

Xpert® HIV-1 Viral Load

REF GXHIV-VL-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

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

Windows® is a trademark of Microsoft Corporation.

Armored RNA® is a patented technology jointly developed by Asuragen Inc. and Cenetron Diagnostics, LLC under U.S. Patent Nos. 5,677,124, 5,919,625, 5,939,262 and other patents pending.

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 2015. All rights reserved.



Cepheid AB
Röntegenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] HIV-1 Viral Load

Apenas para utilização em diagnóstico in vitro.

1 Nome sujeito a direito de propriedade

Xpert[®] HIV-1 Viral Load (Carga viral de VIH-1)

2 Nome comum ou usual

HIV-1 VL

3 Utilização prevista

O ensaio HIV-1 VL, realizado nos sistemas de instrumentos GeneXpert[®] consiste num teste de diagnóstico in vitro desenvolvido para a rápida quantificação do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1 [VIH-1]) em plasma humano de indivíduos infectados com HIV-1 (VIH-1) no intervalo entre 40 e 10 000 000 cópias/ml, e é validado para amostras do Grupo M subtipos A, B, C, D, AE, F, G, H, AB, AG, J, K e Grupo N e Grupo O.

O ensaio HIV-1 VL destina-se a utilização em conjunto com apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais para prognóstico da doença e para utilização como ajuda na avaliação da resposta viral ao tratamento anti-retroviral conforme medido por alterações nos níveis de RNA do HIV-1 (VIH-1) plasmático.

O ensaio HIV-1 VL não se destina a utilização como teste para rastreio de dados para HIV-1 (VIH-1) nem como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infecção por HIV-1 (VIH-1).

4 Resumo e explicação

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA).^{1,2,3} Pode ser transmitido através de contacto sexual, exposição a sangue infectado ou derivados sanguíneos, infecção pré-natal de um feto, ou infecção perinatal ou pós-natal de um recém-nascido.^{4,5,6}

O diagnóstico do VIH evoluiu significativamente ao longo das duas últimas décadas e continuará a ser significativamente importante para salvar as vidas de milhões de doentes infectados com VIH. Actualmente, a medição da concentração de RNA do HIV-1 (VIH-1) plasmático, designada carga viral, utilizando ensaios de diagnóstico molecular baseados em ácido nucleico foi determinada como o padrão na avaliação de prognósticos de doentes VIH positivos e resposta à terapêutica anti-retroviral.

A infecção por HIV-1 (VIH-1) não tratada caracteriza-se pela produção viral de nível elevado e destruição das células T CD4, não obstante uma latência clínica frequentemente prolongada, para uma significativa perda líquida de células T CD4 e SIDA.^{7,8,9}

A avaliação dos níveis da carga viral é um forte indicador da taxa de evolução da doença e, isoladamente ou em combinação com contagens das células T CD4, tem um excelente valor no prognóstico.^{10,11,12,13,14,15}

O ensaio HIV-1 VL utiliza tecnologia de reacção em cadeia de polimerase de transcriptase reversa (RT-PCR) para conseguir uma elevada sensibilidade para a detecção quantitativa de RNA do HIV-1 (VIH-1) plasmático humano de indivíduos infectados com HIV-1 (VIH-1).

5 Princípio do procedimento

Os sistemas de instrumentos GeneXpert automatizam e integram a preparação de amostras, a extracção e amplificação de ácidos nucleicos e a detecção da sequência-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando transcriptase reversa em tempo real (RT-PCR). 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 para RT-PCR e onde decorrem os processos de RT-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 ensaio HIV-1 VL inclui reagentes para a detecção de RNA do HIV-1 (VIH-1) em amostras e dois controlos internos utilizados para a quantificação de RNA de HIV-1 (VIH-1). Os controlos internos também são utilizados para monitorizar a presença de inibidor(es) nas reacções RT e PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

6 Reagentes e instrumentos

6.1 Materiais fornecidos



O kit do ensaio HIV-1 VL contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade. O kit contém o seguinte:

Cartuchos do ensaio HIV-1 VL com tubos de reacção integrados	10
• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (secagem por congelamento)	1 de cada por cartucho
• Reagente de lise (tiocianato de guanidina)	2,0 ml por cartucho
• Reagente de enxaguamento	0,5 ml por cartucho
• Reagente de eluição	1,5 ml por cartucho
• Reagente de fixação	2,4 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	
• Folheto informativo	

Nota As Fichas de Dados de Segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheidinternational.com no separador **SUPPORT** (Apoio).

