

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

**REF** GXHBV-VL-CE-10

Instruções de utilização

**CE** 2797 **IVD**

## **Declarações relativas a marcas registradas, patentes e copyright**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> 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.

**© 2018-2023 Cepheid.**

Cepheid<sup>®</sup>, o logótipo da Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup>, e Xpert<sup>®</sup> 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.

**© 2018-2023 Cepheid.**

# Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

---

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

## 1 Nome proprietário

Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load

## 2 Nome comum ou usual

Xpert HBV VL

## 3 Utilização prevista

O ensaio Xpert<sup>®</sup> HBV Viral Load (VL) da Cepheid é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* para a quantificação de ADN do vírus da hepatite B (HBV) em soro ou plasma (EDTA) humanos de indivíduos com infeção crónica pelo HBV, utilizando os sistemas automatizados GeneXpert<sup>®</sup>.

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

## 4 Resumo e explicação

O vírus da hepatite B (HBV) é um vírus pequeno de ADN com envelope da família Hepadnaviridae e é responsável pela hepatite B aguda e crónica. O vírus possui um genoma pequeno de ADN circular, parcialmente de cadeia dupla e parcialmente de cadeia simples, com 42 nm de diâmetro. O HBV contém numerosos componentes antigénicos, que incluem o antigénio de superfície da hepatite B (AgHBs), o antigénio core da hepatite B (AgHBc) e o antigénio da hepatite B (AgHBe). O HBV é transmitido por exposição percutânea ou mucosa a sangue ou fluidos corporais de uma pessoa infetada, de uma mãe infetada para o seu recém-nascido, através de contacto íntimo em ambiente doméstico, através de transfusões de sangue não rastreado ou injeções pouco seguras em ambiente de cuidados de saúde, através da utilização de drogas injetáveis ou do contacto sexual com uma pessoa infetada.

A hepatite B crónica (HBC) pode estar presente na forma de hepatite B e HBC AgHBe positivo ou HBC AgHBe negativo. A seroprevalência do AgHBs específica para a idade varia acentuadamente com a região geográfica, com a prevalência mais elevada (> 5%) na África Subsariana, Ásia Oriental, algumas partes da região dos Balcãs, Ilhas do Pacífico e Bacia do Amazonas na América do Sul. É observada uma prevalência inferior a 2% em regiões, tais como a América Latina Central, a América do Norte e a Europa Ocidental. Globalmente, quase metade da população mundial vive em áreas de elevada endemicidade.<sup>1</sup> A morbidade e a mortalidade da HBC estão ligadas à persistência da replicação viral e à evolução para cirrose e/ou carcinoma hepatocelular (CHC).<sup>2</sup> A mortalidade decorrente da hepatite viral tem vindo a aumentar e vai continuar a crescer, a menos que as pessoas sejam diagnosticadas e tratadas.<sup>3</sup>

A vacina contra o HBV está disponível para bebés e tem reduzido consideravelmente o número de novas infeções crónicas, mas a cobertura é de apenas 39%.<sup>3</sup> Em 2015, 3,5% da população mundial vivia com infeção crónica pelo HBV, sendo as regiões do Pacífico Ocidental e de África as áreas mais afetadas.<sup>3</sup> Apenas 9% dos infetados com HBV conhecia o respetivo diagnóstico e, dos diagnosticados, apenas 8% estavam a receber tratamento.<sup>3</sup> Recomenda-se nucleósidos e análogos nucleósidos, tais como o tenofovir e o entecavir, para os doentes elegíveis para terapêutica, pois estes agentes antiviricos são eficazes a suprimir a replicação do HBV, prevenindo a progressão para cirrose e reduzindo as mortes por causas hepáticas.<sup>1</sup> O tratamento para o HBV é continuado e vitalício.<sup>1</sup>

## 5 Princípio do procedimento

O teste Xpert® HBV VL é um teste automatizado para a detecção quantitativa do vírus da hepatite B. O teste é realizado nos sistemas do instrumento GeneXpert e GeneXpert Infinity da Cepheid.

Os sistemas do instrumento GeneXpert automatizam e integram a purificação de amostras, a amplificação de ácidos nucleicos e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de 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 decorre a purificação e o processo de 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 sistema GeneXpert Dx* ou o *manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity* adequado.

O teste Xpert® HBV VL inclui reagentes para a detecção de ADN de HBV em amostras, bem como dois controlos internos utilizados para a quantificação do ADN de HBV. Os controlos internos também são utilizados para controlar o processamento adequado do alvo e para monitorizar a presença de inibidor(es) nas reações de 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.

O teste é padronizado em relação ao 4.º Padrão Internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS) para ADN de HBV para tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos (código NIBSC: 10/266).<sup>4</sup>

## 6 Reagentes e instrumentos

### 6.1 Materiais fornecidos

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

|   |  |
|---|--|
| <b>Cartuchos do HBV VL com tubos de reação integrados</b>   | <b>10</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas)</li> <li>• Reagente de lise (tiocianato de guanidina)</li> <li>• Reagente de lavagem</li> <li>• Reagente de eluição</li> <li>• Reagente de fixação</li> <li>• Reagente de Proteinase K</li> </ul> | 1 de cada por cartucho<br>1,7 ml por cartucho<br>0,5 ml por cartucho<br>1,5 ml por cartucho<br>1,5 ml por cartucho<br>0,48 ml por cartucho |
| <b>Pipetas de transferência descartáveis de 1 ml</b>  | <b>10 por kit</b>  |
| <b>CD</b>   | <b>1 por kit</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ficheiro de definição do ensaio (ADF — Assay Definition File)</li> <li>• Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert e Infinity</li> <li>• Instruções de utilização (folheto informativo)</li> </ul>                              |  |

**Nota** As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://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-mortem 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 Xpert® 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 cartuchos fora do prazo de validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize um cartucho com fuga.

## 8 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema do instrumento GeneXpert® Dx ou GeneXpert® Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software proprietário GeneXpert versão 4.7b ou superior (sistemas GeneXpert Dx) ou Xpertise 6.4b ou superior (Infinity-80/Infinity-48s), leitor de código de barras e manual do utilizador do sistema do instrumento GeneXpert apropriado.
- 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 desnatado

## 9 Advertências e precauções

### 9.1 Geral

- 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. Estão disponíveis orientações para o manuseamento de amostras nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA<sup>5</sup> e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).<sup>6</sup>
- 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 produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Não substitua os reagentes do teste Xpert HBV VL por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do teste Xpert HBV VL até que amostra esteja pronta a ser adicionada.
- Não utilize um cartucho que tenha deixado cair 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 utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não tape o rótulo do código de barras do cartucho.
- Utilize uma pipeta de transferência ou uma micropipeta para adicionar a amostra ao cartucho. Não verta a amostra diretamente do dispositivo de colheita para dentro do cartucho.
- Cada cartucho de utilização única do Xpert HBV VL é utilizado para processar apenas um teste. Não reutilize cartuchos.
- Cada pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis usadas.
- Use batas e luvas limpas. 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 diluída 1:10 de lixívia doméstica). 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 vossa 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 de Saúde)<sup>7</sup>.

## 10 Riscos químicos<sup>8,9</sup>

### Reagente de lise (tiocianato de guanidina)

- 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. 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 com K<sub>2</sub>EDTA, PPT-EDTA ou tubos de colheita de soro e centrifugado para separar o plasma/soro e os glóbulos vermelhos de acordo com as instruções do fabricante.

