

Xpert® HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid®, the Cepheid logo, GeneXpert® and Xpert® are trademarks of Cepheid.

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

Cepheid®, o logótipo da Cepheid, GeneXpert® e Xpert® são marcas registadas da Cepheid.

Windows® é uma marca registada da Microsoft Corporation.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTE FOLHETO INFORMATIVO. 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.

Copyright © Cepheid 2020. Todos os direitos reservados.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia

Xpert[®] HBV Viral Load

Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert[®] HBV Viral Load

2 Nome comum ou usual

HBV VL

3 Utilização prevista

O ensaio Xpert[®] HBV Viral Load (VL) da Cepheid é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro*, concebido para a quantificação do DNA de vírus da hepatite B (HBV — Hepatitis B Virus) em soro ou plasma (EDTA) humano de indivíduos com infecção crónica pelo HBV utilizando os sistemas GeneXpert[®] automatizados.

O ensaio destina-se a ser utilizado em conjunto com o quadro clínico e outros marcadores laboratoriais como indicador do prognóstico da doença e a utilização como auxiliar na avaliação da resposta viral ao tratamento antirretroviral, conforme medido por alterações nos níveis plasmáticos ou séricos de DNA do HBV.

O teste não se destina a utilização como teste de VHB para rastreio de dadores nem como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção por VHB.

4 Resumo e explicação

O vírus da hepatite B (HBV) é um pequeno vírus DNA com invólucro da família Hepadnaviridae que é responsável pela hepatite por HBV aguda e crónica. O vírus tem um pequeno genoma de DNA circular que apresenta, parcialmente, uma e duas cadeias, e 42 nm de diâmetro. O HBV contém inúmeros componentes antigénicos, que incluem o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), o antígeno nuclear da hepatite B (HBcAg) e o antígeno “e” da hepatite B (HBeAg). O HBV é transmitido por exposição percutânea ou pelas mucosas ao sangue ou fluidos corporais de uma pessoa infetada, de uma mãe infetada para o seu recém-nascido, através do contacto estreito em habitações domésticas, através de transfusão sanguínea não sujeita a rastreio ou injeções sem segurança em unidades de saúde, através de toxic dependência injetável e do contacto sexual com uma pessoa infetada.

A hepatite B crónica (CHB) pode existir como CHB positiva para o antígeno “e” da hepatite B (HBeAg) ou CHB negativa para o HBeAg. A seroprevalência do HBsAg específica da idade varia acentuadamente de acordo com a região geográfica, sendo mais prevalente (>5%) na África subsariana, na Ásia Oriental, em algumas partes das regiões dos Balcãs, nas ilhas do pacífico e na bacia Amazónia da América do Sul. Uma prevalência inferior a 2% é observada em regiões como a América Latina Central, a América do Norte e a Europa Ocidental. Em geral, quase metade da população global vive em áreas de elevada endemicidade.¹ A morbilidade e a mortalidade da CHB estão associadas à persistência da replicação viral e à evolução para cirrose e/ou carcinoma hepatocelular (HCC).² A mortalidade da hepatite viral tem aumentado ao longo tempo e continuará a aumentar, exceto se as pessoas forem diagnosticadas e tratadas.³

A vacina contra o HBV está disponível para bebés e reduziu consideravelmente o número de novas infeções crónicas, mas a sua cobertura é de apenas 39%.³ Em 2015, 3,5% da população mundial vivia com infecção crónica pelo HBV, sendo as regiões do Pacífico Ocidental e de África as mais afetadas.³ Apenas 9% das pessoas com HBV tinha conhecimento do seu diagnóstico e, das diagnosticadas, apenas 8% era medicada.³ Os análogos de nucleósidos e nucleótidos, como o tenofovir e o entecavir, são recomendados para pessoas elegíveis para terapêutica, uma vez que estes agentes antivirais são eficazes na supressão da replicação do HBV, na prevenção da progressão para cirrose e na redução de mortes relacionadas com o fígado.¹ A terapêutica para o HBV tem de ser continuada durante toda a vida.¹

5 Princípio do procedimento

O sistema do instrumento GeneXpert automatiza e integra a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador e software pré-instalado para execução de testes e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis, de utilização única, que contêm os reagentes de PCR e onde decorrem os processos de purificação e PCR. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *Manual do Utilizador do GeneXpert Dx* ou o *Manual do Utilizador do GeneXpert Infinity* adequado.

O ensaio HBV VL inclui reagentes para a detecção do DNA do HBV em amostras, bem como dois controlos internos utilizados para a quantificação do DNA do HBV. Os controlos internos também são utilizados para o processamento adequado do alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) nas reações de PCR. O controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

O ensaio foi padronizado contra o 4.º padrão internacional para o DNA do HBV para tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos da Organização Mundial de Saúde (OMS) (código NIBSC: 10/266).⁴

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio HBV VL contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes e/ou amostras de controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

HBV VL Cartuchos do ensaio com tubos de reação integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas)	1 de cada por cartucho
• Reagente de lise (tiocianato de guanidínio)	1,7 ml por cartucho
• Reagente de enxaguamento	0,5 ml por cartucho
• Reagente de eluição	1,5 ml por cartucho
• Reagente de fixação	1,5 ml por cartucho
• Reagente de proteinase K	0,48 ml por cartucho
Pipetas de transferência descartáveis de 1 ml	10 por kit
CD	1 por kit
• Ficheiro de definição do ensaio (ADF — assay definition file)	
• Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert e Infinity	
• 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 soroalbumina 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 nem com 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 do ensaio HBV VL a 2 °C–35 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo.
- Deixe os cartuchos atingirem a temperatura ambiente antes de os utilizar se estiverem conservados no frio.
- Não utilize reagentes ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.



- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilizar um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema do instrumento GeneXpert Dx ou sistema do instrumento GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): instrumento GeneXpert, computador com software proprietário GeneXpert versão 4.7b ou posterior (sistemas GeneXpert Dx) ou Xpertise 6.4b ou posterior (Infinity-80/Infinity-48s), leitor de código de barras e manual do utilizador do sistema do instrumento GeneXpert adequado.
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Lixívia ou hipoclorito de sódio
- Etanol ou etanol desnatado

9 Advertências e precauções

9.1 Gerais



- Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
- 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, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos CDC (Centers for Disease Control and Prevention)⁵ dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute.⁶
- Recomenda-se o seguimento das boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de amostras, para evitar a contaminação de amostras ou de reagentes.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- Não substitua os reagentes do ensaio HBV VL por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do ensaio HBV VL até estar pronto para adicionar a amostra.
- 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 produzir resultados inválidos.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não tape a etiqueta do código de barras existente no cartucho.
- Utilize uma pipeta de transferência ou uma pipeta de precisão para adicionar a amostra ao cartucho. Não verta a amostra diretamente do dispositivo de colheita para o cartucho.



- Cada cartucho do ensaio HBV VL de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize cartuchos.
- Cada pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- Usar batas limpas e luvas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe meticulosamente a área contaminada com uma solução recém-preparada de hipoclorito de sódio a 0,5% (ou uma solução de lixívia doméstica diluída a 1:10). Em seguida, limpe a superfície com etanol a 70%. Deixe as superfícies de trabalho secarem completamente antes de prosseguir.



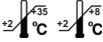
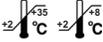
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos 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).⁷

10 Perigos químicos^{8,9}

- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU**
 - Nocivo por ingestão
 - Provoca irritação cutânea ligeira
 - Provoca 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. Continuar a enxaguar.
 - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
 - Caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.

11 Colheita, transporte e conservação de amostras

O sangue total deve ser colhido em tubos de colheita de K2-EDTA, PPT-EDTA ou tubos de colheita de soro e centrifugados para separar o plasma/soro dos glóbulos vermelhos de acordo com as instruções do fabricante.

