

Xpert[®] HIV-1 Qual

REF GXHIV-QA-CE-10

Instruções de Utilização

CE 2797 **IVD**

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2015–2023 Cepheid.

Cepheid[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2015–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações no Secção 24 Histórico de revisões.

Xpert[®] HIV-1 Qual

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome Proprietário

Xpert[®] HIV-1 Qual

2 Nome comum ou usual

HIV-1 Qual

3 Utilização prevista

O teste HIV-1 Qual, realizado nos GeneXpert Instrument Systems, é um teste de diagnóstico qualitativo *in vitro* concebido para detetar ácidos nucleicos totais do vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1) nos sistemas automáticos GeneXpert[®], utilizando de amostras de sangue total humano e gotas de sangue seco de indivíduos com suspeita de infeção por VIH-1, tendo sido validado para amostras do Grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG e CRF03_AB), do Grupo N e do Grupo O.

O teste HIV-1 Qual destina-se a ajudar a diagnosticar a infeção por VIH-1 em conjunto com o quadro clínico e outros marcadores laboratoriais. O teste destina-se a ser utilizado por profissionais de laboratório ou profissionais de cuidados de saúde com formação específica. O teste não se destina a testes de rastreio de VIH-1 em sangue de dadores.

4 Resumo e explicação

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).^{1,2,3} Pode ser transmitido através de contacto sexual, exposição a sangue ou derivados do sangue infetados, infeção pré-natal de um feto ou infeção perinatal ou pós-natal de um recém-nascido.^{4,5,6} Os indivíduos infetados desenvolvem, em geral, infeção aguda que se caracteriza por sintomas de tipo gripal num período de dias a semanas após a exposição inicial.⁷ As infeções por VIH agudas duram, tipicamente, menos de 14 dias⁸ e estão associadas a níveis elevados de viremia antes de uma resposta imunitária detetável.^{9,10} Por conseguinte, os testes de ácidos nucleicos do VIH-1 podem ser mais sensíveis do que os testes sorológicos padrão na deteção da infeção aguda.⁷

No final de 2013, havia 35 milhões (33,2 milhões–37,2 milhões) de pessoas com VIH.¹¹ Dos infetados, 2,1 milhões representam novas infeções, e estima-se que 240 000 sejam crianças.¹¹ Um terço de todas as pessoas com VIH residem em nove países da África Austral, que corresponde apenas a 2% da população global.¹² Sem testes de VIH e início da terapêutica atempados, um terço das crianças infetadas pelo VIH morrerão antes de completarem 1 ano e mais de 50% morrerão antes dos 2 anos.¹¹ Pelo contrário, o risco de mortalidade em crianças infetadas por VIH nos EUA e na Europa é de apenas 10%–20%.¹³ O diagnóstico precoce da infeção pelo VIH em crianças é uma necessidade; contudo, deixa de ser possível acompanhar muitos doentes enquanto se espera por um teste precoce, normalmente, ADN-PCR, sensível nos primeiros 18 meses de vida (cuja acessibilidade é muito limitada) ou um teste rápido que só é exato a partir dos 15 a 18 meses de idade.^{14,15} Em consequência, o teste de ácidos nucleicos do VIH-1 tem sido recomendado para a deteção da infeção em doentes pediátricos com 18 ou menos meses de idade.^{16,17,18,19}

O teste HIV-1 Qual utiliza a tecnologia de transcrição reversa/reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR) para alcançar uma elevada sensibilidade para deteção qualitativa dos ácidos nucleicos totais do VIH-1 em amostras de sangue total ou de gota de sangue seco.

5 Princípio do Procedimento

Os sistemas de instrumentos GeneXpert (GX) automatizam e integram a preparação de amostras, a extração e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando PCR-transcriptase reversa em tempo real (RT-PCR). Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-carregado para a execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única que contêm os reagentes para RT-PCR e onde decorrem os processos de RT-PCR. Dado que os cartuchos são independentes, a contaminação cruzada entre amostras é minimizada. Para obter uma descrição completa do sistema, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* ou *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

O teste HIV-1 Qual inclui reagentes para detecção de ácidos nucleicos totais do VIH-1 em amostras, bem como um controlo interno para assegurar o processamento adequado do alvo e para monitorizar a presença de inibidores nas reações de RT e PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

6 Materiais fornecidos

O kit do teste HIV-1 Qual contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos de teste HIV-1 Qual com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) 	1 de cada por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de lise (tiocianato de guanidina) 	1,4 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de enxaguamento 	0,5 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de eluição 	2,5 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de fixação 	2,4 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de Proteinase K 	0,48 ml por cartucho
Conjunto de reagente de amostra do teste HIV-1 Qual (reagente de amostra)	10
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de lise (tiocianato de guanidina) 	1,0 ml por frasco
Pipetas de transferência descartáveis de 1 ml	1 embalagem de 10 por kit
Micropipetas de transferência descartáveis de 100 µl	1 embalagem de 10 por kit
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> Ficheiros de definição do teste (Assay Definition Files, ADF) Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert Instruções de utilização (folheto informativo) 	

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

Nota A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA), presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve os cartuchos e reagentes do teste HIV-1 Qual entre 2 °C e 28 °C.
- Não utilize nenhum reagente que esteja turvo ou que apresente alteração da cor.
- Não utilize um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx ou sistemas GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software proprietário GeneXpert Dx versão 4.7b ou posterior (sistemas GeneXpert Dx) ou Xpertise 6.4b ou superior (Infinity-80/Infinity-48s), leitor de código de barras e manual do utilizador.
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Se estiver a utilizar gota de sangue seco:
 - Kit de colheita de gota de sangue seco (cartões de papel de filtro, por ex., Whatman 903, Munktell ou equivalente, lancetas, excisantes, sacos de plástico seláveis e zaragatoas)
 - Tesoura, estéril (recomendada para excisão da gota de sangue seco do papel de filtro, caso não se esteja a usar um cartão de gota de sangue seco perfurado)
 - Pinça
 - Toalhete
 - Lixívia
 - ThermoMixer® C da Eppendorf (número de encomenda Eppendorf 5382 000.015) (apenas para aplicação de gota de sangue seco)
 - SmartBlock™ da Eppendorf (número de encomenda Eppendorf 5309 000.007) (apenas para aplicação de gota de sangue seco)

9 Declarações de atenção e precauções

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, devem ser todas tratadas com as precauções predefinidas. As orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention²⁰ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.²¹
- Use luvas de proteção descartáveis, batas e proteção ocular durante o manuseamento de amostras e reagentes. Lave muito bem as mãos após o manuseamento das amostras e dos reagentes do teste.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Quando processar mais do que uma amostra em simultâneo, abra apenas um cartucho, adicione a amostra e feche o cartucho antes de processar a próxima amostra. Trocar de luvas entre as amostras.
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de amostras de doentes diferentes para evitar a contaminação de amostras ou reagentes.
- Não substitua os reagentes do teste HIV-1 Qual por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho de teste HIV-1 Qual, exceto quando adicionar o reagente de amostra e o sangue total ou a amostra de gota de sangue seco tratada com reagente de amostra.
- Não utilize um cartucho se este parecer húmido ou se o selo da tampa parecer estar partido.
- Não utilize um cartucho que tenha caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode gerar resultados inválidos.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho de teste HIV-1 Qual de utilização única é utilizado para processar uma amostra. Não reutilize cartuchos gastos.

A pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir apenas uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- As amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial da Saúde).

10 Perigos químicos^{23, 24}

- Palavra-sinal: Atenção
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea ligeira
 - Causa irritação ocular
- **Recomendações de prudência GHS da ONU**
 - Prevenção
 - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
 - Resposta
 - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
 - **SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS:** Enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar.
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

11 Colheita, transporte e conservação de amostras

11.1 Colheita de sangue total

Colha o sangue total para tubos esterilizados com EDTA K2 (tampa lilás) como anticoagulante, de acordo com as instruções de utilização do fabricante. É necessário um mínimo de 100 µl de sangue total para o teste HIV-1 Qual.

Transporte e armazenamento de amostras

O sangue total com anticoagulante EDTA K2 pode ser conservado a 31 °C–35 °C durante até 8 horas, a 15 °C–30 °C durante até 24 horas ou a 2 °C–8 °C durante até 72 horas, antes de preparar e testar a amostra.

11.2 Colheita de gotas de sangue seco

Colha as amostras de gotas de sangue seco mediante procedimentos clínicos corretos. As gotas de sangue seco devem ser preparadas com cartões de papel de filtro Whatman 903 ou Munktell, ou equivalente, a partir de sangue obtido por punção do calcanhar, dedo ou dedo do pé ou recolhido num tubo com EDTA K2. A gota de sangue seco é preparada, colocando uma gota de sangue dentro de cada círculo delimitado de 12 milímetros do cartão de papel de filtro. Assegure-se de que todo o círculo está coberto com sangue (aproximadamente 60 µl–70 µl). De forma a poder repetir-se o teste, é necessário preencher pelo menos dois círculos por amostra.

Se o sangue total tiver sido colhido para um tubo com EDTA K2, misture a amostra, invertendo o tubo 8–10 vezes antes aplicá-la no filtro. Deixe o cartão secar ao ar, a temperatura ambiente, durante pelo menos quatro horas. Embale cada cartão num saco que permita abrir e voltar a fechar e que contenha uma saqueta de exsicante (por saco). As amostras recém-colhidas em tubos com EDTA K2 podem ser conservadas a 31 °C–35 °C durante até 8 horas, 15 °C–30 °C durante até 24 horas ou a 2 °C–8 °C durante até 72 horas antes da preparação da gota de sangue seco.

Transporte e armazenamento de amostras

Envie os cartões de papel de filtro com a gota de sangue seco para os laboratórios de teste, para análises ulteriores, em sacos individuais que possam ser abertos e fechados de novo, cada um com uma saqueta de exsicante. Os cartões podem ser conservados a 2 °C–25 °C ou a temperatura de -15 °C ou inferior durante até 12 semanas. Os cartões também podem ser conservados a 31 °C–35 °C durante até 8 semanas.

12 Procedimento

Antes de começar, remova o frasco que contém o reagente de amostra do kit e, caso estivesse refrigerado, aguarde que se aclimatize à temperatura ambiente. Ver Figura 1. Caso o frasco não tenha sido conservado numa posição vertical, certifique-se de que o tampão está depositado no fundo, agitando bem o frasco.

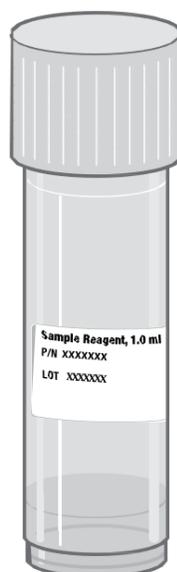


Figura 1. Reagente de amostra do teste HIV-1 Qual

12.1 Preparação do Cartucho

Nota Não retire a fina película de plástico que protege o anel interior das 13 portas do cartucho de teste.

Importante Inicie o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

Sangue total

1. Use luvas de proteção descartáveis.
2. Rotule o frasco de reagente de amostra com a identificação da amostra.
3. Inspeção o cartucho do teste para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
4. Abra a tampa do cartucho.
5. Utilize a pipeta de transferência de 1 ml fornecida (Figura 2) ou uma pipeta automática para transferir 750 µl do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho (Figura 4).

Nota Aguarde para o reagente de amostra se aclimatize à temperatura ambiente e misture o frasco, invertendo-o antes da transferência para o cartucho. Transfira exatamente 750 µl para a câmara de amostra do cartucho.

6. Mistura a amostra de sangue total, invertendo o frasco (Microtainer com EDTA ou tubo com EDTA K2 [tampa lilás]), pelo menos, sete vezes. Transfira imediatamente 100 µl com a micropipeta fornecida (ver Figura 3), apertando o bolbo superior e soltando a seguir para aspirar o sangue. Aperte novamente para dispensar o sangue para a câmara de amostra do cartucho onde será misturado com o reagente de amostra já existente na câmara de amostra (Figura 4). Em alternativa, utilize uma pipeta automática para dispensar o sangue na câmara de amostra do cartucho (ver Figura 4). **NÃO** deite a amostra na câmara!

Nota Certifique-se de que são adicionados ao reagente de amostra já existente na câmara de amostra 100 µl de sangue.

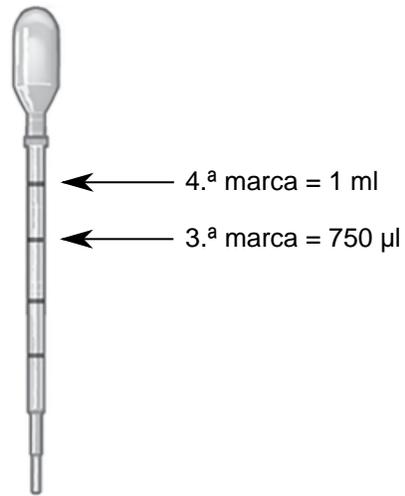


Figura 2. Pipeta de transferência de 1 ml do teste HIV-1 Qual

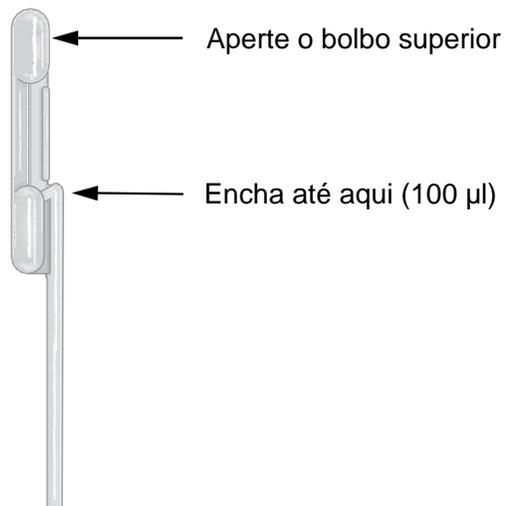


Figura 3. Pipeta de transferência de 100 µl do teste HIV-1 Qual



Figura 4. Cartucho de teste HIV-1 Qual (vista de cima)

Gotas de sangue seco

Nota Para evitar contaminação cruzada, limpe com um toallete a pinça e a tesoura (se o cartão de gota de sangue seco não for perfurado) entre amostras, utilizando uma solução de lixívia a 10% em água. Seque a pinça e a tesoura após cada descontaminação.