Nota A seroalbumina bovina (BSA) presente nas esferas deste produto foi produzida a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminantes nem com qualquer outra proteína animal; os animais passaram em testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais animais.

7 Conservação e manuseamento



- Conservar os cartuchos do ensaio HIV-1 VL a 2–28 °C.
- Abra a tampa do cartucho apenas quando estiver pronto para realizar o teste.
- Utilize o cartucho no prazo de quatro horas depois de abrir a tampa do cartucho.
- Não utilize um cartucho com fuga.

8 Materiais necessários mas não fornecidos

- Sistema GeneXpert Dx ou Sistema GeneXpert Infinity (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com software GeneXpert patenteado versão 4.6a, Xpertise 6.2a ou posterior, leitor de código de barras e manual do utilizador
- Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Lixívia

9 Advertências e precauções



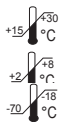
- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros para Controlo e Prevenção de Doenças)¹⁶ e Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais) dos EUA.¹⁷
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com químicos e manusear amostras biológicas.
- Consulte os técnicos responsáveis pelos resíduos ambientais da sua instituição relativamente à eliminação correcta de cartuchos usados e reagentes não usados. Verificar as regulamentações estaduais, territoriais ou locais, uma vez que estas poderão diferir das regulamentações nacionais de eliminação de resíduos. Este material pode apresentar características de resíduos perigosos, pelo que serão necessários requisitos de eliminação específicos. As instituições devem verificar os requisitos de eliminação de resíduos perigosos dos respectivos países.
- Não substitua os reagentes do ensaio HIV-1 VL por outros reagentes.
- Abra a tampa do cartucho do ensaio HIV-1 VL apenas quando estiver pronto para adicionar a amostra de plasma.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respectiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Cada cartucho de ensaio HIV-1 VL é utilizado para processar uma amostra. Não reutilize cartuchos gastos.
- Não utilizar um cartucho que tenha um tubo de reacção danificado.
- A pipeta descartável de utilização única é utilizada para transferir uma amostra. Não reutilize pipetas descartáveis.
- 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 bem a área contaminada com uma solução de lixívia doméstica diluída de 1:10 e depois com etanol a 70%. Limpe as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.
- Conserve o Xpert® HIV-1 Viral Load kit a 2–28 °C.
- O reagente de lise contém tiocianato de guanidina, que é tóxico se ingerido (H302), irritante ocular e cutâneo (H316, H320), pode causar lesões nos órgãos devido a exposição prolongada ou repetida (H373), e é nocivo para os organismos aquáticos (H402). Consultar a regulamentação CE 1272/2008 (CRE da UE).



10 Colheita, transporte e conservação de amostras

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

- É necessário pelo menos 1 ml de plasma para o ensaio HIV-1 VL. Se utilizar a pipeta de transferência incluída no kit, é necessário pelo menos 1,2 ml de plasma. Em alternativa, se utilizar uma pipeta de precisão, será necessário pelo menos 1 ml de plasma.
- O sangue total pode ser mantido a 15–30 °C até 8 horas ou a 2–8 °C até 72 horas, antes de preparar e testar a amostra.
- Após a centrifugação, o plasma pode ser mantido a 15–30 °C até 24 horas ou a 2–8 °C até 6 dias, antes de testar.
- As amostras de plasma são estáveis congeladas (≤ -18 °C e ≤ -70 °C) durante seis semanas.
- As amostras de plasma são estáveis até três ciclos de congelamento/descongelamento.
- As amostras de plasma devem ser descongeladas e equilibradas à temperatura ambiente antes da transferência para o cartucho.



11 Procedimento

11.1 Preparar a amostra



1. Se utilizar amostras congeladas, coloque as amostras à temperatura ambiente 20–35 °C até descongelarem completamente e equilibre à temperatura ambiente antes de utilizar.
2. As amostras de plasma guardadas a 2–8 °C devem ser removidas do frigorífico e equilibradas à temperatura ambiente antes da utilização.
3. Antes de utilizar, colocar o plasma no vórtice durante 15 segundos. Se a amostra estiver turva, clarificar rodando uma vez rapidamente.

11.2 Preparação do cartucho

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

Nota Se carregar menos de 1 ml de plasma no cartucho provocará um erro de volume insuficiente (ERROR 2097 [ERRO 2097]), impedindo que o instrumento execute a amostra.