- É necessário pelo menos 0,6 ml de plasma ou soro para o teste Xpert HBV VL. Se utilizar a pipeta de transferência incluída no kit, a pipeta tem de ser cheia até à quarta marca (1,0 ml) com soro ou plasma. Em alternativa, se utilizar uma micropipeta, será necessário 0,6 ml de soro ou plasma. 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 aquando da separação, o plasma e o soro podem ser mantidos a 2 °C – 35 °C até 24 horas ou a 2 °C – 8 °C até 7 dias, antes de testar.
- As amostras de plasma e soro congeladas (-80 °C a -20 °C) são estáveis durante 6 semanas.
- As amostras de plasma e soro são estáveis durante até três ciclos de congelamento/descongelamento.
- As amostras de plasma e soro devem ser descongeladas e equilibradas à 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 internacionais para o transporte de agentes etiológicos.

## 12 Procedimento

### 12.1 Preparar a amostra

**Nota** Iniciar o teste dentro de 4 horas após a adição da amostra ao cartucho.

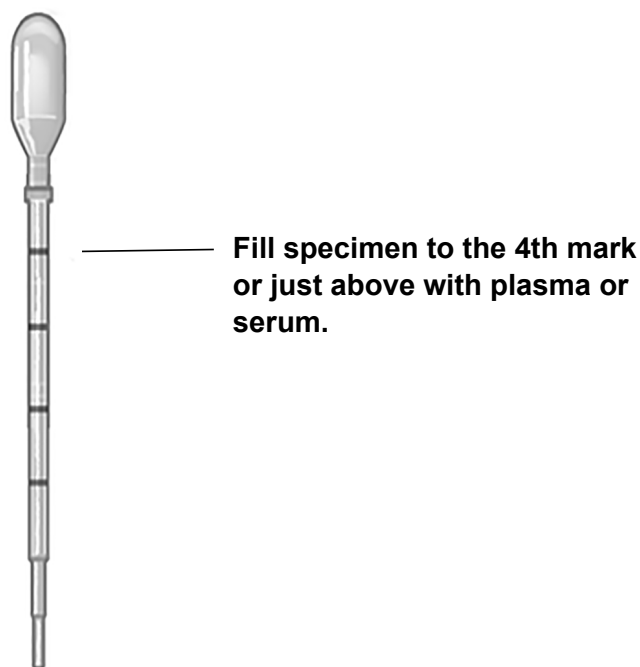
1. Após a centrifugação de amostras de sangue total, poderá pipetar-se plasma diretamente para o cartucho. É fundamental que se obtenha um volume suficiente para obter resultados de teste válidos (consulte as instruções na Secção 12.2, Preparação do cartucho).
2. Se utilizar amostras congeladas, coloque as amostras à temperatura ambiente (20 °C–35 °C) até descongelarem completamente e equilibre à temperatura ambiente antes de utilizar.
3. As amostras de plasma e soro conservadas a 2 °C–8 °C devem ser retiradas 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 utilizar a pipeta de transferência incluída no kit (ver 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 (ver Figura 2).
  - **Opção 2:** se utilizar uma micropipeta, transfira 0,6 ml de plasma ou soro do tubo de colheita para dentro da câmara da amostra do cartucho (ver Figura 2).

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



**Figura 1. Pipeta de transferência do teste Xpert HBV VL**

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



Figura 2. Cartucho Xpert HBV VL (vista superior)

## 12.3 Iniciar o teste

### Importante

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

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do 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 estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Infinity, ative o instrumento. O software GeneXpert iniciará 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 **Pedidos (Orders)** e em **Pedir 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 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 correta. A ID da amostra (Sample ID) é apresentada do lado esquerdo da janela Ver resultados (View Results) e está associada aos resultados de teste.

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

### Nota

Se o código de barras no cartucho do Xpert 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:

- Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- Aguarde até o sistema desbloquear a porta do módulo antes de a abrir e retire o cartucho.
- 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.

- Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
- 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

Cada teste inclui um controlo de 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. 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 o SVA não for aprovado, vai surgir **Erro 2096 (Error 2096)** se não tiver sido adicionada amostra ao cartucho ou **ERRO 2097 (ERROR 2097)** se foi adicionada uma quantidade insuficiente de amostra ao cartucho. O sistema impede que o utilizador retome o teste.
- Padrão quantitativo interno alto e baixo (IQS-H and IQS-L)** – o IQS-H e o IQS-L são dois plasmídeos linearizados com uma sequência não relacionada com o HBV e que são incluídos em cada cartucho e são sujeitos a todo o processo de teste. São padrões utilizados para calcular a concentração do ADN de HBV na amostra. Adicionalmente, o IQS-H e o IQS-L detetam a inibição associada à amostra do ensaio de PCR em tempo real atuando, 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) para quantificação** – Cada lote de kit tem LSP integrados gerados a partir de um painel de calibração de HBV rastreável ao 4.º Padrão Internacional da OMS para o HBV (código NIBSC 10/266)<sup>4</sup> e ao IQS-H e IQS-L. Os LSP são exclusivos para cada lote de reagente e são utilizados para garantir a correta quantificação.
- Controlo de verificação da sonda (PCC – Probe Check Control)** — Antes do início da reação PCR, o sistema do instrumento GeneXpert 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 os sinais de fluorescência cumprirem os critérios de aceitação validados.
- Controlos externos** – Em conformidade com as boas práticas de laboratório, devem ser utilizados controlos externos, não fornecidos no kit, de acordo com os requisitos das instituições de acreditação locais e nacionais, conforme aplicável.

## 15 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados automaticamente pelo sistema do instrumento GeneXpert por meio da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados na janela Ver resultados (View Results) (ver da Figura 3 à Figura 8). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados de teste e interpretação do teste Xpert HBV VL

| Resultado   | Interpretação   |
|---|---|
| <b>HBV DETETADO UI/ml (log X.XX) (HBV DETECTED IU/mL [log X.XX])</b><br>Ver Figura 3.   | Foi detetado ADN de HBV com XX UI/ml (log X.XX). <ul style="list-style-type: none"> <li>O ADN de HBV tem um título dentro do intervalo quantitativo do teste (10-1,00E09 UI/ml).</li> <li>IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS).</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>  |
| <b>HBV DETETADO &gt;1,00E09 UI/ml (HBV DETECTED &gt;1.00E09 IU/mL)</b><br>Ver Figura 4. | O ADN de HBV foi detetado acima do intervalo quantitativo do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS).</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>   |
| <b>HBV DETETADO &lt;10 UI/ml (HBV DETECTED &lt;10 IU/mL)</b><br>Ver Figura 5.           | O ADN de HBV foi detetado abaixo do intervalo quantitativo do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS).</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>  |
| <b>HBV NÃO DETETADO (HBV NOT DETECTED)</b><br>Ver Figura 6.                             | Não foi detetado ADN de HBV. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H e IQS-L: APROVADO (PASS).</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>  |
| <b>INVÁLIDO (INVALID)</b><br>Ver Figura 7.  | Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de HBV. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H e/ou IQS-L: FALHOU (FAIL); Os limiares de ciclo (Ct) não estão dentro do intervalo válido.</li> <li>Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>   |
| <b>ERRO (ERROR)</b><br>Ver Figura 8.  | Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de HBV. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> <li>Verificação da sonda — FALHOU (FAIL)*; todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam.</li> </ul> <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> |
| <b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b>  | Não foi possível determinar a presença ou ausência de ADN de HBV. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 16.2. Procedimento de repetição do teste. <b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b> indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.  |

**Nota** As capturas de ecrã do teste são meramente exemplificativas. O número da versão pode ser diferente das capturas de ecrã apresentadas nestas instruções de utilização.