- É necessário pelo menos 0,6 ml de plasma ou soro para o ensaio HBV VL. Se utilizar a pipeta de transferência incluída no kit, é necessário enchê-la até à quarta marca (1,0 ml) com plasma ou soro. Em alternativa, se utilizar uma pipeta de precisão, é necessário 0,6 ml de plasma ou soro. Consulte as instruções na Secção 12.2, Opção 1 e Opção 2, respetivamente.
- 
 - O sangue total pode ser conservado a 2 °C–35 °C durante um máximo de 24 horas ou a 2 °C–8 °C durante um máximo de 3 dias antes da preparação do plasma/soro. A centrifugação deve ser efetuada de acordo com as instruções do fabricante.
- 
 - Após a centrifugação e a separação, o plasma e soro podem ser conservados a 2 °C–35 °C durante um máximo de 24 horas ou a 2 °C–8 °C até 7 dias antes de testar.
- 
 - As amostras de plasma e soro são estáveis congeladas (-80 °C a -20 °C) durante 6 semanas.
 - As amostras de plasma e soro são estáveis durante até três ciclos de congelação/descongelação.
 - As amostras de plasma e soro devem ser descongeladas e deixar que atinjam a temperatura ambiente antes da transferência para o cartucho.
 - O transporte de amostras de sangue total, plasma ou soro tem de obedecer aos regulamentos locais, nacionais e europeus relativos ao transporte de agentes etiológicos.

12 Procedimento

12.1 Preparar a amostra

Importante **Inicie o teste dentro de quatro horas após a adição da amostra ao cartucho.**

1. Após a centrifugação de amostras de sangue total, poderá pipetar-se plasma diretamente para o cartucho. É fundamental que se obtenha um volume suficiente para obter resultados de teste válidos (consulte as instruções na Secção 12.2, Preparação do cartucho).
- 
 - 2. Se utilizar amostras congeladas, coloque as amostras à temperatura ambiente (20 °C–35 °C) até descongelarem completamente e deixe-as atingir a temperatura ambiente antes da utilização.
- 
 - 3. As amostras de plasma e soro conservadas a 2 °C–8 °C devem ser removidas do frigorífico e equilibradas à temperatura ambiente antes da utilização.
- 
 - 4. As amostras de plasma conservadas a 2 °C–8 °C ou congeladas e descongeladas devem ser misturadas no agitador de vórtice durante 10 segundos antes da utilização. Se a amostra estiver turva, clarificar com uma centrifugação rápida.

12.2 Preparação do cartucho

1. Use luvas de proteção descartáveis.
2. Deixe os cartuchos atingirem a temperatura ambiente antes de os utilizar se estiveram conservados no frio.
3. Inspeccione o cartucho para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
4. Rotule o cartucho com a identificação da amostra.
5. Abra a tampa do cartucho.
6. Adicione a amostra ao cartucho.
 - **Opção 1:** Se estiver a utilizar a pipeta de transferência fornecida no kit (consulte a Figura 1), encha a pipeta até à quarta marca (1,0 ml) ou ligeiramente acima com plasma ou soro do tubo de colheita. Esvazie o conteúdo da pipeta para dentro da câmara de amostra do cartucho (consulte a Figura 2).
 - **Opção 2:** Se estiver a utilizar uma pipeta de precisão, transfira 0,6 ml de plasma ou soro do tubo de colheita para a câmara de amostra do cartucho de teste (consulte a Figura 2).

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



Figura 1. Pipeta de transferência do ensaio HBV VL

7. Feche a tampa do cartucho. Certifique-se de que a tampa fica bem fechada.

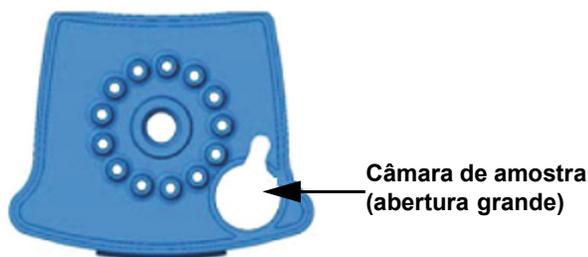


Figura 2. Cartucho HBV VL (vista de cima)

12.3 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o ficheiro de definição do ensaio HBV VL foi importado para o software.

Esta secção discrimina os passos básicos para realizar o teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do Sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do Sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

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 sistema do instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento GeneXpert Dx e, de seguida, o computador. O software GeneXpert Dx iniciará automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Se utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software GeneXpert inicia automaticamente ou pode ser necessário clicar duas vezes no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.
2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.
3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create test)** (GeneXpert Dx) ou clique em **Encomendas (Orders)** e em **Encomendar teste (Order Test)** (Infinity). A janela **Criar teste (Create Test)** abre-se.
4. Leia a ID do paciente (Patient ID) (opcional). Se digitar a ID do paciente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do paciente (Patient ID) correta. A ID do paciente (Patient ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado.
5. Leia a ID da amostra (Sample ID) ou digite a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra (Sample ID) correta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada ao resultado.
6. Leia o código de barras do cartucho do ensaio HBV VL. Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: 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 HBV VL não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho.

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Digite a sua palavra-passe na caixa de diálogo que surge.
8. Para o sistema GeneXpert Infinity, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

No caso do instrumento GeneXpert Dx:

- A. Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- B. Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz verde desliga-se.
- C. Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo e retirar o cartucho.
- D. Elimine os cartuchos usados nos recipientes para resíduos de amostras apropriados, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

13 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *Manual do Utilizador do Sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do Utilizador do Sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do instrumento utilizado.

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.

14 Controlo de qualidade

CONTROL

Cada teste inclui a adequação do volume da amostra (SVA), um padrão quantitativo interno alto e baixo (IQS-H e IQS-L), parâmetros específicos do lote (LSP) e um controlo de verificação da sonda (PCC).

- **Adequação do volume da amostra (SVA — Sample Volume Adequacy)** — garante que a amostra foi adicionada corretamente ao cartucho. A 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 apresentado o **Erro 2096 (Error 2096)** se não tiver sido adicionada amostra ao cartucho ou o **ERRO 2097 (ERROR 2097)** se a quantidade de amostra adicionada ao cartucho tiver sido insuficiente. O sistema impede que o utilizador retome o teste.
- **Padrão quantitativo interno alto e baixo (IQS-H e IQS-L — Internal Quantitative Standard High and Low)** — o IQS-H e o IQS-L são dois plasmídeos linearizados com uma sequência não relacionada com o HBV que são incluídos em cada cartucho e são submetidos a todo o processo de ensaio. São padrões utilizados para calcular a concentração do DNA do HBV na amostra. Adicionalmente, o IQS-H e o IQS-L detetam a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra, servindo assim como controlos de processamento da amostra. O IQS-H e o IQS-L são aprovados se cumprirem os critérios de aceitação validados.
- **Parâmetros específicos do lote (LSP — Lot Specific Parameters) para quantificação** — cada lote de kit contém LSP incorporado gerado a partir de um painel de calibração do HBV, rastreável para o 4.^a padrão internacional para o HBV da OMS (código NIBSC: 10/266)⁴ e o IQS-H e o IQS-L. Os LSP são exclusivos de cada lote de reagente e são utilizados para garantir uma quantificação correta.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control)** — antes do início da reação de PCR, o sistema do instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação das esferas, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se os sinais de fluorescência cumprirem os critérios de aceitação validados.
- **Controlos externos** — em conformidade com as boas práticas de laboratório, os controlos externos, não fornecidos no kit, devem ser utilizados de acordo com os requisitos das instituições de acreditação locais e nacionais, conforme aplicável.

15 Interpretação dos resultados

Os resultados são automaticamente interpretados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados de forma clara na janela Ver resultados (View Results) (consulte Figura 3 a Figura 8). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert HBV VL

Resultado	Interpretação
HBV DETECTADO IU/mL (log X,XX) [HBV DETECTED IU/mL (log X,XX)] Consulte a Figura 3.	O DNA do HBV foi detetado em XX UI/ml (log X,XX). <ul style="list-style-type: none"> • O DNA do HBV tem um título dentro do intervalo quantitativo do ensaio (10-1,00E09 UI/ml). • IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS). • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
HBV DETECTADO >1,00E09 IU/mL (HBV DETECTED >1.00E09 IU/mL) Consulte a Figura 4.	O DNA do HBV foi detetado acima do intervalo quantitativo do ensaio. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS). • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
HBV DETECTADO <10 IU/mL (HBV DETECTED <10 IU/mL) Consulte a Figura 5.	O DNA do HBV foi detetado abaixo do intervalo quantitativo do ensaio. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS). • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Tabela 1. Resultados e interpretação do ensaio Xpert HBV VL (Continuação)

Resultado	Interpretação
HBV NÃO DETECTADO (HBV NOT DETECTED) Consulte a Figura 6.	O DNA do HBV não foi detetado. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS). • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
INVÁLIDO (INVALID) Consulte a Figura 7.	Não foi possível determinar a presença ou a ausência do DNA do HBV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 16.2, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e/ou IQS-L: FALHOU (FAIL); os limiares de ciclo (Ct) não estão dentro do intervalo válido. • Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
ERRO (ERROR) Consulte a Figura 8.	Não foi possível determinar a presença ou a ausência do DNA do HBV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 16.2, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> • Verificação da sonda — FALHOU (FAIL)*; todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam. <p>* Se a verificação da sonda tiver sido aprovada, o erro foi causado porque o limite máximo da pressão excedeu o intervalo válido ou porque houve falha de um componente do sistema.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	Não foi possível determinar a presença ou a ausência do DNA do HBV. Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 16.2, Procedimento de repetição do teste. SEM RESULTADO (NO RESULT) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

Nota

As capturas de ecrã do ensaio são meramente exemplificativas. O número da versão pode ser diferente das capturas de ecrã apresentadas neste folheto informativo.