Deixe as amostras atingir a temperatura ambiente antes de carregar plasma no cartucho.

1. Use luvas de protecção descartáveis.
2. Inspeccione o cartucho do teste para verificar se existem danos. Não utilize se estiver danificado.
3. Abra a tampa do cartucho de teste.

Nota Existe uma fina película de plástico que protege o anel interior das 13 portas do cartucho de teste. Esta película não deve ser retirada.

- **Opção 1:** Se utilizar a pipeta de transferência incluída no kit (Figura 1), encha até imediatamente abaixo do bolbo, mas acima da linha para transferir pelo menos 1 ml de plasma do tubo de colheita para a câmara de amostra do cartucho de teste (Figura 2). **NÃO** deite a amostra na câmara!
- **Opção 2:** Se utilizar uma pipeta automática, transfira pelo menos 1 ml de plasma para a câmara da amostra do cartucho de teste (Figura 2). **NÃO** deite a amostra na câmara!

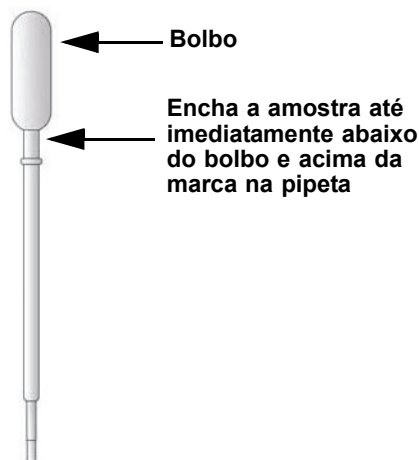


Figura 1. Pipeta de transferência do ensaio HIV-1 VL

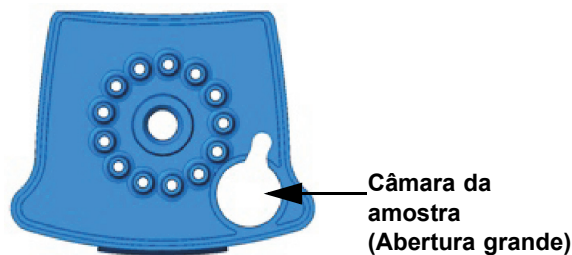


Figura 2. Cartucho Xpert HIV-1 VL (vista superior)

4. Fechar a tampa do cartucho.
5. Carregar o cartucho no instrumento GeneXpert Dx ou sistema Infinity.

11.3 Iniciar o teste

Importante

Antes de iniciar o teste, certifique-se de que o arquivo de definição do ensaio (ADF) HIV-1 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.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:
 - Se estiver a utilizar o instrumento GeneXpert Dx, comece por ligar o instrumento e, de seguida, o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
 - ou
 - Caso utilize o instrumento GeneXpert Infinity, ligue a alimentação do instrumento. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique 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 GeneXpert System, clique em **Criar teste** (GeneXpert Dx) ou **Orders** (Encomendas) e em **Order Test** (Encomendar teste) (Infinity).
4. Leia a Patient ID (ID do paciente) (opcional). Se digitar a ID do paciente, assegure-se de que digita a ID do paciente correcta. A ID do paciente é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela View Results (Ver resultados).
5. Leia ou introduza a ID da amostra. Se introduzir a ID da amostra, assegure-se de que introduz a ID da amostra correcta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é mostrada na janela View Results (Ver resultados) e em todos os relatórios. Aparece a caixa de diálogo Scan Cartridge (Ler código de barras do cartucho).
6. Leia o código de barras no cartucho de Xpert® HIV-1 Viral Load. Aparece a janela Create Test (Criar teste). Utilizando a informação do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas dos seguintes campos: Select Assay (Seleccionar ensaio), Reagent Lot ID (ID do lote de reagente), Cartridge SN (N.º de série do cartucho) e Expiration Date (Prazo de validade).
7. Clique em **Iniciar teste** (GeneXpert Dx) ou **Submit** (Enviar) (Infinity). Introduza a sua palavra-passe se lhe for solicitada.
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

Para o 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 inicia-se e a luz verde pára de piscar. Quando o teste termina, a luz 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. Os cartuchos usados devem ser eliminados nos recipientes apropriados para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.

