixo. Enquanto colhe a amostra do local, circule o swab cerca de meia volta.
 6. Coloque imediatamente a amostra do swab dentro do tubo e circule suavemente o swab no diluente para extrair materiais potencialmente colhidos. Pressione o swab na lateral do tubo de transporte para extrair o máximo de líquido possível. Descarte o swab e feche o tubo.
 7. Repita as etapas para as amostras de swab restantes.
 8. Teste o swab com um ensaio molecular.

Relacionados às amostras biológicas

- M. As amostras biológicas podem ser infecciosas. Siga as precauções universais (33-35) ao realizar este ensaio. Os métodos de manuseio e descarte apropriados devem ser estabelecidos de acordo com os regulamentos locais (36). Somente os funcionários devidamente qualificados na utilização do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e no manuseio de materiais infecciosos devem realizar esse procedimento.

- 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 as etapas de manuseio das 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 amostra biológica não entrem em contato uns com os outros e descarte os materiais usados sem passá-los por cima de recipientes abertos. Troque as luvas se elas entrarem em contato com amostras.

Relacionados ao ensaio

- P. Os resultados quantitativos do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foram avaliados com plasma. O soro não pode ser utilizado para resultados quantitativos. Os resultados qualitativos foram avaliados com plasma e com soro. O uso deste kit de testes com amostras biológicas que não foram aprovadas especificamente para uso com o kit pode produzir resultados incorretos.
- Q. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi clinicamente validado usando o algoritmo no software do sistema Panther. O resultado validado a ser relatado é fornecido pelo software do sistema Panther na tela Resultados e no relatório de resultados.
- R. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controles após o prazo de validade.
- S. Não troque, misture ou combine reagentes do ensaio de kits com números de lote mestre diferentes. Os fluidos do ensaio podem ser de números de lote diferentes. Os controles e o calibrador podem ser de números de lote diferentes.
- T. Evite a contaminação microbiana e por nuclease dos reagentes.
- U. Tampe e armazene todos os reagentes do ensaio nas temperaturas especificadas. O desempenho do ensaio pode ser afetado pelo uso de reagentes armazenados de forma incorreta. Consulte *Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes e Materiais opcionais* para obter mais informações.
- V. Não combine nenhum reagente ou fluidos do ensaio sem instruções específicas. Não complete os reagentes ou os fluidos. O sistema Panther verifica os níveis dos reagentes.
- W. Alguns reagentes deste kit estão rotulados com informações sobre perigos.

Observação: A comunicação de riscos reflete as classificações das Fichas de Dados de Segurança (SDS) da UE. Para obter informações de comunicação de riscos específicas para sua região, consulte a SDS específica da região na Biblioteca de fichas de dados de segurança, em www.hologicsds.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos em www.hologic.com/package-inserts.

Informações de riscos para a UE	
—	Amplification Reagent Magnesium Chloride 60–65% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reagent HEPES 1–5% Triton X-100 1–5% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Enzyme Reconstitution Reagent Glycerol 20–25% Triton X-100 5–10% HEPES 1–5% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Promoter Reagent Magnesium Chloride 60–65% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
—	Target Capture Reagent HEPES 15–20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5% Succinic Acid 1–5% — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

**HIV VL Kit Controls***Human Serum/Human Plasma 95–100%**Sodium Azide <1%***PERIGO**

H300 - Fatal se ingerido

H410 - Muito tóxico para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

P264 - Lave cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer parte da pele exposta após o manuseio.

P273 - Evite a liberação para o meio ambiente.

P301 + P310 - EM CASO DE INGESTÃO: Ligue imediatamente para um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou médico.

P321 - Tratamento específico (veja instruções complementares de primeiros socorros neste rótulo).

P330 - Enxágue a boca.

P391 - Recolha todo produto derramado.

HIV VL Kit Calibrators*HEPES 15–20%**Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%**Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%**Succinic Acid 1–5%*

H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados.

P273 - Evite a liberação para o meio ambiente.

P501 - Descarte o conteúdo/recipiente em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes

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

Reagente	Armazenamento não aberto	Kit aberto (Reconstituído)	
		Armazenamento	Estabilidade
Reagente de amplificação do qHIV-1	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição de amplificação do qHIV-1	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente enzimático do qHIV-1	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição enzimática do qHIV-1	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente promotor do qHIV-1	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição promotora do qHIV-1	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente de captura do alvo do qHIV-1	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
CONTROLE NC do qHIV-1 – (Controle negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 20 horas
CONTROLE LPC do qHIV-1 + (Baixo controle positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 20 horas
CONTROLE HPC do qHIV-1 + (Alto controle positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 20 horas
PCAL do qHIV-1 (Calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 20 horas

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

- B. Descarte todos os reagentes reconstituídos não utilizados e o reagente de captura do alvo (TCR) após 30 dias ou após a data de validade do Lote Mestre, o que ocorrer primeiro.
- C. Os reagentes armazenados no sistema Panther têm 72 horas de estabilidade interna. Os reagentes podem ser carregados no sistema Panther até 8 vezes. O sistema Panther registra todas as vezes que os reagentes são carregados.
- D. Depois de descongelar o calibrador, a solução deverá estar limpa, e não turva ou contendo detritos.
- E.  O reagente do promotor e o reagente do promotor reconstituído são fotossensíveis. Proteja esses reagentes contra a luz durante o armazenamento e a preparação para o uso.

Coleta e armazenamento de amostras biológicas

Observação: manuseie todas as amostras biológicas como se contivessem agentes potencialmente infecciosos. Siga as precauções universais.

Observação: Tome cuidado para evitar a contaminação cruzada durante as etapas de manuseio das amostras. Por exemplo, descarte os materiais usados sem passar por cima dos tubos abertos.

Observação: Somente tubos secundários plásticos são recomendados para o armazenamento.

Todas as amostras biológicas coletadas nos tubos plásticos ou de vidro abaixo poderão ser usadas:

Para medidas quantitativas:

- Tubos com anticoagulantes EDTA ou ácido citrato dextrose (ACD) ou
- Tubos de preparação de plasma (PPTs).

Para determinação qualitativa:

- Tubos com anticoagulantes EDTA ou ACD ou
- PPTs ou
- Tubos de soro ou
- Tubos de separação de soro (SSTs).

Para o soro, aguarde até o coágulo se formar antes de continuar o processamento.

A. Coleta de amostras biológicas

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 coleta da amostra biológica. Separe o plasma ou o soro dos glóbulos vermelhos aglomerados seguindo as instruções do fabricante do tubo utilizado. O plasma ou o soro podem ser testados no sistema Panther em um tubo principal ou transferidos para um tubo secundário. Para obter 500 µL de volume de reação, o volume mínimo do plasma ou do soro para os tubos de coleta principais é de até 1200 µL e para os tubos secundários o volume mínimo é de 700 µL. A tabela abaixo identifica os requisitos do volume morto para cada tipo de tubo principal e secundário:

Tubo (tamanho e tipo)	Volume morto no sistema Panther
Tubo de alíquota de amostras 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 ou soro pode ser armazenado de acordo com as especificações abaixo. Se for transferido para um tubo secundário, o plasma pode ser congelado a uma temperatura de -20 °C ou -70 °C e o soro a -20 °C. Não exceda três ciclos de descongelamento-congelamento para evitar impacto no resultado. Não congele amostras biológicas em EDTA, ACD ou em tubos de coleta principal de soro.

B. Condições de armazenamento das amostras biológicas

1. Amostras biológicas de plasma EDTA e ACD

Durante um período de até 24 horas após a coleta da amostra biológica, os tubos principais com plasma centrifugado podem ser armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C (Figura 1, caixa superior). Após 24 horas, o plasma pode ser armazenado por um período de tempo mais prolongado em uma das seguintes condições (Figura 1, caixas inferiores):

- No tubo de coleta principal de 2 °C a 8 °C por até 3 dias,
- No tubo secundário de 2 °C a 8 °C por até 5 dias ou
- No tubo secundário a -20 °C ou -70 °C por até 90 dias.

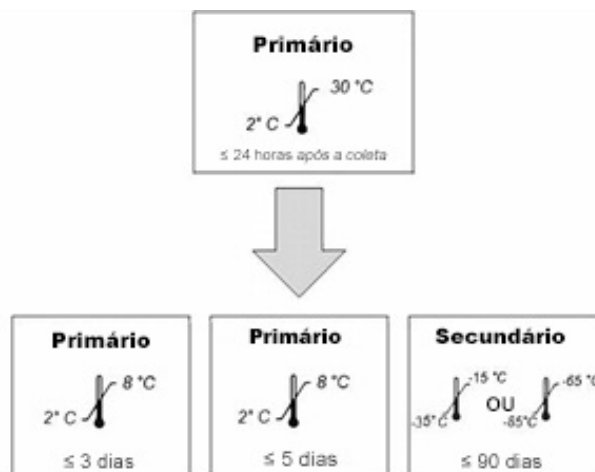


Figura 1. Condições de armazenamento para tubos EDTA/ACD

2. Amostras biológicas em PPT

Durante um período de até 24 horas após a coleta da amostra biológica, os PPTs com plasma centrifugado podem ser armazenados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C (Figura 2, caixa superior). Após 24 horas, o plasma pode ser armazenado por um período de tempo mais prolongado em uma das seguintes condições (Figura 2, caixas inferiores):

- No PPT entre 2 °C e 8 °C por até 3 dias,
- No tubo secundário de 2 °C a 8 °C por até 5 dias ou
- No PPT ou tubo secundário a -20 °C ou -70 °C por até 90 dias.

