

Aptima® HBV Quant Assay

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

Informações gerais	2
Uso pretendido	2
Resumo e explicação do teste	2
Princípios do procedimento	3
Resumo de segurança e desempenho	3
Advertências e precauções	4
Requisitos de armazenamento e manuseio de reagentes	9
Coleta e armazenamento de amostras biológicas	10
Amostras no sistema Panther	13
Transporte de amostras biológicas	13
Sistema Panther	14
Reagentes e materiais fornecidos	14
Materiais necessários, mas disponibilizados em separado	15
Materiais opcionais	16
Procedimento de teste do sistema Panther	17
Notas de procedimento	21
Controle de qualidade	22
Calibração do ensaio	22
Controles positivos e negativos	22
Calibrador interno/Controle interno	22
Interpretação dos resultados	23
Limitações	24
Desempenho analítico	25
Limite de detecção usando o 3º Padrão Internacional da OMS	25
Limite de detecção entre genótipos de HBV	25
Intervalo linear	26
Linearidade entre genótipos de HBV	27
Limite inferior de quantificação usando o 3º Padrão Internacional da OMS	27
Limite inferior de quantificação entre genótipos de HBV	29
Rastreabilidade de acordo com o 3º Padrão Internacional da OMS	31
Precisão	31
Substâncias potencialmente interferentes	33
Especificidade analítica	35
Equivalência de matriz	36
Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:3)	36
Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:100)	37
Confirmação do LLoQ em amostras biológicas diluídas em diluente de amostras biológicas Aptima	39
Precisão de amostras diluídas	39
Carryover	40
Reprodutibilidade	40
Desempenho clínico	42
Correlação de métodos	42
Utilidade clínica	42
Bibliografia	51
Informações de contato e histórico de revisões	52

Informações gerais

Uso pretendido

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

O plasma pode ser preparado em ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), solução anticoagulante de citrato de dextrose (ACD) e tubos de preparação de plasma (PPTs). O soro pode ser preparado em tubos de soro e tubos de separação de soro (SSTs). As amostras biológicas são testadas utilizando o sistema totalmente automatizado Panther para processamento, amplificação e quantificação das amostras. Amostras biológicas contendo os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H do HBV são validadas para quantificação no ensaio.

O ensaio Aptima HBV Quant destina-se a ser utilizado como auxílio no manejo de pacientes com infecções crônicas pelo HBV submetidos a terapia medicamentosa antiviral contra o HBV. O ensaio pode ser usado para medir os níveis de DNA do HBV no início do estudo e durante o tratamento, auxiliando na avaliação da resposta viral ao tratamento.

Os resultados do ensaio Aptima HBV Quant devem ser interpretados dentro do contexto de todos os achados clínicos e laboratoriais relevantes.

O ensaio Aptima HBV Quant não se destina ao uso como teste de triagem para detecção de DNA do HBV no sangue ou em produtos sanguíneos, nem como teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HBV.

Resumo e explicação do teste

O vírus da hepatite B, um dos vários vírus conhecidos por causar hepatite, tem sido associado à infecção pelo HBV ao longo da vida, cirrose hepática, câncer de fígado, insuficiência hepática e, potencialmente, morte. A Organização Mundial da Saúde (OMS) lista o HBV como uma das doenças infecciosas mais comuns do mundo. A prevalência da infecção pelo HBV e o método de transmissão variam muito em todo o mundo. Em 2019, estimava-se que 296 milhões de pessoas viviam com infecção crônica pelo HBV em todo o mundo.¹ A infecção pelo HBV resulta em aumento do risco de doença hepática, descompensação, cirrose e carcinoma hepatocelular (CHC) com uma mortalidade de 0.5 a 1.2 milhão de óbitos e 5 a 10% dos casos de transplante de fígado em todo o mundo anualmente.^{2,3} Sem tratamento, intervenção e monitoramento adequados após o diagnóstico, a incidência cumulativa de cirrose em 5 anos varia de 8 a 20%. Uma vez desenvolvida a cirrose, o risco anual de carcinoma hepatocelular é de 2 a 5%.⁴

O HBV contém um genoma de DNA circular, parcialmente de cadeia dupla, com aproximadamente 3200 pares de bases, que codificam quatro fases de leitura aberta (ORFs) parcialmente sobrepostas, expressando as proteínas polimerase, de superfície, pré-núcleo/núcleo e X. A ORF da polimerase se sobrepõe às outras três ORFs e codifica uma proteína crucial na replicação viral, a polimerase. A ORF de superfície expressa três proteínas, que são essenciais para a morfogênese viral, a entrada do vírus nos hepatócitos e a provocação da resposta imune do hospedeiro.⁵ Existem 8 genótipos do HBV (A-H), e estes são tipicamente encontrados em locais geográficos distintos.

Devido à natureza dinâmica da infecção crônica pelo vírus da hepatite B, o monitoramento contínuo dos níveis de DNA do HBV e de alanina aminotransferase (ALT) é importante.⁶ Para a maioria dos indivíduos infectados com o HBV que estão em tratamento antiviral, o objetivo é a supressão do DNA do HBV. Testes quantitativos de ácido nucleico com uma ampla faixa linear são ferramentas eficazes para monitorar a carga viral de DNA do HBV durante o tratamento.

Princípios do procedimento

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

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

Durante a captura do alvo, o DNA viral é isolado das amostras biológicas. A amostra biológica é tratada com um detergente para solubilizar o envelope viral, desnaturar as proteínas e liberar o DNA genômico viral. Os oligonucleotídeos capturados hibridizam para regiões altamente conservadas do DNA do HBV, 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 HBV Quant utiliza o método TMA para amplificar duas regiões do genoma do HBV (gene da polimerase e gene da superfície). A amplificação dessas regiões é obtida utilizando primers específicos, projetados para amplificar os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H do HBV. A abordagem de região alvo dupla, com primers projetados para regiões altamente conservadas, garante a quantificação precisa do DNA do HBV.

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 conterá 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 é proporcional à concentração inicial de HBV. Cada reação tem um calibrador interno/controle interno (CI) que controla as variações no processamento, amplificação e detecção da amostra biológica. A concentração de uma amostra é determinada pelo software do sistema Panther usando os sinais de HBV e CI para cada reação e comparando-os com as informações de calibração.

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 HBV Quant, consulte o Identificador Básico Único de Dispositivo (BUDI): 54200455DIAGAPTHBVA.F.

Advertências e precauções

- A. Para uso em diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profissional.
- C. 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.
- D. O reagente potencializador de alvo (TER) é corrosivo. Consulte a Ficha de Dados de Segurança no final desta seção.

Relacionados ao laboratório

- E. CUIDADO: Os controles para esse ensaio contêm plasma humano. O plasma não é reativo para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpos anti-HCV, anticorpos anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e antígeno HIV quando testados com procedimentos licenciados pela US Food and Drug Administration dos EUA. Além disso, o plasma não é reativo para o DNA do HBV, RNA do HCV e o RNA do HIV-1 quando testado com testes de ácidos nucleicos licenciados. Todos os materiais com origem em sangue humano devem ser considerados como potencialmente infecciosos e devem ser manuseados de acordo com as precauções universais.^{7,8,9}
- F. Este procedimento só deve ser executado por pessoal com o devido treinamento no uso do ensaio Aptima HBV Quant 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 estado em contato com as amostras biológicas e reagentes, de acordo com os regulamentos locais, estaduais e federais.^{7,8,9,10} Limpe e desinfete completamente 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^{7,8,9} ao realizar este ensaio. Os métodos de manuseio e descarte apropriados devem ser estabelecidos conforme os regulamentos locais.¹⁰ Este procedimento só deve ser executado por pessoal com o devido treinamento no uso do ensaio Aptima HBV Quant e no manuseio de materiais infecciosos.
- N. Mantenha condições de armazenamento apropriadas durante o transporte da amostra biológica para garantir a integridade da amostra. A estabilidade da amostra biológica em condições de transporte diferentes das recomendadas não foi avaliada.
- O. Evite a contaminação cruzada durante 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. Não utilize o kit de reagentes, o calibrador nem os controles após o prazo de validade.
- Q. 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.
- R. Evite a contaminação microbiana e por nuclease dos reagentes.
- S. 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 Procedimento de teste do sistema Panther* para obter mais informações.
- T. 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.
- U. Evite contato do TER com a pele, olhos e membranas mucosas. Lave com água se ocorrer contato com este reagente. Caso ocorra derramamento deste reagente, dilua-o com água e siga os procedimentos adequados do local.
- V. Alguns reagentes deste kit são rotulados com informações de risco.

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.hologic.com. Para obter mais informações sobre os símbolos, consulte a legenda dos símbolos na página <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Informações de riscos para a América do Norte	
	HBV VL Kit Controls <i>Human Serum / Human Plasma 95-100%</i> <i>Sodium azide <1%</i> — —
	Target Enhancer Reagent <i>Hidróxido de lítio monoidratado 5-10%</i> — PERIGO H302 - Nocivo se ingerido. H314 - Provoca queimadura severa à pele e dano aos olhos. P264 - Lave cuidadosamente o rosto, as mãos e qualquer parte da pele exposta após o manuseio P270 - Não coma, beba ou fume durante o uso deste produto P330 - Enxágue a boca P501 - Descarte o conteúdo/recipientes em uma unidade de disposição de resíduos licenciada. P260 - Não inale as poeiras ou névoas P280 - Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial P301 + P330 + P331 - SE ENGOLIDO: enxágue a boca. NÃO provoque vômito P303 + P361 + P353 - SE HOUVER CONTATO COM A PELE (ou cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxágue a pele com água / tome uma ducha P304 + P340 - SE INALADO: Remova a pessoa para local ventilado e a mantenha em uma posição que não dificulte a respiração P305 + P351 + P338 - EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Lave cuidadosamente com água por vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando P321 - Tratamento específico (consulte as instruções suplementares de primeiros socorros na SDS) P363 - Lave as roupas contaminadas antes de reutilizá-las P405 - Armazene em local fechado à chave P301 + P317 - EM CASO DE INGESTÃO: Procure ajuda médica. P316 - Procure ajuda médica de emergência imediatamente.
Informações de riscos para a UE	
 	Amplification Reagent <i>Magnesium Chloride 60-65%</i> — — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipientes em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.
	Enzyme Reagent <i>HEPES 1-5%</i> <i>Triton X-100 1-5%</i> — — H412 - Nocivo para os organismos aquáticos, com efeitos prolongados. P273 - Evite a liberação para o meio ambiente. P501 - Descarte o conteúdo/recipientes em uma unidade de disposição de resíduos licenciada.

—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20-25%</i> <i>Triton X-100 5-10%</i> <i>HEPES 1-5%</i> — 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 <i>Magnesium Chloride 60-65%</i> — 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 <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> — 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.
—	HBV VL Kit Calibrators <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i> — 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.
  	HBV VL Kit Controls <i>Human Serum / Human Plasma 95-100%</i> <i>Sodium azide <1%</i> — 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.

Target Enhancer Reagent

Hidróxido de lítio monoidratado 5-10%



PERIGO

H302 - Nocivo se ingerido.

H314 - Provoca queimadura severa à pele e dano aos olhos.

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

P270 - Não coma, beba ou fume durante o uso deste produto.

P330 - Enxágue a boca.

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

P260 - Não inale as poeiras/fumaça/gases/névoas/vapores/aerossóis.

P280 - Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial.

P301 + P330 + P331 - EM CASO DE INGESTÃO: Enxágue a boca. NÃO provoque vômito.