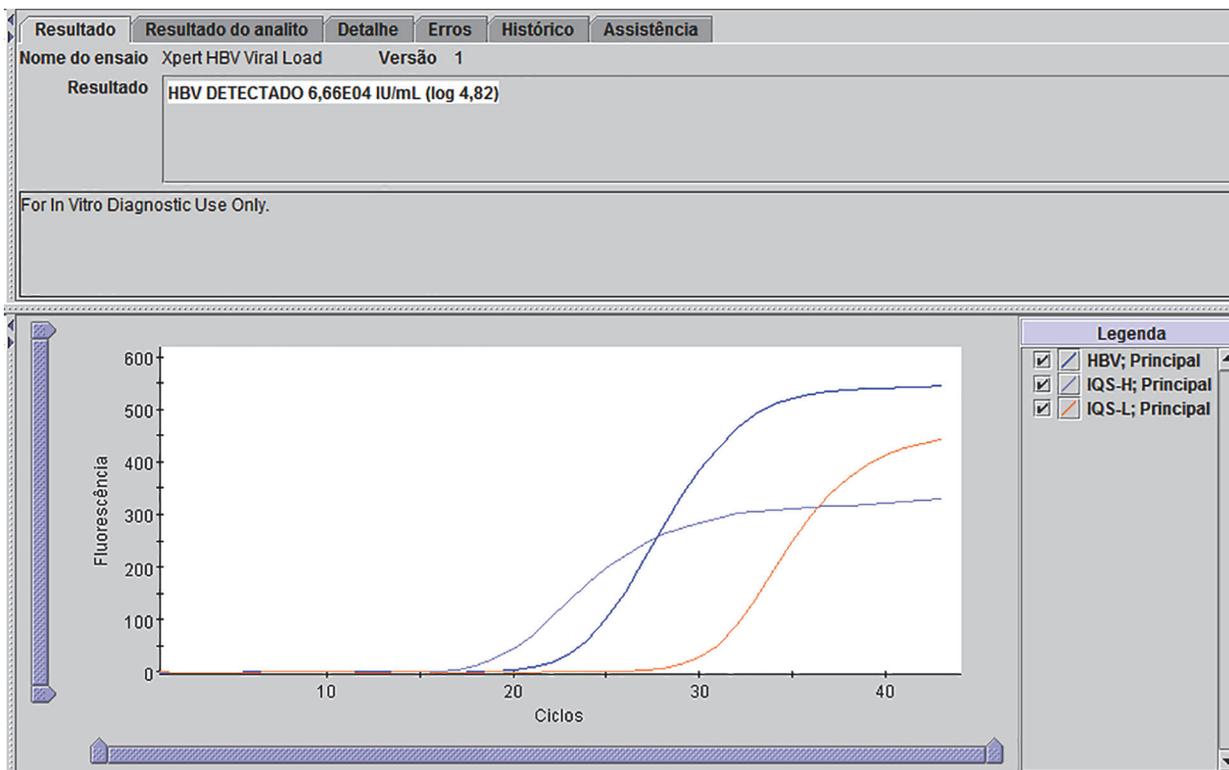


Figura 3. HBV detetado e quantificado

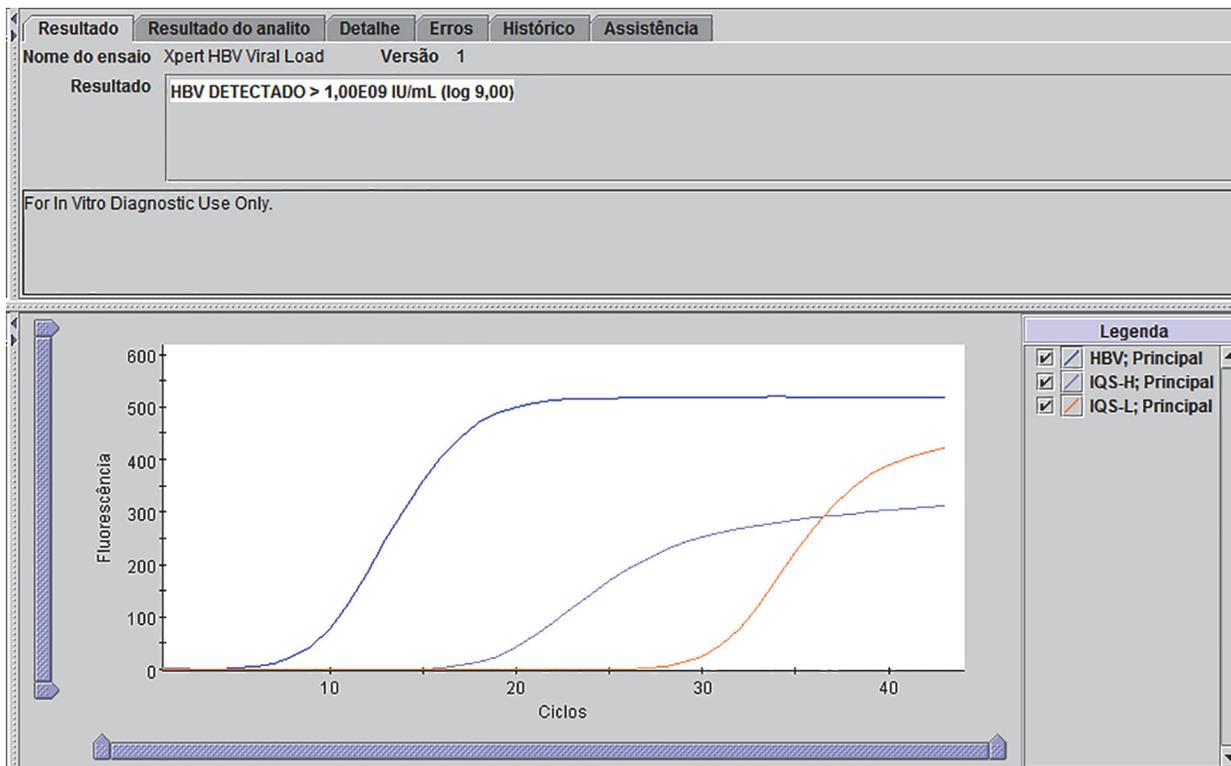


Figura 4. O HBV foi detetado mas com titulação acima do intervalo quantitativo do ensaio