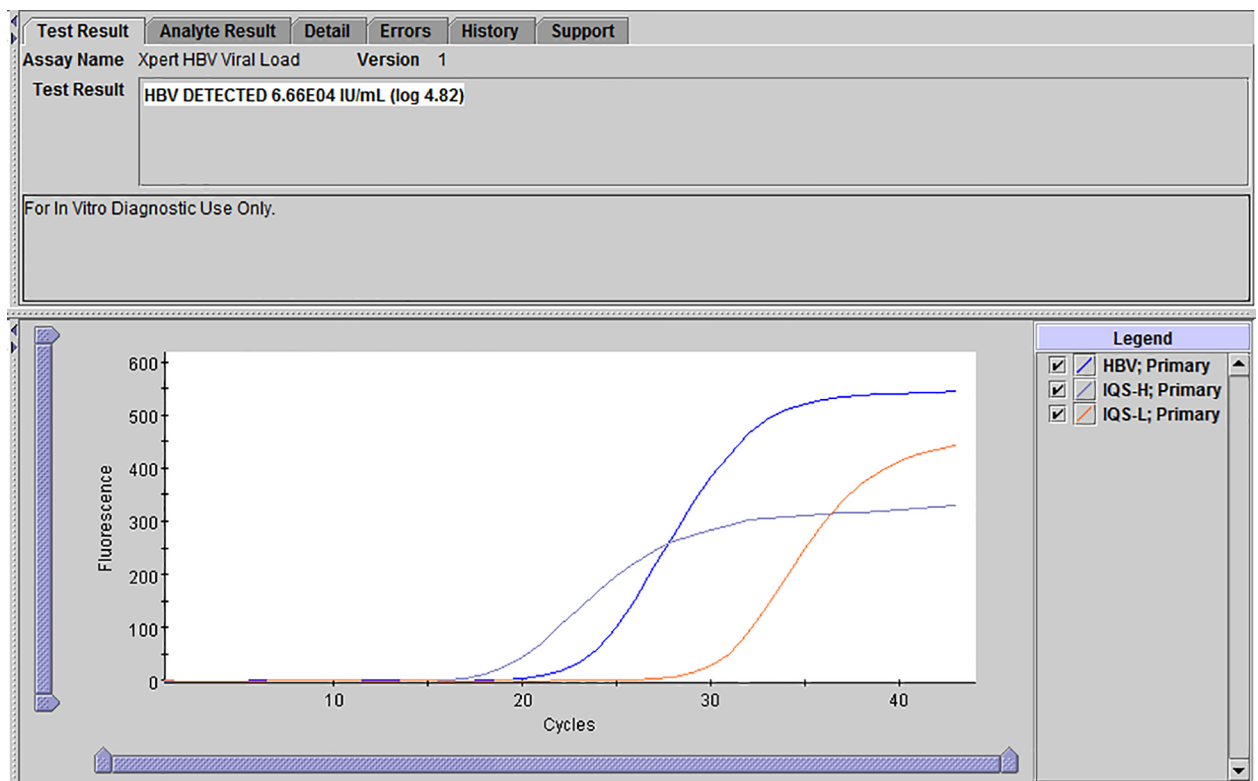


Figura 3. Resultado (Result): HBV detetado e quantificado

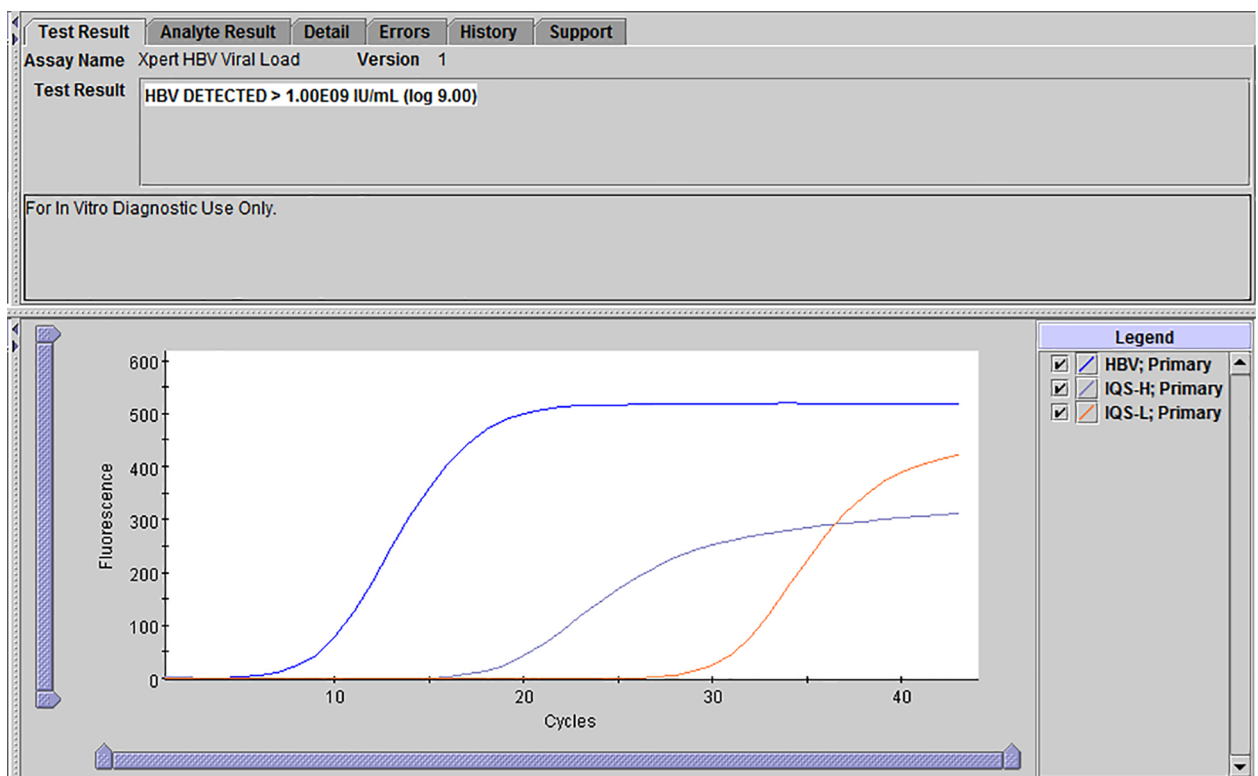


Figura 4. Resultado (Result): HBV detetado mas com um título acima do intervalo quantitativo do teste