P303 + P361 + P353 - SE HOUVER CONTATO COM A PELE (ou cabelo): Retire imediatamente toda a roupa contaminada. Enxágue a pele com água [ou tome uma ducha].

P304 + P340 - SE INALADO: Remova a pessoa para local ventilado e a mantenha em uma posição que não dificulte a respiração.

P305 + P351 + P338 - EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Lave cuidadosamente com água por vários minutos. No caso de uso de lentes de contato, remova-as, se for fácil. Continue enxaguando.

P310 - Ligue imediatamente para um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENOS ou um médico.

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

P363 - Lave as roupas contaminadas antes de reutilizá-las.

P405 - Armazene em local fechado à chave.

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 qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição de amplificação do qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente enzimático do qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição enzimática do qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente promotor do qHBV	2 °C a 8 °C		
Solução de reconstituição promotora do qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
Reagente de captura do alvo do qHBV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 dias ^a
PCAL do qHBV (Calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
CONTROLE NC do qHBV – (Controle negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
CONTROLE LPC do qHBV + (Controle positivo baixo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
CONTROLE HPC do qHBV + (Controle positivo alto)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Frasco de uso único Usar dentro de 24 horas
Reagente potencializador de alvo do qHBV	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	30 dias ^a

^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, reagente de captura de alvo (TCR) e reagente potencializador de alvo (TER) não utilizados 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. Certifique-se de que os precipitados estejam dissolvidos. Não utilize o calibrador se houver formação de gel, precipitação ou turvação.
- 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.
- F. O reagente potencializador de alvo do qHBV deve estar entre 15 °C e 30 °C antes do 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:

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

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 entre 2 °C e 30 °C por até 24 horas, e o plasma deve ser separado por centrifugação em um tubo primário antes do processamento. Separe o plasma ou o soro dos glóbulos vermelhos seguindo as instruções do fabricante do tubo utilizado. O plasma ou o soro podem ser testados no sistema Panther em um tubo principal ou transferidos para um tubo secundário, como o tubo de alíquota de amostras biológicas Aptima®. 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 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 e soro podem ser armazenados de acordo com as especificações abaixo. Se transferido para o SAT ou um tubo secundário, o plasma ou soro pode ser congelado a -20 °C. Não exceder 3 ciclos de congelamento e descongelamento. 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

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. O plasma pode então ser armazenado em uma das seguintes condições:

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

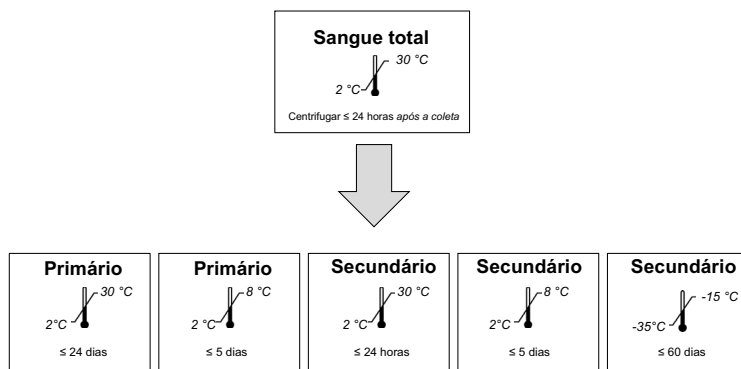


Figura 1. Condições de armazenamento para tubos EDTA/ACD

2. Amostras biológicas em PPT

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

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

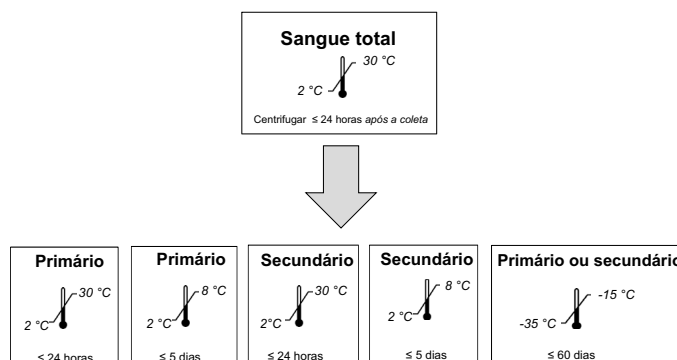


Figura 2. Condições de armazenamento para PPTs

3. Amostras biológicas do tubo de soro

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

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

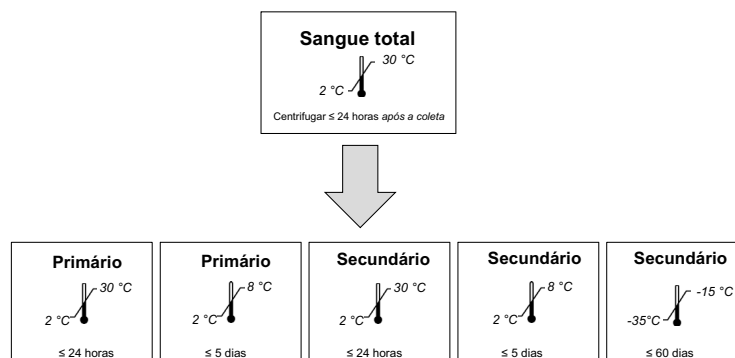


Figura 3. Condições de armazenamento para tubos de soro

4. Amostras biológicas SST

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

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

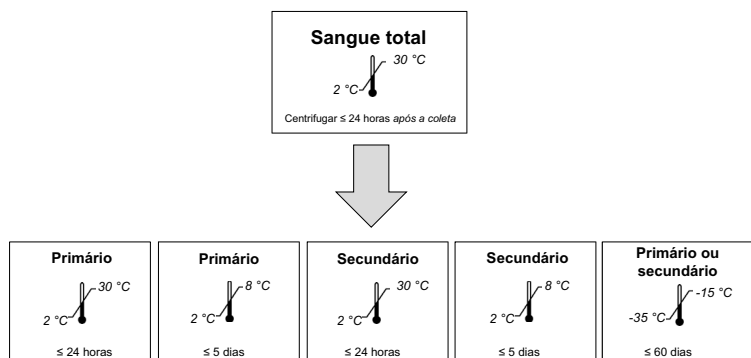


Figura 4. Condições de armazenamento para SSTs

C. Armazenamento congelado de longo prazo

Amostras de plasma ou soro podem ser armazenadas a -70 °C por até 60 dias em SATs.

D. Diluição das amostras biológicas de plasma e soro

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

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

Amostras no sistema Panther

As amostras podem permanecer destampadas no sistema Panther por 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 para o ensaio Aptima HBV Quant 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 do ensaio Aptima HBV Quant, 100 testes (Nº ref. PRD-03424)

(1 caixa de ensaio, 1 kit de calibrador, 1 kit de controles e 1 caixa de reagente potencializador de alvo)

Calibradores e controles adicionais podem ser solicitados separadamente. Veja os números de catálogo individuais abaixo.

Caixa do ensaio Aptima HBV Quant

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

Símbolo	Componente	Quantidade
A	Reagente de amplificação do qHBV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
E	Reagente enzimático do qHBV <i>Transcriptase reversa e polimerase de RNA secas em solução tamponada HEPES.</i>	1 frasco
PRO	Reagente promotor do qHBV <i>Ácidos nucleicos não infecciosos secos em solução tamponada.</i>	1 frasco
AR	Solução de reconstituição de amplificação do qHBV <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 7.2 mL
ER	Solução de reconstituição enzimática do qHBV <i>Solução tamponada HEPES contendo um surfactante e glicerol.</i>	1 x 5.8 mL
PROR	Solução de reconstituição promotora do qHBV <i>Solução aquosa contendo glicerol e conservantes.</i>	1 x 4.5 mL
TCR	Reagente de captura do alvo do qHBV <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 do Aptima HBV Quant Nº ref. PRD-03425)

(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
PCAL	Calibrador positivo do qHBV <i>DNA plasmídico em solução tamponada</i>	5 x 2.5 mL
	Rótulo do código de barras do calibrador	—

Kit de controles do Aptima HBV Quant N° ref. PRD-03426)
(armazenar entre -15 °C e -35 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
NC	Controle negativo do qHBV <i>Plasma humano desfibrinado com HBV negativo, contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
LPC	Controle positivo baixo do qHBV <i>Plasma inativado de pacientes com HBV positivo em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
HPC	Controle positivo alto do qHBV <i>Plasma inativado de pacientes com HBV positivo em plasma humano desfibrinado contendo gentamicina e 0.2% de azida de sódio como conservantes.</i>	5 x 0.8 mL
	Rótulo de código de barras dos controles	—

Caixa de reagentes potencializadores do alvo do Aptima HBV Quant
(armazenar entre 15 °C e 30 °C após o recebimento)

Símbolo	Componente	Quantidade
TER	Reagente potencializador de alvo do qHBV <i>Uma solução concentrada de hidróxido de lítio</i>	1 x 46.0 mL

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	N° de ref.
Sistema Panther™	303095
Sistema Panther Fusion™	PRD-04172
Sistema Panther™ de fluidos e resíduos contínuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit do calibrador do Aptima® HBV Quant	PRD-03425
Kit de controles do Aptima® HBV Quant	PRD-03426
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) <i>contém solução de lavagem Aptima®, tampão Aptima® para fluido de desativação e reagente de óleo Aptima®</i>	303014 (1000 testes)
<i>Unidades multitubos (MTUs)</i>	104772-02
<i>Kit de bolsas de resíduos Panther™</i>	902731
<i>Tampa para cesto de resíduos Panther™</i>	504405

Material	Nº de ref.
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 para cestos de resíduos e fluidos do ensaio	303096 (5000 testes)
Ponteiras condutivas de 1000 µL, detecção de líquidos	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
Nem todos os produtos estão disponíveis em todas as regiões. Entre em contato com seu representante para obter informações específicas da região.	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 não perfuráveis de substituição	103036A
Tampas de reagentes para substituição Frascos de reconstituição de reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação Frasco TCR Frasco TER	CL0041 (100 tampas) CL0040 (100 tampas) 501604 (100 tampas)
Protetores de bancada de laboratório com fundo de plástico	—
Lenços sem fiapos	—
Pipetador	—
Ponteiras	—
Opções de tubo de coleta primária: 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 amostra biológica (SAT) Aptima® (pacote com 100)	— — — FAB-18184
Tampa do tubo de transporte (embalagem com 100) tampa para SAT	504415
Diluyente da amostra biológica Aptima®	PRD-03003
Kit de diluentes de amostras biológicas Aptima® contém diluyente da amostra biológica, 100 SATs e 100 tampas	PRD-03478
Pipetas de transferência	—
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 com protetores de bancada de laboratório absorventes, com fundo de plástico 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 de limpeza 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 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 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.

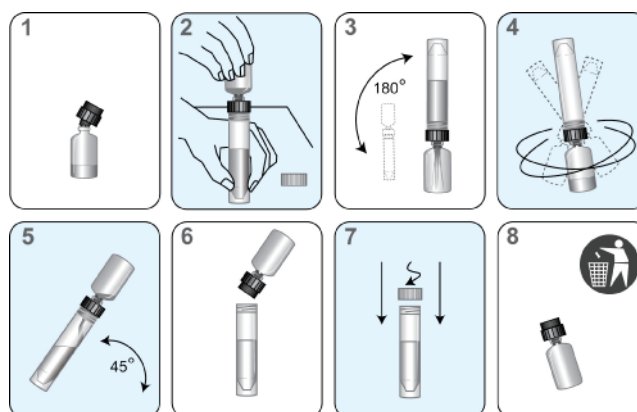


Figura 5. Processo de reconstituição de reagentes

3. Retire o reagente intensificador de alvo do qHBV armazenamento (15 °C a 30 °C). Registre as iniciais do operador e a data de abertura no rótulo. Verifique o número de lote no frasco de TER para garantir que ele corresponda ao número de lote indicado na Folha de códigos de barras do lote mestre.