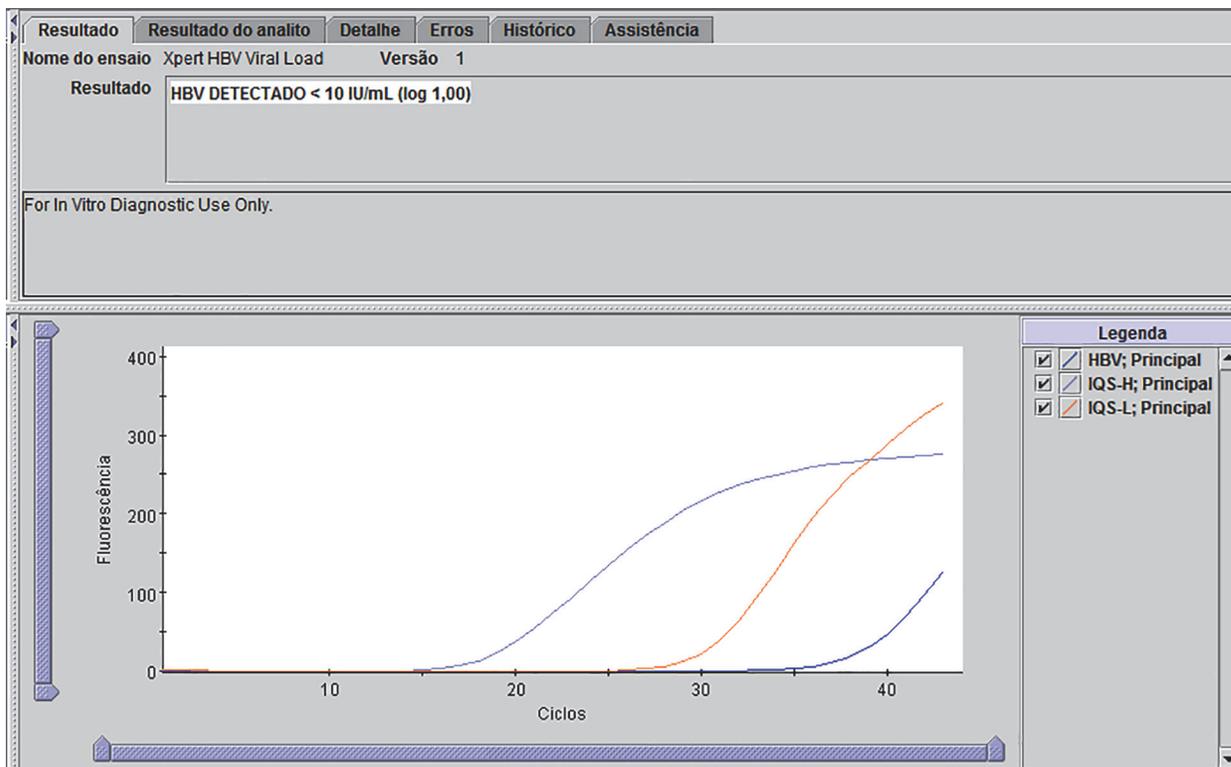


Figura 5. O HBV foi detetado mas com titulação abaixo do intervalo quantitativo do ensaio