12 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina as etapas básicas 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 **View Results** (Ver resultados) para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Report** (Relatório) da janela View Results (Ver resultados) para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

13 Controlo da qualidade

CONTROL

Cada teste inclui um controlo de Adequação do Volume da Amostra (SVA), Padrão Quantitativo Interno Alto e Baixo (IQS-H e IQS-L), que também é um Controlo de Processamento da Amostra (SPC), e um Controlo de Verificação da Sonda (PCC).

- **Adequação do Volume da Amostra (SVA):** Garante que a amostra foi adicionada correctamente no cartucho. A SVA verifica que o volume interior da amostra correcto foi adicionado à câmara da amostra. A SVA é aprovada se cumprir os critérios de aceitação validados. Se a SVA não for aprovada, será visualizado o ERROR 2096 (ERRO 2096) se não houver amostra ou o ERROR 2097 (ERRO 2097) se não houver amostra suficiente. O sistema impede que o utilizador retome o teste.
- **Padrão Quantitativo Interno Alto e Baixo (IQS-H e IQS-L):** O IQS-H e o IQS-L são dois Armored RNA® (RNA resistente à ribonuclease) não específicos do VIH sob a forma de uma esfera seca que atravessa o processo GX completo. O IQS-H e IQS-L são padrões calibrados em conformidade com a 3ª Norma Internacional da OMS. São utilizados para quantificação utilizando parâmetros específicos do lote para o cálculo da concentração de RNA do HIV-1 (VIH-1) na amostra. Além disso, o IQS-H e o IQS-L detectam a inibição associada à amostra da reacção RT-PCR. O IQS-H e o IQS-L são aprovados se cumprirem os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de Verificação da Sonda (PCC):** Antes do início da reacção PCR, o sistema do instrumento GeneXpert mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reacção, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. O PCC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlos externos:** Controlos externos não disponíveis no kit devem ser utilizados em conformidade com os requisitos de acreditação da organização locais e estatais conforme aplicável.

14 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados automaticamente pelo sistema do instrumento GeneXpert com base nos sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, e são apresentados na janela View Results (Ver resultados) (Figura 3 e Figura 4). Os resultados possíveis são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Xpert® HIV-1 Viral Load - Resultados e interpretação

Resultado	Interpretação
HIV-1 DETECTED (HIV-1 [VIH-1] DETECTADO) XX cópias/ml Ver Figura 3.	<p>O RNA do HIV-1 (VIH-1) é detectado a XX cópias/ml.</p> <ul style="list-style-type: none"> • O RNA do HIV-1 (VIH-1) tem um valor quantitativo na gama de medição analítica. • IQS-H e IQS-L: PASS (APROVADO). • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
HIV-1 DETECTED (HIV-1 [VIH-1] DETECTADO) > 1 × 10 ⁷ cópias/ml	<p>O RNA do HIV-1 (VIH-1) é detectado acima da gama de medição analítica.</p> <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: PASS (APROVADO). • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
HIV-1 DETECTED (HIV-1 [VIH-1] DETECTADO) < 40 cópias/ml	<p>O RNA do HIV-1 (VIH-1) é detectado abaixo da gama de medição analítica.</p> <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: PASS (APROVADO). • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
HIV-1 NOT DETECTED (HIV-1 [VIH-1] NÃO DETECTADO) Ver Figura 4.	<p>O RNA do HIV-1 (VIH-1) não é detectado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e IQS-L: PASS (APROVADO). • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.
NO RESULT (INVÁLIDO)	<p>Não é possível determinar a presença ou a ausência de RNA do HIV-1 (VIH-1). Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 15.2, Procedimento de repetição do teste.</p> <ul style="list-style-type: none"> • IQS-H e/ou IQS-L: FAIL (FALHOU); Os limiares de ciclo (Cts) não estão dentro do intervalo válido. • Verificação da sonda: PASS (APROVADO); todos os resultados de verificação da sonda foram aprovados.

Tabela 1. Xpert® HIV-1 Viral Load - Resultados e interpretação (Continuação)

Resultado	Interpretação
ERROR (ERRO)	Não é possível determinar a presença ou a ausência de RNA do HIV-1 (VIH-1). Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 15.2, Procedimento de repetição do teste. <ul style="list-style-type: none"> Verificação da sonda: FAIL (FALHOU)*; um ou todos os resultados de verificação da sonda falharam.
NO RESULT (SEM RESULTADO)	Não é possível determinar a presença ou a ausência de RNA do HIV-1 (VIH-1). Repita o teste de acordo com as instruções na Secção 15.2, Procedimento de repetição do teste. NO RESULT (SEM RESULTADO) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

Nota Os resultados podem ser convertidos de cópias/ml e UI/ml no software. Para instruções sobre como alterar esta definição, consulte o manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx ou o manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity. O factor de conversão para o ensaio HIV-1 VL é 1 cópia= 1,72 UI.