D. Preparo de reagentes para reagentes previamente preparados

1. Remova os reagentes previamente preparados do armazenamento (de 2 °C a 8 °C). Os reagentes promotores, enzimáticos e de amplificação previamente preparados, assim como o TCR, devem atingir uma temperatura de 15 °C a 30 °C antes do início do ensaio.
2. Retire o TER do armazenamento (15 °C a 30 °C).
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 amostras biológicas de plasma não diluídas em tubos secundários foram armazenadas corretamente de acordo com *Coleta 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 primário 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 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 ou soro a 1:3 em um SAT ou a 1:100 em um tubo secundário.

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

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 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 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 (ULoQ), 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 2.a e 2.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 na zona de amostragem.
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 2.a a 2.f para o próximo suporte de amostras.

Notas de procedimento

A. Calibrador e controles

1. Os tubos de calibrador positivo do qHBV, controle positivo baixo do qHBV, controle positivo alto do qHBV e controle negativo do qHBV podem ser carregados em qualquer posição no suporte de amostras e em qualquer raia da zona 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 de calibrador e controles tiverem sido pipetados e estiverem sendo processados para o kit de reagentes do ensaio Aptima HBV Quant, 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

O resultado de uma execução ou de uma amostra biológica poderá ser invalidado por um operador se forem observadas dificuldades técnicas do operador ou dos instrumentos durante a execução do ensaio e 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 alto 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 Nominal LPC: $2.7 \log_{10}$ UI/mL, Alvo Nominal de HPC: $4.6 \log_{10}$ UI/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

O sistema Panther determina automaticamente a concentração de DNA do HBV para amostras biológicas e controles comparando os resultados em uma curva de calibração. As concentrações de DNA do HBV são relatadas em UI/mL e $\log_{10}$ UI/mL. A interpretação dos resultados é fornecida na Tabela 1. Se a opção de diluição for usada, o sistema Panther calculará automaticamente a concentração de DNA de HBV na amostra biológica não diluída, multiplicando a concentração diluída pelo fator de diluição, e as amostras diluídas serão sinalizadas como diluídas.

Para as amostras biológicas diluídas, os resultados listados como “Não detectado” ou “<10 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.

Tabela 1: Interpretação de resultados

Resultado relatado do ensaio Aptima HBV Quant		Interpretação
UI/mL	$\log_{10}$ UI/mL ^a	
Não detectado	Não detectado	DNA do HBV não detectado.
< 10 detectado	<1.00	O DNA do HBV foi detectado, porém a um nível abaixo do LLoQ.
10 a 1,000,000,000	1.00 a 9.00	A concentração de DNA do HBV está dentro da faixa linear de 10 a 1,000,000,000 UI/mL.
> 1,000,000,000	> 9.00	A concentração de DNA do HBV está acima do ULoQ.
Inválido ^b	Inválido ^b	Ocorreu um erro na geração do resultado. A amostra biológica deve ser testada novamente.

^a O valor está truncado para duas casas decimais.

^b Os resultados inválidos são exibidos em fonte azul.

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

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

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 controles do ensaio Aptima HBV Quant

Componente	Intervalo de recuperação para execuções válidas
Controle negativo	n/a
Controle positivo baixo	+/- 0.55 $\log_{10}$ UI/mL
Controle positivo alto	+/- 0.5 $\log_{10}$ UI/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.

Desempenho analítico

Limite de detecção usando o 3º Padrão Internacional da OMS

O limite de detecção (LoD) é definido como a concentração de DNA do HBV, que é detectada com 95% ou mais de probabilidade de acordo com o CLSI EP17-A2.¹¹

O limite de detecção (LoD) foi determinado testando painéis do 3º Padrão Internacional da OMS para DNA do Vírus da Hepatite B (NIBSC 10/264, genótipo A) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HBV com EDTA. No mínimo, 36 réplicas de cada diluição foram testadas com cada um dos três lotes de reagentes, totalizando um mínimo de 108 réplicas por diluição. A análise Probit foi realizada para gerar limites de detecção previstos de 95%. Os valores de LoD são os resultados do lote de reagentes com o maior limite de detecção previsto. O LoD para o ensaio Aptima HBV Quant, utilizando o 3º Padrão Internacional da OMS, é de 4.8 UI/mL para plasma e 5.9 UI/mL para soro.

Limite de detecção entre genótipos de HBV

O LoD foi determinado testando diluições de amostras biológicas positivas para o HBV para os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H em plasma e soro humanos negativos para HBV. As concentrações foram determinadas utilizando um ensaio aprovado. Foram testadas no mínimo 24 réplicas de cada membro do painel com cada um dos dois lotes de reagentes, totalizando no mínimo 48 réplicas por membro do painel. A análise Probit foi realizada para gerar limites de detecção previstos de 95%. Os valores de LoD mostrados na Tabela 3 são os resultados do lote de reagentes com o maior limite de detecção previsto.

Tabela 3: Limite de detecção (limite de detecção previsto de 95%) para genótipos de HBV utilizando amostras biológicas

Genótipo	Concentração (UI/mL)	
	Plasma	Soro
A	3.3	4.1
B	2.9	3.9
C	4.9	5.2
D	5.7	5.4
E	5.8	5.8
F	3.0	4.0
G	2.8	7.4
H	5.5	6.3

Intervalo linear

O intervalo linear foi estabelecido testando painéis do genótipo A do vírus HBV (0.78 log₁₀ UI/mL a 7.30 log₁₀ UI/mL) e DNA plasmídico (5.30 log₁₀ UI/mL a 9.18 log₁₀ UI/mL) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HBV, de acordo com o CLSI EP06-A.¹² O ensaio Aptima HBV Quant demonstrou linearidade em todo o intervalo testado, com um limite superior de quantificação (ULoQ) de 9 log₁₀ UI/mL conforme mostrado na Figura 6.

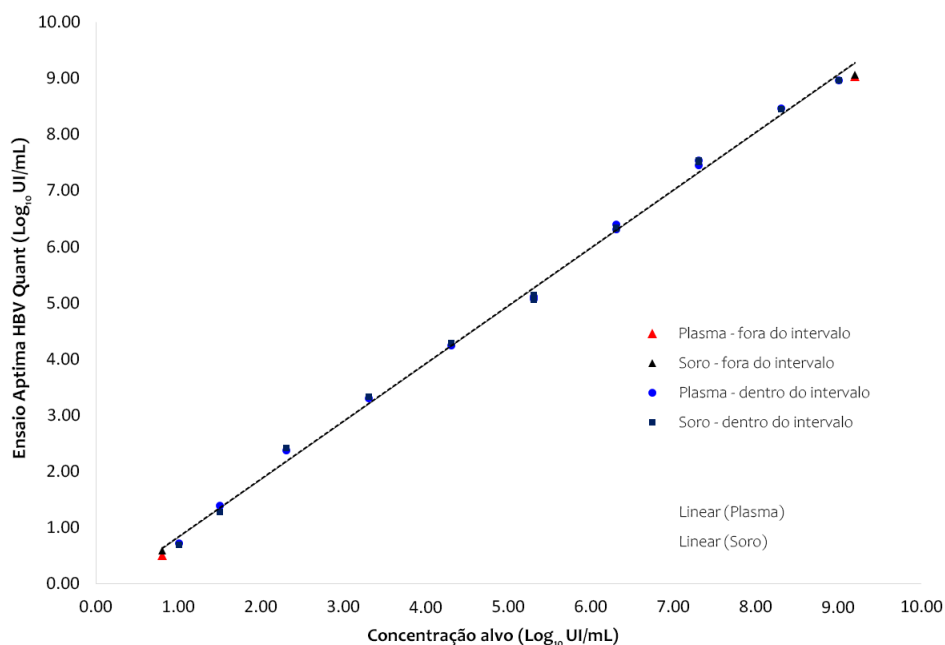


Figura 6. Linearidade no plasma e no soro

Linearidade entre genótipos de HBV

A linearidade dos genótipos do HBV foi estabelecida testando amostras biológicas individuais positivas para os genótipos A, E, F, G e H, e os painéis da referência 1º PEI da OMS (PEI 5086/08) para os genótipos B, C e D. O vírus foi utilizado para o limite inferior do ensaio ($4 \log_{10}$ UI/mL e abaixo para genótipos A-G, $3 \log_{10}$ UI/mL e abaixo para o genótipo H). O DNA plasmídico foi usado para o limite superior com uma sobreposição de $\log_2$. Diluições em plasma humano negativo foram testadas para todos os genótipos. A linearidade foi demonstrada em todo o intervalo para todos os genótipos testados, conforme mostrado na Figura 7.

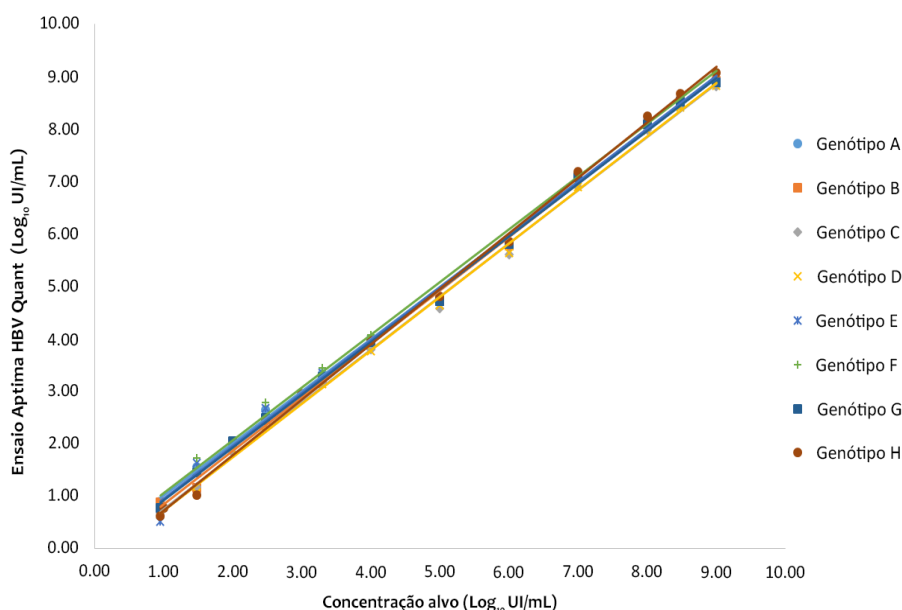


Figura 7. Intervalo linear e linearidade (plasma)

Limite inferior de quantificação usando o 3º Padrão Internacional da OMS

O limite inferior de quantificação é definido como a menor concentração na qual o DNA do HBV é quantificado de forma segura em um erro total, de acordo com o CLSI EP17-A2.¹¹ O total de erro foi estimado pelos dois seguintes métodos:

Total de Erro Analítico (TAE) = |viés| + 2DP e Total de Erro (TE) = $\text{SQRT}(2) \times 2\text{DP}$.