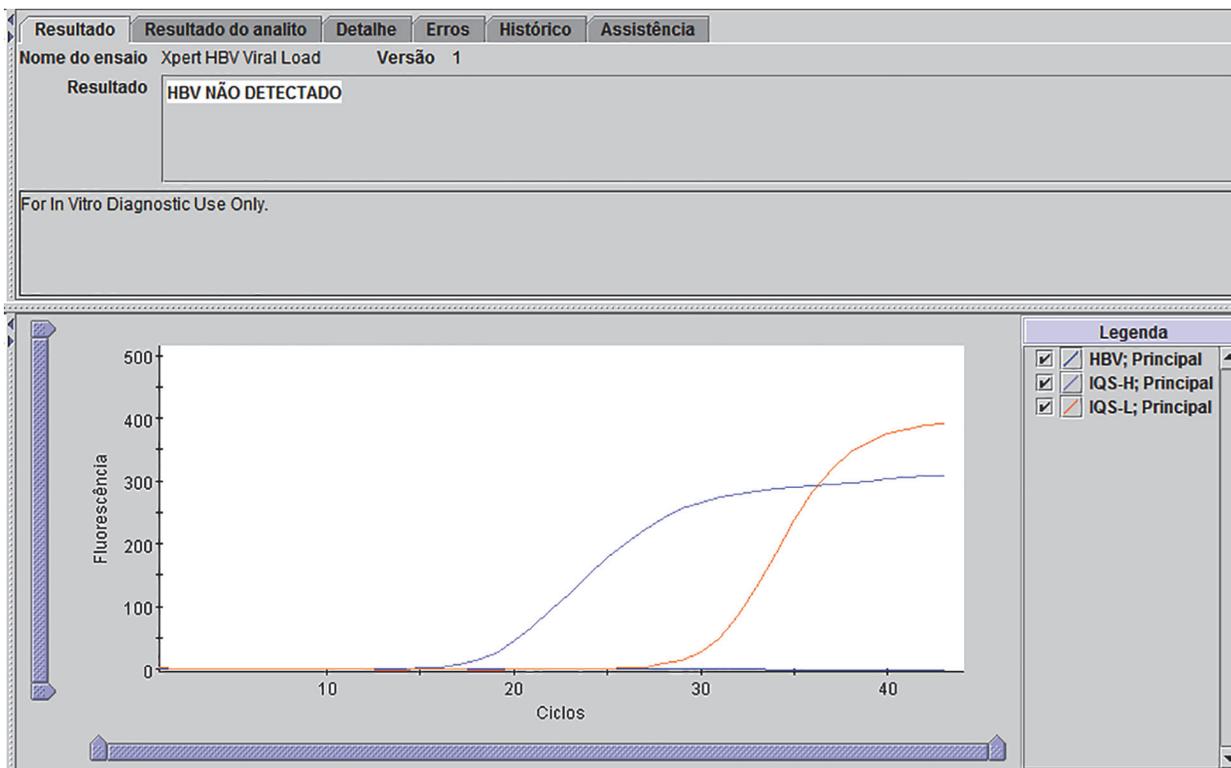


Figura 6. HBV não detetado

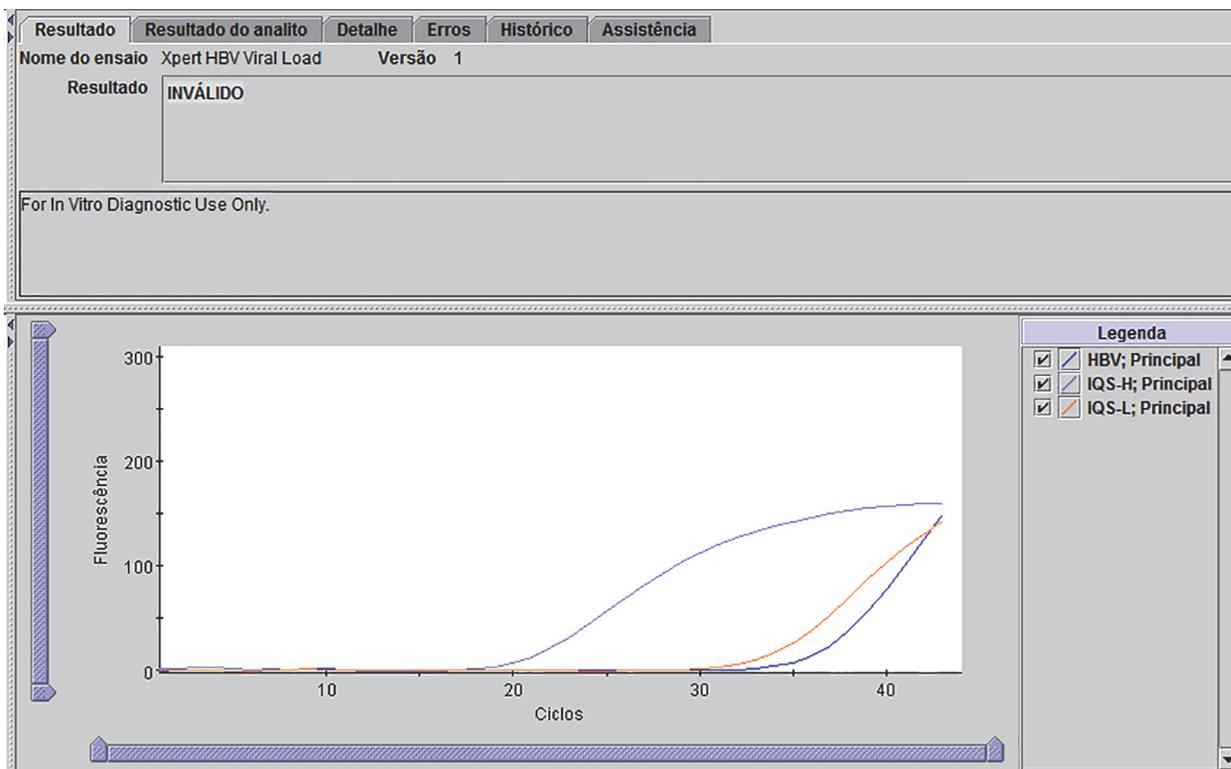


Figura 7. Resultado inválido

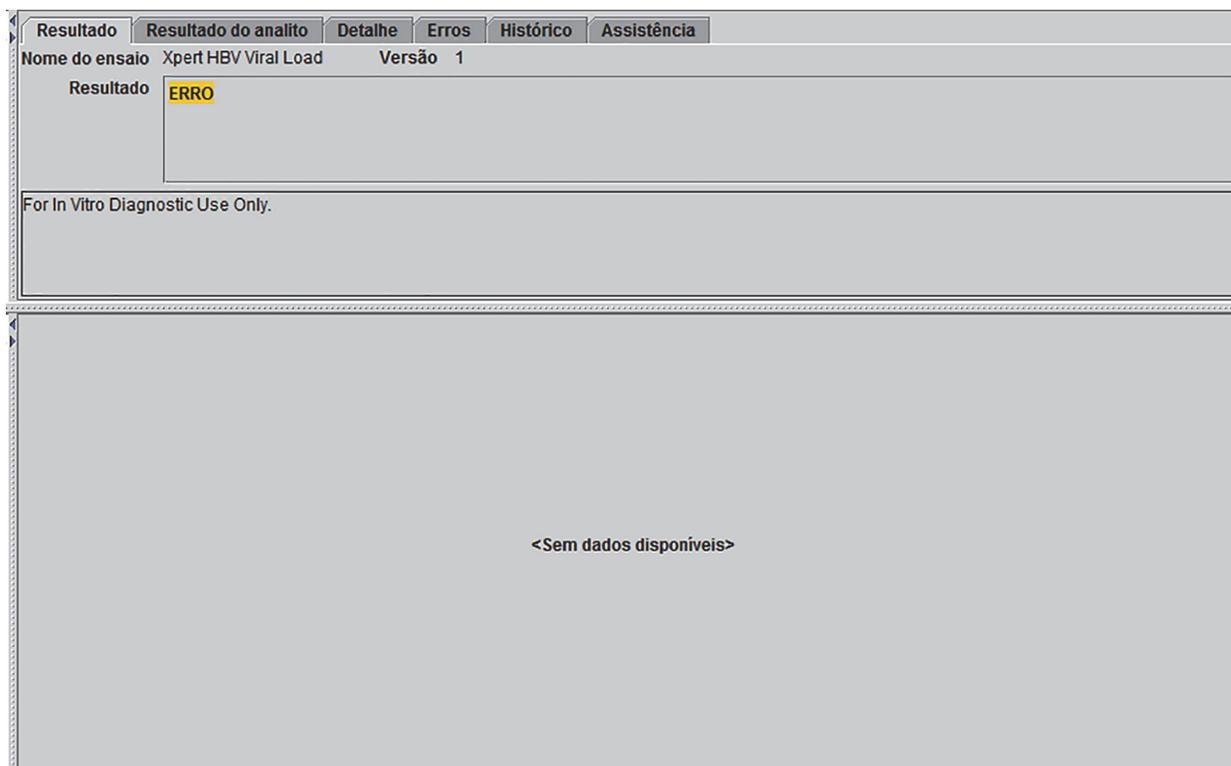


Figura 8. Erro

16 Repetição de um teste

16.1 Motivos para repetir o teste

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

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica uma ou mais das ocorrências abaixo:
 - Os Ct do IQS-H e/ou IQS-L não estão dentro do intervalo válido.
 - A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o ensaio foi abortado. Algumas das causas possíveis são: 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 os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação elétrica falhou.

16.2 Procedimento de repetição do teste

Se o resultado de um teste for **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** ou **SEM RESULTADO (NO RESULT)**, utilize um novo cartucho para repetir o teste da amostra afetada (não reutilize o cartucho).

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Siga os procedimentos na Secção 12, Procedimento, incluindo a Secção 12.2, Preparação do cartucho e a Secção 12.3, Iniciar o teste.

17 Limitações do procedimento

- 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 amostras ou de reagentes.
- Mutações raras na região-alvo do ensaio HBV VL podem afetar a ligação do iniciador ou da sonda, o que resulta na subquantificação ou incapacidade de detetar o vírus.
- Este ensaio foi validado para utilização exclusiva com soro e plasma com EDTA. O teste de outros tipos de amostra pode resultar em resultados inexatos.

- Um resultado de teste negativo não exclui a infecção por HBV. Deste modo, o ensaio HBV VL não deve ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção por HBV.

18 Características do desempenho

18.1 Limite de detecção

O limite de detecção (LOD — Limit Of Detection) do ensaio HBV VL foi determinado para o genótipo A do HBV testando diluições em série do 4.º padrão internacional para o DNA do HBV da OMS (código NIBSC 10/266)⁴ diluídos em plasma com EDTA e soro negativos para o HBV. Os painéis de seis níveis de concentração e um negativo foram testados em quatro ou três lotes de reagente para os painéis de plasma com EDTA e de soro, respetivamente. Cada membro do painel foi testado em três dias com 24 réplicas por lote de reagente. No total, foram testados 96 réplicas por membro do painel de plasma e 72 réplicas por membro do painel de soro.

Os resultados do plasma com EDTA e soro são mostrados na Tabela 2. O estudo demonstrou que o ensaio HBV VL detetou DNA do HBV para o padrão internacional da OMS numa concentração de 3,20 UI/ml em plasma com EDTA e numa concentração de 5,99 UI/ml em soro com uma taxa de positividade de 95%, tal como determinado pela análise de regressão PROBIT.

Tabela 2. Limite de detecção para o ensaio Xpert HBV VL utilizando o 4.º padrão internacional da OMS para o HBV

Genótipo	Matriz	Concentração nominal do HBV (UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade (%)	LOD de 95% pela análise PROBIT (intervalo de confiança de 95%)
A	Plasma	10	95	95	100	3,20 UI/ml (2,79 UI/ml – 3,60 UI/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1,25	96	62	65	
		0,625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Soro	10	72	70	97	5,99 UI/ml (5,13 UI/ml – 6,86 UI/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1,25	72	37	51	
		0,625	71	15	21	
		0	72	0	0	

O limite de detecção dos genótipos B a H do HBV foi determinado testando painéis de seis ou sete membros preparados através da adição de amostras positivas para o HBV representativas de cada genótipo (genótipos B a G do painel de referência internacional da OMS, código PEI: 5086/08, e uma amostra clínica com o genótipo H) a plasma com EDTA negativo para o HBV. Cada membro do painel foi testado ao longo de três dias utilizando três lotes de reagentes para um total de 24 réplicas por membro. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Limite de detecção dos genótipos B a H do HBV em plasma com EDTA

Genótipo	LOD de 95% pela análise PROBIT (UI/ml)	Intervalo de confiança de 95% (UI/ml)
B	1,34	0,98 – 1,69
C	1,63	1,23 – 2,03
D	3,96	3,01 – 4,92
E	3,77	2,76 – 4,78
F	2,39	1,82 – 2,96
G	1,21	0,95 – 1,47
H	3,84	2,91 – 4,77

O limite de detecção para os genótipos B a H do HBV foi verificado em soro de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI¹⁰ utilizando 24 réplicas. Uma concentração mais elevada foi testada caso não se tenha obtido uma taxa de positividade > 85%. Consulte os resultados na Tabela 4.

Tabela 4. Verificação do LOD para os genótipos B a H em soro

Genótipo	Concentração nominal do HBV (UI/ml)	Taxa de positividade (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

O desempenho do ensaio HBV VL foi igualmente avaliado com um mutante pré-núcleo testando uma amostra clínica de HBV sequenciada, que incluiu as duas mutações pré-núcleo (C1858T e G1896A) e as duas mutações promotoras nucleares basais (A1762T e G1764A), diluída numa concentração de 10 UI/ml em plasma com EDTA e soro com um lote de reagente. Foi obtida uma taxa de positividade de 100% para cada uma das 24 réplicas testadas em cada matriz.

18.2 Limite inferior de quantificação

O limite inferior de quantificação (LLOQ — lowest limit of quantification) é definido com a concentração mais baixa de DNA do HBV que é quantificada com precisão e exatidão aceitáveis e é determinado utilizando o erro analítico total (EAT) e uma abordagem baseada na diferença entre duas medições. O LLOQ foi avaliado com quatro amostras independentes representativas dos genótipos A a D do HBV em plasma com EDTA próximo do limite de detecção do ensaio. Cada amostra foi testada utilizando quatro lotes de reagente com 8–24 réplicas por lote. O EAT foi calculado com o modelo Westgard de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI¹⁰ com o critério, $[(\text{desvio absoluto}) + 2 \text{ DP} \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$. A abordagem da diferença entre duas medições foi avaliada com o critério, $[(2 \times \text{raiz quadrada}(2) \times \text{DP}) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$.

