

<b>Nome</b>	<b>artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit</b>
-------------	---------------------------------------

<b>Mandatário</b>	N.A.
<b>Fabricante</b>	Qiagen GmbH
<b>Distribuidor</b>	Quilaban

#### **Tipo de Teste**

Teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do RNA do HIV-1 em plasma humano.

#### **Aplicação Diagnóstica**

Quantificação de RNA do vírus de imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) em plasma humano.

O teste utiliza a transcrição reversa da PCR (RT-PCR) e é configurado para utilização com os instrumentos Rotor-Gene 6000 e Rotor-Gene 3000.

O teste pode quantificar RNA de HIV-1 num intervalo de 120 – 1x10<sup>8</sup> HIV-1 UI/ml.

Amostras de plasma que contém os subtipos A-H do grupo M foram validadas para o uso com o Kit.

É destinado ao uso com uma apresentação clínica e outros marcadores de laboratório para a prognose da doença, assim como ao uso como uma ajuda na determinação da reacção viral à terapia antiretroviral, a qual é medida por mudanças dos níveis de RNA do HIV-1 no plasma EDTA.

Não é destinado ao uso como um teste de triagem ou como um teste diagnóstico para confirmar a presença de uma infecção do HIV.

#### **Método**

No diagnóstico por meio de reacção de polimerização em cadeia (PCR) são amplificadas regiões específicas do genoma do agente patogénico. A detecção do material amplificado efectua-se com a ajuda de corantes fluorescentes na PCR em Tempo Real. Estes são acoplados geralmente a sondas oligonucleotídicas, que se ligam especificamente ao material amplificado pela PCR. A detecção das intensidades de fluorescência no decorrer da PCR em Tempo Real possibilita a detecção e a quantificação dos produtos sem ter que se voltar a abrir os tubos das amostras depois de concluída a PCR.

O artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit é um sistema pronto a utilizar para a detecção de RNA do HIV-1 através da reacção de polimerização em cadeia (PCR) no Rotor-Gene 6000 ou no Rotor-Gene 3000.

A HIV-1 RG Master A e B contém os reagentes e enzimas para a transcrição e a amplificação específica de uma região de 93 pb do genoma do HIV-1, assim como para a detecção directa do material amplificado no canal de fluorescência Cycling Green do Rotor-Gene 6000 ou no canal de fluorescência Cycling A.FAM do Rotor-Gene 3000.

Ao mesmo tempo, o artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit contém um segundo sistema heterólogo de amplificação para a comprovação de uma possível inibição da PCR. Este é detectado como um Controlo Interno no canal de fluorescência Cycling Orange do Rotor-Gene 6000 ou no canal

de fluorescência A.ROX do Rotor-Gene 3000. O limite de detecção da PCR analítica do HI Vírus-1 não é reduzido. São fornecidos controlos positivos externos (HI Vírus-1 RG QS 1-4), que permitem a determinação da carga de agente patogénico.

<b>Especificações Técnicas</b>
<b>Sensibilidade Analítica</b>
O limite de detecção analítica (purificação=0.05) do artus HI Vírus-1 RG RT-PCR Kit, sob utilização do instrumento Rotor-Gene 3000, está estabelecido em 4.5 UI/μl. Existe uma probabilidade de 95% de serem detectadas 4.5 IU/μl.
O limite de detecção analítica (purificação=0.05) do artus HI Vírus-1 RG RT-PCR Kit, sob utilização do instrumento Rotor-Gene 6000, está estabelecido em 66.9 UI/ml. Existe uma probabilidade de 95% de serem detectadas 66.9 UI/ml.
<b>Especificidade</b>
A especificidade do artus HI Vírus-1 RG RT-PCR Kit é garantida através da selecção dos primers e das sondas, assim como da selecção de condições de reacção optimizadas. Os primers e as sondas foram verificados mediante uma análise de comparação de sequência quanto a eventuais homologias com todas as sequências publicadas em bancos de genes. A detecção de todos os génotipos relevantes foi assegurada tanto pelo alinhamento do banco de dados, como por uma PCR no Rotor-Gene 6000/3000 com os seguintes génotipos do vírus HIV-1: A; B; C; D; E; F; G e H. A validade da especificidade realiza-se em 100 amostras negativas para o HIV, que não gera nenhum sinal com os primers e sondas específicos de HIV.
<b>Zona Linear da Quantificação</b>
A zona linear da quantificação do artus HI Vírus-1 RG RT-PCR Kit estende-se em concentrações de 5 UI/μl até no mínimo 1x10 <sup>8</sup> UI/μl.
A zona linear da quantificação de acordo com a purificação do artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit estende-se em concentrações de 120 UI/ml até no mínimo 1x10 <sup>8</sup> UI/ml.
<b>Precisão</b>
A flutuação estatística de uma amostra qualquer com a concentração determinada é de 0.35% Ct (threshold cycle).
<b>Robustez</b>