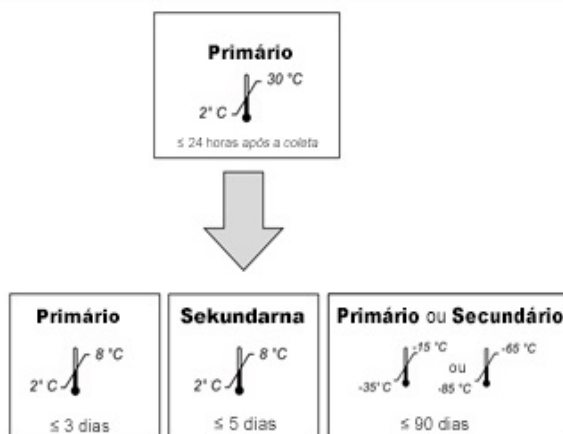


Figura 2. Condições de armazenamento para PPTs

3. Amostras biológicas do tubo de soro

Durante um período de até 24 horas após a coleta da amostra biológica, os tubos de soro que contêm soro centrifugado podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C (Figura 3, caixa superior). Após 24 horas, o soro deverá ser armazenado por um período de tempo maior sob uma das seguintes condições (Figura 3, caixas inferiores):

- No tubo de soro de 2 °C a 8 °C por até 5 dias,
- No tubo secundário de 2 °C a 8 °C por até 5 dias ou
- No tubo secundário a -20 °C por até 90 dias.

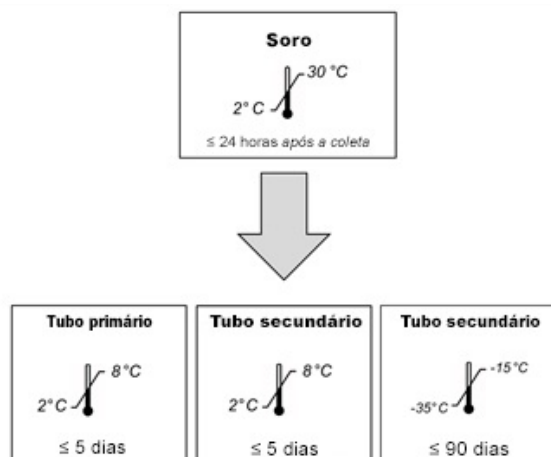


Figura 3. Condições de armazenamento para tubos de soro

4. Amostras biológicas SST

Durante um período de até 24 horas após a coleta da amostra biológica, os SSTs que contêm soro centrifugado podem ser conservados a uma temperatura entre 2 °C e 30 °C (Figura 4, caixa superior). Após 24 horas, o soro deverá ser armazenado por um período de tempo maior sob uma das seguintes condições (Figura 4, caixas inferiores):

- No SST em temperaturas de 2 °C a 8 °C por até 5 dias,
- No tubo secundário de 2 °C a 8 °C por até 5 dias ou
- No tubo secundário a -20 °C por até 90 dias.

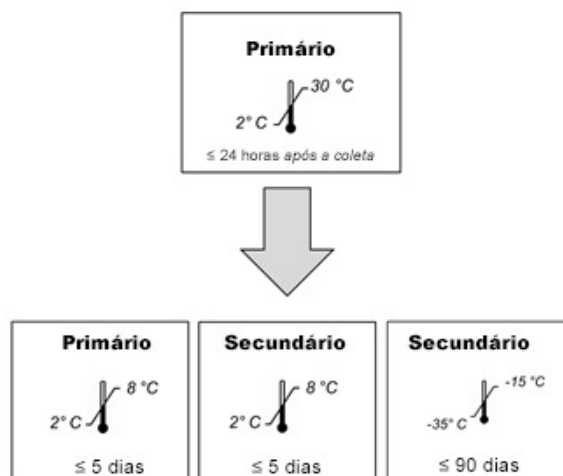


Figura 4. Condições de armazenamento dos SST

C. Diluição das amostras biológicas de plasma

Observação: Uma amostra biológica de plasma deve ser diluída no SAT ou em um tubo secundário de testes no sistema Panther. Para obter mais informações, consulte *Procedimento de teste do sistema Panther, etapa E.4.*

Observação: Se uma amostra biológica for diluída, ela deverá ser testada imediatamente após a diluição. Não congele amostras biológicas diluídas.

 **Observação:** A diluição de amostras biológicas de plasma só pode ser utilizada para resultados quantitativos. Não dilua amostras de plasma para obter resultados diagnósticos.

Amostras no sistema Panther

As amostras podem ficar destampadas no sistema Panther por um período total de até 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 *Coleta e armazenamento de amostras biológicas.*

Observação: 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 HIV-1 Quant Dx estão listados abaixo para o sistema Panther. Os símbolos de identificação de reagentes também estão listados ao lado do nome do reagente.

Reagentes e materiais fornecidos

Kit de ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx

100 testes (1 kit de ensaio, 1 kit calibrador e 1 kit de controle) (Nº ref. PRD-03000)

Calibradores e controles adicionais podem ser solicitados separadamente. Consulte os respectivos números de catálogo abaixo.

Kit de ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx

(armazenar entre 2 °C e 8 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação do qHIV-1 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático do qHIV-1 <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA secas em solução tamponada HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Reagente promotor do qHIV-1 <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
AR	Solução de reconstituição de amplificação do qHIV-1 <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 7.2 mL
ER	Solução de reconstituição enzimática do qHIV-1 <i>Solução tamponada HEPES contendo um surfactante e glicerol.</i>	1 x 5.8 mL
PROR	Solução de reconstituição promotora do qHIV-1 <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 4.5 mL
TCR	Reagente de captura do alvo do qHIV-1 <i>Ácidos nucleicos em uma solução salina tamponada contendo fase sólida, ácidos nucleicos não infecciosos e calibrador interno.</i>	1 x 72.0 mL
	Aros de reconstituição	3
	Folha de códigos de barras do lote mestre	1 folha

Kit do calibrador Aptima HIV-1 Quant Dx (Nº ref. PRD-03001)
(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador positivo do qHIV-1 <i>Transcrição em solução tamponada.</i>	5 x 2.5 mL
	Rótulo do código de barras do calibrador	—

Kit de controle do Aptima HIV-1 Quant Dx (Nº ref. PRD-03002)
(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	Controle negativo do qHIV-1 <i>Plasma humano desfibrinado com HIV-1 negativo, contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 1.5 mL
LPC	Controle positivo baixo do qHIV-1 <i>Armored RNA do HIV-1 não infeccioso em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 1.5 mL
HPC	Controle positivo alto do qHIV-1 <i>Armored RNA do HIV-1 não infeccioso em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 1.5 mL
	Rótulo de código de barras dos controles	—

Materiais necessários, mas disponibilizados em separado

Observação: Os materiais disponibilizados pela Hologic têm os números de referência listados, exceto quando especificado de outra forma.

Material	Nº de ref.
Sistema Panther	303095
Sistema Panther Fusion	PRD-04172
Fluidos e resíduos contínuos sistema Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Kit do calibrador Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Kit de controle do Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Kit de execução do Panther™ para ensaios em tempo real (somente para ensaios em tempo real)	PRD-03455 (5000 testes)
Kit de fluidos do ensaio Aptima® (também conhecido como Kit de fluidos universal) contém solução de lavagem Aptima®, tampão Aptima® para fluido de desativação e reagente de óleo Aptima®	303014 (1000 testes)
Unidades multitubos (MTUs)	104772-02
Kit de bolsas de resíduos Panther™	902731
Tampa para cesto de resíduos Panther™	504405
Ou, o kit de execução do sistema Panther™ (ao realizar ensaios TMA em tempo não real em paralelo com ensaios TMA em tempo real) contém MTUs, bolsas de resíduos, tampas de recipientes de resíduos, detecção automática e fluidos do ensaio	303096 (5000 testes)
Pontas, 1000 µL filtradas, condutivas, sensoriais de líquidos e descartáveis	901121 (10612513 Tecan)
Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Entre em contato com seu representante para obter informações específicas da região	903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Água sanitária, solução de hipoclorito de sódio 5% a 8.25% (0.7 M a 1.16 M)	—
Luvras sem pó descartáveis	—
Tampas de reagentes para substituição	—
Frascos de reconstituição de reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação	CL0041 (100 tampas) CL0040 (100 tampas)
Frasco TCR	—
Protetores de bancada de laboratório com fundo de plástico	—
Lenços sem fiapos	—
Pipetador	—
Ponteiras	—
Opções de tubo de coleta principal (EDTA, ACD, PPT, SST, soro):	—
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrífuga	—
Misturador vórtex	—

Materiais opcionais

Material	Nº de ref.
Opções de tubos secundários:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubos de alíquota de amostras biológicas Aptima (SATs) (embalagem com 100)	FAB-18184
Tampa do tubo de transporte (embalagem com 100) <i>tampa para SAT</i>	504415
Diluyente da amostra biológica Aptima	PRD-03003
Kit de diluentes de amostras biológicas Aptima <i>contém diluyente da amostra biológica, 100 SATs e 100 tampas</i>	PRD-03478
Pipetas de transferência	—
Painéis disponíveis comercialmente, por exemplo:	—
<i>HIV-1 do Controle de qualidade de diagnóstico molecular (QCMD) ou</i> <i>Painel de pesquisa da carga viral HIV do College of American Pathologists</i> <i>(CAP) ou</i> <i>Painéis SeraCare ACCURUN HIV</i>	
Swabs do tipo cotonete	—
Agitador de tubos	PRD-03488

Procedimento de teste do sistema Panther

Observação: Consulte o Manual do Operador do sistema Panther/Panther Fusion para obter informações adicionais sobre procedimentos.

A. Preparação da área de trabalho

1. Limpe as superfícies de trabalho nas quais os reagentes serão preparados. Limpe as superfícies de trabalho com 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 em contato com as superfícies por pelo menos 1 minuto e, em seguida, enxágue com água deionizada (DI). Não deixe que a solução de hipoclorito de sódio seque. Cubra a superfície da bancada, sobre a qual os reagentes e as amostras serão preparados, com protetores plásticos de bancada de laboratório absorventes e limpos.
2. Limpe uma superfície de trabalho separada, na qual as amostras serão preparadas. Use o procedimento descrito acima (etapa A.1).
3. Limpe todos os pipetadores. Use o procedimento descrito acima (etapa A.1).

B. Preparação dos controles e do calibrador

Espere que o calibrador e os controles atinjam de 15 °C a 30 °C antes do processamento da seguinte forma:

1. Remova o calibrador e os controles do armazenamento (de -15 °C a -35 °C) e defina a temperatura entre 15 °C e 30 °C. Durante todo o processo de descongelamento, inverta cada tubo lentamente para misturar completamente. Verifique se o conteúdo dos tubos está totalmente descongelado antes de usá-lo.

