

<b>Nome</b>	<b>COBAS AmpliScreen HIV-1 Test, version 1.5</b>
-------------	--

<b>Mandatário</b>	Roche Diagnostics GmbH
<b>Fabricante</b>	Roche Molecular Systems, Inc.
<b>Distribuidor</b>	Roche Sistemas de Diagnóstico, Sociedade Unipessoal Lda.

### Aplicação Diagnóstica

O teste COBAS AmpliScreen HIV Test, version 1.5 é um teste qualitativo *in vitro* para a detecção directa do RNA do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV-1) no plasma humano proveniente de doações de sangue total, componentes de sangue, plasma destinado a transfusões ou fabrico ulterior e de dadores de órgãos e tecidos.

Destina-se a ser utilizado no rastreio de amostras de dadores individuais de plasma humano, ou pools de plasma humano constituídas por alíquotas iguais de doações individuais. Para o sistema Roche COBAS AmpliScreen, foi validada uma dimensão de pool de 24. O utilizador tem de validar outras dimensões de pool ou configurações. O teste pode ser utilizado como uma alternativa para testes licenciados do antigénio p24 do HIV-1 para rastreio de plasma humano de doações de sangue total e componentes do sangue.

Este ensaio não se destina a ser utilizado como auxílio no diagnóstico.

### Método

No plasma, o RNA do HIV-1 pode ser detectado através de tecnologias de

amplificação de ácidos nucleicos, como é o caso da PCR. O teste COBAS AmpliScreen HIV Test, version 1.5, usa a tecnologia de PCR para atingir uma sensibilidade máxima na detecção do RNA do HIV-1 em amostras de plasma.

<b>Especificações Técnicas</b>	
<b>Sensibilidade Analítica</b>	
<b>Painéis de Diluição</b>	10 amostras clínicas seropositivas para o HIV-1 (título foi quantificado utilizando um ensaio disponível no mercado e utilizando um padrão secundário calibrado contra o Padrão Internacional da OMS) → diluídas em plasma humano normal
até 150, 50 e 16.7 cópias/ml para o <i>Procedimento de Processamento de Amostras Multiprep</i>	até 300, 100 e 33.3 cópias/ml para o <i>Procedimento de Processamento de Amostras Standard</i>
Teste detectou 50 cópias/ml de RNA do HIV-1 com frequência superior a 98%	Teste detectou 100 cópias/ml de RNA do HIV-1 com frequência superior a 98%
Limite de Detecção médio de 95%  39.2 cópias/ml ≈ 81.25 UI/ml	Limite de Detecção médio de 95%  96.2 cópias/ml ≈ 150.3 UI/ml
<b>Padrão Internacional da OMS para o HIV-1</b>	O Padrão Internacional da OMS para o HIV-1 → diluído em série em plasma humano negativo para o HIV-1
até concentrações de 140, 100, 70, 50,35 e 25 UI/ml para o <i>Procedimento de Processamento de Amostras Multiprep</i>	até concentrações de 800, 580, 400, 280, 200 e 140 UI/ml para o <i>Procedimento de Processamento de Amostras Standard</i>
Limite de Detecção médio de 95%  78.4 UI/ml	Limite de Detecção médio de 95%  323.4 UI/ml
<b>Painel HIV-1 CBER</b>	
<i>Procedimento de Processamento de Amostras Multiprep</i>	<i>Procedimento de Processamento de Amostras Standard</i>

Detectou 100% de todos os membros positivos variando entre 10 e 250 000 cópias/ml	Detectou 100% de todos os membros positivos variando entre 100 e 250 000 cópias/ml
<b>Detectabilidade de Grupo/Subtipo</b>	
Testaram-se 100 amostras de cultura representando 20 cada Grupo M do HIV-1, subtipos A a E, 3 amostras de cultura do subtipo F, 4 amostras de cultura do subtipo G, 8 amostras de cultura do Grupo 0 e 1 amostra de cultura do Grupo N. → 100% foram detectadas, excepto para o Grupo 0. Verificou-se que todas as 8 amostras do grupo 0 do HIV-1 eram positivas para o antígeno p24 do HIV-1, mas apenas 5 (63%) foram detectadas pelo teste COBAS Ampliscreen HIV-1, v1.5.	
<b>Painéis de Seroconversão</b>	
<i>Procedimento de Processamento de Amostras Multiprep</i>	<i>Procedimento de Processamento de Amostras Standard</i>
Testados 41 painéis de seroconversão anti-HIV diluídos (1:24)	Testados 41 painéis de seroconversão anti-HIV não diluídos
O teste detectou RNA do HIV-1 mais cedo (12.8 dias - Multiprep e 14.2 - Standard) do que o teste de anticorpos contra o HIV 1/2 (de outra marca) em 39 dos 41 painéis.	
Foi também comparado com testes do antígeno p24 do HIV-1 (de outras duas marcas). Em todos os casos em que se detectou o antígeno p24 do HIV-1, o RNA do HIV-1 também foi detectado no mesmo ponto temporal da amostragem. Em alguns painéis o RNA foi detectado antes do antígeno p24 do HIV-1.	
O teste detectou RNA do HIV-1, 4.4 a 6.8 dias antes dos testes do antígeno p24 do HIV-1 (Multiprep) e 5.8 a 8.3 dias (Standard)	
<b>Sensibilidade de diluição com amostras do antígeno p24 do HIV-1 Reactivas Fracas</b>	
Avaliaram-se 25 amostras positivas fracas para o antígeno p24 do HIV-1	Testadas amostras com 208 cópias/ml ↓ positivas para o RNA do HIV-1
	Testadas amostras com 100 cópias/ml ↓ positivas para o RNA do HIV-1
<b>Especificidade Analítica</b>	
<b>Microorganismos potencialmente interferentes</b>	Testes a um painel de microorganismos e outros estados patológicos, incluindo 21 isolados virais, 5 estirpes de bactérias e 1 isolado fúngico. ↓ Não se observou qualquer reactividade cruzada
<b>Amostras positivas para o HIV-1</b>	<b>Amostras negativas para o HIV-1</b>
Submeteram-se 25 amostras de plasma de doentes individuais de cada uma das seguintes categorias patológicas, a	25 amostras de plasma de doentes individuais de cada uma das seguintes categorias patológicas: - HAV