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

O LLoQ foi determinado testando painéis do 3º Padrão Internacional da OMS para DNA do Vírus da Hepatite B (NIBSC 10/264, genótipo A) diluídos em plasma e soro humanos negativos para HBV. Quarenta e cinco (45) réplicas de cada diluição foram testadas com cada um dos três lotes de reagentes, totalizando um mínimo de 135 réplicas por diluição. Os resultados para os três lotes de reagentes são mostrados na Tabela 4 para plasma e na Tabela 5 para soro. Os resultados para a menor concentração observada que atendeu à meta de precisão ($\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ UI/mL e $\text{TE} \leq 1 \log_{10}$ UI/mL) com detecção >95% e maiores ou iguais ao LoD estão sombreados em ambas as tabelas e resumidos na Tabela 6.

O LLoQ calculado para o 3º Padrão Internacional da OMS para o Vírus da Hepatite B é de 6 UI/mL ($0.79 \log_{10}$ UI/mL) para plasma e 8 UI/mL ($0.88 \log_{10}$ UI/mL) para soro, que são baseados na maior concentração calculada entre os três lotes de reagentes de acordo com

CLSI EP17-A2. O LLoQ foi estabelecido entre genótipos (consulte *Limite inferior de quantificação entre genótipos de HBV*). Esses dados de genótipo estabelecem o LLoQ geral para o ensaio em 10 UI/mL.

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

Lote de reagentes	Aptima HBV Quant (UI/mL)	Aptima HBV Quant (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	3	0.53	0.21	0.32	0.59	0.74
	3	0.52	0.21	0.38	0.61	0.81
	5	0.70	0.23	0.25	0.65	0.71
2	6	0.76	0.26	0.09	0.73	0.60
	5	0.69	0.22	0.21	0.63	0.65
	6	0.77	0.25	0.18	0.70	0.68
3	6	0.79	0.31	0.05	0.88	0.68
	8	0.88	0.23	0.02	0.66	0.48
	9	0.96	0.23	0.00	0.66	0.47

DP = desvio padrão.

Os membros do painel que atingiram a meta de precisão ($TE \leq 1$ e $TAE \leq 1$), $> LoD$ e $> 95\%$ de detecção para os lotes de reagentes 1, 2 e 3 estão sombreados.

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

Lote de reagentes	Aptima HBV Quant (UI/mL)	Aptima HBV Quant (log ₁₀ UI/mL)	DP (log ₁₀ UI/mL)	Viés (log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (log ₁₀ UI/mL)
1	4	0.65	0.24	0.20	0.67	0.67
	5	0.65	0.24	0.25	0.68	0.73
	5	0.67	0.22	0.28	0.63	0.73
2	5	0.70	0.29	0.14	0.82	0.72
	5	0.72	0.27	0.18	0.77	0.72
	6	0.75	0.24	0.20	0.68	0.68
3	8	0.88	0.29	0.04	0.83	0.63
	10	0.98	0.23	0.08	0.66	0.55
	11	1.02	0.28	0.07	0.78	0.62

DP = desvio padrão.

Os membros do painel que atingiram a meta de precisão ($TE \leq 1$ e $TAE \leq 1$), $> LoD$ e $> 95\%$ de detecção para os lotes de reagentes 1, 2 e 3 estão sombreados.

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

Lote de reagentes	LLoQ de plasma		LLoQ de soro	
	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL
1	5	0.70	4	0.65
2	5	0.69	5	0.72
3	6	0.79	8	0.88

Limite inferior de quantificação entre genótipos de HBV

O LLoQ foi determinado testando diluições de amostras biológicas positivas para o HBV para os genótipos A, B, C, D, E, F, G e H em plasma e soro humanos negativos para HBV. A atribuição da concentração para as amostras biológicas clínicas foi determinada utilizando um ensaio de comparação. Foram testadas no total 36 réplicas de cada membro do painel com cada um dos dois lotes de reagentes, totalizando no mínimo 72 réplicas por membro do painel. Os resultados para a menor concentração observada que atende à meta de precisão ($TE \leq 1 \log_{10} \text{ UI/mL}$ e $TAE \leq 1 \log_{10} \text{ UI/mL}$) com detecção $>95\%$ para cada lote de reagente são mostrados na Tabela 7 para plasma e na Tabela 8 para soro. A concentração mais alta observada entre os lotes de reagentes para cada genótipo está resumida na Tabela 9.

O genótipo D no soro apresentou o maior LLoQ, de 9 UI/mL ($0.96 \log_{10} \text{ UI/mL}$).

Isso corroborou o LLoQ geral para o ensaio como 10 UI/mL.

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

Genótipo do HBV	Lote de reagentes	Aptima HBV Quant ^a (UI/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ UI/mL)	DP (Log ₁₀ UI/mL)	Viés (Log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (Log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (Log ₁₀ UI/mL)
A	1	6	0.74	0.24	0.10	0.67	0.58
	2	7	0.85	0.20	0.00	0.57	0.40
B	1	4	0.65	0.24	0.20	0.67	0.67
	2	6	0.75	0.25	0.10	0.70	0.59
C	1	4	0.61	0.21	0.35	0.60	0.77
	2	6	0.75	0.30	0.20	0.84	0.80
D	1	7	0.87	0.28	0.31	0.81	0.88
	2	8	0.91	0.30	0.26	0.86	0.87
E	1	8	0.88	0.32	0.29	0.89	0.92
	2	7	0.82	0.21	0.36	0.60	0.78
F	1	6	0.76	0.27	0.08	0.76	0.62
	2	7	0.86	0.30	0.01	0.84	0.60
G	1	4	0.59	0.21	0.25	0.60	0.68
	2	4	0.65	0.23	0.19	0.64	0.64
H	1	6	0.78	0.28	0.39	0.80	0.96
	2	7	0.83	0.27	0.34	0.78	0.89

DP = desvio padrão.

^a Foram executados níveis adicionais, mas esses dados não estão incluídos na tabela.

Tabela 8: Determinação do LLoQ entre genótipos de HBV no soro

Genótipo do HBV	Lote de reagentes	Aptima HBV Quant ^a (UI/mL)	Aptima HBV Quant ^a (Log ₁₀ UI/mL)	DP (Log ₁₀ UI/mL)	Viés (Log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (Log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (Log ₁₀ UI/mL)
A	1	4	0.65	0.26	0.25	0.73	0.77
	2	6	0.81	0.26	0.04	0.74	0.56
B	1	5	0.70	0.19	0.26	0.54	0.64
	2	5	0.72	0.25	0.18	0.72	0.69
C	1	5	0.66	0.26	0.30	0.74	0.82
	2	6	0.81	0.26	0.10	0.74	0.62
D	1	7	0.84	0.27	0.42	0.75	0.95
	2	9	0.96	0.27	0.29	0.76	0.83
E	1	6	0.79	0.26	0.38	0.75	0.91
	2	8	0.89	0.28	0.29	0.79	0.84
F	1	6	0.76	0.23	0.08	0.66	0.55
	2	5	0.71	0.26	0.14	0.72	0.65
G	1	8	0.89	0.28	0.29	0.80	0.85
	2	5	0.66	0.24	0.29	0.67	0.77
H	1	6	0.74	0.24	0.43	0.67	0.90
	2	6	0.81	0.29	0.37	0.82	0.95

DP = desvio padrão.

^a Foram executados níveis adicionais, mas esses dados não estão incluídos na tabela.

Tabela 9: Resumo do LLoQ entre genótipos no plasma e soro

Genótipo	LLoQ de plasma		LLoQ de soro	
	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL
A	7	0.85	6	0.81
B	6	0.75	5	0.72
C	6	0.75	6	0.81
D	8	0.91	9	0.96
E	8	0.88	8	0.89
F	7	0.86	6	0.76
G	4	0.65	8	0.89
H	7	0.83	6	0.81

Rastreabilidade de acordo com o 3º Padrão Internacional da OMS

Uma série de padrões secundários com concentrações conhecidas foi usada durante o desenvolvimento e a fabricação do produto para estabelecer a rastreabilidade ao padrão da OMS. As concentrações testadas para o padrão da OMS para o HBV ficaram entre 2.0 e 4.0 $\log_{10}$ UI/mL, enquanto os padrões secundários variaram em concentração de 2.4 a 8.4 $\log_{10}$ UI/mL. Os controles e calibradores do ensaio Aptima HBV Quant também foram testados juntamente com os padrões secundários e o padrão da OMS. Todos os painéis apresentaram resultados semelhantes, distribuídos linearmente ao longo do intervalo linear do ensaio, conforme apresentado na Figura 8.

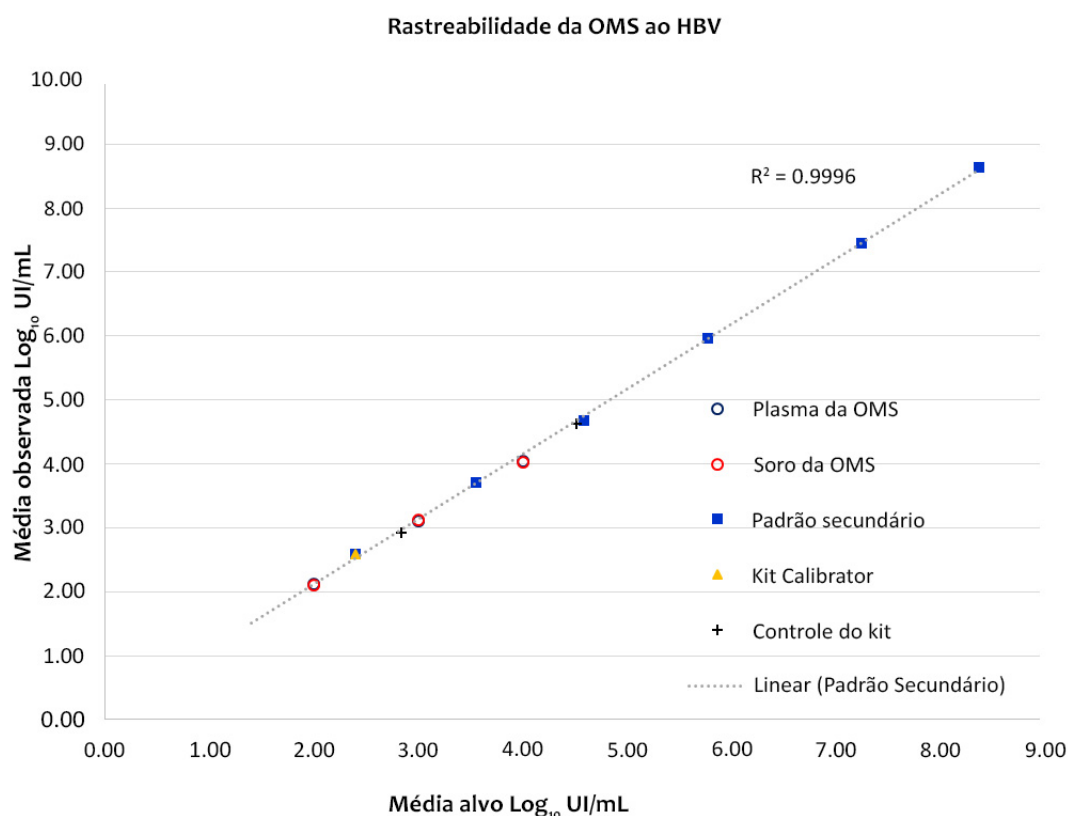


Figura 8. Rastreabilidade entre as concentrações-alvo de acordo com o 3º padrão da OMS para HBV e a concentração observada no ensaio Aptima HBV Quant

Precisão

O painel de precisão do Aptima HBV Quant foi construído diluindo o genótipo A do vírus HBV e o DNA plasmídico do HBV em plasma clínico negativo para HBV e soro clínico negativo para HBV (os quatro membros mais abundantes do painel em cada matriz eram DNA plasmídico). Onze membros do painel em cada matriz abrangiam a faixa do ensaio (concentrações alvo de 1.30 $\log_{10}$ UI/mL a 8.90 $\log_{10}$ UI/mL) e foram testados em três réplicas por execução por um operador, usando três lotes de reagentes em um sistema Panther ao longo de três dias, com duas execuções por dia.