Opcional. Os tubos de controle e do calibrador podem ser colocados em um agitador de tubos para misturar completamente. Verifique se o conteúdo dos tubos está totalmente descongelado antes de usá-lo.

Observação: *Evite o excesso de espuma ao inverter o calibrador e os controles. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.*

2. Quando o conteúdo do tubo estiver descongelado, seque a parte externa do tubo com uma toalha descartável seca e limpa.
3. Para evitar a contaminação, não abra os tubos agora.

C. Reconstituição/Preparo de reagentes de um kit novo

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

1. Para preparar o reagente de captura do alvo (TCR), proceda da seguinte forma:
 - a. Remova o TCR do armazenamento (entre 2 °C e 8 °C). Verifique o número do lote no frasco do TCR para conferir se corresponde ao número de lote indicado na Folha de códigos de barras do lote mestre.
 - b. Agite imediatamente o frasco de TCR 10 vezes vigorosamente. Deixe o frasco de TCR a uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer por pelo menos 45 minutos. Durante esse período, gire e inverta o frasco de TCR pelo menos a cada 10 minutos.

Opcional. O frasco de TCR pode ser preparado em um agitador de tubos seguindo estas instruções: Remova o TCR do armazenamento (de 2 °C a 8 °C) e imediatamente agite-o 10 vezes de forma vigorosa. Coloque o frasco de TCR em um agitador de tubos e deixe-o em uma temperatura de 15 °C a 30 °C para aquecer por pelo menos 45 minutos.

- c. Antes de usar, verifique se todo o precipitado está dissolvido e se as partículas magnéticas estão em suspensão.
2. Para reconstituir os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação, proceda da seguinte forma:
 - a. Remova os reagentes liofilizados e as soluções de reconstituição correspondentes do armazenamento (de 2 °C a 8 °C). Combine cada solução de reconstituição com o respectivo reagente liofilizado.
 - b. Confira se as cores do rótulo da solução de reconstituição e dos reagentes liofilizados são correspondentes. Verifique os números de lote na Folha de códigos de barras do lote mestre para conferir se os reagentes adequados estão emparelhados.
 - i. Abra o frasco do 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, Etapa 1).
- iii. Abra o frasco da solução de reconstituição correspondente e coloque a tampa em uma superfície de trabalho coberta e limpa.
- iv. Coloque o frasco da solução de reconstituição em uma superfície estável (por exemplo, uma bancada). Em seguida, inverta o frasco do reagente liofilizado sobre o frasco da solução de reconstituição e fixe firmemente o aro ao frasco da solução de reconstituição (Figura 5, Etapa 2).
- v. Inverta lentamente os frascos montados (frasco ligado ao frasco da solução) para permitir que a solução seja drenada no frasco de vidro (Figura 5, Etapa 3).
- vi. Pegue os frascos montados e gire-os durante pelo menos 10 segundos (Figura 5, Etapa 4).
- vii. Aguarde pelo menos 30 minutos para que o reagente liofilizado passe para a solução.
- viii. Quando o reagente liofilizado estiver na solução, gire os frascos montados durante pelo menos 10 segundos e, em seguida, oscile a solução no frasco de vidro para a frente e para trás para misturá-la totalmente.
- c. Incline lentamente os frascos montados outra vez para permitir que toda a solução seja novamente drenada no frasco da solução de reconstituição (Figura 5, Etapa 5).
- d. Remova cuidadosamente o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, Etapa 6).
- e. Tampe o frasco. Registre as iniciais do operador e a data da reconstituição no rótulo (Figura 5, Etapa 7).
- f. Descarte o aro de reconstituição e o frasco de vidro (Figura 5, Etapa 8).

Aviso: Evite o excesso de espuma ao reconstituir os reagentes. A espuma compromete o sensor de nível do sistema Panther.

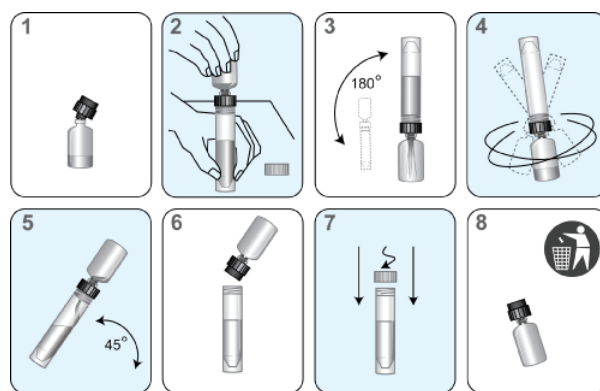


Figura 5. Processo de reconstituição de reagentes

D. Preparo de reagentes para reagentes previamente preparados

1. Remova os reagentes previamente preparados do armazenamento (de 2 °C a 8 °C).
2. Os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação previamente reconstituídos, assim como o TCR, devem atingir a temperatura de 15 °C a 30 °C antes do início do ensaio.

3. Para TCR previamente preparado, execute a Etapa C.1 acima antes de carregar no sistema.
4. Misture bem os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação girando-os e invertendo-os, antes de carregá-los no sistema. Evite o excesso de espuma ao inverter os reagentes.

Opcional: Os reagentes previamente preparados podem ser preparados em um agitador de tubos seguindo estas instruções: Remova os reagentes do armazenamento (de 2 °C a 8 °C). Coloque os reagentes em um agitador de tubos e deixe aquecer entre 15 °C e 30 °C por pelo menos 30 minutos.

5. Não encha os frascos do reagente até o topo. O sistema Panther reconhecerá e rejeitará frascos que tenham sido recarregados.

E. Manuseio de amostras biológicas

1. Verifique se as amostras biológicas processadas em tubos principais ou não diluídas em tubos secundários foram armazenadas corretamente de acordo com *Coleta e armazenamento de amostras biológicas*.
2. Verifique se as amostras biológicas congeladas foram totalmente descongeladas. Agite no vórtex as amostras biológicas descongeladas por 3 a 5 segundos para misturá-las totalmente.
3. Deixe que elas atinjam 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. Verifique se cada tubo de coleta principal contém até 1200 µL de amostra biológica ou se cada SAT contém pelo menos 700 µL de amostra biológica. Consulte a tabela fornecida em *Coleta e armazenamento de amostras biológicas* para identificar os requisitos de volume morto para cada tipo de tubo primário e secundário. Se for necessário diluir a amostra biológica, consulte a Etapa E.5 abaixo para obter informações adicionais.
5. Dilua uma amostra biológica de plasma a 1:3 em um SAT ou a 1:100 em um tubo secundário.

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



Observação: A diluição de amostras biológicas de plasma só pode ser utilizada para resultados quantitativos. Não dilua amostras de plasma para obter resultados diagnósticos.

Observação: 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 de plasma 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. Tampe o tubo.

- iv. Inverta suavemente o tubo 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 relatará automaticamente o resultado puro do produto, aplicando o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

- b. Diluição de amostras biológicas de alta titulação

Se o resultado da amostra biológica estiver acima do limite de quantificação, ele 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 em um tubo secundário.
- ii. Adicione 2970 µL de diluente de amostras biológicas Aptima.
- iii. Tampe o tubo.
- iv. Inverta suavemente o tubo 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 relatará automaticamente o resultado puro do produto, aplicando o fator de diluição. Essas amostras biológicas serão sinalizadas como amostras biológicas diluídas.

Observação: Nas amostras biológicas diluídas com concentrações puras superiores ao ULoQ (limite superior de quantificação), os resultados serão relatados com uma notação científica.

6. Imediatamente antes de carregar as amostras biológicas em um suporte de amostras, centrifugue cada uma delas entre 1000 a 3000g durante 10 minutos. Não remova as tampas. A presença de bolhas no tubo pode comprometer o sensor de nível do sistema Panther.

Consulte *Preparação do sistema*, Etapa F.2 abaixo para obter informações sobre o carregamento do suporte e a remoção de tampas.

F. Preparação do sistema

1. Configure o sistema de acordo com as instruções no *Manual de instruções do sistema Panther/Panther Fusion* e *Notas de procedimento*. Use os suportes de reagentes e adaptadores de TCR de tamanho adequado.
2. Carregue as amostras no suporte de amostras. Execute as etapas abaixo para cada tubo de amostra (amostra biológica e, quando necessário, calibrador e controles):

- a. Afrouxe a tampa de um tubo de amostra, mas não remova a tampa ainda.

Observação: Tome cuidado para evitar a contaminação por disseminação de aerossóis. Afrouxe as tampas das amostras cuidadosamente.

- b. Carregue o tubo de amostra no suporte de amostras.
- c. Repita as Etapas a e b para cada amostra restante.
- d. Depois que as amostras forem carregadas no suporte de amostras, retire e descarte a tampa de cada um dos tubos em um suporte de amostras. Para evitar a contaminação, não passe uma tampa sobre nenhum outro suporte ou tubos de amostras.

- e. Se necessário, use uma nova pipeta de transferência descartável para remover bolhas ou espumas.
- f. Quando a última tampa tiver sido removida, carregue o suporte de amostras no compartimento de amostras.

Observação: Se estiver executando 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 amostragem.

- g. Repita as Etapas a a f para o próximo suporte de amostras.

Notas de procedimento

A. Calibrador e controles

1. O calibrador positivo do qHIV-1, o controle positivo baixo do qHIV-1, o controle positivo alto do qHIV-1 e o controle negativo do qHIV-1 podem ser carregados em qualquer posição no Suporte de amostra e na rota do compartimento de amostragem no sistema Panther. A pipetagem de amostras biológicas começará quando uma das duas condições a seguir for atendida:
 - a. O calibrador e os controles estiverem atualmente sendo processado pelo sistema.
 - b. Resultados válidos para o calibrador e os controles estiverem registrados no sistema.
2. Depois que os tubos do calibrador e do controle forem pipetados e estiverem sido processados para um kit de reagente do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, as amostras biológicas poderão ser testadas com o kit reconstituído associado por até 24 horas, **a menos que:**
 - a. Os resultados do calibrador ou do controle sejam inválidos.
 - b. O kit de reagentes de ensaio associado tenha sido removido do sistema.
 - c. O kit de reagente do ensaio associado tenha excedido os limites de estabilidade.
3. O calibrador e cada tubo de controle só podem ser usados uma vez. Tentativas de usar o tubo mais de uma vez podem levar a erros de processamento.