1. Use luvas de proteção descartáveis.
2. Ligue o ThermoMixer para aquecer até 56 °C.
3. Rotule o frasco de reagente de amostra com a identificação da amostra.
4. Com uma tesoura esterilizada, corte uma GSS inteira do cartão de papel de filtro para cada amostra. Ao cortar a gota de sangue seco, siga as linhas desenhadas. Caso se usem círculos perfurados, utilize uma pinça para destacar a GSS.
5. Abra a tampa do frasco que contém o reagente de amostra e coloque nele uma GSS. Se a GSS não pousar no fundo, use a parte de trás da pinça para a empurrar suavemente para baixo. Assegure-se de que a GSS está totalmente submersa no tampão de reagente de amostra.
6. Coloque o frasco com a gota de sangue seco no ThermoMixer e incube durante 15 minutos, a 56 °C e a uma rotação de 500 rpm.
7. Inspeccione o cartucho do teste para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
8. Abra a tampa do cartucho.
9. Utilize a pipeta de transferência de 1 ml fornecida (consulte Figura 2) ou uma pipeta automática para transferir todo o líquido da amostra de gota de sangue seco lisada para a câmara de amostra do cartucho (consulte Figura 4). Assegure-se de que a pipeta está cheia até acima da terceira marca na pipeta de transferência. Evitar a sucção da GSS com a pipeta. **NÃO** deite a amostra na câmara!
10. Fechar a tampa do cartucho.

13 Execução do teste

- Para o GeneXpert Dx System, consulte Secção 13.1.
- Para o GeneXpert Infinity System, consulte Secção 13.2.

13.1 GeneXpert Dx System

13.1.1 Iniciar o teste

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

- Importante**
- O sistema está a funcionar com a versão do software GeneXpert Dx correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
 - O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Nota Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o GeneXpert Dx System e depois ligue o computador e inicie sessão. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão com o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do **sistema GeneXpert**, clique em **Criar teste (Create Test)**. É apresentada a janela **Criar teste (Create Test)**. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.

A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Faça clique em **Iniciar teste (Start Test)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
8. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
9. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar.
Quando o teste termina, a luz desliga-se.
10. Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e, em seguida, retire o cartucho.
11. Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

13.1.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *Manual do utilizador sistema GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual)*.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela **Ver resultados (View Results)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

13.2 GeneXpert Infinity System**13.2.1 Iniciar o teste**

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que:

Importante

- O sistema está a funcionar com a versão do software Xpertise correta mostrada na secção Materiais necessários mas não fornecidos.
- O ficheiro de definição do teste correto foi importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota

Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no computador e, em seguida, inicie sessão no software GeneXpert Xpertise, utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise (Xpertise Software Home)**, clique em **Pedidos (Orders)** e, na área de trabalho de **Pedidos (Orders)**, clique em **Pedir teste (Order Test)**.
É apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - ID do doente (Order Test - Patient ID)**.
4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta.
A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
5. Introduza quaisquer informações adicionais exigidas pela sua instituição e clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.

É apresentada a área de trabalho **Pedir teste - ID da amostra (Order Test - Sample ID)**.

6. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta.
A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios.
7. Clique no botão **CONTINUAR (CONTINUE)**.
A área de trabalho **Pedir teste - Teste (Order Test - Assay)** é apresentada.
8. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

Nota

Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, será apresentado um ecrã a indicar que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã for apresentado, contacte a assistência técnica da Cepheid.

Depois de efetuar a leitura do cartucho, será apresentada a área de trabalho de **Pedir teste - Informação sobre o teste (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique se as informações estão corretas e clique em **Submeter (Submit)**. Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo apresentada, caso seja necessário.
10. Coloque o cartucho na correia transportadora.
O cartucho será carregado automaticamente, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

13.2.2 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções detalhadas sobre como ver e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Na **área de trabalho inicial do software Xpertise**, clique no ícone de **RESULTADOS (RESULTS)**. É apresentado o menu Resultados (Results).
2. No menu Resultados (Results), selecione o botão **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. É apresentada a área de trabalho de **Ver resultados (View Results)**, mostrando os resultados do teste.
3. Clique no botão **RELATÓRIO (REPORT)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

14 Controlo de Qualidade

Cada teste inclui um meio de adequação do volume da amostra (Sample Volume Adequacy, SVA), um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Adequação do volume da amostra (SVA — Sample Volume Adequacy):** Garante que a amostra foi adicionada corretamente ao cartucho. O SVA verifica que foi adicionado à câmara da amostra o volume de amostra correto. A SVA é aprovada se cumprir os critérios de aceitação validados. Se a SVA não for aprovada, será visualizado o ERRO 2096 (ERROR 2096) se não houver amostra ou o ERRO 2097 (ERROR 2097) se não houver amostra suficiente. O sistema impede que o utilizador retome o teste.
- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control):** Assegura que a amostra foi corretamente processada. O SPC é um Armored RNA[®] sob a forma de uma esfera seca que está incluída em cada cartucho para verificar o processamento adequado dos vírus da amostra. O SPC verifica se ocorreu a lise do VIH-1, se o organismo estiver presente, e verifica se o processamento da amostra foi adequado. Além disso, este controlo deteta a inibição associada à amostra da reação RT-PCR. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC):** Antes do início da reação de PCR, o GeneXpert Instrument System mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlos externos:** Devem ser utilizados controlos externos de acordo com as exigências de organizações de acreditação locais, estaduais e federais, conforme aplicável.

15 Interpretação dos Resultados

Os resultados são automaticamente interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert por meio da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados de forma clara na janela **Ver resultados (View Results)** (ver Figura 5 e Figura 6). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados do teste HIV-1 Qual e interpretação

Resultado	Interpretação
VIH-1 DETETADO (HIV-1 DETECTED) Ver Figura 5.	Os ácidos nucleicos-alvo do VIH-1 são detetados. <ul style="list-style-type: none"> Os ácidos nucleicos-alvo do VIH-1 têm um Ct dentro do intervalo válido. SPC: NA (não aplicável) [NA (not applicable)]; o SPC é ignorado porque ocorreu amplificação do alvo VIH-1. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
VIH-1 NÃO DETETADO (HIV-1 NOT DETECTED) Ver Figura 6.	Os ácidos nucleicos-alvo do VIH-1 não são detetados. O SPC preenche os critérios de aceitação. <ul style="list-style-type: none"> SPC: APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct dentro do intervalo válido. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID)	A presença ou ausência de ácidos nucleicos-alvo do VIH-1 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. <ul style="list-style-type: none"> SPC: FALHOU (FAIL); o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido. Verificação da sonda: APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR)	A presença ou ausência de ácidos nucleicos do alvo de VIH-1 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. <ul style="list-style-type: none"> VIH-1: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda^a: FALHOU (FAIL); um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam.
SEM RESULTADO (NO RESULT)	A presença ou ausência de ácidos nucleicos do alvo de VIH-1 não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer. <ul style="list-style-type: none"> VIH-1: SEM RESULTADO (NO RESULT) SPC: SEM RESULTADO (NO RESULT) Verificação da sonda: NA (não aplicável).

^a Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo aceitável ou porque houve falha de um componente do sistema.

Nota

As capturas de ecrã do teste são meramente exemplificativas. O nome do teste e o número da versão podem ser diferentes das capturas de ecrã apresentadas nestas instruções de utilização. QC1 e QC2 nas legendas de Figura 5 e Figura 6 controlam a presença de sondas (consulte controlo de verificação da sonda na secção 14, Controlo de qualidade); não são geradas curvas de amplificação.