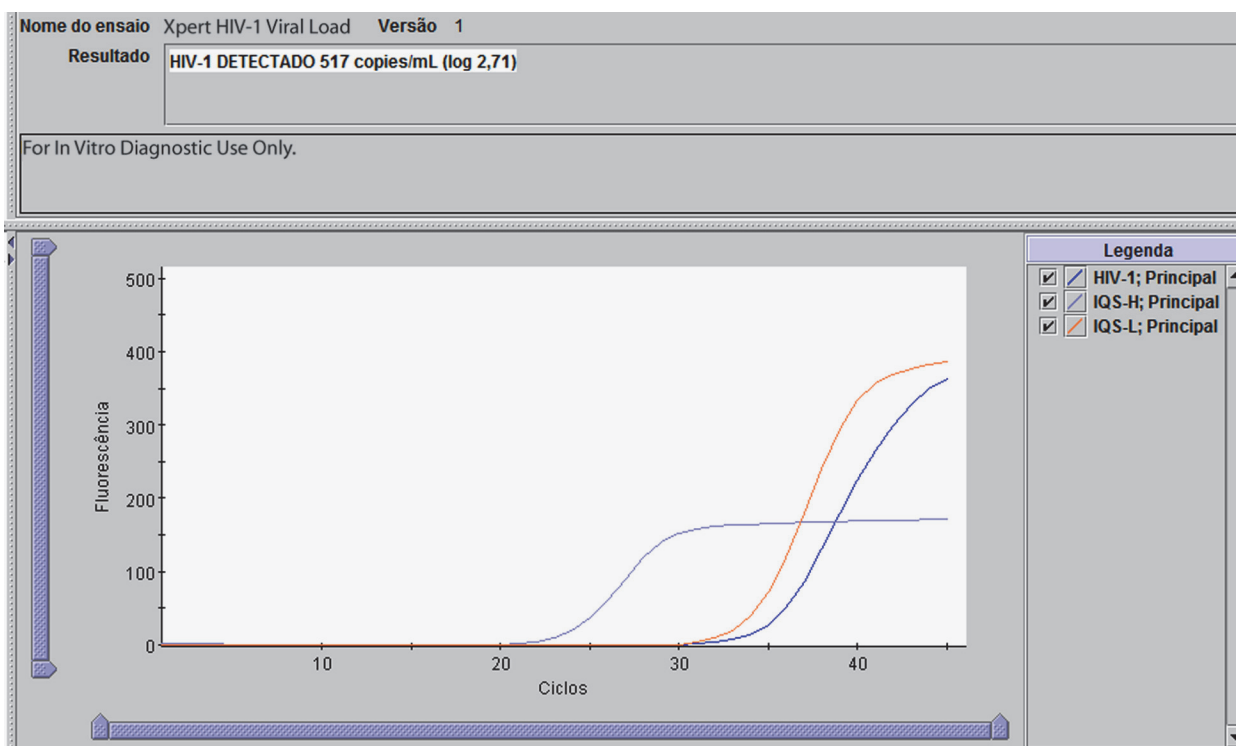


Figura 3. HIV-1 (VIH-1) detectado

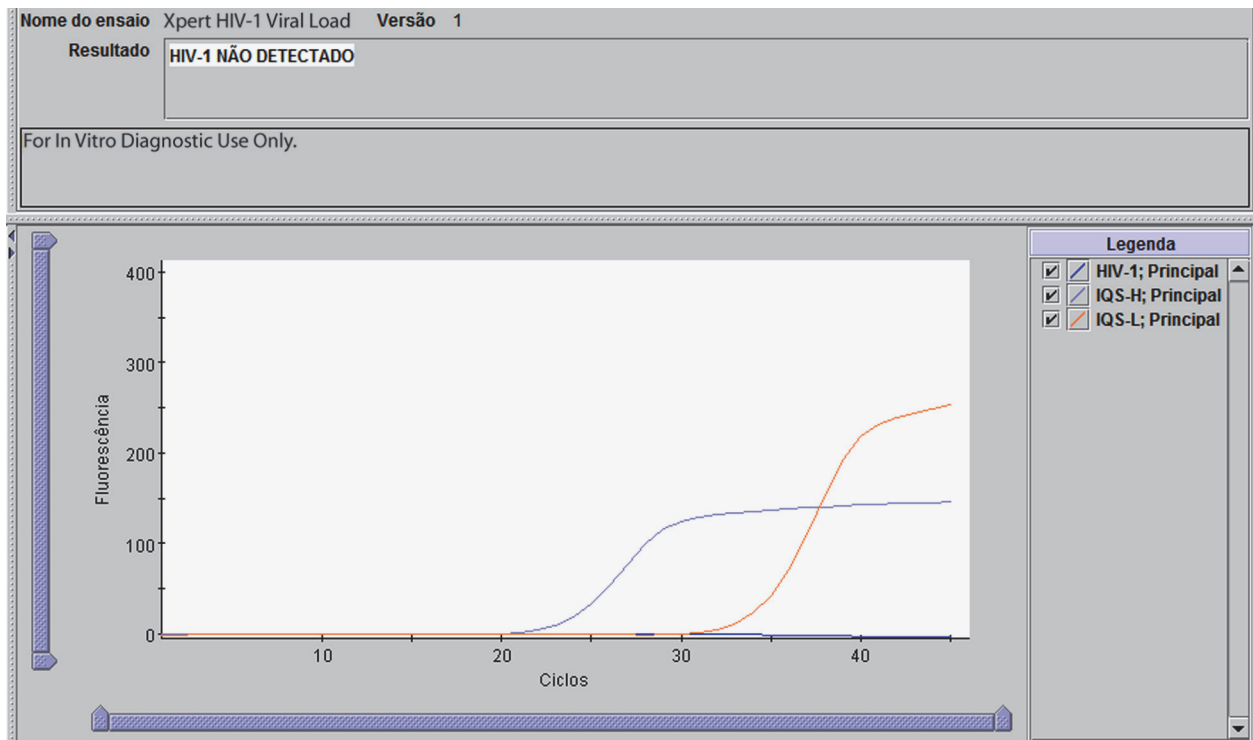


Figura 4. HIV-1 (VIH-1) não detectado

15 Repetição de um teste

15.1 Motivos para repetir um ensaio

Se algum dos resultados de teste mencionados abaixo ocorrer, repita o teste de acordo com as instruções na Secção 15.2, Procedimento de repetição do teste.

- Um resultado **INVALID** (INVÁLIDO) indica uma ou mais das ocorrências abaixo:
 - O IQS-H e/ou IQS-L Cts não estão dentro do intervalo válido.
 - A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERROR** (ERRO) indica que o ensaio foi abortado. Algumas das causas possíveis são: foi adicionado um volume de amostra insuficiente, o tubo de reacção não foi adequadamente enchido, foi detectado um problema de integridade da sonda de reagente ou o limite máximo de pressão foi excedido.
- **NO RESULT** (SEM RESULTADO) indica que os dados colhidos foram insuficientes. Por exemplo, o operador parou um teste que estava em curso ou a alimentação eléctrica falhou.

15.2 Procedimento de repetição do teste

Para repetição de um resultado **INVALID** (INVÁLIDO), **ERROR** (ERRO), ou **NO RESULT** (SEM RESULTADO), utilize um cartucho novo (não reutilize o cartucho).

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Consulte a Secção 11, Procedimento, incluindo a Secção 11.2, Preparação do cartucho, e a Secção 11.3, Iniciar o teste.

16 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.

17 Características do desempenho