As análises do LLOQ para cada amostra são apresentadas na Tabela 5. Os resultados demonstram que o ensaio HBV VL pode quantificar 10 UI/ml de DNA do HBV com uma exatidão e precisão aceitáveis.

Tabela 5. Determinação do LLOQ para o ensaio Xpert HBV VL

Genótipo do HBV	Lote	N	Concentração de HBV (\log_{10} UI/ml)		Desvio	DP total	Erro analítico total ^a	Abordagem das duas medições ^b
			Previsto	Observado				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50

Tabela 5. Determinação do LLOQ para o ensaio Xpert HBV VL (Continuação)

Genótipo do HBV	Lote	N	Concentração de HBV (log ₁₀ UI/ml)		Desvio	DP total	Erro analítico total ^a	Abordagem das duas medições ^b
			Previsto	Observado				
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

a EAT calculado de acordo com o modelo Westgard, em que $[EAT = |desvio| + (2 \times DP) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$, garantindo que existe 95% de probabilidade de a medição ser inferior a $1 \log_{10} \text{ UI/ml}$ em relação ao valor verdadeiro.

b A abordagem das duas medições $[2 \times \text{raiz quadrada}(2) \times DP] \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}$ indica que uma diferença inferior a $1 \log_{10} \text{ UI/ml}$ pode ser explicada por um erro de medição aleatório.

18.3 Precisão/Reprodutibilidade

A precisão/reprodutibilidade do ensaio HBV VL foi avaliada em plasma com K₂EDTA utilizando uma análise da variância (ANOVA) para calcular a variância total.

Tratou-se de um estudo em ocultação multicêntrico (3 centros; 2 externos e 1 interno) para calcular os principais componentes da variância do ensaio HBV VL utilizando um painel com oito membros composto por oito membros positivos para HBV. Os membros positivos para o HBV foram preparados por diluição de um plasmídeo de HBV bem caracterizado ou de uma amostra clínica positiva para o HBV em plasma humano com EDTA. Dois operadores, um com experiência anterior em PCR e outro sem experiência, em cada um dos três centros do estudo, testaram um painel em duplicado duas vezes por dia (equivalente a oito réplicas por dia) ao longo de seis dias de teste para um total de 144 réplicas por membro do painel. Foram utilizados três lotes do ensaio HBV VL, cada um representando dois dias de teste. A precisão e a reprodutibilidade foram avaliadas de acordo com as diretrizes EP05-A3¹¹ e EP15-A3 do CLSI.¹²

A precisão e a reprodutibilidade do ensaio HBV VL foram avaliadas utilizando a análise ANOVA hierárquica com termos para Centro/Instrumento, Lote, Dia, Operador/Execução e Intra-execução. O desvio-padrão e a percentagem de variabilidade devidos a cada componente do log₁₀ das concentrações transformadas do HBV foram calculados tal como apresentado na Tabela 6.

Tabela 6. Precisão/reprodutibilidade do ensaio Xpert HBV VL

Concentração de DNA do HBV (log ₁₀ UI/ml)			Contributo para o desvio padrão de variação total (CV%)										Precisão total	
			Centro/Instrumento		Lote		Dia		Operador/Execução		Dentro da execução			
Previsto	Observado	N	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	(%) ^a	DP	CV (%) ^b
9,00	9,13 ^c	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

a (%) é a contribuição do componente variância para a variância global

b "CV" é o CV lognormal, conforme obtido utilizando a fórmula:

$$\text{Lognormal CV}(\%) = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) * \sigma_{\log_{10} \text{ data}}^2)} - 1}$$

c O valor observado situa-se acima do intervalo quantitativo do ensaio HBV VL.

18.4 Intervalo linear

O intervalo linear do ensaio HBV VL foi determinado através da análise de um painel com oito membros abrangendo um intervalo de concentração do HBV de $1,00 \log_{10}$ UI/ml- $9,00 \log_{10}$ UI/ml. Os painéis foram preparados adicionando uma amostra clínica do genótipo A do HBV ou um stock de DNA de plasmídeo de HBV com titulação elevada a plasma com EDTA e soro negativo para o HBV. Cada membro do painel foi analisado em réplicas de oito por lote de reagente, exceto as diluições mais baixas que foram analisadas em réplicas de dezasseis por lote de reagente utilizando dois lotes de reagente. Os resultados são apresentados na Figura 9 e na Figura 10.

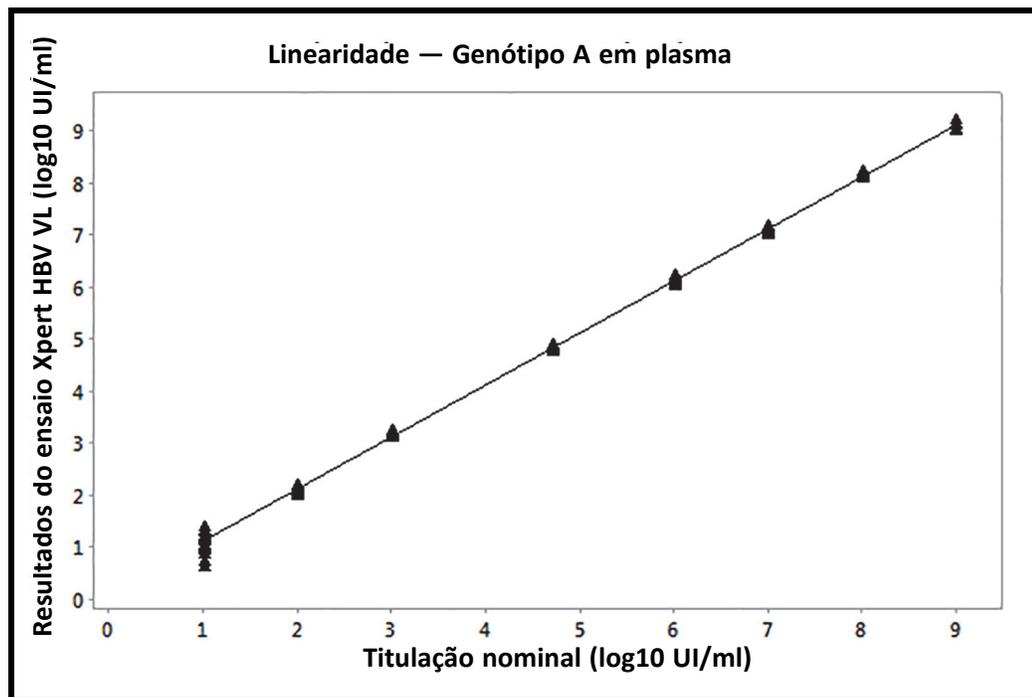


Figura 9. Linearidade para o ensaio Xpert HBV VL em plasma com EDTA

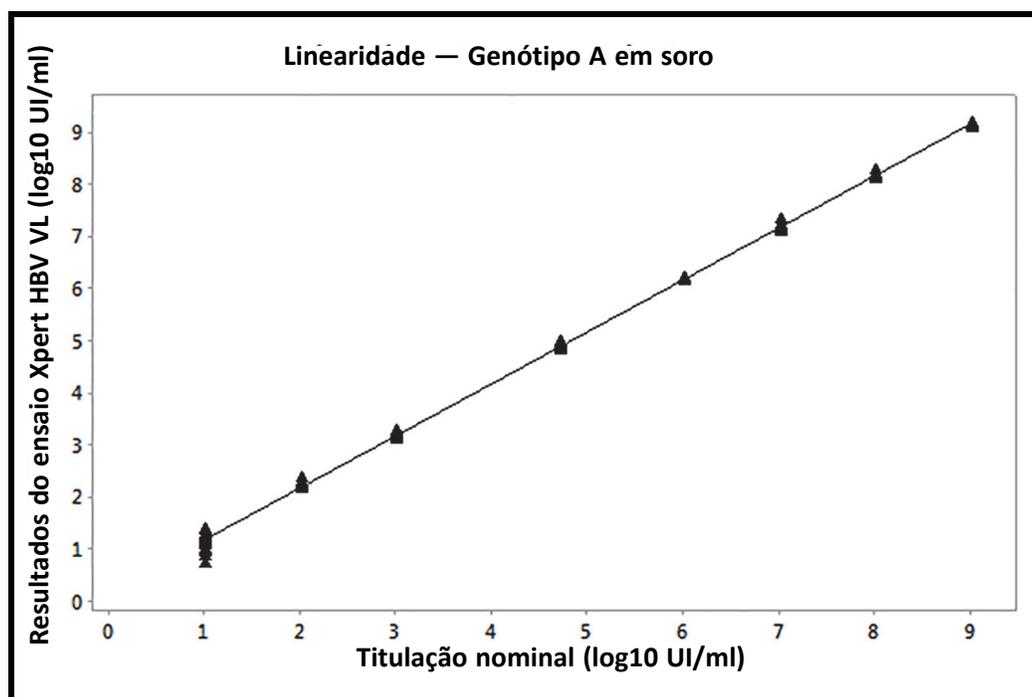


Figura 10. Linearidade para o ensaio Xpert HBV VL em soro com EDTA

Para confirmar a linearidade, foram preparados painéis de diluição representativos dos genótipos B a H do HBV para abranger um intervalo de medição o mais amplo possível, diluindo uma amostra clínica representativa de cada genótipo em plasma com EDTA negativo para o HBV. Os membros do painel foram analisados com o número de réplicas igual ao do genótipo A do HBV, utilizando um lote de reagente.