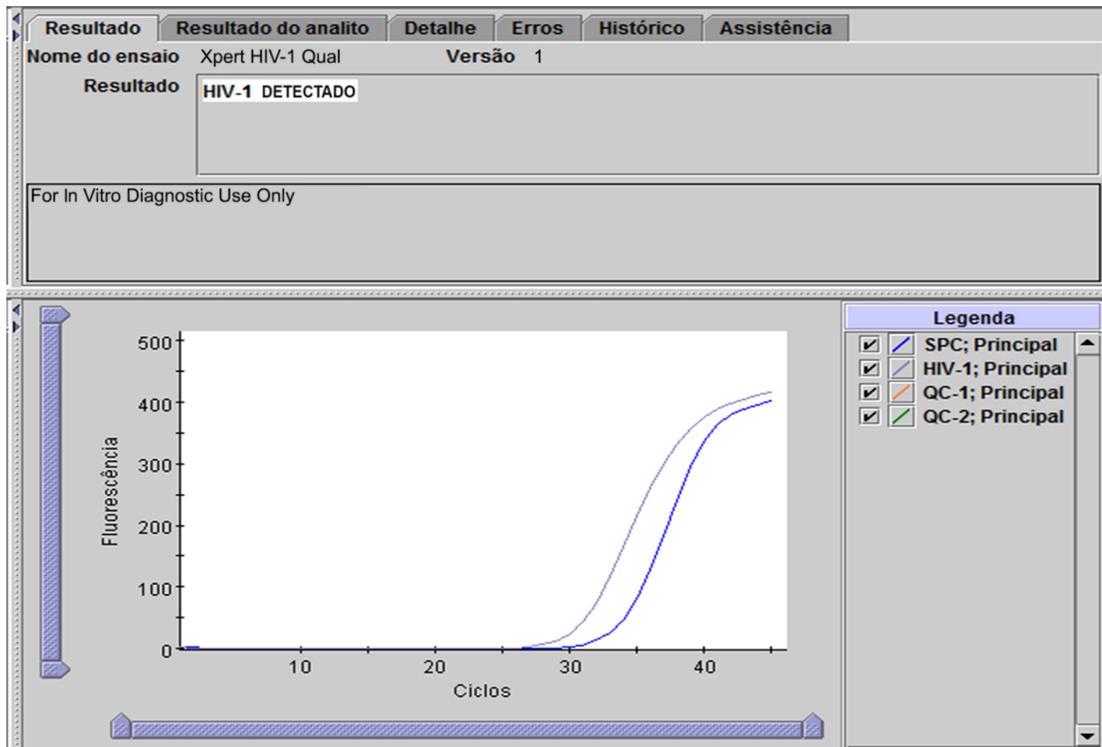


Figura 5. VIH-1 detetado (HIV-1 Detected)

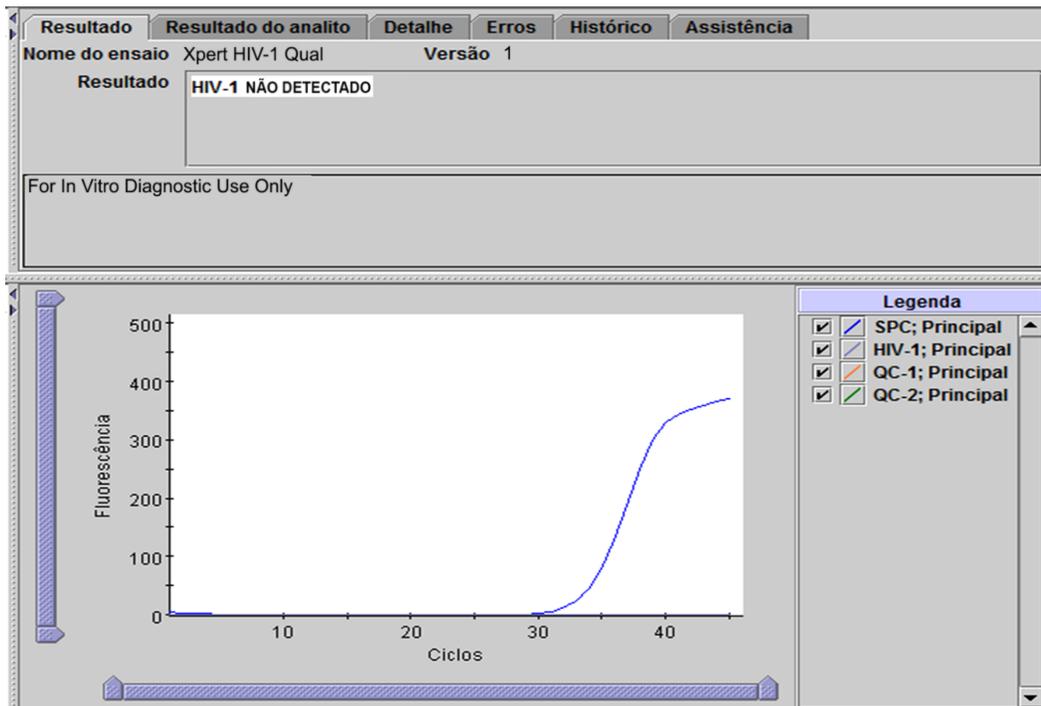


Figura 6. VIH-1 não detetado (HIV-1 Not Detected)

16 Repetir o teste

16.1 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica uma ou mais das ocorrências a seguir:
 - O SPC de controlo falhou.
 - A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado de **ERRO (ERROR)** indica que o teste foi abortado. As causas possíveis incluem: foi adicionado um volume de amostra insuficiente, o tubo de reação não foi adequadamente enchido, foi detetado um problema de integridade da sonda de reagente ou o limite máximo de pressão foi excedido.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram recolhidos dados insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.

16.2 Procedimento de repetição do teste

Para repetição de um teste com resultado **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)**, ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, utilize novos reagentes (não reutilize o cartucho).

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Consulte Secção 12, incluindo Secção 12.1 e um dos seguintes:
 - Para o GeneXpert Dx System, consulte Secção 13.1.
 - Para o GeneXpert Infinity System, consulte Secção 13.2.

17 Limitações

- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório e a troca de luvas entre o manuseamento de amostras diferentes para evitar a contaminação de reagentes.
- As mutações raras na região-alvo do teste HIV-1 Qual podem afetar a ligação do primer e/ou da sonda, o que resulta na falha em detetar o vírus.
- Um resultado de teste negativo não exclui a infeção por VIH-1. Os resultados do teste HIV-1 Qual devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico e outros marcadores laboratoriais.
- O teste Xpert HIV-1 Qual foi validado apenas para utilização com tubos com EDTA K2. A utilização deste teste para analisar outros tipos de amostras pode gerar resultados imprecisos.
- Os doentes que tenham recebido terapêuticas CAR-T podem apresentar resultados positivos com Xpert (HIV-1 Qual XC, HIV-1 VL, etc.) como resultado da presença do alvo LTR em certos produtos de receptores de antigénios quiméricos de células T (CAR-T). Devem ser realizados testes de confirmação adicionais para determinar o estado de VIH do doente em indivíduos que tenham recebido tratamento CAR-T.