B. Talco para luva

Como em qualquer sistema de reagentes, o excesso de talco em algumas luvas pode causar a contaminação de tubos abertos. É recomendado o uso de luvas sem talco.

Controle de qualidade

Uma execução ou resultado de uma amostra biológica poderá ser invalidada por um operador, se dificuldades técnicas, do operador ou dos instrumentos forem observadas durante a execução do ensaio e essas dificuldades forem documentadas. Nesse caso, as amostras biológicas deverão ser testadas novamente.

Calibração do ensaio

Para gerar resultados válidos, a calibração de um ensaio deve ser concluída. Um único calibrador positivo é executado em triplicado cada vez que um kit de reagente é carregado no sistema Panther. Depois de estabelecida, a calibração é válida por até 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando uma calibração é necessária. O operador verifica o coeficiente de calibração encontrado na folha de código de barras do lote mestre, fornecida com cada kit de reagentes.

Durante o processamento, os critérios para a aceitação do calibrador são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Se menos de duas réplicas dos calibradores forem válidas, o software invalidará a execução automaticamente. As amostras contidas em uma execução invalidada deverão ser testadas novamente usando um calibrador e controles recém-preparados.

Controles positivos e negativos

Para gerar resultados válidos, é necessário testar um conjunto de controles do ensaio. Uma réplica do controle negativo, do controle positivo baixo e do controle positivo elevado deve ser testada sempre que um kit de reagente for carregado no sistema Panther. Depois de estabelecidos, os controles serão válidos por até 24 horas. O software do sistema Panther alerta o operador quando os controles são necessários.

Durante o processamento, os critérios de aceitação dos controles são automaticamente verificados pelo software do sistema Panther. Para gerar resultados válidos, o controle negativo deve gerar um resultado de “Não detectado” e os controles positivos devem gerar resultados com parâmetros predefinidos (Alvo LPC: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ cópias/mL, Alvo HPC: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ cópias/mL). Se algum dos controles tiver um resultado inválido, o software invalidará automaticamente a execução. As amostras contidas em uma execução invalidada deverão ser testadas novamente usando um calibrador e controles recém-preparados.

Calibrador interno/Controle interno

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

Observação: Os resultados quantitativos do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foram avaliados com plasma. O soro não pode ser utilizado para resultados quantitativos. Os resultados qualitativos foram avaliados com plasma e com soro.

O sistema Panther determina automaticamente o RNA do HIV-1 para amostras biológicas e controles, comparando os resultados em uma curva de calibração. As concentrações de RNA no HIV-1 são relatadas em cópias/mL e $\log_{10}$ cópias/mL. A interpretação dos resultados é fornecida na Tabela 1. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx tem sistemas de detecção e amplificação de duas metas, direcionados ao pol e LTR de forma independente. O resultado relatado pelo sistema será baseado no sistema principal, pol, a menos que esse não esteja amplificado. Nesses casos, o sistema relatará o resultado do sistema secundário, LTR.

Se a diluição 1:3 ou 1:100 for usada para amostras biológicas diluídas, o sistema Panther calculará automaticamente a concentração de HIV-1 na amostra biológica não diluída, multiplicando a concentração diluída pelo fator de diluição, e as amostras diluídas serão sinalizadas como diluídas.

Observação: Para as amostras biológicas diluídas, os resultados listados como “Não detectado” ou “<30 detectados” podem ser gerados diluindo uma amostra biológica com a concentração acima, porém próximo ao limite de detecção (LoD) ou ao limite inferior de quantificação (LLOQ). Se um resultado quantitativo não for obtido, recomendamos coletar e testar outra amostra biológica não diluída.

O sistema Panther não fornece um resultado qualitativo (por exemplo, “Reativo” ou “Não reativo”) para uso diagnóstico. O operador deverá interpretar a concentração relatada de RNA no HIV-1 em um resultado qualitativo (Tabela 1). As amostras biológicas com resultados listados como “Não detectado” não são reativas ao RNA do HIV-1. As amostras biológicas com resultados listados com “<30 detectados” ou com resultados listados dentro e acima de um intervalo linear indicam que o RNA do HIV-1 foi detectado, e que essas amostras biológicas são reativas ao RNA do HIV-1.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado relatado do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx		Concentração de RNA do HIV-1 Interpretação	Interpretação qualitativa do diagnóstico do usuário ^c
Cópias/mL ^a	Valor de $\log_{10}$ ^b		
Não detectado	Não detectado	RNA do HIV-1 não detectado	RNA do HIV-1 não reativo
< 30 detectado	<1.47	O RNA do HIV-1 foi detectado, porém a um nível abaixo do LLOQ.	Reativo para RNA do HIV-1
30 a 10,000,000	1.47 a 7.00	A concentração de RNA do HIV-1 está dentro do intervalo linear de 30 a 10 milhões de cópias/mL.	Reativo para RNA do HIV-1
>10,000,000	>7.00	A concentração de RNA do HIV-1 está acima do limite superior da quantificação (ULOQ).	Reativo para RNA do HIV-1
Inálido ^d	Inálido ^d	Ocorreu um erro na geração do resultado. A amostra biológica deve ser testada novamente.	Inálido ^d

^a O fator de conversão para cópias das unidades internacionais (IU) do 3º padrão internacional para o RNA do HIV-1 (10/152) é 0.35 cópias/IU.

^b O valor está truncado para duas casas decimais.

^c A interpretação de um diagnóstico não deve ser feita em um resultado “não reativo” para amostras biológicas que tenham sido diluídas. Obtenha uma nova amostra biológica não diluída e teste novamente.

^d Os resultados inválidos são exibidos em fonte azul.

Depois que os resultados forem disponibilizados na tela de resultados, o valor de quantificação para cada meta poderá ser acessado usando o recurso Relatório de curva da amostra no software do sistema Panther. Para exibir os valores e as curvas de amplificação, selecione o ID da amostra para as amostras na tela Resultados do software do sistema Panther. Selecione o botão “Dados da curva”. Uma janela abrirá contendo o relatório da curva de amostras, que inclui perfis fluorescentes e valores de quantificação para a amostra.

Observação: Os dados obtidos no relatório da curva de amostras é somente para fins informativos (por exemplo, solução de problemas e verificação da curva). O resultado validado a ser relatado para a amostra é fornecido pelo software do sistema Panther na tela Resultados e no relatório de resultados.

Observação: Consulte o Manual do operador do sistema Panther/Panther Fusion para obter mais instruções sobre as execuções do sistema Panther.

Os critérios de aceitação para cada um dos controles do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx são descritos em Tabela 2.

Observação: O intervalo de recuperação listado abaixo muda com base no valor atribuído de cada lote específico. Consulte a concentração atribuída listada no encarte da Folha de código de barras de controles fornecido com cada caixa de controles.

Tabela 2: Critérios de aceitação do intervalo de recuperação para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx

Componente	Intervalo de recuperação para execuções válidas
Controle negativo	N/A
Controle positivo baixo	+/- 0.5 log ₁₀ cópias/mL
Controle positivo alto	+/- 0.5 log ₁₀ cópias/mL

Limitações

- A. O uso deste ensaio é limitado a profissionais treinados no procedimento. Deixar de seguir as instruções fornecidas neste folheto informativo pode resultar em resultados incorretos.
- B. A confiabilidade dos resultados depende da coleta, transporte, armazenamento e processamento apropriados da amostra biológica.
- C. Este ensaio foi validado para uso como um ensaio quantitativo somente com plasma humano com EDTA e ACD.
- D. Este ensaio foi validado para uso como um ensaio qualitativo com soro e plasma humano com EDTA e ACD.
- E. Apesar de raras, mutações poderão ocorrer em regiões altamente conservadas do genoma viral abrangidas pelos “primers” e/ou sondas no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, que poderão resultar na subquantificação do vírus ou em falha na detecção do vírus.
- F. Este ensaio não foi validado para uso em pacientes submetidos a terapias baseadas em vetores lentivirais, como a terapia com células CAR-T. Regiões potencialmente sobrepostas do genoma viral, cobertas pelos primers e/ou sondas no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, podem resultar na amplificação de vetores lentivirais usados em terapias baseadas em vetores lentivirais.

Desempenho analítico

Limite de detecção (LoD) usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1

O limite de detecção (LoD) é definido como a concentração de RNA do HIV-1, que é detectada por 95% de probabilidade, ou maior, de acordo com a norma CLSI EP17-A2 (37). O LoD foi determinado testando os painéis formados por diluições do 3º padrão internacional da OMS para HIV-1 (subtipo B, código NIBSC: 10/152) em plasma e soro com EDTA negativos para HIV-1. Trinta réplicas de cada diluição foram executadas em três sistemas Panther, usando três lotes de reagentes em um total de 90 réplicas para cada diluição. Segundo a norma CLSI EP17-A2, os LoDs foram definidos usando os resultados do lote de reagentes com a maior concentração para o LoD limite de detecção previsto, conforme mostrado na Tabela 3. Por meio da análise Probit, o limite de detecção previsto de 95% do LoD para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx é de 12 cópias/mL (35 UI/mL) no plasma e 8.9 cópias/mL (25 UI/mL) no soro (0.35 copies=1 IU).