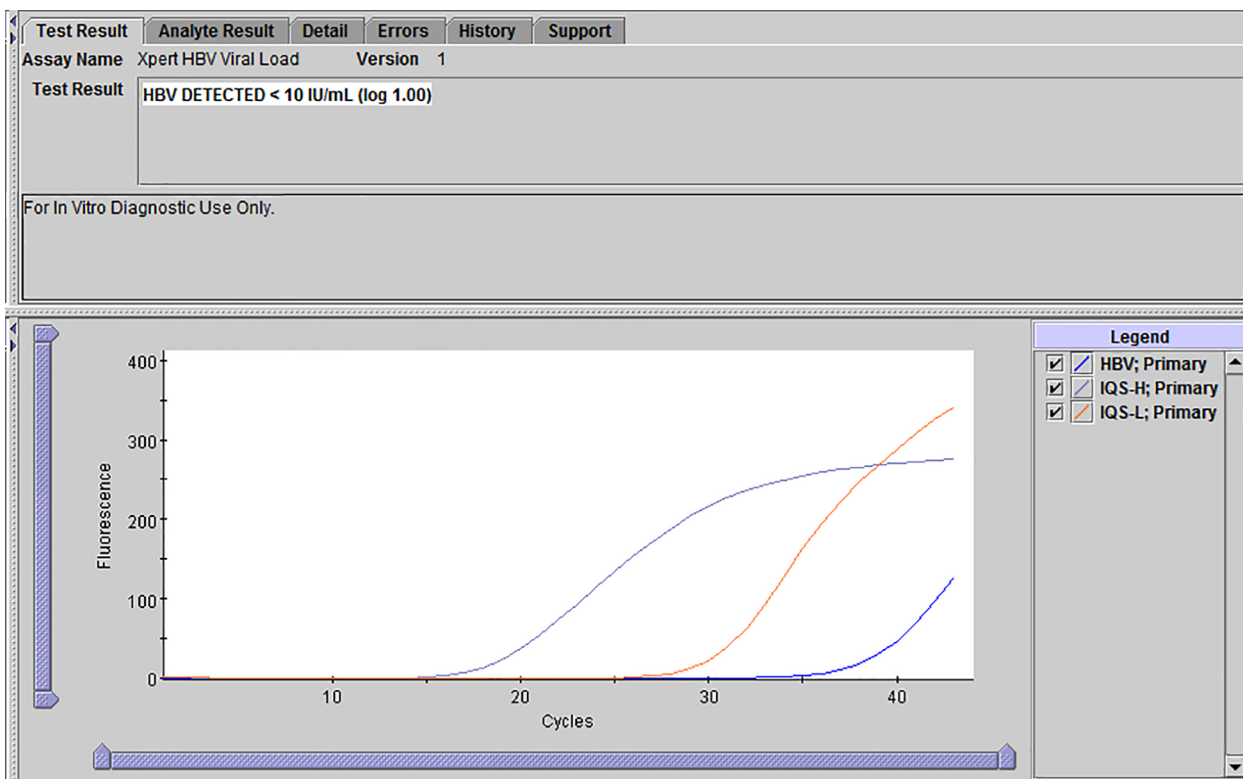


Figura 5. Resultado (Result): HBV detetado mas com um título abaixo do intervalo quantitativo do teste