18 Características do desempenho

18.1 Limite de deteção

O limite de deteção (LOD) do teste HIV-1 Qual foi determinado para os procedimentos sangue total e gota de sangue seco, testando dois padrões de referência HIV-1 subtipo B diferentes, incluindo o material de referência do Laboratório de Garantia de Qualidade Viral (VQA) do grupo de ensaios clínicos de SIDA e do 3.º padrão internacional da OMS NIBSC código 10/152 diluídos em sangue total com EDTA negativo para VIH-1. A testagem foi realizada com três séries de diluição, cada uma analisada com um lote de reagente único por dois operadores e durante três dias. No total, foram testadas 72 réplicas por nível. A avaliação foi realizada de acordo com a diretriz CLSI E17-A2.22 A concentração de ARN do VIH-1 que pode ser detetada com uma taxa de positividade superior a 95% foi determinada através da análise de regressão Probit. Os resultados combinados para todos os três lotes testados com ambas as amostras de sangue total e gota de sangue seco são apresentados na Tabela 2 e Tabela 3.

Tabela 2. Limite de detecção em sangue total para o teste HIV-1 Qual utilizando regressão Probit^a

	Concentração nominal (cópias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Taxa de positividade (%)	LoD com 95% de probabilidade estimado pelo método Probit (intervalo de confiança de 95%)
VQA	200	72	66	92	203 cópias/ml (IC de 95%: 181–225 cópias/ml)
	150	72	55	76	
	100	71	45	63	
	75	72	35	49	
	50	72	34	47	
	25	72	12	17	
	0	72	0	0	
OMS	420	72	72	100	278 cópias/ml (IC de 95%: 253–304 cópias/ml)
	300	72	66	92	
	240	72	62	86	
	180	72	57	79	
	120	71	47	66	
	60	72	18	25	
	30	72	13	18	
	0	72	0	0	

^a Foi utilizado o fator de conversão de 1 cópia = 1,72 UI

Tabela 3. Limite de detecção em gotas de sangue seco para o teste HIV-1 Qual utilizando regressão Probit^a

	Concentração nominal (cópias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Taxa de positividade (%)	LoD com 95% de probabilidade estimado pelo método Probit (intervalo de confiança de 95%)
VQA	800	72	72	100	531 cópias/ml (IC de 95%: 474-587 cópias/ml)
	600	71	64	90	
	400	72	64	89	
	200	72	43	60	
	100	72	23	32	
	50	72	4	6	
	0	72	0	0	
OMS	1000	72	71	99	668 cópias/ml (IC de 95%: 593-742 cópias/ml)
	750	72	69	96	
	500	72	60	83	
	250	72	43	60	

	Concentração nominal (cópias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Taxa de positividade (%)	LoD com 95% de probabilidade estimado pelo método Probit (intervalo de confiança de 95%)
	125	72	22	31	
	75	72	12	17	
	0	72	0	0	

^a Foi utilizado o fator de conversão de 1 cópia = 1,72 UI

18.2 Precisão

A precisão do teste HIV-1 Qual foi determinada tanto para amostras de sangue total como para amostras de gota de sangue seco, utilizando quatro painéis de diluição em série preparados com dois padrões de referência diferentes de VIH-1 subtipo B: o material de referência Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) do AIDS Clinical Trials Group e o 3.º padrão internacional da IMS código 10/152. Cada painel foi preparado, adicionando o padrão de referência à amostra de sangue total com EDTA negativa para VIH-1. Cada painel continha um membro de sangue total ou gota de sangue seco negativos para VIH-1. As gotas de sangue seco foram preparadas, colocando sangue total com substância adicionada em cartões de papel de filtro com 65 µl, e deixadas a secar antes da testagem. Os painéis de sangue total e gota de sangue seco foram testados de acordo com o procedimento do teste HIV-1 Qual. Cada membro do painel foi testado em réplicas de quatro por dois operadores durante nove dias. Foram utilizados três lotes diferentes de kits.

Os dados foram analisados, calculando a percentagem de resultados certos para cada membro do painel, para cada lote de kit, por tipo de amostra. O teste HIV-1 Qual demonstra um desempenho consistente no LOD e acima para as amostras de sangue total e também de gotas de sangue seco, conforme demonstrado pelos valores “p” > 0,05 utilizando o teste estatístico do qui quadrado. Consulte Tabela 4 e Tabela 5.

Tabela 4. Precisão do teste HIV-1 Qual em amostras de gota de sangue seco

Gota de sangue seco – padrão de referência de VQA				
Concentração nominal do ARN do VIH-1 (cópias/ml)	Taxa de resultados certos (%) (n.º pos./n.º réplicas)			Valor <i>p</i>
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
800	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
600	92	96	83	0,35
	(22/24)	(22/23)	(20/24)	
400	92	83	92	0,57
	(22/24)	(20/24)	(22/24)	
Gota de sangue seco – padrão de referência da OMS				
Concentração nominal do ARN do VIH-1 (cópias/ml)	Taxa de resultados certos (%) (n.º pos./n.º réplicas)			Valor <i>p</i>
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
1000	100	96	100	0,36
	(24/24)	(23/24)	(24/24)	
750	92	96	100	0,35
	(22/24)	(23/24)	(24/24)	

500	88	71	92	0,12
	(21/24)	(17/24)	(22/24)	

Tabela 5. Precisão do teste HIV-1 Qual em amostras de sangue total

Sangue total – padrão de referência da VQA				
Concentração nominal do ARN do VIH-1 (cópias/ml)	Taxa de resultados certos (%) (n.º pos./n.º réplicas)			Valor <i>p</i>
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
200	88	96	92	0,58
	(21/24)	(23/24)	(22/24)	
150	88	79	63	0,12
	(21/24)	(19/24)	(15/24)	
Sangue total – padrão de referência da OMS				
Sangue total – padrão de referência da VQA				
Concentração nominal do ARN do VIH-1 (cópias/ml)	Taxa de resultados certos (%) (n.º pos./n.º réplicas)			Valor <i>p</i>
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
Concentração nominal do ARN do VIH-1 (cópias/ml)	Taxa de resultados certos (%) (n.º pos./n.º réplicas)			Valor <i>p</i>
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
420	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
300	92	100	83	0,11
	(22/24)	(24/24)	(20/24)	
240	79	83	96	0,22
	(19/24)	(20/24)	(23/24)	

18.3 Intervalo linear

A linearidade do teste HIV-1 Qual foi determinada para ambos os procedimentos de sangue total e gota de sangue seco, mediante análise de um painel de cinco membros preparados com diluições em série de ARN do VIH-1 subtipo B em sangue total negativo para VIH-1. As concentrações de VIH-1 variaram de 1×10^3 cópias/ml a 1×10^7 cópias/ml para sangue total e de $2,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^7$ cópias/ml para gota de sangue seco, e cada membro do painel foi analisado em réplicas de seis utilizando um lote de reagentes. O material de referência utilizado foi o controlo e VIH-1 Acrometrix. Os resultados para sangue total e gota de sangue seco são mostrados na Figura 7 e Figura 8, respetivamente, e demonstram que o teste é linear num intervalo de 1×10^3 cópias/ml a 1×10^7 cópias/ml com um valor R^2 (o produto de uma curva padrão) de 0,9931 para sangue total e num intervalo de $2,5 \times 10^3$ cópias/ml a $2,5 \times 10^7$ cópias/ml com um valor R^2 de 0,9955 para gota de sangue seco.