Tabela 3: Limite de detecção do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1

Previsto Limite de detecção	Plasma		Soro	
	Concentração (cópias/mL)	Concentração (UI/mL)	Concentração (cópias/mL)	Concentração (UI/mL)
10%	1.2	3.3	0.8	2.2
20%	1.6	4.6	1.1	3.1
30%	2.0	5.7	1.4	4.0
40%	2.5	7.2	1.7	4.9
50%	3.1	8.8	2.1	5.9
60%	3.8	11	2.5	7.2
70%	4.8	14	3.1	8.9
80%	6.2	18	4.0	11
90%	9.0	26	5.8	17
95%	12.1	35	8.9	26

Limite de detecção em vários grupos e subtipos do HIV-1

Para o grupo M do HIV-1 (subtipos A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) e grupos N e O, foram criados seis painéis positivos e um negativo mediante a adição do vírus HIV-1 cultivado ou de amostras biológicas clínicas positivas ao soro e plasma EDTA humano HIV-1-negativo (0 a 40 cópias/mL). Cada membro do painel foi testado em 30 réplicas com dois lotes de reagentes para um total de 60 réplicas por membro do painel. A atribuição da concentração para as amostras biológicas clínicas ou os estoques de vírus cultivados foi determinada utilizando um ensaio de comparação. A análise Probit foi realizada para gerar limites de detecção previstos de 50% e 95%. De acordo com CLSI EP17-A2 (37), os LoDs foram definidos usando os resultados do lote de reagentes com a maior concentração para o limite de detecção previsto definido como LoD, mostrado na Tabela 4.

Tabela 4: Limite de detecção em vários grupos e subtipos do HIV-1

Subtipo/Grupo	Limite de detecção previsto	Plasma	Soro
		Concentração (cópias/mL)	Concentração (cópias/mL)
A	50%	3.0	4.0
	95%	11.5	14.5
CRF01_AE	50%	1.5	4.5
	95%	4.5	15.7
CRF02_AG	50%	3.8	4.3
	95%	15.1	14.3
C	50%	2.0	4.1
	95%	9.8	16.7
D	50%	4.2	3.7
	95%	13.8	15.2
F	50%	2.4	4.9
	95%	8.9	15.0
G	50%	3.5	2.5
	95%	15.7	6.5
N	50%	1.4	2.1
	95%	6.1	5.9
O	50%	1.9	6.5
	95%	6.5	27.2

Intervalo linear

O intervalo linear do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi estabelecido por painéis de teste que consistiram no vírus HIV-1 subtipo B cultivado, diluído em plasma EDTA humano HIV-1-negativo de acordo com a norma CLSI EP06-A (38). A concentração dos painéis variou de 1.3 a 7.3 $\log_{10}$ cópias/mL. Os testes foram realizados em sete sistemas Panther com dois lotes de reagentes. Conforme mostrado na Figura 6, o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx demonstrou linearidade em todo o intervalo testado.

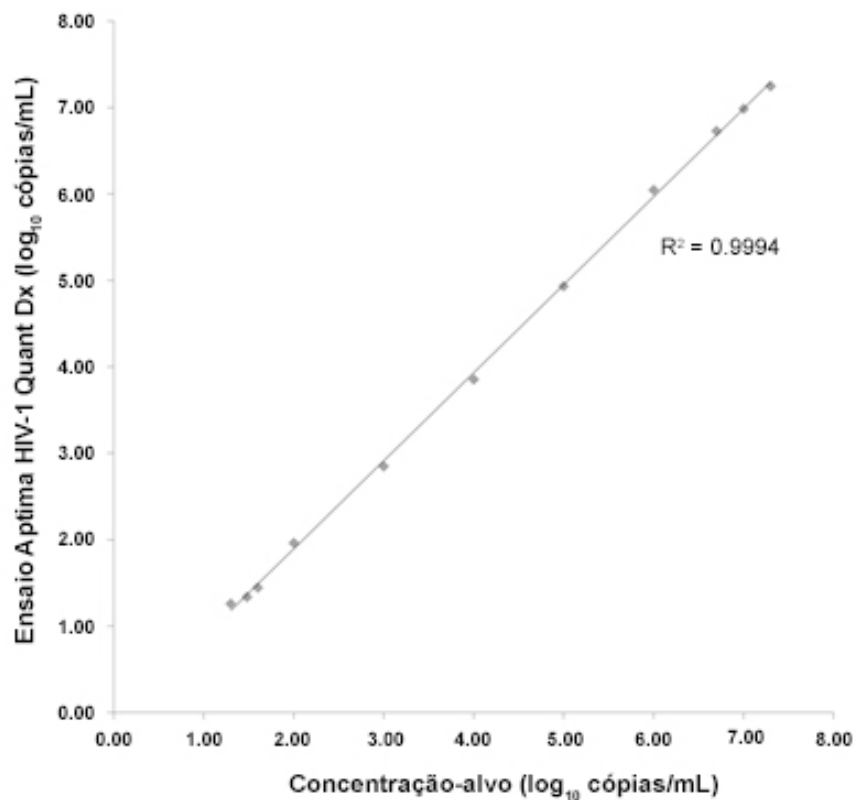


Figura 6. Linearidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx

Linearidade nos subtipos e grupos do HIV-1

A resposta linear do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx nos grupos M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE), N e O foi confirmada por teste de painéis constituídos por transcrito de HIV-1 diluído no tampão em concentrações que variaram de 2 a 6.70 log₁₀ cópias/mL. Os testes foram realizados em quatro sistemas Panther e seis execuções. Foi demonstrada linearidade em todo o intervalo testado (Figura 7).

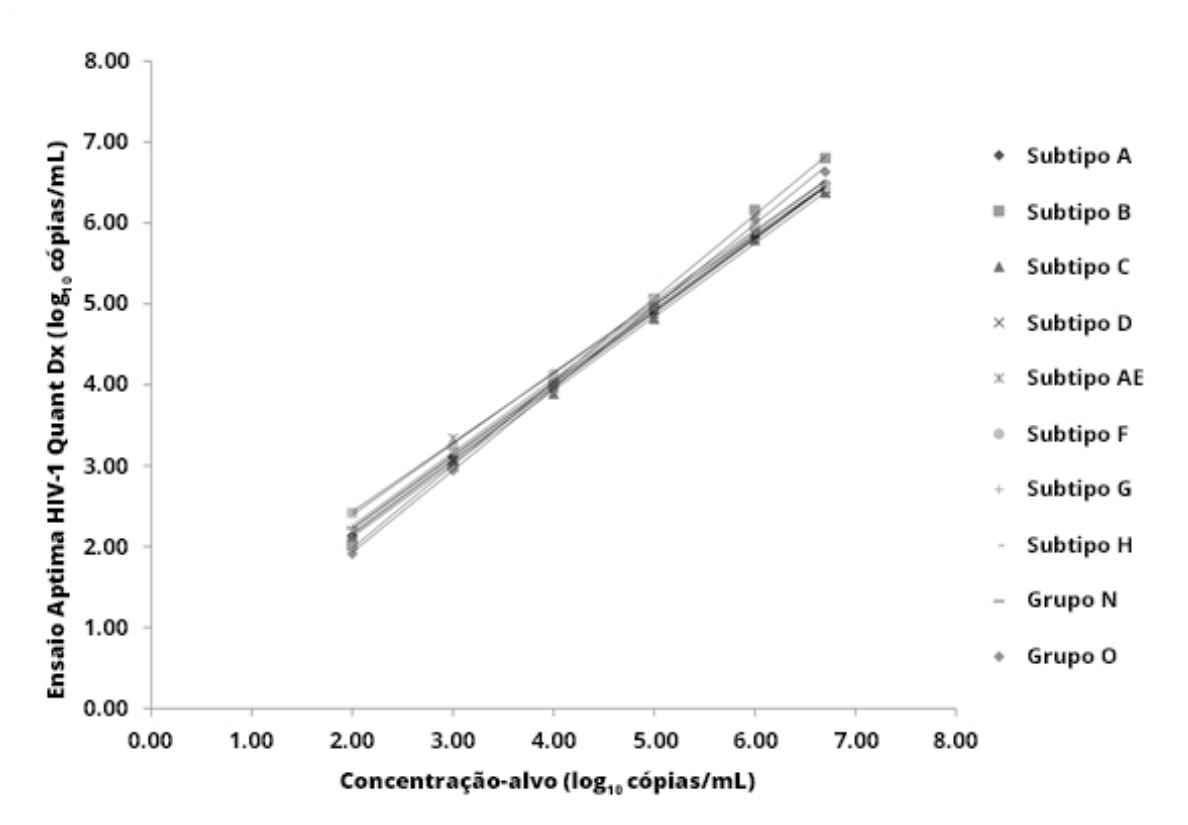


Figura 7. Linearidade no grupo M (Subtipos A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) e grupos N e O.

Determinação do limite inferior de quantificação usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1

O limite inferior de quantificação (LLOQ) é definido como a menor concentração na qual o RNA do HIV-1 é quantizado de forma segura em um total de erros (TE), de acordo com a norma CLSI EP17-A2 (37). O TE foi calculado usando a regra de Westgard ($TE = |\text{viés}| + 2SD$). Para garantir a precisão e exatidão das medidas, o TE do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi definido como 1 $\log_{10}$ cópias/mL (por exemplo, no LLOQ, a diferença entre duas medidas ou mais do que 1 $\log_{10}$ cópias/mL é estatisticamente significativo).

O LLOQ foi determinado por painéis de teste formados pelas diluições do 3º padrão internacional da OMS para HIV-1 (subtipo B, código NIBSC: 10/152) em plasma EDTA humano negativo para HIV-1. De acordo com a norma CLSI EP17-A2, os painéis foram testados com três lotes de reagentes em réplicas de 30 para cada lote, de 23 execuções. Os resultados estão exibidos na Tabela 5. O LLOQ nos três lotes testados no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1 é de 15 cópias/mL (1.17 $\log_{10}$ cópias/mL) (Tabela 6).