A linearidade foi demonstrada para os genótipos A a H, de acordo com a diretriz EP06-A do CLSI¹³ com $R^2 > 0,99$. O ensaio HBV VL é linear num intervalo de $1,00 \log_{10}$ UI/ml– $9,00 \log_{10}$ UI/ml para o genótipo A e no intervalo testado para os genótipos B a H (consulte Tabela 7).

Tabela 7. Linearidade para o ensaio Xpert HBV VL por genótipo

Genótipo	Equação de regressão linear	R ²	Intervalo de titulação testado (log ₁₀ UI/ml)
A (Plasma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00 – 9,00
A (Soro)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00 – 9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00 – 6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00 – 7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00 – 7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00 – 8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00 – 7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00 – 8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00 – 6,35

18.5 Especificidade analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do ensaio HBV VL foi avaliada adicionando organismos com potencial de reação cruzada numa concentração de entrada de 1×10^6 UFC/ml para micro-organismos ou 1×10^5 cópias/ml ou TCID₅₀/ml para vírus a plasma com EDTA negativo para HBV e plasma com EDTA que continha 30 UI/ml do material de referência do HBV (4.º padrão internacional da OMS para o HBV, código NIBSC: 10/266)⁴. Os organismos testados estão listados na Tabela 8. Nenhum dos organismos testados mostrou reatividade cruzada ou interferiu com a quantificação do ensaio HBV VL.

Tabela 8. Especificidade analítica dos organismos

Vírus		Bactérias	Levedura
Poliomavírus humano BK	Vírus da imunodeficiência humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus	Vírus da imunodeficiência humana 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Vírus de Epstein-Barr	Vírus do papiloma humano 16		
Vírus da hepatite A	Vírus do papiloma humano 18		
Vírus da hepatite C	Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 1		
Vírus herpes simplex tipo 1	Vírus linfotrópico de células T humanas tipo 2		
Vírus herpes simplex tipo 2	Vírus varicella Zoster		
Vírus de herpes humanos 6	Vírus Vaccinia		
Vírus de herpes humanos 8			

18.6 Substâncias potencialmente interferentes

Foi avaliada a suscetibilidade do ensaio HBV VL à interferência causada por níveis elevados de substâncias endógenas, marcadores de doenças autoimunes e por fármacos prescritos a pacientes infectados pelo HBV. Os efeitos inibidores foram avaliados na presença e na ausência de aproximadamente 30 UI/ml de material de referência do DNA do HBV (4.º padrão internacional da OMS, código NIBSC: 10/266).⁴

Demonstrou-se que níveis elevados das substâncias endógenas listadas na Tabela 9 não interferem com a quantificação do ensaio HBV VL, com a titulação \log_{10} média de cada uma das amostras positivas para o HBV contendo substâncias potencialmente interferentes dentro de $\pm 0,10 \log_{10}$ UI/ml do controlo positivo. Foram obtidos resultados negativos para todas as amostras sem alvo HBV, demonstrando que não se verificou impacto na especificidade do ensaio.

Tabela 9. Substâncias endógenas e concentrações testadas

Substância	Concentração testada
Albumina	9 g/dl
Bilirrubina	20 mg/dl
Hemoglobina	500 mg/dl
DNA humano	0,4 mg/dl
Triglicéridos	3000 mg/dl

Demonstrou-se que os componentes do fármaco, conforme apresentados na Tabela 10 não interferem com a quantificação do ensaio HBV VL nem afetam a especificidade do ensaio quando testados com uma concentração de nível no plasma três vezes superior à concentração de pico ($C_{m\acute{a}x}$) na presença e ausência do DNA do HBV.

Tabela 10. Grupos de fármacos testados

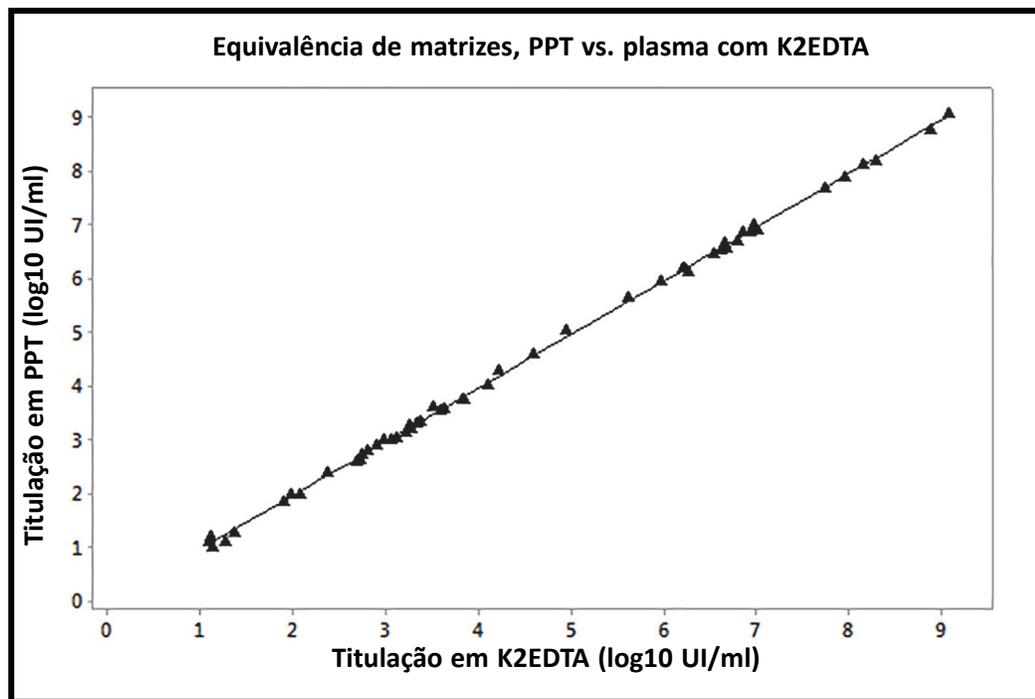
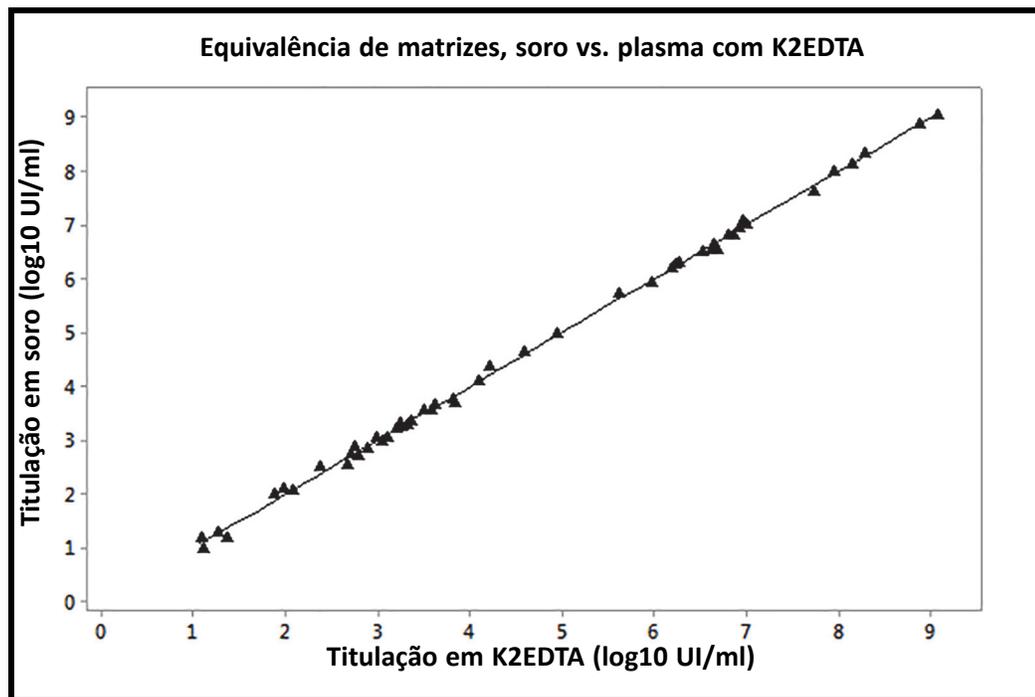
Grupo	Fármacos
1	Zidovudina, saquinavir, claritromicina, interferão-alfa 2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprevir, dasabuvir e didanosina
2	Sulfato de abacavir, fosamprenavir, peginterferão-alfa-2a, ribavirina, entecavir e adefovir dipivoxil
3	Tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina, sulfato de indinavir, ganciclovir, cloridrato de valganciclovir, aciclovir, paroxetina e telbivudina
4	Estavudina, efavirenz, lopinavir, enfuvirtida, ciprofloxacina e fluoxetina
5	Nevirapina, nelfinavir, azitromicina, valaciclovir, sertralina, tenofovir e alafenamida