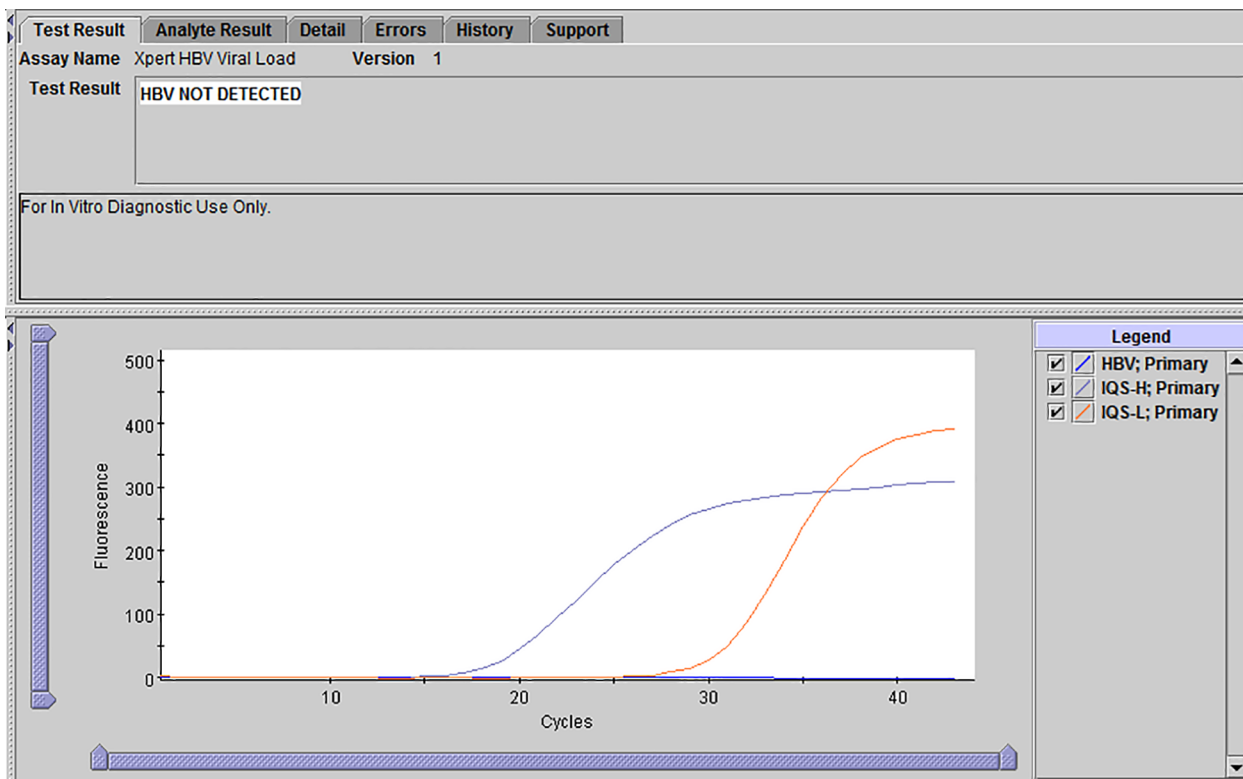


Figura 6. Resultado (Result): HBV não detetado

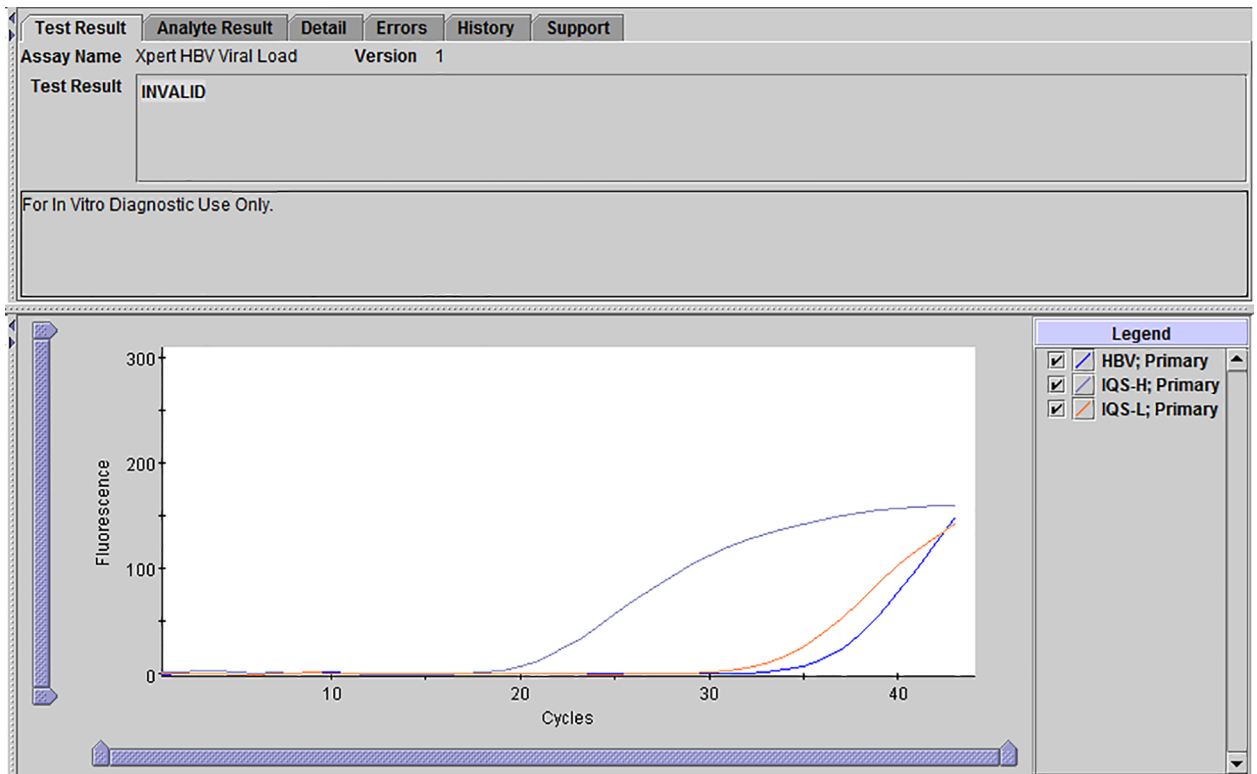


Figura 7. Resultado (Result): Resultado inválido

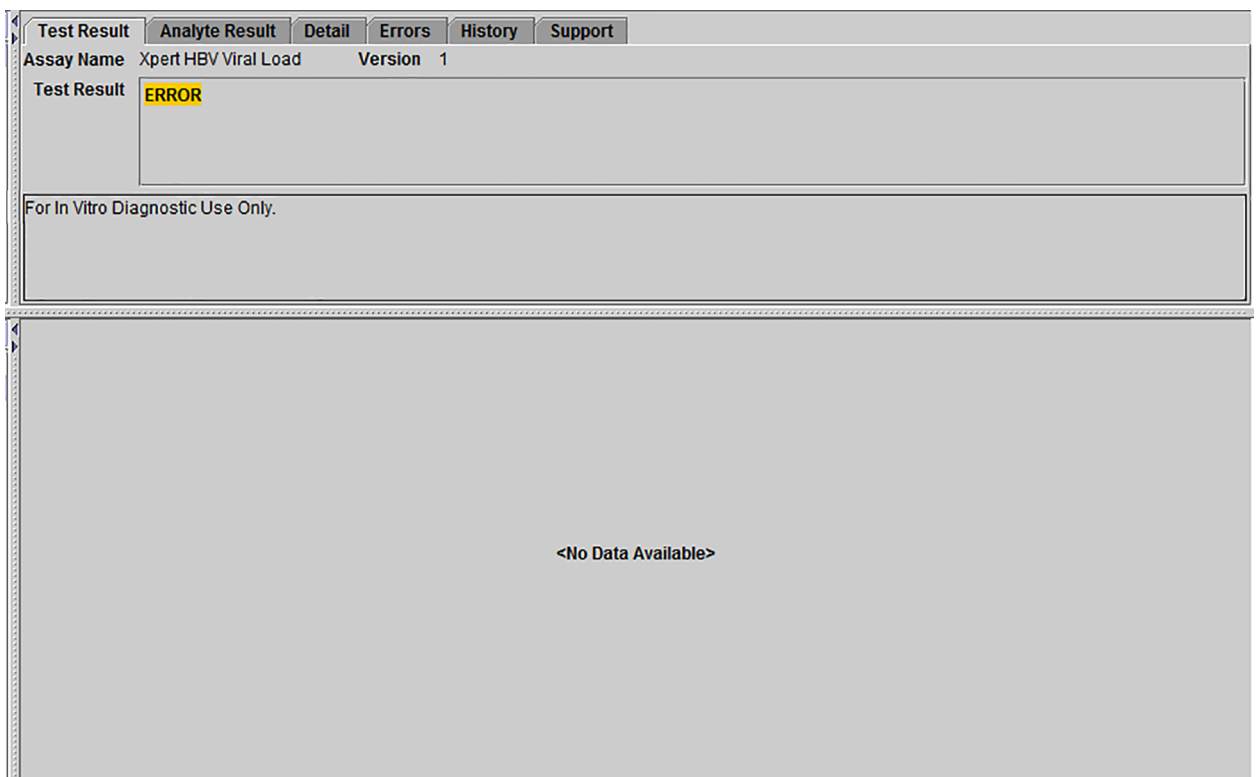


Figura 8. Resultado (Result): ERRO (ERROR)

## 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 a seguir:
  - Os valores do 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 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 colhidos 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

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 da Secção 12. Procedimento, incluindo a Secção 12.2. Preparação do cartucho e a Secção 12.3. Iniciar o teste.

## 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 amostras ou de reagentes.
- Mutações raras na região-alvo do teste Xpert HBV VL podem afetar a ligação do primer ou da sonda, o que resulta na subquantificação ou incapacidade de detetar o vírus.
- Este teste foi validado apenas para utilização com soro e plasma EDTA. A utilização de outros tipos de amostra pode resultar em resultados inexatos.
- Um resultado de teste negativo não exclui uma infeção por HBV. Deste modo, o teste Xpert HBV VL não deve ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção por HBV.

## 18 Características do desempenho

### 18.1 Limite de deteção

O limite de deteção (LOD) do ensaio HBV VL foi determinado para o genótipo A do HBV testando diluições em série do 4.º Padrão Internacional da OMS para ADN de HBV (código NIBSC 10/266) <sup>4</sup> diluído em plasma EDTA e soro negativos para HBV. Foram testados painéis de seis níveis de concentração e um negativo utilizando quatro ou três lotes de reagente para os painéis de plasma EDTA e soro, respetivamente. Cada membro do painel foi testado durante três dias com 24 réplicas por lote de reagente. No total, foram testadas 96 réplicas por membro do painel de plasma e 72 réplicas por membro do painel de soro.

Os resultados para o plasma EDTA e o soro são apresentados na Tabela 2. O estudo demonstrou que o ensaio HBV VL detetou ADN de HBV para o Padrão Internacional da OMS com uma concentração de 3,20 UI/ml em plasma EDTA e com uma concentração de 5,99 UI/ml em soro, com uma taxa de positividade de 95%, tal como determinado por 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 de HBV nominal (UI/ml) | Número de réplicas válidas | Número de positivos | Taxa de positividade (%) | LoD com 95% pelo PROBIT (intervalo de confiança de 95%) |
|----------|--------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------|--------------------------|---|
| A        | Plasma | 10                                  | 95                         | 95                  | 100                      | 3,20 UI/ml<br>(2,79 – 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<br>(5,13 – 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 para os genótipos B até H do HBV foi determinado testando painéis com seis ou sete membros preparados através da fortificação de amostras positivas para HBV representando cada genótipo (do genótipo B até ao G do Painel de Referência Internacional da OMS, código PEI: 5086/08 e uma amostra clínica do genótipo H em plasma EDTA negativo para HBV). Cada membro do painel foi testado durante três dias utilizando três lotes de reagente, perfazendo um total de 24 réplicas por membro. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3. Limite de detecção para os genótipos B até H do HBV em plasma EDTA**

| Genótipo | LOD com 95% por 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 até H do HBV foi verificado em soro, em conformidade com a EP17-A2<sup>10</sup> do CLSI utilizando 24 réplicas. Era testada uma concentração mais elevada se não fosse alcançada uma taxa de positividade > 85%. Consulte a Tabela 4 para ver os resultados.

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

| Genótipo | Concentração de HBV nominal (UI/ml) | Taxa de positividade (%) |
|----------|-------------------------------------|--------------------------|
| B        | 1,34                                | 88                       |
| C        | 3,25                                | 96                       |
| D        | 3,96                                | 96                       |

| Genótipo | Concentração de HBV nominal (UI/ml) | Taxa de positividade (%) |
|----------|-------------------------------------|--------------------------|
| E        | 3,77                                | 96                       |
| F        | 2,39                                | 92                       |
| G        | 1,21                                | 88                       |
| H        | 3,84                                | 100                      |

O desempenho do ensaio HBV VL também foi avaliado com um mutante pré-core através da testagem de uma amostra clínica de HBV sequenciado com duas mutações pré-core (C1858T e G1896A) e duas mutações basais no promotor do core (A1762T e G1764A), diluída para uma concentração de 10 UI/ml em plasma EDTA e soro com um lote de reagente. Foi alcançada uma taxa de positividade de 100% para cada uma das 24 réplicas testadas em cada matriz.

## 18.2 Limite inferior de quantificação (LIdQ)

O limite inferior de quantificação (LIdQ) é definido como a concentração mais baixa de ADN de 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 LIdQ foi avaliado com quatro amostras independentes, representando os genótipos A a D do HBV, em plasma EDTA próximo do limite de detecção do teste. Cada amostra foi testada com quatro lotes de reagente e 8-24 réplicas por lote. O EAT foi calculado com o modelo de Westgard utilizando a linha de orientação EP17-A2<sup>10</sup> do CLSI com o critério,  $[(\text{Viés absoluto}) + 2 \text{ DP} \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$ . A abordagem do tipo 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 LIdQ para cada amostra são apresentadas na Tabela 5.