17.1 Limite de detecção

O limite de detecção (LOD) do ensaio HIV-1 VL foi determinado testando cinco diluições diferentes preparadas a partir de duas diferentes normas de referência do subtipo B do HIV-1 (VIH-1), uma cultura de células de arranque e duas amostras clínicas diluídas em plasma EDTA negativo de HIV-1 (VIH-1). Os materiais do subtipo B do HIV-1 (VIH-1) utilizados no estudo LOD incluíram o material de referência Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) do AIDS Clinical Trial Group, 3ª norma internacional da NIBSC da OMS, código 10/152, isolado de cultura de células de arranque BK132 e duas amostras clínicas. A atribuição da concentração nominal do material da cultura de células de arranque e amostras clínicas foi realizada pelo Ensaio Abbott RealTime HIV-1. O limite de detecção foi determinado para três lotes de reagente e um total de 72 réplicas por nível. A avaliação foi realizada de acordo com a directriz CLSI E17-A2.¹⁸ A concentração de RNA do HIV-1 (VIH-1) que pode ser detectada com uma taxa de positividade superior a 95% foi determinada através da análise de regressão Probit. Os resultados dos lotes e amostras individuais são apresentados na Tabela 2. O LOD máximo/mais elevado observado para o HIV-1 (VIH-1) subtipo B em plasma EDTA foi de 32,0 cp/ml (95% IC 24,7-39,3). O LOD do material de referência VQA foi confirmado no plasma ACD utilizando um lote de reagente. A estimativa de LOD para a amostra VQA de HIV-1 (VIH-1) subtipo B no plasma ACD foi de 15,8 cp/ml (95% IC 12,1-19,5).