Tabela 10 Mostra a precisão dos resultados do ensaio (em $\log_{10}$ UI/mL) entre dias, entre lotes, entre execuções, dentro de uma mesma execução e no geral. A variabilidade total foi devida principalmente à medição intra-ensaio (ou seja, erro aleatório).

Tabela 10: Precisão do ensaio Aptima HBV Quant

Matriz	Amostra	N	Concentração média (UI/mL)	Concentração média (log ₁₀ UI/mL)	Entre lotes DP	Entre lotes Log normal CV (%)	Entre dias DP	Entre dias Log normal CV (%)	Entre execuções DP	Entre execuções Log normal CV (%)	Entre execuções DP	Entre execuções Log normal CV (%)	Total DP	Total Log normal CV (%)
Plasma	Vírus	34 ^a	32	1.21	0.07	16.2	0.07	16.2	0.05	11.7	0.28	71.8	0.28	78.2
		54	97	1.95	0.05	11.7	0.03	6.8	0.02	5.7	0.15	36.8	0.17	39.9
		54	1.474	3.16	0	1.0	0.02	3.8	0.02	4.8	0.07	15.6	0.07	16.8
		54	10.602	4.02	0.02	4.8	0.02	3.6	0.01	2.4	0.06	14.9	0.07	16.2
		54	429.428	5.63	0.03	6.7	0.01	2.7	0.01	2.4	0.06	14.1	0.07	16.1
	DNA plasmídico	54	652.103	5.8	0.06	14.2	0.01	3.4	0.01	2.0	0.06	13.1	0.09	19.8
	Vírus	54	7617612	6.88	0.02	5.6	0.00	0.4	0.02	4.2	0.06	13.4	0.07	15.1
	DNA plasmídico	54	10662942	7.02	0.02	5.3	0.01	2.3	0.01	2.6	0.06	13.1	0.06	14.5
	Vírus	54	89149358	7.95	0.01	3.4	0.01	2.7	0.01	1.6	0.04	9.7	0.05	10.8
	DNA plasmídico	54	103400000	8.01	0.04	9.4	0.02	3.7	0.01	2.1	0.05	12.0	0.07	15.9
		54	612200000	8.78	0.03	7.6	0.01	1.9	0.01	1.5	0.04	9.0	0.05	12.0
Sero	Vírus	29 ^a	33	1.27	0.13	31.0	0.08	18.6	0.06	13.9	0.29	75.0	0.33	88.4
		54	88	1.92	0.05	11.2	0.02	4.8	0.02	5.5	0.12	29.1	0.14	32.3
		54	1.446	3.15	0.02	3.7	0.01	1.9	0.00	1.1	0.08	17.8	0.08	18.3
		54	7.873	3.89	0.02	4.8	0.01	2.6	0.01	2.1	0.06	13.4	0.06	14.6
		54	313.518	5.49	0.01	3.3	0.01	3.0	0.01	3.2	0.08	17.4	0.08	18.3
	DNA plasmídico	54	599.225	5.77	0.04	8.5	0.01	2.5	0.01	2.5	0.06	14.7	0.08	17.4
	Vírus	54	7011440	6.84	0.02	3.5	0.01	3.2	0.01	3.3	0.07	16.9	0.08	17.9
	DNA plasmídico	54	8845332	6.94	0.05	11.9	0.01	2.2	0.01	2.2	0.05	12.2	0.07	17.4
	Vírus	54	70350774	7.84	0.03	6.3	0.02	3.5	0.02	4.4	0.06	14.4	0.07	16.7
	DNA plasmídico	53 ^b	122800000	8.08	0.04	9.9	0.01	2.2	0.01	1.8	0.04	10.4	0.06	14.6
		54	678700000	8.83	0.02	3.6	0.01	2.2	0.01	1.8	0.05	11.7	0.05	12.5

DP = desvio padrão.

^a Réplicas detectadas com resultado quantificável, total de réplicas detectadas = 54.^b Uma das réplicas apresentou resultado inválido.Log Normal CV(%) = $\sqrt{10^{(DP^2 * \ln(10)) - 1}} * 100$

Substâncias potencialmente interferentes

A suscetibilidade do ensaio Aptima HBV Quant a interferências pelos níveis elevados de substâncias endógenas ou por medicamentos comumente prescritos para indivíduos infectados pelo HBV foi avaliada. Foram testadas amostras de plasma negativas para HBV e amostras contaminadas com HBV em concentrações de aproximadamente 30 UI/mL ($1.48 \log_{10}$ UI/mL) e 20,000 UI/mL ($4.30 \log_{10}$ UI/mL).

Nenhuma interferência no desempenho do ensaio foi observada na presença de albumina (90 mg/mL), hemoglobina (5 mg/mL), triglicerídeos (30 mg/mL) ou bilirrubina não conjugada (0.2 mg/mL).

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

Tabela 11: Tipos de amostras biológicas clínicas testadas

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

Não foi observada interferência no desempenho do ensaio na presença das substâncias exógenas listadas na Tabela 12 em concentrações de pelo menos três vezes a $C_{\text{máx}}$ (plasma humano).

Tabela 12: Substâncias exógenas

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

Especificidade analítica

A potencial reatividade cruzada com os patógenos listados na Tabela 13 foi avaliada em plasma humano negativo para HBV na presença ou ausência de 30 UI/mL ($1.5 \log_{10}$ UI/mL) e 20,000 ($4.3 \log_{10}$ UI/mL) de DNA de HBV. Não foi observada reatividade cruzada. Nenhuma interferência foi observada na presença de agentes patogênicos.

Tabela 13: Patógenos testados quanto à especificidade analítica

Microrganismo/Patógeno	Concentração	Microrganismo/Patógeno	Concentração
Adenovírus 5	100,000 TCID ₅₀ /mL ^a	<i>Candida albicans</i>	1,000,000 UFC/mL ^e
Poliomavírus humano BK	1,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,000,000 IFU/mL ^f
Citomegalovírus	100,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da dengue 1	10,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da dengue 2	10,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da dengue 3	10,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da dengue 4	100,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus Epstein-Barr	100,000 cópias/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,000,000 UFC/mL
Gripe H1N1	100,000 TCID ₅₀ /mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,000,000 UFC/mL
Vírus da hepatite A	100,000 TCID ₅₀ /mL	^a TCID ₅₀ /mL = Unidades de dose infecciosa de cultura de tecidos por mL	
Vírus da hepatite C	100,000 UI/mL ^b	^b UI/mL = Unidades internacionais por mL	
Vírus da hepatite G	100,000 cópias/mL	^c vp/mL = Partículas virais por mL	
Vírus da herpes humana 6B	100,000 cópias/mL	^d LD ₅₀ /mL = Dose letal por mL	
Vírus da herpes humana 8	100,000 cópias/mL	^e UFC/mL = Unidades formadoras de colônias por mL	
HIV-1	100,000 UI/mL	^f IFU/mL = Unidades formadoras de inclusão por mL	
HIV-2	10,000 TCID ₅₀ /mL		
Human papillomavirus	100,000 cópias/mL		
Vírus da herpes simplex 1 (HSV-1)	100,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus da herpes simplex 2 (HSV-2)	100,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1 (HTLV-1)	100,000 vp/mL ^c		
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 2 (HTLV-2)	100,000 vp/mL		
Vírus da encefalite japonês	N/A		
Vírus da encefalite do Vale Murray	2,000 LD ₅₀ /mL ^d		
Parvovírus B19	100,000 UI/mL		
Vírus da rubéola	10,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus da encefalite de St. Louis	100,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus da vacínia	1,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus do Nilo Ocidental	100,000 TCID ₅₀ /mL		
Vírus da febre amarela	100,000 TCID ₅₀ /mL		

Equivalência de matriz

Cento e dezoito conjuntos de amostras de tubos de coleta de sangue correspondentes (tubo de soro, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA, PPT, SST) foram avaliados quanto à equivalência da matriz. Desses, 44 conjuntos eram naturalmente infectados com HBV e 74 conjuntos eram HBV-negativos, mas foram contaminados com o vírus HBV. A correlação para cada tipo de tubo de coleta de sangue, medida utilizando o tubo de coleta de soro como comparador, é mostrada na Tabela 14.

Tabela 14: Estudo de equivalência de matriz

Coleta de sangue Tubo	Regressão de Deming	IC de 95% para a inclinação		IC de 95% do intercepto		R ²	Diferença média (Log ₁₀)
		Inferior Limite	Superior Limite	Inferior Limite	Superior Limite		
ACD	$y = 1.01x - 0.04$	1.00	1.02	-0.10	0.01	0.998	-0.01
K2 EDTA	$y = 1.02x - 0.14$	1.00	1.03	-0.20	-0.07	0.997	-0.07
K3 EDTA	$y = 1.01x - 0.12$	1.00	1.03	-0.18	-0.06	0.997	-0.06
PPT	$y = 1.02x - 0.14$	1.00	1.03	-0.21	-0.07	0.996	-0.06
SST	$y = 1.00x - 0.03$	0.99	1.01	-0.07	0.03	0.999	-0.01

IC = intervalo de confiança.

Diluição da amostra usando o diluente de amostra biológica Aptima (1:3)

Para avaliar a precisão da detecção de DNA do HBV em amostras diluídas com o diluente de amostra biológica Aptima, as amostras que abrangiam a faixa linear foram diluídas na proporção de 1:3 com o diluente de amostra Aptima (por exemplo, 240 µL de amostra combinados com 480 µL de diluente de amostra biológica Aptima). Cada amostra foi testada pura e diluída (1:3) em triplicado. Os testes foram realizados usando um lote de reagentes de ensaio em dois sistemas Panther com dois lotes de diluente de amostras biológicas Aptima. As diferenças entre a concentração média relatada na matriz nativa (fator de diluição aplicado ao resultado da amostra diluída) e a concentração média no diluente de amostras biológicas Aptima são mostradas na Tabela 15 para plasma e na Tabela 16 para soro. As concentrações das amostras foram recuperadas com precisão nas amostras diluídas.

Tabela 15: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:3 da amostra biológica de plasma

Matriz de plasma Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 9	Diluyente Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 18	Diferença Diluyente da matriz de plasma (Log ₁₀ UI/mL)
1.20 ^a	1.11 ^b	-0.09
1.56 ^a	1.36 ^b	-0.20
2.15	2.04	-0.11
3.10	2.97	-0.13
3.92	3.89	-0.03
4.82	4.79	-0.03
5.70	5.70	0.00
7.07	6.98	-0.09
7.74	7.60	-0.14
8.74	8.62	-0.12
9.29	9.19	-0.10
9.39	9.29	-0.10

^a n=21.^b n=42.