**Tabela 5. Determinação do LIdQ para o teste Xpert HBV VL**

| Genótipo do HBV | Lote | N  | Concentração de HBV ( $\log_{10}$ UI/ml) |           | Viés  | DP total | Erro analítico total <sup>a</sup> | Abordagem das duas medições <sup>b</sup> |
|-----------------|------|----|--|-----------|-------|----------|-----------------------------------|--|
|                 |      |    | 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                                     |
| 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                                     |

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



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

Os resultados demonstram que o teste Xpert HBV-VL pode quantificar  $10 \text{UI/ml}$  de ADN de HBV com uma exatidão e precisão aceitáveis.

### 18.3 Precisão/reprodutibilidade

A precisão/reprodutibilidade do teste Xpert HBV VL foi avaliada em plasma  $\text{K}_2\text{EDTA}$  utilizando uma análise da variância (ANOVA) para calcular a variância total.

Tratou-se de um estudo multicêntrico (3 centros; 2 externos e 1 interno), em ocultação para calcular os principais componentes da variância do teste Xpert HBV VL utilizando um painel composto na totalidade por oito membros positivos para HBV. Os membros positivos para HBV foram preparados através da diluição de um plasmídeo de HBV ou de uma amostra clínica positiva para HBV bem caracterizados em plasma EDTA humano. 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, perfazendo um total de 144 réplicas por membro do painel. Foram utilizados três lotes do teste Xpert HBV VL, cada um representando dois dias de teste. A precisão e a reprodutibilidade foram avaliadas de acordo com a EP05-A3<sup>11</sup> e a EP15-A3 do CLSI.<sup>12</sup>

A precisão e a reprodutibilidade do teste Xpert HBV VL foram avaliadas utilizando uma ANOVA hierárquica com termos para Centro/Instrumento, Lote, Dia, Operador/Execução e Intra-execução. O desvio padrão e a percentagem de variabilidade devido a cada componente das concentrações  $\log_{10}$  transformadas do HBV foram calculados tal como apresentado na Tabela 6.

**Tabela 6. Precisão/Reprodutibilidade do teste Xpert HBV VL**

| Concentração do ADN de HBV ( $\log_{10}\text{UI/ml}$ ) |                   |     | Contributo para o desvio padrão de variância total (CV%) |                  |        |                  |        |                  |                       |                  |                       |                  | Precisão total |                     |
|--|-------------------|-----|--|------------------|--------|------------------|--------|------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|------------------|----------------|---------------------|
|  |                   |     | Centro/<br>instrumento                                   |                  | Lote   |                  | Dia    |                  | Operador/<br>Execução |                  | Dentro da<br>execução |                  |                |                     |
| Previsto   | Observado         | N   | DP   | (%) <sup>a</sup> | DP     | (%) <sup>a</sup> | DP     | (%) <sup>a</sup> | DP                    | (%) <sup>a</sup> | DP                    | (%) <sup>a</sup> | DP             | CV (%) <sup>b</sup> |
| 9,00   | 9,13 <sup>c</sup> | 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                |

<sup>a</sup> (%) é a contribuição do componente variância para a variância global

<sup>b</sup>

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

“CV” é o CV lognormal, conforme obtido utilizando a fórmula:

<sup>c</sup> O valor observado está acima do intervalo quantitativo do teste Xpert HBV VL.

### 18.4 Intervalo linear

#### Genótipo A

O intervalo linear do teste Xpert HBV VL foi determinado através da análise de um painel com oito membros abrangendo um intervalo de concentração de HBV de  $1,00 - 9,00 \log_{10} \text{UI/ml}$ . Os painéis foram preparados fortificando plasma EDTA ou soro negativos para HBV com uma amostra clínica de HBV do genótipo A ou um stock de plasmídeo com ADN de

HBV com título elevado. Cada membro do painel foi analisado em réplicas de oito por lote de reagente, excetuando 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.