níveis elevados de plasma positivo para o HIV-1: - HAV - HBV - HCV - HIV-2 - Doença autoimune - EBV - CMV - <i>Candida albicans</i> ↓ Não se observaram resultados falsos negativos.	- HBV - HCV - HIV-2 - Doença autoimune - EBV - CMV - <i>Candida albicans</i> ↓ Todas as amostras se revelaram negativas. Não se observaram resultados falsos positivos. (testados os procedimentos Multiprep/Standard)
--	--

### Interferentes/ Limites

Embora raras, as mutações dentro da região altamente conservada do genoma viral coberta pelos iniciadores e/ou sonda do Teste, podem resultar na não detecção do vírus.

Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para quantificar as diferenças tecnológicas.

A obtenção de resultados fiáveis depende da colheita adequada da amostra e dos procedimentos de transporte adequados.

A heparina mostrou inibir a PCR. Não utilizar plasma heparinizado com este procedimento.

Não congelar o sangue total.

Não se observou qualquer efeito adverso sobre o desempenho do ensaio quando se submeteram as amostras de plasma a 3 ciclos de congelamento-descongelamento.

Na preparação da amostra e do controlo, devem ser usados tubos com tampa de enroscar para evitar o derramamento e potencial contaminação secundária das amostras e dos controlos.

Impedir contaminação cruzada das amostras e controlos.

Os materiais e o equipamento devem ser exclusivos de cada procedimento de pré-amplificação e não devem ser usados para outros procedimentos nem transportados entre áreas.

Se não controlar adequadamente a contaminação cruzada das amostras durante a manipulação e processamento das amostras, podem ocorrer resultados falsos positivos.

Este teste só foi avaliado para utilização em combinação com o Dispositivo COBAS AmpliScreen MultiPrep Specimen Preparation and Control Kit, Analisador COBAS AMPLICOR e Pipetador MICROLAB AT plus 2 Hamilton para preparação automatizada de pools de plasma.

Este teste destina-se a ser utilizado em conjunto com testes licenciados para a detecção de anticorpos contra o HIV-1. O teste não pode ser utilizado para substituir testes de detecção de anticorpos contra o HIV-1 tais como o EIA ou Western-Blot.

A detecção do RNA do HIV-1 depende do número de partículas virias presentes na amostra e pode ser influenciada por métodos de colheita da amostra, por factores do próprio doente (idade, presença de sintomas), e/ou pelo estágio da infecção e tamanho do pool.

Substâncias potencialmente interferentes:

- Substâncias interferentes endógenas

Bilirrubina  $\leq 20$  mg/ml

Triglicéridos  $\leq 3000$  mg/d

Hemoglobina  $\leq 1.0$  g/dl

Albumina  $\leq 6.0$  g/dl

Estas substâncias não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste.

- Substâncias interferentes endógenas

Aspirina  $\leq 50$  mg/ml

Pseudoefedrina-HCL  $\leq 3.0$  mg/dl

Ácido ascórbico  $\leq 20$  mg/dl

Acetaminofeno  $\leq 40$  mg/dl

Ibuprofeno  $\leq 40$  mg/dl

Estas substâncias não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste.

### Observações

. O teste baseia-se em 5 processos principais:

- Processamento de amostras (Procedimento de Processamento da Amostra com Multiprep, para a preparação de amostras em mini-pool ou Procedimento Standard de Preparação da Amostra para preparação de amostras de dadores individuais).
- transcrição reversa do RNA alvo para produzir DNA complementar (cDNA)
- amplificação por PCR do cDNA alvo, usando iniciadores específicos complementares para o HIV
- hibridação dos produtos amplificados com sondas oligonucleotídicas específicas do(s) alvo(s)
- detecção dos produtos amplificados e ligados à sonda por determinação colorimétrica

As amostras podem ser colhidas utilizando EDTA, CPD, CPDA-1, CP2D, ACD-A e 4% de Citrato de Sódio.

As amostras podem ser infecciosas. Use de Precauções Universais quando efectuar o ensaio.

Nenhum método de teste conhecido pode garantir totalmente que os produtos derivados de sangue humano não transmitem agentes infecciosos. Todo o material de origem humana deverá ser considerado como potencialmente infeccioso e manipulado em conformidade com as Precauções Universais.

Este produto contém azida sódica como conservante. Não utilize tubagens de metal para a transferência de reagentes. Se as soluções contendo composto de azida forem eliminadas num sistema de canos, devem ser diluídos e irrigados com água corrente em abundância. Estas precauções estão recomendadas para evitar a acumulação de depósitos em canos de metal onde se podem desenvolver condições explosivas.