Tabela 16: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:3 da amostra biológica de soro

Matriz de soro Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 9	Diluyente Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 18	Diferença Diluyente da matriz de soro (Log ₁₀ UI/mL)
1.21 ^a	1.11 ^b	-0.10
1.54 ^a	1.36 ^b	-0.18
2.21	2.03	-0.18
3.06	2.98	-0.08
3.90	3.83	-0.07
4.77	4.76	-0.01
5.77	5.74	-0.03
7.03	7.00	-0.03
7.85	7.71	-0.14
8.87	8.76	-0.11
9.37	9.30	-0.07
9.46	9.36	-0.10

^a n=21.^b n=42.

Diluição da amostra usando o diluyente de amostra biológica Aptima (1:100)

Para avaliar a precisão da detecção de DNA do HBV em amostras diluídas com o diluyente de amostra Aptima, plasma ou soro, oito amostras biológicas individuais de plasma e oito amostras biológicas individuais de soro foram inoculadas com o vírus HBV, visando concentrações entre 6 e 8 log₁₀ UI/mL, juntamente com oito amostras biológicas individuais de plasma e oito amostras individuais de soro adicionadas com DNA plasmídico do HBV visando concentrações de 9.16 log₁₀ UI/mL foram testadas em 5 repetições. Uma diluição de 1:100 foi realizada com uma parte de amostra e 99 partes de diluyente de amostras biológicas Aptima imediatamente antes do teste. Os testes foram realizados usando um lote de reagentes de ensaio em dois sistemas Panther com dois lotes de diluyente de amostras biológicas Aptima. A diferença entre a concentração média relatada na matriz nativa (fator de diluição aplicado ao resultado da amostra diluída) e a concentração média no diluyente de

amostras biológicas Aptima foi calculada para cada conjunto de amostras, conforme mostrado na Tabela 17 para plasma e na Tabela 18 para soro.

Tabela 17: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:100 da amostra biológica de plasma

Matriz de plasma Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 5	Diluyente Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 10	Diferença Diluyente da matriz de plasma (Log ₁₀ UI/mL)
7.86	7.85	-0.01
7.84	7.83	-0.01
7.78	7.75	-0.03
7.80	7.80	0.00
6.58	6.53	-0.05
6.58	6.52	-0.06
6.58	6.53	-0.05
6.58	6.53	-0.05
9.24 ^a	9.05 ^a	-0.19
9.21 ^a	9.05 ^a	-0.16
9.25 ^a	9.03 ^a	-0.22
9.27 ^a	9.04 ^a	-0.23
9.13 ^a	8.82 ^a	-0.31
9.12 ^a	8.81 ^a	-0.31
9.09 ^a	8.84 ^a	-0.25
9.05 ^a	8.84 ^a	-0.21

^a Fortalecido com DNA plasmídico.

Tabela 18: Resumo da comparação da matriz de diluição 1:100 da amostra biológica de soro

Matriz de soro Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 5	Diluyente Concentração média relatada (Log ₁₀ UI/mL) n = 10	Diferença Diluyente da matriz de soro (Log ₁₀ UI/mL)
7.70	7.85	0.15
7.84	7.85	0.01
7.79	7.82	0.03
7.75	7.79	0.04
6.77	6.77	0.00
6.75	6.80	0.05
6.75	6.71	-0.04
6.70	6.73	0.03
9.27 ^a	9.08 ^a	-0.19
9.24 ^a	9.06 ^a	-0.18
9.29 ^a	9.08 ^a	-0.21
9.31 ^a	9.11 ^a	-0.20
9.14 ^a	8.91 ^a	-0.23
9.18 ^a	8.92 ^a	-0.26
9.19 ^a	8.90 ^a	-0.29
9.08 ^a	8.84 ^a	-0.24

^a Fortalecido com DNA plasmídico.

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

O LLoQ do ensaio Aptima HBV Quant foi confirmado com amostras biológicas de HBV, genótipo A, diluídas em diluente de amostra biológica Aptima. As amostras biológicas foram preparadas em plasma e soro humanos negativos para HBV nas concentrações de 21, 30 e 45 UI/mL. Cada painel foi diluído na proporção de 1:3 em diluente de amostras biológicas Aptima imediatamente antes do teste, para obter concentrações finais de aproximadamente 7, 10 e 15 UI/mL. Um total de 36 réplicas de cada membro do painel foi testado com um lote de reagentes ao longo de três dias. Um LLoQ ≤ 10 UI/mL para plasma e soro com HBV diluídos em diluente de amostras biológicas Aptima foi confirmado conforme mostrado na Tabela 19.

Tabela 19: Confirmação do LLoQ – Amostras no diluente de amostras biológicas Aptima

Matriz	% detectado	Aptima HBV Quant (UI/mL)	Aptima HBV Quant (Log ₁₀ UI/mL)	DP (Log ₁₀ UI/mL)	Viés (Log ₁₀ UI/mL)	TE calculado (Log ₁₀ UI/mL)	TAE calculado (Log ₁₀ UI/mL)
Plasma	100%	3	0.50	0.19	0.10	0.54	0.48
Soro	100%	2	0.38	0.12	0.46	0.33	0.70

Precisão de amostras diluídas

O painel de precisão do Aptima HBV Quant foi desenvolvido diluindo plasma HBV-positivo e DNA plasmídico do HBV em plasma e soro clínicos HBV-negativos. As amostras positivas foram diluídas em diluente de amostras biológicas Aptima. Esses testes foram realizados em cinco réplicas por execução por um operador, utilizando três lotes de diluente de amostras biológicas Aptima em um sistema Panther ao longo de três dias de teste, com duas execuções por dia.

A Tabela 20 mostra a precisão dos resultados do ensaio (em DP log₁₀ UI/mL) para três lotes de diluente de amostras biológicas Aptima. A variabilidade total foi ≤ 0.15 DP entre todos os membros do painel e lotes de diluente.

Tabela 20: Precisão dos painéis diluídos no diluente de amostras biológicas Aptima

Matriz	Concentração alvo Log ₁₀ UI/mL	Diluição	Lote 1 do diluente para amostra biológica (n=10)		Lote 2 do diluente para amostra biológica (n=10)		Lote 3 do diluente para amostra biológica (n=10)		Lotes combinados (n=30)	
			Média Log ₁₀ UI/mL	DP	Média Log ₁₀ UI/mL	DP	Média Log ₁₀ UI/mL	DP	Média Log ₁₀ UI/mL	DP
Plasma	3.30	Pura	3.46	0.07	3.43	0.08	3.46	0.06	3.45	0.07
		1:3	3.36	0.09	3.35	0.07	3.39	0.09	3.37	0.08
	4.30	Pura	4.33	0.06	4.27	0.03	4.41	0.05	4.34	0.08
		1:3	4.34	0.05	4.35	0.05	4.38	0.10	4.35	0.07
	9.18	Pura	9.13	0.05	9.10	0.03	9.26 ^a	0.15	9.16 ^a	0.11
		1:100	9.18	0.03	9.14	0.04	9.33	0.10	9.21	0.10
Soro	3.30	Pura	3.52	0.05	3.48	0.06	3.50	0.07	3.50	0.06
		1:3	3.45	0.08	3.40	0.06	3.39	0.08	3.41	0.07
	4.30	Pura	4.35	0.05	4.37	0.06	4.43	0.06	4.38	0.06
		1:3	4.35	0.05	4.37	0.05	4.41	0.04	4.37	0.05
	9.18	Pura	9.08	0.03	9.14	0.05	9.31 ^b	0.12	9.17 ^b	0.12
		1:100	9.18	0.02	9.14	0.03	9.33	0.09	9.22	0.10

DP = desvio-padrão.

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

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

Carryover

Para estabelecer que o sistema Panther minimiza o risco de resultados falso positivos decorrentes da contaminação por carryover, um estudo usando painéis enriquecidos foi realizado em três sistemas Panther. O carryover foi avaliado usando amostras de plasma enriquecidas com DNA de HBV de alta titulação ($8 \log_{10}$ UI/mL) intercaladas entre amostras negativas de HBV em um padrão xadrez. Os testes foram realizados em quinze execuções. A taxa geral de carryover foi de 0.14% (1/705).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada no sistema Panther em três locais externos nos EUA. Dois operadores executaram o teste em cada local. Cada operador realizou duas análises por dia, durante três dias, utilizando três lotes de reagentes ao longo dos testes. Cada execução teve três réplicas de cada membro do painel. No total, foram testadas 108 réplicas de cada membro do painel.

A reprodutibilidade foi testada utilizando membros do painel preparados com plasma negativo para HBV. Os membros do painel positivo apresentaram resultado positivo para os genótipos A ou C do HBV. As concentrações de DNA do HBV abrangeram a faixa linear do ensaio.

Tabela 21 Mostra a reprodutibilidade e a precisão dos resultados dos ensaios para cada membro positivo do painel entre locais, entre operadores/dias, entre lotes, entre execuções, dentro de uma mesma execução e no geral.

O coeficiente de variação foi calculado usando a seguinte equação, onde σ^2 é a variância da amostra dos dados após a transformação $\log_{10}$.

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

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

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

Contribuição percentual para a variância total DP (%CV)									
Média observada									
GT	N	UI/mL	Log ₁₀ UI/mL	Entre locais	Entre operadores/ dias ^a	Entre lotes	Entre execuções	Nas execuções	Variância total DP (%CV)
A	108	17.6	1.2	0.059 (13.578)	<0.001 (<0.001)	0.138 (32.693)	0.090 (20.869)	0.178 (42.883)	0.250 (62.666)
	108	129.4	2.1	0.009 (2.162)	0 (0)	0.074 (17.109)	0.051 (11.869)	0.106 (24.736)	0.139 (32.886)
	107	1056.0	3.0	0.035 (7.994)	0.032 (7.432)	0.014 (3.246)	0.032 (7.356)	0.085 (19.666)	0.103 (24.060)
	108	7663.0	3.9	0 (0)	0.027 (6.262)	0.040 (9.235)	0.044 (10.088)	0.066 (15.194)	0.092 (21.540)
	108	188172.1	5.3	0.027 (6.281)	0.042 (9.707)	0.042 (9.787)	0.030 (6.829)	0.072 (16.689)	0.102 (23.772)
	108	9389094.1	7.0	0.038 (8.846)	0 (0)	0.031 (7.237)	0.064 (14.791)	0.068 (15.756)	0.106 (24.692)
	107	86664677.2	7.9	0.038 (8.692)	0.029 (6.753)	0.020 (4.584)	0.037 (8.635)	0.049 (11.375)	0.081 (18.725)
	107	753726183.2	8.9	0.024 (5.476)	0.052 (11.997)	0.015 (3.499)	0.045 (10.304)	0.053 (12.187)	0.091 (21.163)
C	107	17.0	1.2	0.041 (9.521)	0.041 (9.392)	0.074 (17.147)	0.092 (21.438)	0.189 (45.704)	0.230 (57.010)
	108	152.9	2.2	0.035 (8.127)	0 (0)	0.055 (12.706)	0.064 (14.925)	0.131 (30.748)	0.160 (38.013)
	108	1363.8	3.1	0.042 (9.583)	0.023 (5.316)	0 (0)	0.061 (14.033)	0.055 (12.623)	0.094 (22.002)
	108	9871.9	4.0	0.011 (2.472)	0.014 (3.270)	0.040 (9.337)	0.038 (8.801)	0.059 (13.651)	0.083 (19.291)
	108	217400.5	5.3	0.031 (7.255)	0.047 (10.843)	0.016 (3.791)	0.026 (6.023)	0.063 (14.685)	0.090 (21.044)
	108	12087179.5	7.1	0.046 (10.543)	0 (0)	0.020 (4.652)	0.064 (14.762)	0.073 (16.922)	0.109 (25.501)
	108	57743712.8	7.8	0.044 (10.232)	0.028 (6.472)	0.013 (2.944)	0.043 (10.026)	0.052 (12.010)	0.087 (20.146)
	108	572184754.9	8.7	0.042 (9.711)	0.048 (11.160)	0.028 (6.374)	0.034 (7.740)	0.048 (11.081)	0.091 (21.208)

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

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.