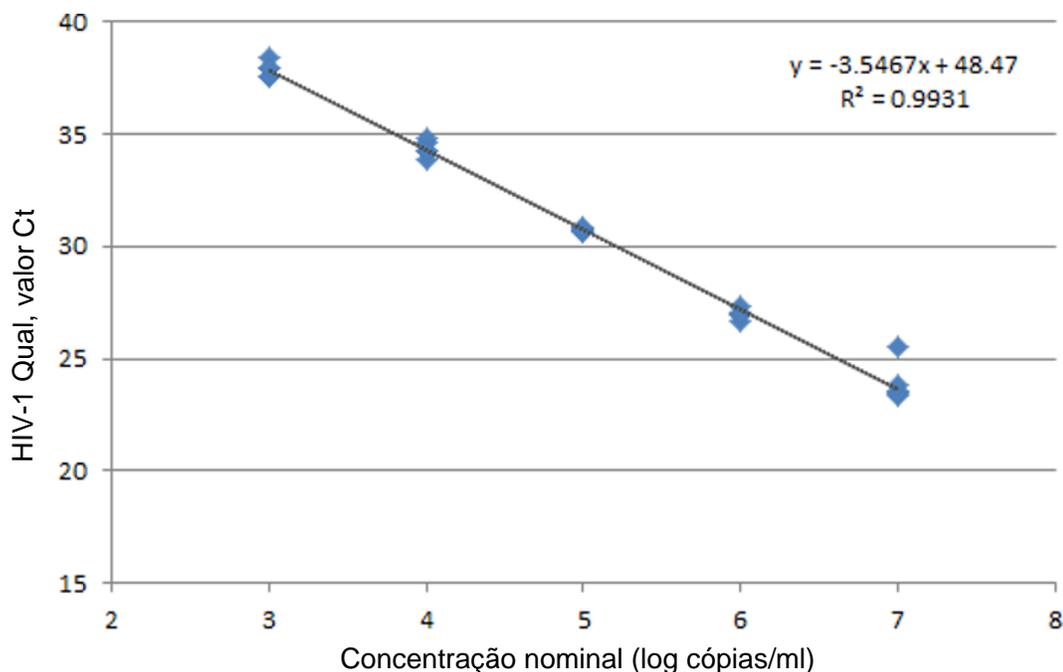


Figura 7. Linearidade em sangue total para o teste HIV-1 Qual

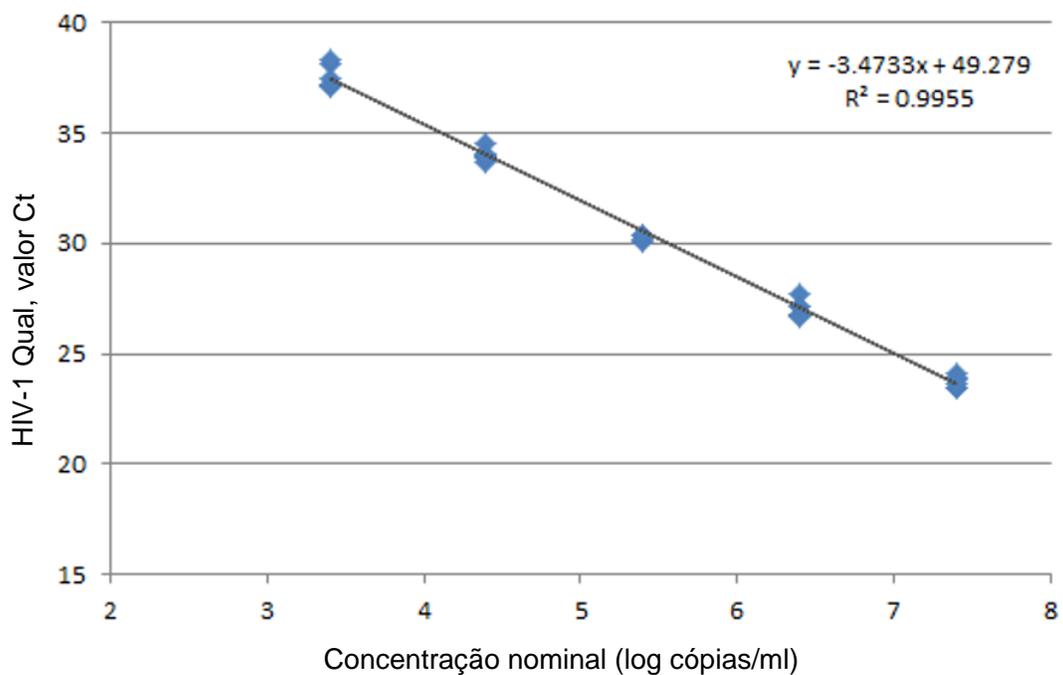


Figura 8. Linearidade em gotas de sangue seco para o teste HIV-1 Qual

18.4 Reatividade analítica (inclusividade)

A reatividade analítica do teste HIV-1 Qual foi avaliada testando treze isolados representativos do Grupo M subtipos A, C, D, F, G, H, CRF AG/GH, A/E e A/B, Grupo N e Grupo O do VIH-1. A atribuição da concentração nominal de stock foi efetuada pelo teste HIV-1 RealTime, um teste RT-PCR (reação em cadeia da polimerase) da Abbott. Foi feita uma série de diluição consistindo em, pelo menos, seis níveis de sobrenadantes de cultura de células em sangue total com EDTA negativo para VIH-1 e foi determinado o limite de detecção (LOD). Cada nível foi testado em réplicas de vinte, utilizando dois lotes

de reagentes e o procedimento de sangue total. A concentração de ARN do VIH-1 que pode ser detetada com uma taxa de positividade superior a 95% foi determinada através da análise de regressão Probit para cada isolado. O LOD determinado foi verificado com o mesmo isolado em réplicas de vinte num terceiro lote de reagente único e com um segundo isolado do mesmo grupo/subtipo em réplicas de vinte num lote de reagente. Além disso, foi efetuada a verificação com um isolado em réplicas de 10–20 com um lote de reagente, utilizando o procedimento de gota de sangue seco e o nível do LOD de gota de sangue seco estimado. Os resultados para o LOD e as verificações com sangue total e gota de sangue seco são resumidos na Tabela 6 e mostram que o teste HIV-1 Qual deteta o ARN do VIH-1 para treze diferentes grupos/subtipos em concentrações de 680 cópias/ml (ou inferior) para sangue total e de 1400 cópias/ml (ou inferior) para gota de sangue seco com uma taxa de positividade de 95%.

Tabela 6. Reatividade analítica (inclusividade) para o teste HIV-1 Qual

Grupo/ Subtipo	LOD em sangue total, 2 lotes de reagentes			Verificação do LOD em sangue total, 3.º lote de reagente único (680 cópias/ml)	Verificação do LOD com 2.º isolado em sangue total, 1 lote de reagentes (680 cópias/ml)		Verificação do reconhecimento com gota de sangue seco, 1 lote de reagentes (1400 cópias/ml)	
	Designação do isolado	LOD (cópias/ ml)	IC de 95%	Taxa de positividade (%) (n = 20)	Designação do isolado	Taxa de positividade (%) (n = 20)	Designação do isolado	Taxa de positividade (%) (n = 10–20)
Grupo M/ Subtipo A	92UG029	553	427–678	100	UG275	100	92UG029	100
Grupo M/ Subtipo C	98TZ017	159	117–201	100	92BR025	100	92BR025	100
Grupo M/ Subtipo D	94UG114	379	286–471	100	92UG035	100	92UG035	100
Grupo M/ Subtipo F	93BR020	262	204–320	100	BZ126	100	93BR020	100
Grupo M/ Subtipo G	RU570	345	267–423	100	BCF-DIOUM	100	RU570	100
Grupo M/ Subtipo H	VI557	171	139–237	100	BCF-KITA	100	V1557	100
Grupo M/ Subtipo J	Amostra clínica	438	348–527	100	Amostra clínica	100	Amostra clínica	100
Grupo M/ Subtipo K	WWRB305-16	550	433–667	100	NA	ND	WWRB305-16	94,4
Grupo M/ Subtipo CRF A/B	WWRB305-11	208	153–263	100	WWRB305-12	100	WWRB305-11	100
Grupo M/ Subtipo CRF A/E	92TH001	228	172–285	100	92TH022	95,0	92TH022	100
Grupo M/ Subtipo CRF AG/GH	V1525	501	399–603	100	01CM.0008 BBY (A–G)	100	01CM.0008 BBY	100
Grupo N	YBF30	232	187–277	100	N1FR2011	100	YBF30	100
Grupo O	MVP5180	189	145–234	100	CA-9	100	MVP5180	100