Tabela 5: Determinação do LLOQ no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1

Lote de reagentes	Concentração alvo ($\log_{10}$ cópias/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ cópias/mL)	DP ($\log_{10}$ cópias/mL)	Viés ($\log_{10}$ cópias/mL)	TE calculado ($\log_{10}$ cópias/mL)
1	1.15	1.05	0.37	0.10	0.84
	1.24	0.94	0.35	0.30	1.00
	1.42	1.37	0.33	0.05	0.71
	1.54	1.47	0.22	0.07	0.50
	1.94	1.98	0.13	0.04	0.30
	2.42	2.45	0.07	0.03	0.17
2	1.15	0.50	0.33	0.65	1.31
	1.24	0.80	0.44	0.45	1.33
	1.42	0.93	0.37	0.49	1.24
	1.54	1.17	0.31	0.38	0.99
	1.94	1.75	0.21	0.19	0.62
	2.42	2.28	0.21	0.14	0.55
3	1.15	0.88	0.41	0.26	1.09
	1.24	0.98	0.35	0.27	0.97
	1.42	1.15	0.34	0.27	0.96
	1.54	1.35	0.37	0.20	0.93
	1.94	1.84	0.17	0.11	0.44
	2.42	2.37	0.11	0.05	0.27

DP=desvio padrão TE=total de erros.

Tabela 6: Resumo do LLoQ usando o 3º padrão internacional da OMS para HIV-1 (3 lotes de reagentes)

Lote de reagentes	LLoQ (log ₁₀ cópias/mL)	LLoQ (cópias/mL)
1	0.94	8.7
2	1.17	15
3	0.98	9.5

Verificação do LLoQ nos grupos e subtipos de HIV-1

O baixo LoQ em vários subtipos e grupos de HIV-1 foi definido seguindo a norma CLSI EP17-A2 (37). Os painéis foram fabricados para cada grupo M do HIV-1 (subtipos A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) e grupos N e O mediante adição de plasma humano HIV-1-negativo agrupado de amostras biológicas naturalmente infectadas ou isolados clínicos. Os testes consistiram em um total de 30 réplicas por membro do painel. Os dados na Tabela 7 mostram a concentração mais baixa para cada subtipo ou grupo em que o TE tenha sido inferior a 1 log₁₀ cópias/mL. O LLoQ mais elevado para todos os subtipos e grupos testados foi de 30 cópias/mL. Esse valor mais elevado foi por isso selecionado como o LLoQ para o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabela 7).

Tabela 7: Verificação do LLoQ por subtipo ou grupo de HIV-1

Painel	LLoQ (cópias/mL)
Subtipo A	30
Subtipo CRF01_AE	10
Subtipo CRF02_AG	30
Subtipo B	10
Subtipo C	30
Subtipo D	15
Subtipo F	15
Subtipo G	30
Grupo N	10
Grupo O	15

Precisão

Para avaliar a precisão do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, um painel produzido pela adição de vírus HIV-1 subtipo B de cultura a plasma HIV-1-negativo foi testado por três operadores utilizando três lotes de reagentes em três sistemas Panther durante 20 dias (Tabela 8). O painel consistiu de um membro HIV-1 negativo e oito membros do painel HIV-1 positivos. A atribuição da concentração para as amostras biológicas clínicas ou os estoques de vírus cultivados foi determinada utilizando um ensaio de comparação.

Tabela 8: Precisão do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx

Número de réplicas válidas	Concentração média (log ₁₀ cópias/mL)	Entre instrumentos		Entre operadores		Entre lotes		Entre execuções		Intra-execução		Total	
		DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)	DP	CV (%)
137	1.80	0.00	0.00	0.03	1.72	0.00	0.00	0.00	0.00	0.16	8.93	0.16	9.10
157	2.37	0.00	0.00	0.05	2.08	0.01	0.36	0.08	3.33	0.15	6.19	0.17	7.34
160	2.47 ^a	0.00	0.00	0.03	1.37	0.03	1.35	0.07	2.97	0.12	5.03	0.15	6.15
162	2.95	0.00	0.00	0.08	2.57	0.02	0.61	0.10	3.29	0.09	3.04	0.15	5.20
162	3.80	0.01	0.32	0.03	0.80	0.02	0.48	0.06	1.49	0.07	1.80	0.10	2.53
159	4.93	0.00	0.00	0.02	0.37	0.04	0.77	0.05	1.10	0.04	0.71	0.08	1.56
162	5.69	0.00	0.00	0.02	0.27	0.04	0.66	0.03	0.58	0.07	1.29	0.09	1.58
162	6.71	0.00	0.00	0.01	0.22	0.04	0.52	0.04	0.60	0.05	0.78	0.08	1.13

CV=coeficiente de variação, DP=desvio padrão

^a Este membro do painel foi diluído 1:3 com diluente da amostra biológica e testado para avaliar a precisão da amostra diluída.

Observação: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa, o que pode ocorrer se a variabilidade devido a esses fatores for muito pequena. Quando isto ocorrer, DP = 0 e CV = 0%. O número de réplicas testadas foi de 162 para cada painel. Só foram analisadas réplicas com um valor numérico.

Substâncias endógenas e exógenas possivelmente interferentes

A suscetibilidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx a interferências pelos níveis elevados de substâncias endógenas e por medicamentos comumente prescritos para indivíduos infectados pelo HIV-1 foi avaliada. As amostras biológicas de plasma humano com HIV-1 negativo e as amostras contaminadas com o HIV-1 para uma concentração de 3 log₁₀ cópias/mL do RNA do HIV-1 foram testadas.

Nenhuma interferência no desempenho do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi observada na presença de albumina (90 mg/mL), hemoglobina (5 mg/mL), triglicerídios (30 mg/mL) ou bilirrubina não conjugada (0.2 mg/mL).

Nenhuma interferência no desempenho do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi observada na presença das substâncias exógenas listadas na Tabela 9 em concentrações pelo menos três vezes maiores que a C_{máx} (plasma humano).

Tabela 9: Substâncias exógenas

Grupo de substâncias exógenas	Substâncias exógenas testadas
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesylate, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapina, efavirenz, rilpivirina, claritromicina, anfotericina B
3	Tenofovir disoproxil fumarate, adefovir dipivoxil, ribavirina, enfuvirtida, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Sulfato de abacavir, didanosina, zidovudina, lamivudina, stavudina, entecavir, telbivudina, entricitabina
5	Paroxetina HCl, fluoxetina, sertralina
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampin/rifampicina, etambutol
7	Ciprofloxacino, azitromicina, amoxicilina, cefalexina, ampicilina, trimetoprima
8	Cloridrato de Valganciclovir, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylated interferon alpha -2b, interferon alpha -2a, interferon alpha -2b
10	Heparina, EDTA, citrato de sódio
11	Tipranavir
12	Isoniazida

As amostras biológicas clínicas de plasma EDTA listadas na Tabela 10 de pacientes com níveis elevados das substâncias definidas ou de pacientes com as doenças listadas foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx com e sem a presença de 3 log₁₀ cópias do RNA para HIV-1. Não foi observada nenhuma interferência no desempenho.

Tabela 10: Tipos de amostras biológicas clínicas testadas

Tipos de amostras biológicas clínicas	
1	Fator reumatoide (FR)
2	Anticorpo antinuclear (ANA)
3	Anticorpo Anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lúpus eritematoso sistêmico (LES)
5	Atrite reumática (AR)
6	Esclerose múltipla (EM)
7	Hiperglobulinemia
8	Alanina aminotransferase (ALT) elevada
9	Cirrose alcoólica (CA)
10	Mieloma múltiplo (MM)
11	Lipêmico (lipídios elevados)
12	Ictérico (bilirrubina elevada)
13	Hemólise (hemoglobina elevada)
14	Proteína albumina elevada
15	Anticorpos anti-HCV
16	Anticorpos anti-HBV
17	Anticorpos anti-HIV-2

Desempenho com as amostras biológicas negativas de HIV-1

A especificidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi determinada usando 120 amostras biológicas frescas de plasma EDTA com HIV-1 negativo e 510 congeladas. O RNA do HIV-1 não foi detectado em 630 amostras (especificidade de 100%; IC de 95%: 99.4-100%) (Tabela 11).

Tabela 11: Especificidade nas amostras biológicas do plasma

	Plasma fresco	Plasma congelado	Todos
Réplicas válidas (n)	120	510	630
Não reativo	120	510	630
Especificidade (IC de 95%)	100% (97-100)	100% (99.3-100)	100% (99.4-100)

IC = intervalo de confiança

Contaminantes microbianos potencialmente interferentes

A potencial reatividade cruzada com agentes patogênicos (Tabela 12) foi avaliada no ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx na presença ou na ausência de 3 log₁₀ cópias/mL RNA do HIV-1 no plasma EDTA humano negativo para HIV-1. Nenhuma interferência no desempenho do ensaio foi observada na presença de agentes patogênicos.

Tabela 12: Agentes patogênicos testados para reatividade cruzada

Patógeno	Concentração
Vírus da hepatite A	100,000 PFU/mL ^a
Vírus da hepatite B	100,000 UI/mL ^b
Vírus da hepatite C	100,000 UI/mL
Vírus da hepatite G	100,000 cópias/mL
Vírus da herpes simplex 1 (HSV-1)	100,000 PFU/mL
Vírus da herpes simplex 2 (HSV-2)	75,000 PFU/mL
Vírus da herpes humana 6	100,000 cópias/mL
Vírus da herpes humana 8	42,000 PFU/mL
HIV-2	5.500 PFU/mL
Vírus linfotrófico de células T humanas (HTLV)	100,000 vp/mL ^c
Vírus do Nilo Ocidental	100,000 cópias/mL
Parvovírus B19	100,000 UI/mL
Citomegalovírus	100,000 cópias/mL
Vírus Epstein-Barr	100,000 cópias/mL
Adenovírus tipo 5	100,000 PFU/mL
Vírus da dengue	100,000 cópias/mL
Vírus da Influenza A	100,000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000,000 UFC/mL ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1,000,000 UFC/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,000,000 UFC/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,000,000 UFC/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300,000 IFU/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1,000,000 UFC/mL

^a PFU/mL=Unidades formadoras de placas por mL.^b UI/mL=Unidades internacionais por mL.^c vp/mL=Partículas virais por mL.^d CFU/mL=Unidades formadoras de colônia por mL.^e IFU/mL=Unidades formadoras de inclusão por mL.

Repetibilidade de amostras biológicas clínicas

Foram testadas dez amostras de plasma EDTA clínicas e dez amostras de soro em três réplicas, usando o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. A concentração média e o desvio padrão (DP) são mostrados na Tabela 13 e na Tabela 14.