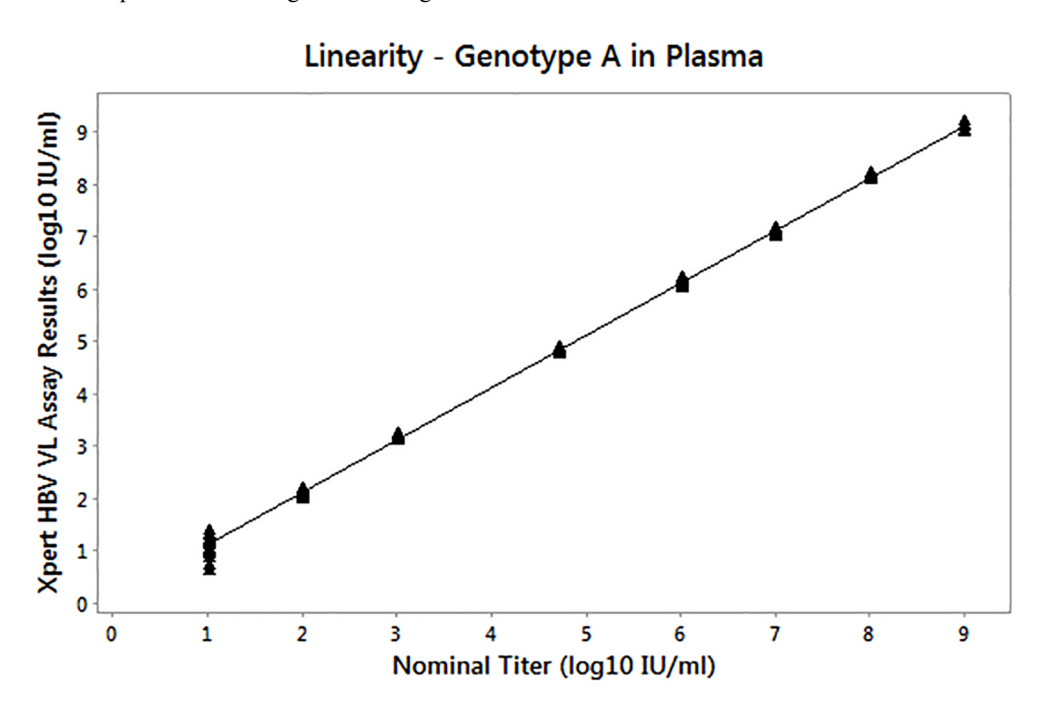


Figura 9. Linearidade para o teste Xpert HBV VL em plasma EDTA

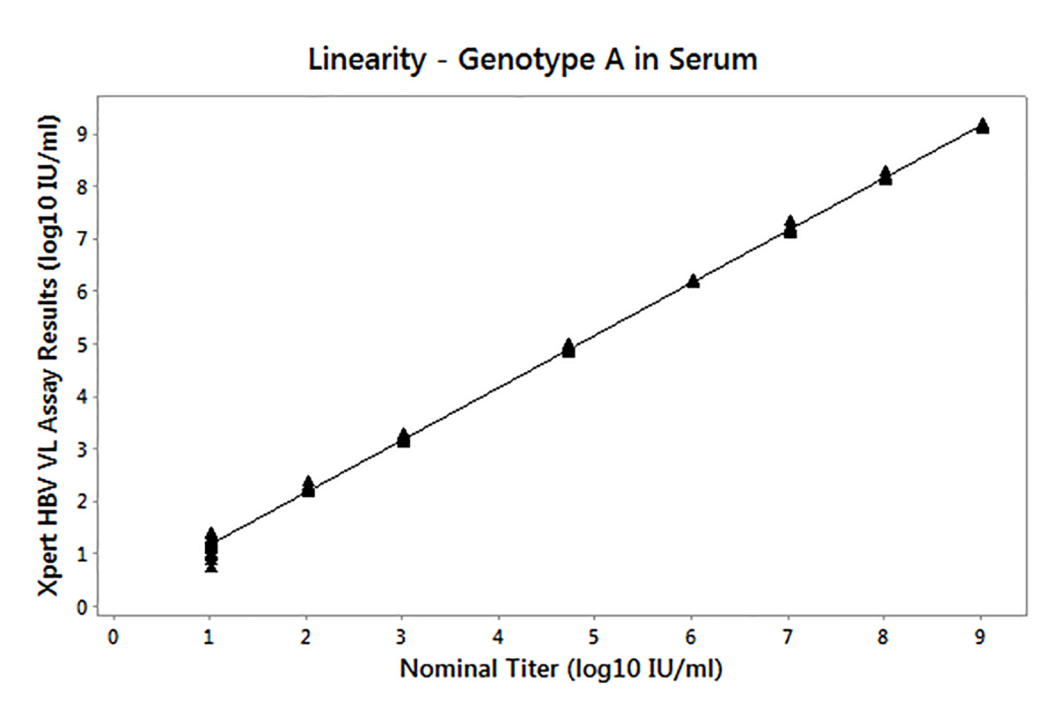


Figura 10. Linearidade para o teste Xpert HBV VL em soro EDTA

Genótipos B-H

Para confirmar a linearidade, foram preparados painéis de diluição representando os genótipos B a H do HBV para abranger um intervalo de medição o mais vasto possível, diluindo, para tal, uma amostra clínica representando cada genótipo em plasma EDTA negativo para HBV. Os membros do painel foram analisados com o mesmo número de réplicas utilizadas para o genótipo A do HBV, utilizando um lote de reagente.

A linearidade foi demonstrada para os genótipos A-H, de acordo com a linha de orientação EP06-A<sup>13</sup> do CLSI, com um  $R^2 > 0,99$ . O teste Xpert HBV VL é linear ao longo de um intervalo de 1,00 – 9,00  $\log_{10}$  UI/ml para o genótipo A e ao longo do intervalo testado para os genótipos B a H (ver Tabela 7).

**Tabela 7. Linearidade do teste Xpert HBV VL por genótipo**

| Genótipo   | Equação de regressão linear | R <sup>2</sup> | Intervalo de títulos testado (Log <sub>10</sub> 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 teste Xpert HBV VL foi avaliada através da adição de microrganismos com reatividade cruzada potencial com uma concentração de  $1 \times 10^6$  UFC/ml para microrganismos, ou de  $1 \times 10^5$  cópias/ml ou TCID<sub>50</sub>/ml para vírus em plasma EDTA negativo para HBV ou em plasma EDTA contendo material de referência de HBV (4.º Padrão Internacional da OMS para HBV, código NIBSC: 10/266)<sup>4</sup> com uma concentração de aproximadamente 30 UI/ml. Os microrganismos testados estão listados na Tabela 8. Nenhum dos microrganismos testados mostrou reatividade cruzada ou interferiu com a quantificação do teste Xpert HBV VL.

**Tabela 8. Organismos utilizados para a especificidade analítica**

| 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                                 |                                   |                         |
| Herpesvírus humano 8        |  |                                   |                         |

## 18.6 Substâncias potencialmente interferentes

Avaliou-se a suscetibilidade do teste Xpert HBV VL à interferência causada por níveis elevados de substâncias endógenas, marcadores de doença autoimune e por fármacos prescritos para doentes infetados pelo HBV. Os efeitos inibidores foram avaliados na presença e na ausência de cerca de 30 UI/ml de material de referência de ADN de HBV (4.º Padrão Internacional da OMS para HBV, código NIBSC 10/266).<sup>4</sup>

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

### Substâncias endógenas

**Tabela 9. Substâncias endógenas e concentração testadas**

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

### Fármacos

Foi demonstrado que os componentes de fármacos, tal como apresentados na Tabela 10 não interferem na quantificação do teste Xpert HBV VL nem têm impacto na especificidade do teste quando testados com o triplo da concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) na presença ou ausência de ADN de HBV.

**Tabela 10. Grupos de fármacos testados**

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

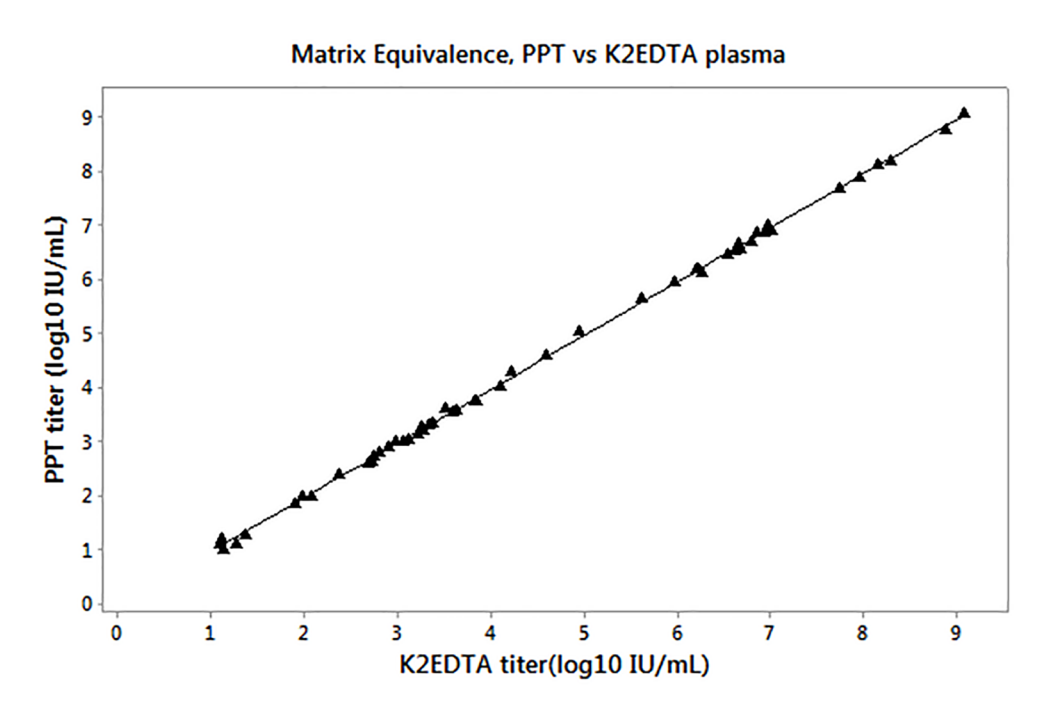
### Marcadores de doença imune

A testagem de amostras de plasma K<sub>2</sub>EDTA de cinco indivíduos positivos para cada um dos marcadores das doenças autoimunes lúpus eritematoso sistémico (LES), anticorpos antinucleares (ANA) ou fator reumatoide (FR) não demonstrou interferência no desempenho do teste Xpert HBV VL. As concentrações  $\log_{10}$  médias de amostras fortificadas com ADN de HBV estavam dentro de  $\pm 0,10 \log_{10}$  UI/ml do controlo positivo. Foram obtidos resultados negativos para todas as amostras sem HBV-alvo, demonstrando que não existe impacto na especificidade do ensaio.

