

Nome	cobas TaqScreen MPX Test
-------------	---------------------------------

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

Aplicação Diagnóstica

Teste qualitativo *in vitro* para detecção directa do RNA do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV1) Grupo M, RNA do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1 (HIV1) Grupo O, RNA do Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 2 (HIV2), RNA do Vírus da Hepatite C (HCV) e DNA do Vírus da Hepatite B (HBV) em plasma humano.

Este teste destina-se a ser utilizado como um teste de rastreio de dadores para a detecção de RNA do HIV1 Grupo M, HIV1 Grupo O, HIV2, HCV e DNA DO Vírus da Hepatite B (HBV) em amostras de plasma de dadores individuais de sangue, incluindo dadores de sangue total e de componentes sanguíneos e outros dadores vivos.

Este teste destina-se também a ser utilizado para rastreio de dadores individuais de órgãos e tecidos, quando as amostras são obtidas enquanto o coração do dador ainda bate.

É um teste multiplex qualitativo, permite o rastreio e detecções simultâneas de dádivas em pool e individuais infectadas de RNA do HIV1 Grupo M e O, RNA do HIV2, RNA do HCV e o DNA do HBV.

Método

O teste utiliza uma técnica genérica de preparação dos ácidos nucleicos no equipamento COBAS AmpliPrep. O RNA do HIV1 Grupos M e O, o RNA do HIV2, o RNA do HCV e o DNA do HBV são amplificados e detectados através de PCR automática em tempo real no Analisador COBAS TaqMan.

Os 4 processos principais (usando outros equipamentos):

- Pooling de amostras e pipetagem de controlos (automáticas)
- Preparação automática de amostras
- Amplificação automática de ácidos nucleicos e detecção automática em tempo real de produtos de PCR
- Gestão automática de dados utilizando o software de pooling e gestão de dados.

Especificações Técnicas

Especificações Técnicas			
Sensibilidade e Inclusividade para Genótipos/Subtipos	HIV-1 Grupo M	37 amostras clínicas e 25 isolados em culturas com subtipo conhecido diluídas em concentrações 3x e 1x o limite de detecção do teste	Todas reactivas
	HIV-1 Grupo O e HIV-1 Grupo N	8 isolados em cultura (Grupo O) + 1 isolado em cultura (Grupo N) - foram preparadas diluições semi-logarítmicas dos stocks de culturas	Isolados do Grupo O – detectados em todas as diluições entre 1×10^{-7} e 1×10^{-8} Isolado do Grupo N – detectados em todas as diluições até 3.3×10^{-10}

				Subtipo A – detectado em diluições entre 1×10^{-8} e 3.3×10^{-9} Subtipo A/B – detectado em diluições até 1×10^{-9} Subtipo B – detectado em diluições até 3.3×10^{-9} Isolados do HIV-2 – detectados em diluições até 3.3×10^{-9} 11 amostras clínicas (subtipo desconhecido) - detectados em diluições até: 1:100 (2 amostras) 1:30 (3 amostras) 1:10 (2 amostras) 1:3 (3 amostras) 1:1 (1 amostra)
	HIV-2	9 isolados (diferentes subtipos) em cultura e 11 amostras clínicas (subtipos desconhecidos) - foram preparadas diluições semi-logarítmicas dos stocks de culturas		
Sensibilidade Analítica*	RNA do HIV-1 Grupo M	190 UI/ml	196 testes	100% reactivos
	RNA do HIV-1 Grupo O	250 cópias/ml	198 testes	100% reactivos
	RNA do HIV-2	12.0 cópias/ml	194 testes	100% reactivos
Painéis de Seroconversão				
20 painéis de seroconversão disponíveis no mercado – colhidos de dadores para plasmáfese, que se seroconverteram para anticorpos para HIV				
Cada amostra foi testada pura e diluída (1:6) para simular o teste em pools de 6 dadores – resultados foram comparados com outros 2 ensaios (testes de uma firma distinta)				
amostras puras	O teste detectou RNA do HIV antes da detecção do anticorpo para HIV (com os outros 2 ensaios) em 20 de 20 painéis com uma antecipação média de 14 dias.			
amostras diluídas	O teste detectou RNA do HIV antes da detecção do anticorpo para HIV (com os outros 2 ensaios) em 20 de 20 painéis com uma antecipação média de 13 dias.			

Especificidade Analítica	Avaliada por um painel de 17 microorganismos (12 isolados virais, 4 estirpes bacterianas, 1 isolado de leveduras) – Microorganismos testados não apresentaram reacção cruzada – não interferiram com o teste	
	Amostras de plasma de 15 a 20 de pacientes [infecção por Citomegalovírus, infecção por vírus da Hepatite A, infecção por vírus Epstein-Barr e doença auto-imune] – estados patológicos não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste	
Especificidade Clínica	Testadas 72281 amostras de sangue total aleatoriamente selecionadas	99.98%

* Os Limites de detecção do teste cobas TaqScreen MPX, para HIV-1 Grupo M, HIV-1 Grupo O e HIV-2 foram determinados utilizando os seguintes padrões:

- Padrão da Roche para HIV-1 Grupo M

É um stock de vírus em cultura, disponível no mercado (HIV-1 LAV 8E5, PN 227, Boston Biomedica, Inc.) calibrado face ao Padrão Internacional da OMS para o RNA do HIV-1 (NIBSC código 97/656) utilizando o teste COBAS TaqMan HIV-1, para utilização com o High Pure System.