18.5 Especificidade Analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do teste HIV-1 Qual foi avaliada adicionando microrganismos em cultura numa concentração de 5×10^3 partículas ou cópias/ml em sangue total com EDTA negativo para o VIH-1 e em sangue total com EDTA positivo para o VIH-1 numa concentração de 900 cópias/ml de material de referência do VIH-1 (subtipo B). Os microrganismos foram testados utilizando o procedimento de sangue total. Os microrganismos testados estão listados na Tabela 7. Nenhum dos organismos testados mostrou reatividade cruzada ou interferência com a deteção do VIH-1.

Tabela 7. Organismos utilizados para a especificidade analítica

<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus
Vírus de Epstein-Barr
Vírus da hepatite A
Vírus da hepatite B
Vírus da hepatite C
Vírus herpes simplex tipo 1
Vírus herpes simplex tipo 2
Herpesvírus humano 6
Vírus da imunodeficiência humana 2
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1
Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 2
Gripe A
<i>Staphylococcus aureus</i>

18.6 Substâncias potencialmente interferentes

Avaliou-se a suscetibilidade do teste HIV-1 Qual quanto à interferência devido a níveis elevados de substâncias endógenas e marcadores de doença autoimune. No caso das substâncias endógenas, foi testado sangue total com EDTA negativo para VIH-1 e sangue total com EDTA positivo para VIH-1 em material de referência com 2000 cópias/ml de VIH-1 (subtipo B) aos quais foram adicionadas as substâncias testadas.

Foram também testadas amostras positivas e negativas para VIH-1 como gotas de sangue seco às quais foram adicionadas substâncias endógenas. Demonstrou-se que níveis elevados das substâncias endógenas indicadas na Tabela 8 não afetaram a especificidade do teste nem interferiram na deteção do VIH-1.

Tabela 8. Substâncias endógenas e concentração testadas

Substância	Concentração testada
Albumina (BSA)	90 mg/ml
Bilirrubina	0,2 mg/ml
Hemoglobina	5 mg/ml
ADN humano	4 µg/ml
Triglicéridos	30 mg/ml

A testagem de amostras de plasma de cinco indivíduos por marcador de doença autoimune com e sem material de referência de VIH-1 adicionado (subtipo B) em 900 cópias/ml foi efetuada utilizando o procedimento de sangue total. Não foi demonstrada interferência com marcadores de doenças autoimunes, como lúpus eritematoso sistémico (LES), anticorpos antinucleares (ANA) ou fator reumatoide (FR), utilizando o teste HIV-1 Qual.

18.7 Sensibilidade à seroconversão

A sensibilidade de diagnóstico do teste HIV-1 Qual foi avaliada através do teste de amostras de plasma sequenciais de quinze painéis de seroconversão utilizando o procedimento de sangue total. Foi comprovada a equivalência do sangue total e do plasma como matriz de amostra (ver Secção 18.8). O teste HIV-1 Qual detetou VIH-1 em 52 do total de 79 amostras em comparação a deteção de 10 das 79 amostras por um teste de anticorpos anti-VIH-1 (Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott DiaSorin Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA ou Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur). Um resultado de teste de VIH-1 positivo no teste HIV-1 Qual foi gerado anteriormente em todos os quinze painéis em comparação com o teste de rastreio de anticorpos contra o VIH-1. Além disso, a primeira resposta positiva para VIH-1 ocorreu mais cedo em doze dos quinze painéis com o teste HIV-1 Qual em comparação com os testes do antigénio p24 (Abbott, Coulter HIV-1 p24 Antigen, Innogenetics RL29 ou Perkin Elmer Alliance HIV-1 p24 ELISA). A sensibilidade à seroconversão está apresentada na Tabela 9.

Tabela 9. Sensibilidade à seroconversão do teste HIV-1 Qual

Código de parte do painel antigo	Número de membros do painel	Intervalo de dias	N.º de membros do painel reativos		Dias até ao primeiro resultado reativo		Dias entre o primeiro resultado reativo com HIV-1 Qual e qualquer teste de Ac ^a
			HIV-1 Qual	Teste de anticorpos (Ac) ^a	HIV-1 Qual	Teste de anticorpos (Ac) ^a	
PRB946-00-1.0	4	11	3	0	4	11 ^b	7
PRB948-00-1.0	4	23	2	0	20	23 ^c	3
PRB950-00-1.0	4	28	3	1	18	28	10
PRB955-1.0	5	14	5	2	0 ^c	12	12
PRB956-1.0	5	50	4	1	40	50	10
PRB962-1.0	6	17	4	0	7	17 ^b	10
PRB963-1.0	7	21	3	0	14	21 ^b	7
PRB964-1.0	6	22	3	0	15	22 ^b	7
PRB966-1.0	10	51	5	2	35	48	13
PRB973-1.0	4	11	4	1	0 ^c	11	11
PRB974-1.2	4	16	3	1	7	16	9
PRB975-1.0	5	14	3	0	7	14 ^b	14
PRB976-1.2	4	9	4	0	0 ^c	9 ^b	9
PRB977-1.0	4	15	3	2	2	13	11
PRB978-1.0	7	33	3	0	26	33 ^b	7
Total	79		52	10			

^a Teste de anticorpos baseado em dados do fornecedor: Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIB 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur

^b Todas as colheitas foram não reativas para anticorpos anti-VIH-1 (com base nas informações do fornecedor). O último dia de colheita é utilizado como "Dias até ao primeiro resultado reativo"

^c Todos os resultados de colheitas foram detetados com o teste HIV-1 Qual.

18.8 Equivalência do tipo de amostra (sangue total e plasma)

O desempenho equivalente para os dois tipos de amostra diferentes, sangue total com EDTA e plasma com EDTA, utilizando o teste HIV-1 Qual, foi demonstrado com amostras de seis indivíduos negativos para o VIH-1. Cada amostra foi dividida e separada numa alíquota de plasma e numa alíquota de sangue total. Foi adicionado a ambas as alíquotas ARN do VIH-1 numa concentração de 700 cópias/ml. As alíquotas foram analisadas lado a lado utilizando o protocolo de sangue total. Demonstrou-se a equivalência do desempenho entre os tipos de amostra.

19 Desempenho Clínico

As características do desempenho do teste HIV-1 Qual foram avaliadas em duas instituições em África.

Foram incluídos indivíduos cujos cuidados de rotina exigiam a colheita de amostras de sangue total ou gota de sangue seco para teste ao HIV-1. Foram obtidas alíquotas de amostras restantes de sujeitos elegíveis para testagem com o teste HIV-1 Qual e com o teste de comparação. O tratamento do doente continuou no centro de acordo com a prática padrão independente dos resultados do teste de investigação.