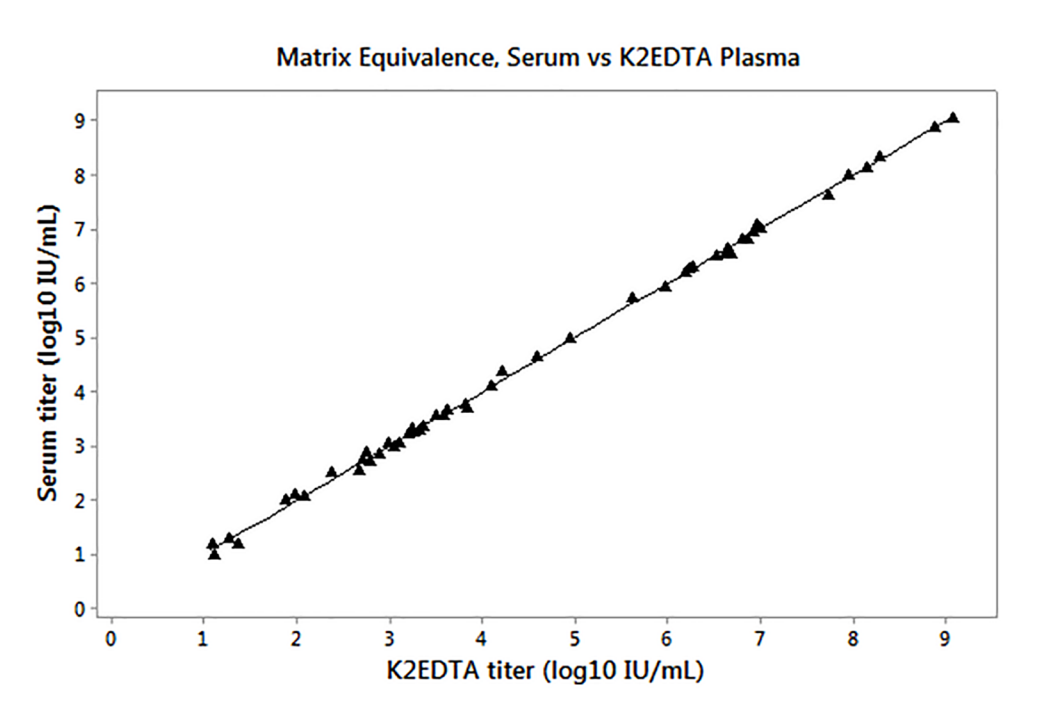
## 18.7 Equivalência de matrizes (plasma K<sub>2</sub> EDTA, PPT-EDTA e soro)

Foi efetuada a determinação da equivalência de matrizes para o teste Xpert HBV VL com 32 amostras clínicas positivas para HBV emparelhadas e 23 amostras clínicas negativas para HBV emparelhadas colhidas em tubos de colheita para plasma K<sub>2</sub> EDTA, plasma PPT-EDTA e soro. As 23 amostras clínicas negativas para HBV emparelhadas foram fortificadas com material positivo para HBV de amostras clínicas representando os genótipos B a G do HBV e um plasmídeo de ADN que expressava a sequência-alvo do genótipo A do HBV, com títulos abrangendo a totalidade do intervalo linear.

A equivalência de matrizes foi demonstrada nas amostras testadas, tal como ilustrado na Figura 11 e na Figura 12.



**Figura 11.** Curva de regressão linear de plasma PPT-EDTA versus plasma K<sub>2</sub>EDTA



**Figura 12.** Curva de regressão linear de soro versus plasma K<sub>2</sub>EDTA

Os resultados mostram que o teste Xpert HBV VL tem desempenhos equivalentes em plasma K<sub>2</sub>-EDTA, plasma PPT-EDTA e soro no intervalo de aproximadamente 1,0-9,0 log<sub>10</sub> UI/ml.

## 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 fortificado com o 4.º Padrão Internacional da OMS de ADN de VHB (código NIBSC 10/266)<sup>4</sup>, uma amostra do 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 HBV de elevado título ( $>1 \times 10^7$  UI/ml) foi testada, imediatamente seguida pelo teste de uma amostra negativa para HBV no mesmo módulo do instrumento GeneXpert. O procedimento foi repetido vinte (20) vezes em dois módulos. A taxa de transferência (carryover) para o teste Xpert HBV VL foi de 0%.

## 19 Desempenho clínico

### 19.1 Especificidade em dadores de sangue saudáveis normais

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

### 19.2 Correlação de métodos

Foi realizado um estudo multicêntrico para avaliar o desempenho do teste Xpert HBV VL comparativamente a um método comparador quantitativo de ADN de HBV utilizando amostras restantes de soro e plasma EDTA de cuidados de saúde normais de indivíduos com infeção 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 estavam dentro do intervalo de quantificação do ensaio HBV VL e do ensaio comparador. Os resultados das análises da regressão de Deming e da regressão linear simples são apresentados na Figura 13.

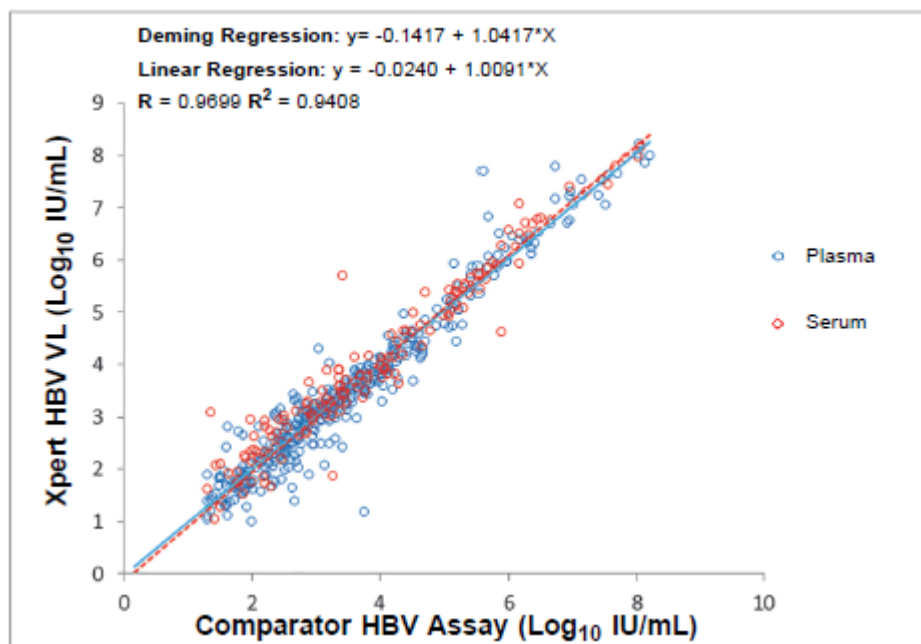


Figura 13. Correlação do teste Xpert HBV VL vs. método comparador utilizando amostras de soro e plasma EDTA

## 20 Referências

1. Organização Mundial da Saúde (OMS). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Março de 2015. Acedido em 14 de março de 2018 em: <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. Disponível em: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organization. Global hepatitis report, 2017. OMS. Abril de 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), acedido em 5 de março de 2018 em <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Document M29 (consultar a edição mais recente).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. OMS, 2014. Acedido em 20 de abril de 2018 em [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/wastemanag/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/).
8. 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.
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 empresarial

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### Sede europeia

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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 do software e, caso se aplique, número da etiqueta de serviço do computador

### Informações de contacto

Estados Unidos da América

Telefone: + 1 888 838 3222

Email: [techsupport@cepheid.com](mailto:techsupport@cepheid.com)

França

Telefone: + 33 563 825 319









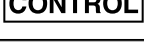








Email: [support@cepheideurope.com](mailto:support@cepheideurope.com)

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/CustomerSupport](http://www.cepheid.com/en/CustomerSupport).

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em [www.cepheid.com/en/support/support/order-management](http://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> |
|    | Não reutilizar                                      |
|    | Código de lote                                      |
|    | Consultar as instruções de utilização               |
|    | Fabricante  |
|    | País de fabrico                                     |
|    | Conteúdo suficiente para <i>n</i> testes            |
|   | Controlo  |
|  | Prazo de validade                                   |
|  | Marcação CE — Conformidade Europeia                 |
|  | Limites de temperatura                              |
|  | Riscos biológicos                                   |
|  | Cuidado   |
|  | Atenção   |
|  | Representante autorizado 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