Tabela 13: Repetibilidade de amostras biológicas clínicas de plasma

Amostra biológica	Plasma	
	Concentração média (log ₁₀ cópias/mL)	DP
1	2.57	0.06
2	3.20	0.03
3	3.24	0.06
4	3.97	0.02
5	4.20	0.05
6	4.85	0.01
7	5.17	0.04
8	5.51	0.06
9	5.84	0.02
10	6.64	0.00

DP = desvio-padrão

Tabela 14: Repetibilidade de amostras biológicas clínicas de soro

Amostra biológica	Soro	
	Concentração média (log ₁₀ cópias/mL)	DP
1	1.68	0.10
2	2.44	0.19
3	3.08	0.03
4	3.37	0.06
5	4.05	0.04
6	4.55	0.06
7	5.06	0.04
8	5.49	0.05
9	6.28	0.02
10	6.79	0.04

DP = desvio-padrão

Diluição de amostras usando diluentes de amostras biológicas

Para avaliar a diluição de uma amostra, um painel formado por 11 amostras com concentrações que incluem a variedade linear do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx, e que consistem em duas amostras acima do LSQ (limite superior de quantificação) do ensaio, foram testadas puras e diluídas (1:3 ou 1:100 em diluentes da amostra biológica) em triplicado (Tabela 15).

Tabela 15: Diluição da amostra

Diluição	Concentração média pura (log ₁₀ cópias/mL)	Concentração média relatada ^a (log ₁₀ cópias/mL)	Diferença
1:3	2.57	2.72	0.15
	3.20	3.33	0.13
	3.24	3.55	0.30
	3.97	4.05	0.07
	4.20	4.24	0.04
	4.85	4.81	-0.04
	5.17	5.08	-0.08
	5.51	5.32	-0.19
	5.84	5.94	0.10
	6.64	6.66	0.02
	2.46 ^b	2.19	-0.27
1:100	>7.00 (7.16 ^c)	7.48	0.32
1:100	>7.00 (7.40 ^c) ^b	7.39	-0.01

^a A concentração relatada é o valor indicado pelo sistema Panther após a aplicação do fator de diluição.

^b Amostra biológica enriquecida.

^c Todos os resultados > 7.00 log₁₀ cópias/mL foram estimados usando análise adicional.

Carryover

Para que o sistema Panther minimizasse o risco de resultados falso positivos devido a uma contaminação na transferência, um estudo analítico de várias execuções foi realizado usando os painéis fortificados em dois sistemas Panther. O carryover foi avaliado usando amostras contaminadas com HIV-1 de alta titulação (7 log₁₀ cópias/mL) intercaladas entre amostras negativas de HIV-1 em um padrão xadrez. O teste foi feito durante cinco execuções. A taxa de transferência geral foi de 0% (n=469).

Painel de soroconversão

Dezenove conjuntos de painéis de soroconversão do HIV-1, consistindo em 204 amostras, foram testados usando o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. A detecção do RNA do HIV-1 foi comparada à detecção com testes de antígeno p24 e com testes de anticorpos anti-HIV-1/2. O número de dias até o primeiro resultado reativo usando testes de antígeno p24, testes de anticorpos anti-HIV-1/2 e o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx estão listados na Tabela 16. O ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx detectou o RNA do HIV-1 em média 5.58 e 11.16 dias antes dos testes de antígeno p24 e de anticorpos anti-HIV-1/2.

Tabela 16: Resumo dos dados do painel de soroconversão

ID do painel	Número de membros do painel testados	Número de membros do painel reativos			Dias até o primeiro resultado reativo			Diferença em dias até o primeiro resultado reativo (com base na data da coleta)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antígeno p24 do HIV	Anticorpo anti-HIV-1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antígeno p24 do HIV	Anticorpo anti-HIV-1/2	Detecção antes do antígeno p24 do HIV em dias	Detecção antes do anticorpo anti-HIV-1/2 em dias
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Total	204	82	51	20			Média Mediana	5.58 7	11.16 12

^a Todas as coletas neste painel foram não reativas para o anticorpo anti-HIV-1/2. O último dia de coleta foi usado como "Dias até o primeiro resultado reativo".

O teste de anticorpos anti-HIV-1/2 foi realizado com o Abbot Anti-HIV 1/2, com as seguintes exceções:

^b Os painéis PRB974, PRB975 e PRB978 foram testados com o teste Siemens Anti-HIV 1/2.

O teste do antígeno p24 do HIV-1 foi realizado com o Coulter HIV-1 p24 Ag, com as seguintes exceções:

^b Os painéis PRB974, PRB975 e PRB978 foram testados com o teste BioMérieux p24 Ag.

Estudo de equivalência de soro e plasma

Para avaliar a equivalência, foram utilizados conjuntos correspondentes de soro e plasma (25 positivos para HIV-1 e 25 negativos para HIV-1) e 40 amostras que foram enriquecidas com HIV-1 cultivado (50–1,000,000 cópias/mL em plasma e soro negativos para HIV-1) foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. A concordância negativa foi de 100.0% (IC de 95%: 97.0%–100.0%). A concordância positiva foi de 98.4% (IC de 95%: 95.4%–99.5%).

Estudos de reprodutibilidade

Reprodutibilidade nas amostras de plasma

A reprodutibilidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras de plasma foi avaliada em três locais externos. Dois operadores executaram o teste em cada local. Cada um realizou 2 execuções por dia durante 3 dias, usando 3 lotes de reagentes durante os testes. Cada execução tinha 3 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada usando os membros do painel que consistiam de plasma EDTA negativo para HIV-1. Os membros positivos do painel foram criados contaminando o plasma negativo com vírus cultivado (HIV-1 subtipo B) nas concentrações de toda a gama linear do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

A Tabela 17 mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados do ensaio para cada membro positivo do painel entre os locais, entre os operadores, entre os lotes, entre os dias, entre as execuções, nas execuções e no geral. Quando somente amostras com resultados acima do limite inferior de quantificação (baixo LLoQ) tiverem sido incluídas (as amostras com resultados inferiores ao LLoQ foram excluídas), o DP total foi $\leq 0.2 \log_{10}$ cópias/mL para todos os membros do painel. Quando todas as amostras com RNA detectável para HIV-1 tiverem sido incluídas, os valores de DP totais permaneceram inalterados, exceto para o membro do painel 1, que teve um DP total de $0.3 \log_{10}$ cópias/mL.

Para todos os membros HIV-1 positivos do painel, os valores de concordância foram 100%. Para todos os membros do painel HIV-1 negativos, 108 réplicas foram testadas e o RNA para HIV-1 não foi detectado em nenhuma das 108 réplicas (concordância negativa=100%, Pontuação do IC de 95%: 96.6% a 100%).

Tabela 17: Reprodutibilidade e precisão do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx no sistema Panther em membros do painel com plasma positivo

Painel	N ^a	Média Log ₁₀ Cópias/mL	Entre locais		Entre operadores		Entre lotes		Entre dias		Entre execuções		Nas execuções		Total	
			DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
1	107	1.71 ^b	0.05	2.66	0.07	4.10	0.07	4.09	0.00	0.00	0.17	9.90	0.25	14.62	0.32	18.77
	85 ^c	1.84	0.07	3.51	0.00	0.00	0.02	0.97	0.00	0.00	0.06	3.07	0.17	8.98	0.19	10.17
2	108	2.94	0.08	2.74	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	1.49	0.00	0.00	0.11	3.69	0.14	4.83
3	108	3.84	0.07	1.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.95	0.04	0.98	0.06	1.62	0.11	2.75
4	108	4.94	0.08	1.52	0.00	0.00	0.03	0.57	0.03	0.50	0.05	1.01	0.06	1.18	0.11	2.30
5	108	5.71	0.07	1.26	0.00	0.00	0.01	0.22	0.05	0.85	0.04	0.77	0.07	1.23	0.12	2.11
6	108 ^d	6.71	0.05	0.80	0.00	0.00	0.02	0.32	0.03	0.43	0.07	1.03	0.06	0.85	0.11	1.65

CV=coeficiente de variação, DP=desvio padrão

^a Número de resultados de testes válidos com RNA detectável para HIV-1.

^b Inclui 22 réplicas relatadas como <1.47 log₁₀ cópias/mL. A amostra teve um valor atribuído de 1.176 log₁₀ cópias /mL.

^c Número de resultados válidos na gama linear do ensaio.

^d Inclui uma réplica relatada como > 7 log₁₀ cópias/mL. A amostra teve um valor atribuído de 7.18 log₁₀ cópias/mL.

Observação: A variabilidade de alguns fatores pode ser numericamente negativa. Isso pode ocorrer se a variabilidade for muito pequena devido a esses fatores (menos de 0.01). Nesses casos, o DP e o CV serão mostrados como 0.

Reprodutibilidade em amostras de soro

A reprodutibilidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras de soro foi avaliada em três locais externos. Dois operadores executaram o teste em cada local. Cada operador executou 1 execução por dia durante 5 dias, usando 1 lote de reagentes durante os testes. Cada execução tinha 3 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada usando membros do painel preparados com soro negativo para HIV-1. Dois membros positivos do painel foram criados contaminando a matriz do soro negativo com concentrações 3X-5X LoD e 10X LoD do vírus cultivado (HIV-1 subtipo B).

A Tabela 18 mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados do ensaio para cada membro positivo do painel entre locais, operadores, dias, execuções, nas execuções e no geral.

Para todos os membros HIV-1 positivos do painel, os valores de concordância foram 100%. Para o membro do painel HIV-1 negativo, 90 réplicas foram testadas e nenhuma RNA foi detectada para HIV-1 em 89 das 90 réplicas (concordância negativa=98.9%, Pontuação do IC de 95%: 94.0% a 99.8%).