Tabela 2. Estimativas de LOD do ensaio HIV-1 VL com regressão Probit e intervalos de confiança superior e inferior de 95% para amostras de HIV-1 (VIH-1) subtipo B em plasma EDTA

Amostra	Lot (Lote)	LoD (cp/ml)	IC de 95%
OMS	Lote 1	21,1	16,1–26,0
	Lote 2	14,3	11,2–17,5
	Lote 3	19,0	14,3–23,7
VQA	Lote 1	15,5	12,5–18,6
	Lote 2	14,0	11,2–16,7
	Lote 3	16,3	13,0–19,5
Amostra clínica 1	Lote 1	24,0	18,1–29,9
	Lote 2	25,5	19,5–31,5
	Lote 3	23,1	17,5–28,7
Amostra clínica 2	Lote 1	20,3	15,8–24,7
	Lote 2	15,4	12,0–18,7
	Lote 3	28,5	21,3–35,7
Amostra de cultura de células	Lote 1	18,8	14,6–23,1
	Lote 2	20,0	15,6–24,4
	Lote 3	32,0	24,7–39,3

A análise de taxa de sucesso apresenta uma taxa de positividade >95% a 40 cp/ml para todos os materiais de HIV-1 (VIH-1) subtipo B conforme se ilustra em Tabela 3. O LOD para o ensaio HIV-1 VL é determinado como 40 cp/ml para HIV-1 (VIH-1) subtipo B em EDTA e plasma ACD.

Tabela 3. LOD do ensaio HIV-1 VL para amostras de HIV-1 (VIH-1) Subtipo B em plasma EDTA

Amostra	Concentração nominal (cp/ml)	Nº. de Réplicas	Nº. de Positivas	Taxa de positividade (%)
OMS	1	72	10	14
	2,5	72	18	25
	5	72	40	56
	10	72	55	76
	20	72	65	90
	40	72	72	100
VQA	1	72	5	7
	2,5	72	20	28
	5	72	30	42
	7,5	72	50	69
	10	72	61	85
	20	72	67	93
Amostra clínica 1	1	72	11	15
	2,5	72	20	28
	5	72	38	53
	10	72	49	68
	20	72	69	96
	40	72	69	96
Amostra clínica 2	1	72	8	11
	2,5	72	17	24
	5	71	27	38
	10	72	47	65
	20	72	62	86
	40	72	72	100
Amostra de cultura de células	1	72	4	6
	2,5	72	17	24
	5	72	30	42
	10	72	46	64
	20	72	64	89
	40	72	70	97

Além disso, as diluições das reservas da cultura de células ou amostras clínicas que representam o HIV-1 (VIH-1) grupo M subtipos A, C-D, F-H, J, K, CRF- A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, grupo O, e grupo N em plasma EDTA humano negativo foram analisadas com um lote de reagente e 24 réplicas por nível de concentração. A atribuição de concentração nominal das reservas da cultura de células e amostras clínicas foi determinada pelo ensaio Abbott® RealTime HIV-1. A análise da taxa de sucesso revela uma positividade > 95% para todos os subtipos e grupos a 40 cp/ml conforme se indica na Tabela 4.