^a A estimativa “Entre Operadoras” pode ser confundida com a estimativa “Entre Dias”; portanto, as estimativas “Entre Operadoras” e “Entre Dias” são combinadas em “Entre Operadoras/Dias”.

Desempenho clínico

Correlação de métodos

O desempenho do ensaio Aptima HBV Quant foi avaliado em comparação com um ensaio com marcação CE e um ensaio licenciado pela Health Canada, testando amostras biológicas não diluídas de pacientes infectados com HBV. Um total de 614 amostras biológicas dentro da faixa linear comum a ambos os ensaios foram utilizadas para a regressão linear, conforme mostrado na Figura 9.

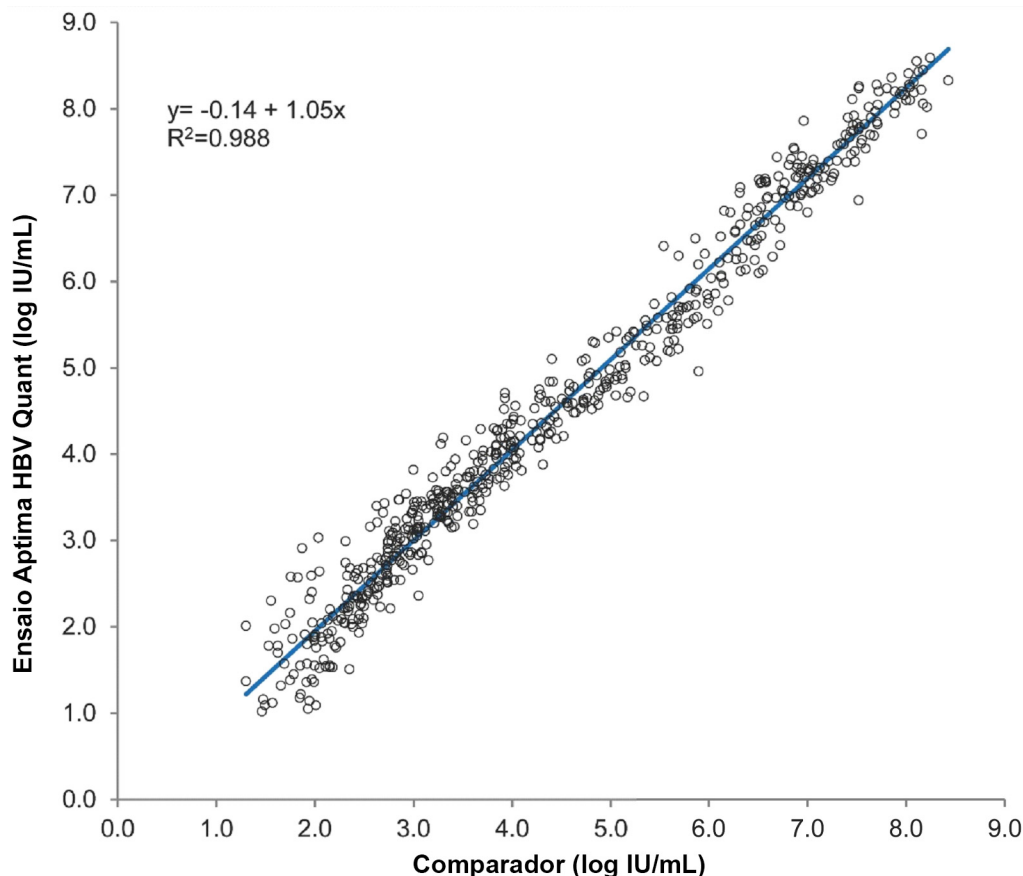


Figura 9. Correlação entre o ensaio Aptima HBV Quant e o ensaio comparador

Utilidade clínica

O estudo foi concebido para avaliar a capacidade do ensaio Aptima HBV Quant de prever desfechos clínicos virológicos, bioquímicos e sorológicos 48 semanas após o início da terapia. As amostras biológicas foram coletadas prospectivamente de indivíduos com infecção crônica pelo HBV que estavam iniciando monoterapia com entecavir ou tenofovir como parte de seu tratamento padrão.

Dos 331 participantes inscritos, 86 não puderam ser avaliados devido a desistência, interrupção, suspensão precoce do tratamento, ausência de resultados na semana 48 ou ausência ou baixa carga viral de DNA do HBV no início do estudo. Os 245 indivíduos restantes foram avaliáveis para pelo menos um dos desfechos de utilidade clínica e incluíram 126 indivíduos HBeAg(+) e 119 indivíduos HBeAg(-). A Tabela 22 apresenta as características demográficas e clínicas basais dos indivíduos avaliáveis. A distribuição demográfica dos participantes deste estudo foi consistente com a de pacientes com HBV crônica nos EUA.¹³ Os dados dos indivíduos HBeAg(+) e HBeAg(-) foram analisados separadamente.

Tabela 22: Dados demográficos e características clínicas basais dos indivíduos avaliáveis

Características	Total	
Total, N	N	245
Entecavir	n (%)	94 (38.4)
Tenofovir	n (%)	151 (61.6)
Sexo, n (%)	Masculino	154 (62.9)
	Feminino	91 (37.1)
Idade (anos)	Média ± DP	43.5 ± 13.63
	Mediana	44.0
	Intervalo	18 – 83
Faixa etária (anos), n (%)	18 – 29	40 (16.3)
	30 – 49, n (%)	120 (49.0)
	50 – 70, n (%)	80 (32.7)
	>70, n (%)	5 (2.0)
Etnia, n (%)	Hispanica ou latina	7 (2.9)
	Não hispânica ou latina	236 (96.3)
	Desconhecido/Recusado	2 (0.8)
Raça ^a , n (%)	Branco	89 (36.3)
	Negro ou afro-americano	16 (6.5)
	Asiático	132 (53.9)
	Indígena americano/do Alasca	0 (0.0)
	Indígena havaiano/das Ilhas do Pacífico	6 (2.4)
	Outro	1 (0.4)
	Desconhecido/Recusado	1 (0.4)
Genótipo, n (%)	A	28 (11.4)
	B	64 (26.1)
	C	36 (14.7)
	D	47 (19.2)
	E	2 (0.8)
	F	0 (0.0)
	G	0 (0.0)
	H	3 (1.2)
	Desconhecida	65 (26.5)
Status do tratamento do HBV, n (%)	Já tratados	27 (11.0)
	Nunca tratados	218 (89.0)
Tratamento medicamentoso prévio, n (%)	Tenofovir	5 (18.5)
	Entecavir	4 (14.8)
	Adefovir	2 (7.4)
	Lamivudina	1 (3.7)
	Telbivudina	0 (0.0)
	Interferon	10 (37.0)
	Outro ^b	5 (18.5)
Resultado do tratamento anterior, n (%)	Falha	1 (3.7)
	Sucesso	0 (0.0)
	Descontinuado por outros motivos	26 (96.3)
Estado sorológico do HBsAg, n (%)	Positivo/reactivo	210 (85.7)
	Não concluído	35 (14.3)

Tabela 22: Dados demográficos e características clínicas basais dos indivíduos avaliáveis (continuação)

Características	Total
Estado cirrótico, n (%)	Cirrótico
	26 (10.6)
	Não cirrótico
	201 (82.0)
	Não concluído
	18 (7.3)
Carga viral do HBV (log ₁₀ UI/mL)	Média ± DP
	6.3 ± 1.93
	Mediana
	6.4
	Intervalo
	3 – 9
ALT (U/L)	Média ± DP
	102.4 ± 175.97
	Número acima do ULN ^c
	177 (85.9)

^a Os participantes podem relatar pertencer a múltiplas raças.

^b Diversas combinações dos medicamentos específicos listados.

^c O limite superior da normalidade (LSN) para alanina aminotransferase (ALT) foi de 30 U/L para homens e 19 U/L para mulheres.

Previsão da resposta à terapia antiviral

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

Definições:

Resultados iniciais da resposta virológica

Resposta virológica nas semanas 12 e 24 = DNA do HBV <10 UI/mL (<LLOQ), conforme avaliado pelo ensaio Aptima HBV Quant no sistema Panther

Resposta virológica alternativa na semana 12 = DNA do HBV ≥2 log₁₀ diminuição em relação ao valor basal

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

Desfechos de utilidade clínica

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

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

Resposta bioquímica = Normalização dos resultados do teste de ALT na semana 48 (ALT <30 U/L para homens e <19 U/L para mulheres)

Resposta sorológica = Perda de HBeAg (resultados HBeAg negativos) na semana 48

Medidas de associação e valor preditivo

Valor Preditivo Positivo (VPP) = Verdadeiro Positivo / (Verdadeiro Positivo + Falso Positivo) ou a probabilidade de resposta na Semana 48 (para o desfecho de utilidade clínica em avaliação) em indivíduos com resposta virológica no ponto de tempo inicial

Valor Preditivo Negativo (VPN) = Verdadeiro Negativo / (Falso Negativo + Verdadeiro Negativo) ou a probabilidade de não resposta na Semana 48 (para o desfecho de utilidade clínica em avaliação) em indivíduos com não resposta virológica no ponto de tempo inicial

Razão de probabilidade (OR) = (Verdadeiro Positivo × Verdadeiro Negativo) / (Falso Positivo × Falso Negativo)

Previsão da resposta virológica na semana 48, definida como DNA do HBV <10 UI/mL

Neste estudo, a definição primária de resposta virológica foi DNA do HBV <10 UI/mL, e essa definição foi usada tanto para a resposta virológica precoce nas semanas 12 e 24, quanto para a resposta virológica na semana 48. Avaliou-se a associação entre as respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 e os desfechos de utilidade clínica na semana 48 (resposta virológica, resposta bioquímica, resposta sorológica).

Previsão da resposta virológica na semana 48

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

As respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24, como preditoras da resposta virológica na semana 48, variaram de acordo com a semana e o tratamento.

Tabela 23: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta virológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	0.0 (0.0, 93.2)	0/1	82.5 (80.0, 88.4)	33/40	1.49 (<0.01, 30.95)
		Tenofovir	100 (27.3, 100)	2/2	74.4 (72.6, 78.7)	61/82	14.30 (1.11, >999.99)
		Todos	66.7 (15.4, 98.2)	2/3	77.0 (75.7, 79.9)	94/122	6.71 (0.62, 147.55)
	24	Entecavir	50.0 (6.4, 93.2)	2/4	88.2 (83.5, 95.4)	30/34	7.50 (0.74, 79.76)
		Tenofovir	75.0 (52.7, 92.3)	12/16	84.1 (78.5, 90.0)	58/69	15.81 (4.62, 65.54)
		Todos	70.0 (50.3, 88.1)	14/20	85.4 (81.3, 90.1)	88/103	13.69 (4.74, 44.16)
HBeAg(-)	12	Entecavir	94.1 (87.1, 99.0)	32/34	22.2 (7.6, 36.0)	4/18	4.57 (0.80, 35.85)
		Tenofovir	83.3 (70.5, 93.2)	25/30	46.9 (35.0, 58.9)	15/32	4.41 (1.42, 15.71)
		Todos	89.1 (82.1, 94.7)	57/64	38.0 (29.0, 47.1)	19/50	4.99 (1.96, 14.00)
	24	Entecavir	93.0 (88.0, 98.1)	40/43	37.5 (6.4, 67.2)	3/8	8.00 (1.21, 55.54)
		Tenofovir	82.6 (74.3, 90.4)	38/46	75.0 (54.1, 92.0)	12/16	14.25 (3.92, 62.71)
		Todos	87.6 (82.7, 92.6)	78/89	62.5 (44.8, 78.0)	15/24	11.82 (4.30, 34.94)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil.