Tabela 18: Reprodutibilidade e precisão do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx no sistema Panther em membros do painel com soro positivo

Painel	N	Média de log ₁₀ cópias/ mL	Entre locais		Entre operadores		Entre dias		Entre execuções		Nas execuções		Total	
			DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
1	90	1.34	0.07	5.41	0.00	0.00	0.04	2.63	0.00	0.00	0.22	16.26	0.23	17.34
2	89	1.95	0.05	2.41	0.02	0.97	0.00	0.00	0.00	0.00	0.19	9.67	0.20	10.01

CV=coeficiente de variação com log normal, DP=desvio padrão (log₁₀ cópias/mL)

Observação: A variabilidade de alguns fatores poderá ser numericamente negativa. Isso poderá ocorrer se a variabilidade for muito pequena devido a esses fatores. Nesses casos, o DP e o CV serão mostrados como 0.00.

Desempenho clínico

Validação da quantificação da carga viral

A quantificação do RNA do HIV-1 foi comparada entre o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e um ensaio comparador. O estudo incluiu testes de amostras de plasma EDTA clínicas (armazenadas frescas ou congeladas) e amostras artificiais (vírus cultivados adicionados a amostras de plasma clínicas negativas). Cada amostra foi testada em duplicata com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e o ensaio comparador. O teste do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx foi realizado em três locais externos, com cada local usando 3 lotes de kits de reagentes; o teste do ensaio comparador foi executado em um laboratório externo.

Foram testados 628 conjuntos de amostras correspondentes (dentro da faixa linear de ambos os ensaios), criados a partir de 484 indivíduos inscritos, e 144 amostras artificiais, utilizando o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e o ensaio comparador. A Figura 8 mostra os resultados da análise de regressão de Deming ($y = -0.03 + 1.04x$).

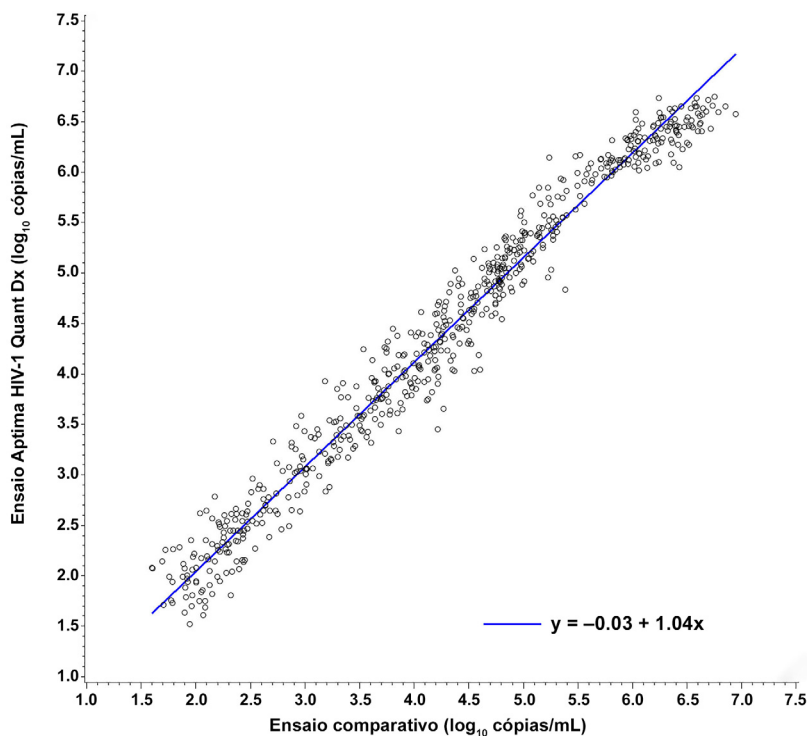


Figura 8: Correlação entre o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx e o ensaio comparador

Estudos de especificidade clínica

Especificidade clínica em amostras HIV-1 negativas

As amostras de plasma EDTA com HIV-1 negativo previamente congeladas e obtidas de doadores de sangue voluntários foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. O teste foi realizado com 3 lotes de kit de reagentes em 3 locais externos. A especificidade clínica foi calculada como a porcentagem das amostras negativas de HIV-1 com resultados “Não detectado”. Seiscentas (600) amostras de plasma HIV-1 negativas foram testadas e o RNA do HIV-1 não foi detectado em nenhuma delas. A especificidade nas amostras de plasma negativas foi de 100% (600/600. Pontuação do IC de 95%: de 99.4% a 100%).

Especificidade clínica em populações de baixo risco

Amostras previamente congeladas obtidas de doadores de sangue doando pela primeira vez, com baixo risco de infecção de HIV-1, foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. O teste foi realizado com um lote do kit de reagentes em um local externo. A especificidade clínica foi calculada comparando os resultados do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx com os resultados do ensaio NAT.

A Tabela 19 mostra a especificidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em uma população de baixo risco, por tipo de amostra.

Tabela 19: Especificidade clínica do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em uma população de baixo risco, por tipo de amostra

Tipo de amostra	n	VP	FP	VN	FN	Especificidade % (IC de 95%) ^a
Todos	911	4	3	902	2	99.7 (99.0, 99.9)
Soro	304	1	2 ^b	300	1	99.3 (97.6, 99.9)
Plasma	607	3	1	602	1	99.8 (99.1, 100)

IC=intervalo de confiança, FN=falso negativo, FP=falso positivo, VN=verdadeiro negativo, VP=verdadeiro positivo

^a IC de Clopper-Pearson.

^b Uma de 2 amostras de soro com resultados falso positivos teve resultado positivo quando testada usando o imunoensaio de combinação antígeno/anticorpo do HIV-1/HIV-2 de quarta geração.

Estudo de sensibilidade clínica

Sensibilidade clínica em amostras positivas de HIV-1

Amostras positivas de HIV-1 congeladas previamente foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. O teste foi feito com 2 lotes de kit de reagentes em 3 locais, incluindo 2 locais externos.

A Tabela 20 mostra a sensibilidade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras positivas, por tipo de amostra.

Tabela 20: Sensibilidade clínica do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras positivas de HIV-1, por tipo de amostra

Tipo de amostra	n	VP	FN	Sensibilidade % (IC de 95%) ^a
Todos	1572	1565	7	99.6 (99.1, 99.8)
Soro	524	520	4	99.2 (98.1, 99.8)
Plasma	1048	1045	3	99.7 (99.2, 99.9)

IC = intervalo de confiança, FN=falso negativo, VP=verdadeiro positivo

^a IC de Clopper-Pearson.

Sensibilidade clínica em populações de alto risco

Amostras prospectivamente coletadas de indivíduos com alto risco de infecção por HIV-1 foram testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. O teste foi feito com 1 lote do kit de reagentes em 3 locais, incluindo 2 locais externos. A sensibilidade clínica foi calculada comparando os resultados do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx com os resultados do ensaio NAT.

Das 498 amostras avaliadas, 332 eram amostras de plasma e 166 amostras de soro. A sensibilidade clínica foi de 100% (1/1, IC de 95%: de 20.7% a 100%) em amostras de soro. A sensibilidade não pôde ser avaliada em amostras de plasma porque nenhuma amostra com resultados de ensaio positivo ou negativo foi observada.

Positividade em amostras sorodiscordantes

As amostras sorodiscordantes previamente congeladas (por exemplo, repetidamente reativas em um imunoensaio de HIV inicial e indeterminadas ou negativas em um imunoensaio suplementar) foram obtidas de doadores e não doadores de sangue e testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx. Das 473 amostras avaliáveis, 76 foram selecionadas dos painéis de soroconversão. Os testes foram realizados com 2 lotes de kits de reagentes em um local interno. A positividade foi calculada para as amostras sorodiscordantes testadas com o ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx.

A Tabela 21 mostra a positividade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras sorodiscordantes de acordo com o grupo de amostras, o tipo de teste suplementar de HIV e os resultados do teste suplementar de HIV.

Tabela 21: Positividade do ensaio Aptima HIV-1 Quant Dx em amostras sorodiscordantes

Suplementar Tipo de teste	Suplementar Resultado de teste	Positividade % (n/N) IC de 95% ^a		
		Grupo de painéis de não soroconversão		Grupo de painéis de soroconversão
		3ª Gen	4ª Gen	4ª Gen
Imunocromatografia do HIV-1/2	Negativo	N/A	0.0 (0/11) 0.0-25.9	100 (6/6) 61-100
Imunocromatografia do HIV-1/2	Indeterminado	N/A	100 (1/1) 20.7-100	100 (1/1) 20.7-100
Teste rápido HIV-1/2	Negativo	N/A	0.0 (0/11) 0.0-25.9	100 (24/24) 86.2-100
Teste rápido HIV-1/2	Indeterminado	N/A	0.0 (0/2) 0.0-65.8	N/A
HIV-1 WB ou IFA	Negativo	0.4 (1/239) 0.1-2.3	100 (4/4) 51.0-100	100 (35/35) 90.1-100
HIV-1 WB ou IFA	Indeterminado	0.0 (0/128) 0.0-2.9	100 (1/1) 20.7-100	100 (10/10) 72.2-100

3ª Gen=imunoensaio de terceira geração, 4ª Gen=imunoensaio de quarta geração, IC=intervalo de confiança, IFA=ensaio de imunofluorescência indireta, N/A=não disponível, WB=Western blot.

^a Pontuação do IC.

Bibliografia

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Daugey, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H.C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **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.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); versão atual.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **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.
38. **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 contato 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 suporte técnico específico do país e endereço de e-mail e número de telefone do serviço de atendimento ao cliente, visite www.hologic.com/support.

Incidentes graves que ocorram em relação ao dispositivo na União Europeia devem ser reportados ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e logotipos associados são marcas comerciais ou marcas registradas da Hologic, Inc. e/ou de suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países.

Armored RNA é uma marca comercial da Asuragen, Inc.

Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos seus respectivos proprietários.

Este produto pode estar protegido por uma ou mais patentes dos EUA indicadas em www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Todos os direitos reservados.
AW-28214-2301 Rev. 003
2025-10

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-28214-2301 Rev. 001	Abril de 2025	• Lançamento inicial para atender aos requisitos do IVDR.
AW-28214-2301 Rev. 002	Agosto de 2025	• As marcas registradas foram atualizadas e os códigos PRD-03000B e PRD-03000C foram removidos para atender aos requisitos da BSI.
AW-28214-2301 Rev. 003	Outubro de 2025	• Fichas de dados de segurança (SDS) e atualizações administrativas.