Padrão da Roche para HIV-1 Grupo O

- Padrão da Roche para HIV-2

São stocks de vírus em cultura, disponíveis no mercado, PN 2420 (Boston Biomedica, Inc.) e n.º ref. 10-127-000 (Advanced Biotechnologies, Inc.).

As concentrações dos stocks de vírus HIV-1 Grupo O e HIV-2 foram fornecidas pelos fornecedores e basearam-se em contagem de partículas através de microscopia electrónica.

- Padrão Internacional da OMS para HBV (NIBSC código 97/746)

- 2º Padrão Internacional da OMS para RNA HCV (NIBSC código 96/798).

Foram preparadas 3 séries de diluições independentes de cada padrão viral, com plasma humano normal, negativo para o vírus.

Cada série de diluições foi submetida a teste utilizando 3 lotes diferentes de kits do teste cobas TaqScreen MPX, com 22 réplicas por lote, num total de 198 réplicas por concentração.

Interferentes

A heparina mostrou inibir a PCR. Não utilize plasma heparinado com este procedimento.

A obtenção de resultados fidedignos está dependente da colheita adequada das amostras e de procedimentos apropriados para o transporte das mesmas. A detecção de RNA do HIV-1 Grupo M, RNA do HIV-1 Grupo O, RNA do HIV-2, RNA do HCV e ADN do HBV depende do número de partículas virais presentes na amostra e pode ser afectada pelos métodos de colheita da amostra, por factores inerentes ao próprio paciente (idade, presença de sintomas) e/ou pelo estadio da infecção ou dimensão do pool.

É recomendada a utilização de pipetas esterilizadas descartáveis e de pontas isentas de nuclease. Poderão ocorrer resultados positivos falsos se não for impedida a contaminação secundária das amostras durante a manipulação e processamento das mesmas.

O uso de amostras excessivamente hemolizadas deve ser evitado. A contaminação dos glóbulos vermelhos de amostra de plasma (> 2.5%) pode inibir o teste.

Podem ser usadas amostras de plasma colhidas usando EDTA, CPD, CPDA1, CP2D, ACDA e Citrato de Sódio a 4%.

- Interferência de substância endógenas

As amostras de plasma com níveis anormalmente elevados de triglicéridos (até 3186 mg/dl), hemoglobina (até 472 mg/dl), bilirrubina não conjugada (até 63 mg/dl), albumina (até 9.6 g/dl) ou DNA humano

(até 0.4 mg/dl) foram submetidas a testes, e estas substâncias não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste.

O plasma com glóbulos vermelhos adicionados a 2.5% (p/p) não interferiu com a sensibilidade ou especificidade do teste.

O plasma com glóbulos vermelhos adicionados a 10.0% (p/p) interferiu com a sensibilidade do teste para a detecção do HBV, HCV, HIV-1 Grupo O e HIV-2.

O plasma com glóbulos vermelhos adicionados a 5, 0% (p/p) reduziu a sensibilidade do teste para a determinação de HCV.

- Interferência de substância exógenas

As amostras de plasma humano normal, contendo concentrações anormalmente elevadas de acetaminofeno (1324 µmol/L), ácido acetilsalicílico (3.6 µmol/L), atorvastatina (600 Eq./L), fluoxetina (11.2 µmol/L), loratadina (0.78 µmol/L), nadolol (3.88 µmol/L), naproxeno (2170 µmol/L), paroxetina (3.04 µmol/L), , sertralina (1,96 µmol/L), fenilefrina HCl (491 µmol/L), ibuprofeno (2425 µmol/L) e ácido ascórbico (342 µmol/L), foram submetidas a testes, e estas substâncias não interferiram com a sensibilidade ou especificidade do teste.

Observações

O plasma de todos os doadores pode ser rastreado como amostras individuais. Para dádivas de sangue total e componentes sanguíneos, as amostras de plasma podem ser testadas individualmente ou em pools constituídos por alíquotas iguais de

amostras individuais em conjunto com testes serológicos para HIV, HCV ou HBV.

Este ensaio não se destina a ser utilizado como auxiliar de diagnóstico.

O teste cobas TaqScreen MPX não discrimina qual o vírus detectado numa amostra. Para esse efeito existem outros testes disponíveis para o ensaio de discriminação.

Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue não transmitirão agentes infecciosos. Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com Precauções Universais. Use precauções laboratoriais de rotina.