^a O sombreamento indica a significância estatística das razões de probabilidade.

^b Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero.

Previsão da resposta bioquímica na semana 48

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

O valor das respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como preditor da resposta bioquímica na semana 48 variou de acordo com a semana e o tratamento.

Tabela 24: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta bioquímica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	NC (NC)	0/0	67.9 (63.4-76.1)	19/28	2.05 (0.01-393.52)
		Tenofovir	100 (27.6, 100)	2/2	58.5 (55.1, 63.9)	31/53	7.00 (0.54, 983.90)
		Todos	100 (27.3, 100)	2/2	61.7 (59.7, 65.5)	50/81	8.02 (0.63, >999.99)
	24	Entecavir	66.7 (16.4-98.2)	2/3	68.2 (60.1-80.0)	15/22	4.29 (0.35-101.82)
		Tenofovir	58.3 (33.2, 81.0)	7/12	61.4 (54.3, 69.7)	27/44	2.22 (0.61, 8.61)
		Todos	60.0 (36.6, 80.9)	9/15	63.6 (58.2, 70.0)	42/66	2.62 (0.84, 8.70)
HBeAg(-)	12	Entecavir	43.8 (25.1, 61.2)	7/16	50.0 (25.1, 74.9)	6/12	0.78 (0.17, 3.53)
		Tenofovir	52.9 (35.1, 72.2)	9/17	76.2 (61.2, 89.8)	16/21	3.60 (0.93, 15.39)
		Todos	48.5 (36.0, 60.9)	16/33	66.7 (54.5, 78.6)	22/33	1.88 (0.70, 5.20)
	24	Entecavir	45.8 (36.0, 56.0)	11/24	75.0 (25.2, 98.7)	3/4	2.54 (0.28, 55.45)
		Tenofovir	42.9 (32.8, 53.1)	12/28	80.0 (53.0, 97.1)	8/10	3.00 (0.61, 22.34)
		Todos	44.2 (37.8, 50.8)	23/52	78.6 (55.1, 95.0)	11/14	2.91 (0.80, 13.98)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil, NC = não calculável.

^a Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero.

Previsão da resposta sorológica na semana 48

As associações entre a resposta sorológica na Semana 48 e a resposta virológica nas Semanas 12 e 24 estão resumidas na Tabela 25.

O valor das respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24 como preditor da resposta sorológica na semana 48 variou de acordo com a semana e o tratamento.

Tabela 25: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta sorológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <10 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^a
HBeAg(+)	12	Entecavir	100 (6.5, 100)	1/1	86.8 (84.2, 93.9)	33/38	18.27 (0.86, >999.99)
		Tenofovir	0.0 (0.0, 72.0)	0/2	82.9 (81.7, 86.0)	68/82	0.95 (<0.01, 12.45)
		Todos	33.3 (1.8, 84.3)	1/3	84.2 (83.1, 86.8)	101/120	2.66 (0.12, 29.11)
	24	Entecavir	50.0 (6.4, 93.2)	2/4	88.2 (83.5, 95.4)	30/34	7.50 (0.74, 79.76)
		Tenofovir	18.8 (3.1, 39.1)	3/16	84.1 (80.6, 89.1)	58/69	1.22 (0.25, 4.59)
		Todos	25.0 (8.5, 43.6)	5/20	85.4 (82.5, 89.4)	88/103	1.96 (0.57, 5.94)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil.

^a Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero.

Previsão da resposta virológica na semana 48, definida como DNA do HBV <50 UI/mL (Definição alternativa)

Definições alternativas de respostas virológicas precoces (semanas 12 e 24) e da semana 48 também foram avaliadas (ver definições alternativas de resposta acima).

As associações entre os desfechos de utilidade clínica e a resposta virológica na Semana 12 e na Semana 24, usando essas definições alternativas de resposta virológica, são resumidas em Tabela 26 (resposta virológica), Tabela 27 (resposta bioquímica), e Tabela 28 (resposta sorológica).

Tabela 26: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta virológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP (%)		VPN (%)		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	34.2 (26.9, 39.2)	13/38	66.7 (16.1, 98.2)	2/3	1.04 (0.09, 23.60)
		Tenofovir	55.1 (51.9, 59.4)	43/78	83.3 (43.5, 99.2)	5/6	6.14 (0.93, 120.54)
		Todos	48.3 (45.6, 51.3)	56/116	77.8 (45.3, 97.1)	7/9	3.27 (0.75, 22.54)
	24	Entecavir	65.0 (51.3, 81.2)	13/20	100 (86.3, 100)	18/18	66.59 (7.20, >999.99)
		Tenofovir	72.4 (64.7, 80.6)	42/58	88.9 (74.6, 97.2)	24/27	21.00 (6.28, 97.36)
		Todos	70.5 (63.5, 77.9)	55/78	93.3 (84.0, 98.3)	42/45	33.47 (10.81, 148.13)
HBeAg(-)	12	Entecavir	100 (NC)	52/52	NC (NC)	0/0	NC
		Tenofovir	93.0 (89.1, 97.5)	53/57	60.0 (21.3, 93.3)	3/5	19.87 (2.62, 191.49)
		Todos	96.3 (94.4, 98.7)	105/109	60.0 (21.1, 93.3)	3/5	39.37 (5.24, 376.77)
	24	Entecavir	100 (NC)	47/47	0.0 (NC)	0/4	NC
		Tenofovir	93.9 (88.6, 98.3)	46/49	30.8 (6.7, 52.4)	4/13	6.81 (1.30, 39.97)
		Todos	96.9 (93.8, 99.2)	93/96	23.5 (7.0, 39.8)	4/17	9.54 (1.91, 53.22)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil, NC = não calculável.

^a O sombreamento indica a significância estatística das razões de probabilidade.

^b Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero, a menos que não houvesse respostas na Semana 48 ou não respostas na Semana 48, o que resultaria na apresentação da razão de chances como NC.

Tabela 27: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta bioquímica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP		VPN		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	33.3 (25.1-39.0)	9/27	100 (6.7-100)	1/1	1.54 (0.07-233.77)
		Tenofovir	44.2 (39.6, 48.6)	23/52	66.7 (15.7, 98.2)	2/3	1.59 (0.14, 35.36)
		Todos	40.5 (37.1, 43.7)	32/79	75.0 (23.9, 98.7)	3/4	2.04 (0.25, 42.30)
	24	Entecavir	50.0 (31.2-69.5)	7/14	81.8 (58.9-97.1)	9/11	4.50 (0.79-37.15)
		Tenofovir	52.5 (44.0, 61.8)	21/40	81.3 (60.1-96.7)	13/16	4.79 (1.30, 23.28)
		Todos	51.9 (44.1, 60.2)	28/54	81.5 (66.4, 93.1)	22/27	4.74 (1.66, 15.82)
HBeAg(-)	12	Entecavir	46.4 (39.5, 52.6)	13/28	NC (NC)	0/0	0.87 (<0.01, 166.17)
		Tenofovir	40.0 (33.6, 46.3)	14/35	100 (41.4, 100)	3/3	4.72 (0.41, 653.11)
		Todos	42.9 (39.6, 46.7)	27/63	100 (41.2, 100)	3/3	5.27 (0.48, 720.38)
	24	Entecavir	44.0 (34.4, 52.7)	11/25	66.7 (16.3-98.2)	2/3	1.57 (0.13, 36.42)
		Tenofovir	41.4 (31.3, 51.1)	12/29	77.8 (48.6, 97.1)	7/9	2.47 (0.49, 18.57)
		Todos	42.6 (36.4, 48.9)	23/54	75.0 (48.8, 93.7)	9/12	2.23 (0.59, 10.87)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil.

^a O sombreamento indica a significância estatística das razões de probabilidade.

^b Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero.

Tabela 28: Valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e razão de probabilidade (OR) para resposta sorológica prevista pela resposta virológica precoce durante o tratamento: Resposta virológica na semana 48 definida como <50 UI/mL

Status do HBeAg	Semana do início da resposta virológica	Tratamento	VPP		VPN		OR
			Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%)	n/N	Estimativa (IC de 95%) ^{a,b}
HBeAg(+)	12	Entecavir	16.7 (10.4, 19.6)	6/36	100 (44.1, 100)	3/3	1.49 (0.12, 209.89)
		Tenofovir	16.7 (12.9, 18.6)	13/78	83.3 (44.2, 99.2)	5/6	1.00 (0.14, 19.98)
		Todos	16.7 (13.9, 18.1)	19/114	88.9 (58.8, 99.5)	8/9	1.60 (0.27, 30.56)
	24	Entecavir	30.0 (16.5, 41.6)	6/20	100 (86.3, 100)	18/18	16.59 (1.72, >999.99)
		Tenofovir	22.4 (16.9, 26.8)	13/58	96.3 (84.7, 99.9)	26/27	7.51 (1.37, 140.31)
		Todos	24.4 (20.0, 28.4)	19/78	97.8 (90.4, 99.9)	44/45	14.17 (2.77, 259.25)

IC = intervalo de confiança de 95% para a probabilidade do perfil.

^a O sombreamento indica a significância estatística das razões de probabilidade.

^b Para o cálculo das razões de probabilidade e seus intervalos de confiança, adicionou-se 0.5 a todas as células sempre que pelo menos uma célula fosse zero.

Conclusão

De forma geral, os resultados demonstram que o ensaio Aptima HBV Quant pode quantificar os níveis de DNA do HBV no início do estudo e durante o tratamento, auxiliando na avaliação da resposta viral ao tratamento. Este estudo demonstrou que as respostas virológicas precoces nas semanas 12 e 24, como preditoras da resposta virológica na semana 48, variaram de acordo com a semana e o tratamento.

O ensaio Aptima HBV Quant pode ser usado como auxílio no manejo de pacientes com infecção crônica pelo HBV submetidos à terapia com medicamentos antivirais contra o HBV.

Bibliografia

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

Informações de 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 e/ou marcas registradas da Hologic, Inc. e/ou de suas subsidiárias nos Estados Unidos e/ou em outros países. Todas as outras marcas comerciais que possam aparecer neste folheto informativo são propriedade dos seus respectivos proprietários.

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.

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

AW-28215-2301 Rev. 003

2025-10

Histórico de revisões	Data	Descrição
AW-28215-2301 Rev. 001	Julho de 2025	• Lançamento inicial das instruções de uso do novo ensaio Aptima HBV IFU AW-28215 Rev. 001 para conformidade regulatória com o IVDR, que substituirá o AW-13182.
AW-28215-2301 Rev. 002	Agosto de 2025	• Atualizações de marcas registradas para atender aos requisitos da BSI.
AW-28215-2301 Rev. 003	Outubro de 2025	• Adicionada opção de agitador de tubos. • Ficha de Dados de Segurança atualizada.