A verificação da robustez serve para apurar a taxa total de erro. A taxa de erro para o HIV foi de 0% para a totalidade das amostras. A robustez do Controlo Interno foi verificada, e a taxa de erro foi de 0%. Não foram observadas inibições. A robustez do artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit é ≥ 99%.

<b>Sensibilidade de Diagnóstico</b>	
241 amostras de soro	98.1%
<b>Especificidade de Diagnóstico</b>	
241 amostras de soro	84.3%

### Interferentes / Limitações

A repetida descongelação e congelação (>2X) deve ser evitada, assim como uma conservação mais longa da amostra, pois a sensibilidade pode ser reduzida.

Se houver necessidade de conservar os componentes a +4°C, não se deve ultrapassar um período de 5 horas.

O plasma anticoagulado com EDTA ou com citrato apresenta-se como o material de amostra mais adequado para a detecção do HIV.

Amostras de pessoas heparinizadas não podem ser utilizadas.

Toda a colheita de sangue leva a uma lesão dos vasos sanguíneos (artérias, veias, capilares). Só se pode utilizar material intacto e estéril.

O sangue deve ser separado em componentes celulares e plasma num período de 6 horas através de centrifugação. O plasma separado tem que ser transferido para um tubo estéril de polipropileno.

O tempo de transporte não deve ultrapassar um período de seis horas.

Valores elevados de bilirrubina (≥15 mg/dl), assim como amostras hemolíticas, não comprometem o sistema.

Heparina ( $\geq 10$  UI/ml) compromete a PCR. Amostras colhidas em tubos com heparina como anticoagulante não podem ser utilizadas.

seleccionado, recolha o volume de amostra indicado para a purificação e efectue o isolamento de RNA conforme as instruções do fabricante.

<b>Reacções Cruzadas</b>
Vírus da Hepatite A
Vírus da Hepatite B
Vírus da Hepatite C
Vírus do herpes humano 1 (Vírus do Herpes-simplex 1)
Vírus do herpes humano 2 (Vírus do Herpes-simplex 2)
Vírus do herpes humano 3 (Vírus Varicela-Zoster)
Vírus do herpes humano 5 (Citomegalovírus)
Vírus da leucemia humana de células Tipo 1 e tipo 2
Enterovírus
Vírus Parvo B19
Vírus da febre amarela
<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>
<i>Filobasidiella neoformans</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Staphylococcus sp.</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Streptococcus aureus</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>
Nenhum dos agentes patogénicos testados era reactivo. Em infecções mistas, não ocorrem reacções cruzadas.

### **Observações**

Para uso como os equipamentos Rotor-Gene 6000 e Rotor-Gene 3000 (Corbett Life Science).

Os componentes do artus HI Virus-1 RG RT-PCR Kit são conservados a  $-20^{\circ}\text{C}$  e devem ser utilizados antes do fim da data de validade indicada no rótulo.

Todas as amostras devem ser manuseadas como potencialmente infecciosas.

Os kits de isolamento de RNA podem ser fornecidos por diversos fabricantes. Em função do protocolo do fabricante