O desempenho do teste HIV-1 Qual foi comparado com o teste de comparação com marcação CE. O teste de comparação foi validado para gota de sangue seco, mas não para sangue total, pelo que os HIV-1 Qual resultados do teste para sangue total foram comparados com os resultados para gota de sangue seco do método de comparação. A repetição da testagem no teste HIV-1 Qual e no teste de comparação foi realizada em amostras em que o teste HIV-1 Qual e o teste de comparação foram discrepantes e é fornecida para fins meramente informativos.

19.1 Resultados das amostras de sangue total

Foi testado um total de 106 amostras de sangue total quanto ao VIH-1 com o teste HIV-1 Qual e com o teste de comparação. O teste HIV-1 Qual demonstrou uma concordância percentual positiva (PPA) de 98,2% (IC de 95% 90,3–100) e uma concordância percentual negativa (NPA) de 98,0% (IC de 95% 89,6–100) em sangue total em relação com o teste de comparação. Os resultados são apresentados em Tabela 10.

Tabela 10. Desempenho do teste HIV-1 Qual vs. teste de comparação – amostras de sangue total

		Teste de comparação Teste HIV-1 Qual – gota de sangue seco		
		POS	NEG	Total
HIV-1 Qual Sangue total	POS	54	1 ^a	55
	NEG	1 ^b	50	51
	Total	55	51	106
		CPP:	98,2% (IC de 95%: 90,3–100)	
		CPN:	98,0% (IC de 95%: 89,6–100)	

^a Após a repetição do teste, a amostra foi POS. Xpert/POS. no comparador

^b Após a repetição do teste, a amostra foi NEG. Xpert/POS. no comparador

19.2 Resultados das amostras de gota de sangue seco

Foi testado um total de 399 amostras de gota de sangue seco quanto ao VIH-1 com o teste HIV-1 Qual e com o teste de comparação. O teste HIV-1 Qual demonstrou uma sensibilidade com PPA de 95,6% (IC de 95% 91,8–98,0) e especificidade com NPA de 98,5% (IC de 95% 95,6–99,7) em gotas de sangue seco em relação com o teste de comparação. Os resultados são apresentados em Tabela 11.

19.3 Especificidade em dadores de sangue adultos seronegativos para VIH

Tabela 11. Desempenho do teste HIV-1 Qual vs. teste de comparação – amostras de gota de sangue seco

		Teste de comparação Teste HIV-1 Qual – gota de sangue seco		
		POS	NEG	Total
HIV-1 Qual Teste	POS	194	3 ^a	197
	NEG	9 ^b	193	202
	Total	203	196	399
		CPP:	95,6% (IC de 95%: 91,8–98)	
		CPN:	98,5% (IC de 95%: 95,6–99,7)	

^a Após a repetição do teste, 1 das 3 amostras foi NEG. Xpert/NEG. no comparador e 2 das 3 amostras foram POS. Xpert/POS. no comparador.

^b Após a repetição do teste, 5 das 9 amostras foram POS. Xpert/POS. no comparador, 3 das 9 amostras foram Xpert NEG./POS. no comparador e 1 de 9 foi NEG. Xpert/NEG. no comparador.

O sangue total colhido em EDTA foi colhido a partir de 1017 dadores de sangue em dois centros nos Estados Unidos. As amostras foram determinadas como sendo negativas para o VIH-1 por métodos de bancos de sangue padronizados de anticorpos e ácidos nucleicos licenciados pela FDA. Das 1017 amostras, 503 foram preparadas como gotas de sangue seco e 514 foram testadas como sangue total pelo teste HIV-1 Qual. Uma amostra de sangue seco e duas amostras de sangue total foram indeterminadas no teste inicial e na repetição do teste, pelo que foram excluídas do cálculo da especificidade. A especificidade do teste foi de 100,0% (1014/1014) [IC de 95%: 99,6–100,0).

19.4 Taxa de sucesso do teste

Dos testes HIV-1 Qual realizados em amostras elegíveis, 97,0% (1483/1529) dessas amostras obtiveram sucesso na primeira tentativa. As restantes 46 produziram resultados indeterminados na primeira tentativa. Dos 46 casos indeterminados, 36 produziram resultados válidos após repetição do teste; três foram indeterminados após a repetição e sete dos casos indeterminados não foram repetidos devido a volume restante insuficiente. A taxa global de sucesso do teste foi de 99,3% (1519/1529).

20 Referências

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497–500.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-1 from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500–503.
4. Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610–616.
5. Schochetman G, George JR, editors. *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues*. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
6. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association* 2000;283:1167–1174.
7. Aids.gov. Aids Signs and Symptoms. Acedido em maio de 2015. <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>.
8. O'Brien M, et al. Should we treat acute HIV infection? *Curr HIV/AIDS Rep*. 2012 Jun;9(2):101-10.
9. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:961–964.
10. Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:954–960.

11. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). The Gap Report. (Original em inglês, julho de 2014, atualizado em setembro de 2014). <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/2014gapreport>. Acesso em 3 de fevereiro de 2015.
12. Hankins C. Overview of the Current State of the Epidemic. *Current HIV/AIDS Reports* 2013;10(2):113–123.
13. Shetty AK. Epidemiology of HIV Infection in Women and Children: A Global Perspective. *Current HIV Research* 2013;11(2):81–92.
14. Sherman GG, Cooper PA, Coovadia AH, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis of human immunodeficiency virus infection in infancy in low resource settings. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2005;24(11):993–997.
15. Sherman GG, Matsebula TC, Jones SA. Is early HIV testing of infants in poorly resourced prevention of mother to child transmission programmes unaffordable? *Tropical Medicine & International Health* 2005;10(11):1108–1113.
16. Read JS. Committee on Pediatric AIDS, American Academy of Pediatrics. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007;120:e1547–1562.
17. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, et al. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet* 2007;370:68–80.
18. World Health Organization. *Antiretroviral therapy for HIV infection in infants and children: towards universal access, recommendations for a public health approach*. (Terapêutica antirretroviral da infecção por VIH em bebés e crianças: para um acesso universal, recomendações para uma abordagem de saúde pública.) Geneva: World Health Organization; 2006
19. Global AIDS Alliance. *Scaling up access to early infant diagnostics: accelerating progress through public-private partnerships*. Washington DC: Global AIDS Alliance; 2008.
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories*. Chosewood LC, Wilson, DE (eds.) 2009; HHS Publication No. (CDC) 21-1112.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (consultar a última edição).
22. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline — Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards; 2012.
23. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 1907/2006.
24. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de março de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21 Locais das sedes da Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Assistência técnica

Antes de nos contactar

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

Assistência técnica nos Estados Unidos

Telefone: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

Assistência técnica em França

Telefone: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

23 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marcação CE – Conformidade Europeia

Símbolo	Significado
	Não utilizar mais de uma vez
	Código do lote
	Consultar as instruções de utilização
	Fabricante
	País de fabrico
	Contém suficiente para <i>n</i> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Cuidado
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



24 Histórico de revisões

Descrição das Alterações: 301–3048, Rev. K a Rev. L

Secção	Descrição da alteração
11, 12, 1, 17	K2 especificado para tubos de colheita com EDTA.
13	Procedimentos separados para GeneXpert Dx System e GeneXpert Infinity System.
24	Adição da secção Histórico de revisões.