Não se observou interferência nos testes realizados em amostras de plasma com K₂EDTA de cinco indivíduos positivos para cada marcador de doenças autoimunes: lúpus eritematoso sistémico (LES), anticorpo antinuclear (ANA) ou fator reumatoide (FR) com o ensaio HBV VL. As concentrações \log_{10} médias de amostras às quais foi adicionado DNA do HBV situaram-se dentro de $\pm 0,10 \log_{10}$ UI/ml do controlo positivo. Foram obtidos resultados negativos para todas as amostras sem alvo HBV, demonstrando que não se verificou impacto na especificidade do ensaio.

18.7 Equivalência de matrizes (plasma com K₂EDTA, PPT-EDTA e soro)

A equivalência de matrizes para o ensaio HBV VL foi realizada com 32 amostras clínicas positivas para o HBV correspondentes e 23 amostras clínicas negativas para o HBV correspondentes negativas para HBV colhidas em tubos de colheita de plasma com K₂EDTA, plasma com PPT-EDTA e soro. Às 23 amostras clínicas negativas para o HBV correspondentes foi adicionado material positivo para o HBV de amostras clínicas representativas dos genótipos B a G do HBV e um plasmídeo de DNA que expressa a sequência-alvo do genótipo A do HBV, com titulações em todo o intervalo linear.

A equivalência de matrizes foi demonstrada nas amostras testadas, conforme mostrado na Figura 11 e na Figura 12.

Figura 11. Gráfico de regressão linear de plasma com PPT-EDTA versus plasma com K₂EDTAFigura 12. Gráfico de regressão linear de soro versus plasma com K₂EDTA

18.8 Falha total do sistema

A taxa de falhas totais do sistema do ensaio HBV VL foi determinada através do teste de 100 réplicas de plasma EDTA contaminado com o 4.º Padrão Internacional de ADN de VHB da OMS (código NIBSC 10/266)⁴, uma amostra com genótipo A. As amostras contaminadas foram testadas a uma concentração alvo de aproximadamente 3 x LLOQ (30 UI/ml).

Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o alvo de VHB, resultando numa taxa de falhas totais do sistema de 0,0%.

18.9 Contaminação por transferência

Uma amostra positiva para VHB de elevado título ($>1 \times 10^7$ UI/ml) foi testada, imediatamente seguida pelo teste de uma amostra negativa para VHB no mesmo módulo do instrumento GeneXpert. O procedimento foi repetido vinte (20) vezes em dois módulos. A taxa de transferência do ensaio HBV VL foi de 0%.

19 Características do desempenho – Desempenho clínico

19.1 Especificidade em dadores de sangue saudáveis normais

A especificidade do ensaio HBV VL foi avaliada com 99 amostra de soro e 100 amostras de plasma EDTA de dadores de sangue VHB negativo. A especificidade do ensaio Xpert HBV VL foi de 100,0% [IC de 95%: 98,1-100,0 (199/199)].

19.2 Correlação do método

Foi realizado um estudo multicêntrico para avaliar o desempenho do ensaio HBV VL em relação a um método de comparação quantitativo de DNA do HBV utilizando amostras restantes de plasma com EDTA de padrão de cuidados colhidas em indivíduos com infecção conhecida pelo HBV.

Dos 876 indivíduos elegíveis, 351 (40,1%) eram do sexo feminino e 489 (55,8%) eram do sexo masculino. A média da idade era de $47,2 \pm 15,9$ anos com um intervalo de idades entre os 18 e os 89 anos. Destas 876 amostras, 560 situavam-se dentro do intervalo de quantificação tanto do ensaio HBV VL como do ensaio de comparação. O resultado das análises de regressão de Deming e regressão linear simples é apresentado na Figura 13.

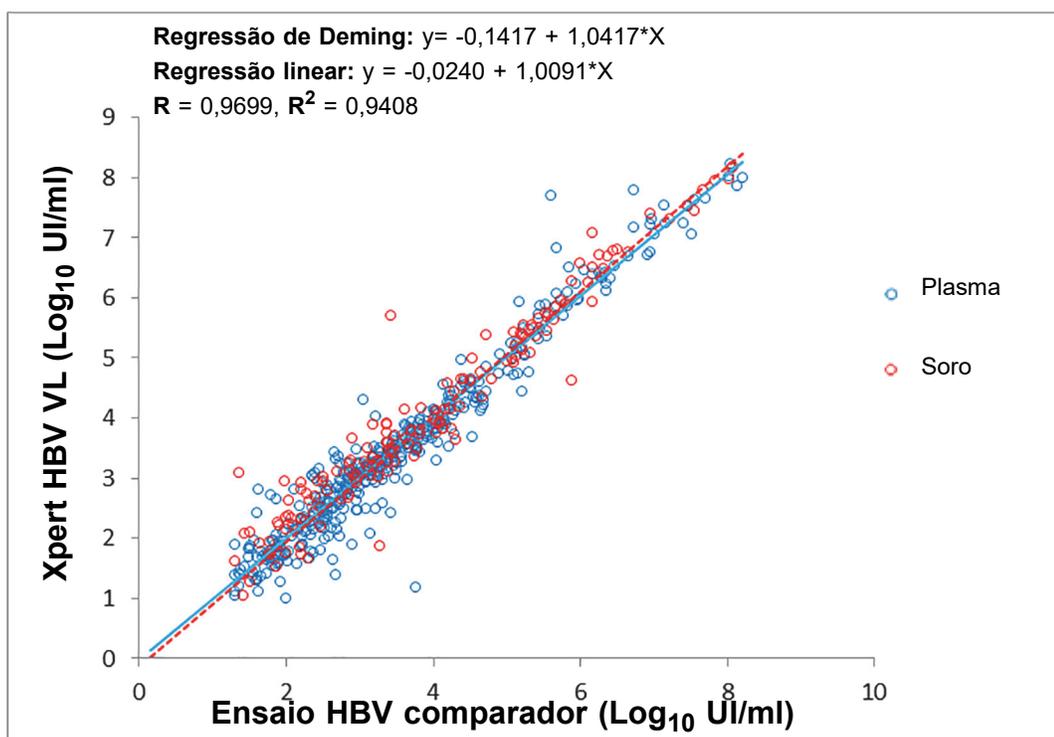


Figura 13. Correlação do ensaio Xpert HBV VL vs. ensaio comparador utilizando amostras de soro e plasma EDTA

20 Referências

1. World Health Organization (WHO). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. March 2015. Accessed March 14, 2018 at: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Available at: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), accessed March 5, 2018 at <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Accessed April 20, 2018 at http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP15-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

21 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Estados Unidos da América
Telefone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
França
Telefone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Assistência Técnica

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

Informações de contacto

Estados Unidos da América
Telefone: + 1 888 838 3222
E-mail: techsupport@cepheid.com

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

As informações de contacto para outros escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para <n> testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marca CE – Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Cuidado
	Atenção



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suécia