Tabela 4. A análise da taxa de sucesso do LOD com o ensaio HIV-1 VL para amostras de HIV-1 (VIH-1) não subtipo B em plasma EDTA

Subtipo	Nível de concentração inferior Taxa de sucesso >95% (cp/ml)	Taxa de sucesso (%)
A	20	96
C	40	100
D	20	100
F	40	100
G	40	96
H	20	96
J	20	100
K	40	96
CRF A/B	20	100
CRF A/E	20	96
CRF A/G	40	96
Grupo N	10	100
Grupo O	20	100
Grupo O	20	100
Grupo O	10	100

17.2 Limite de Quantificação

O LoQ define-se como a concentração mais baixa de RNA do HIV-1 (VIH-1) que é determinado com precisão e veracidade aceitáveis, e determinado utilizando o erro de análise total (TAE). A TAE total foi calculada com recurso a estimativas determinadas através da análise de dados do estudo LOD (normas da OMS e VQA) e o estudo de Precisão/Reprodutibilidade de acordo com a directriz CLSI E17-A2.¹⁸ A TAE para as diluições que apresentaram uma concentração observada no limite de detecção (ou próximo do mesmo) do ensaio 40 cp/ml ($1,60 \log_{10}$) é apresentada na Tabela 5. A TAE foi estimada através de dois métodos diferentes. Os resultados da análise TAE demonstram que o ensaio HIV-1 VL pode determinar 40 cp/ml ($1,60 \log_{10}$) com uma veracidade e precisão aceitáveis, ou seja, o LOQ do ensaio HIV-1 VL é de 40 cp/ml.

Tabela 5. Estimativas de erro de análise total (TAE) do HIV-1 VL Log cp/ml

Amostra (Estudo)	Lote DL	N	Concentração (log cp/ml)		Desvio	DP total	TAE ^a Desvio absoluto + (2xDP)	TAE ^b SQRT (2) x (2xDP)
			Previsto	Observado				
Material de referência (Precisão)	DL6	72	2,00	1,96	0,04	0,19	0,43	0,55
	DL7	71	2,00	1,91	0,09	0,19	0,46	0,53
	DL8	72	2,00	1,92	0,08	0,21	0,51	0,60
Material de referência (Precisão)	DL6	70	1,60	1,56	0,04	0,22	0,48	0,62
	DL7	71	1,60	1,53	0,08	0,28	0,64	0,80
	DL8	71	1,60	1,54	0,06	0,22	0,50	0,62
OMS (LoD)	DL6	24	1,60	1,53	0,07	0,23	0,52	0,65
	DL7	24	1,60	1,39	0,21	0,24	0,68	0,67
	DL8	24	1,60	1,49	0,11	0,19	0,48	0,52
VQA (LoD)	DL6	24	1,60	1,61	0,00	0,18	0,37	0,51
	DL7	24	1,60	1,54	0,06	0,26	0,58	0,74
	DL8	24	1,60	1,58	0,02	0,26	0,54	0,73

- a. TAE calculada de acordo com o modelo Westgard em CLSI EP17-A2 (Secção 6.2).
 b. TAE com base na diferença entre abordagem de duas medições.

Os resultados da análise TAE demonstram que o ensaio HIV-1 VL pode determinar 40 cp/ml ($1,60 \log_{10}$) com uma veracidade e precisão aceitáveis.

17.3 Precisão/Reprodutibilidade

A precisão/reprodutibilidade do ensaio HIV-1 VL foi determinada através de análises a diluições paralelas do material de referência de HIV-1 (VIH-1) (HIV-1 (VIH-1) subtipo B) em plasma EDTA negativo para HIV-1 (VIH-1). O material de referência usado foi calibrado de acordo com a norma internacional NIBSC da OMS, 3ª Norma Internacional do HIV-1 (VIH-1) (10/152). O estudo consistiu num estudo comparativo, ocultado em dois locais, utilizando um painel de sete membros de material de referência do HIV-1 (VIH-1) em plasma EDTA negativo para o HIV-1 (VIH-1) com concentrações de RNA que se encontram dentro do limite de quantificação do ensaio HIV-1 VL. Dois operadores em ambos os locais do estudo testaram um painel de vinte e uma amostras uma vez por dia ao longo de seis dias de teste. Um local utilizou um instrumento Infinity-80 e o outro local utilizou instrumentos GeneXpert Dx. Foram utilizados no estudo três lotes de reagentes do ensaio HIV-1 VL. A precisão/reprodutibilidade foram avaliadas em conformidade com “Avaliação do desempenho de precisão de dispositivos de química clínica; directriz aprovada” CLSI documento EP5-A2.²⁰ A Tabela 6 apresenta a precisão dos resultados para cada lote de reagente e três lotes de reagente combinados.

Tabela 6. Precisão do ensaio HIV-1 VL por lote e total de três lotes

Concentração de RNA do HIV-1 (VIH-1) esperada (log ₁₀ cp/mL)	Precisão total por lote						Precisão total 3 lotes	
	Lote 1		Lote 2		Lote 3		Total	
	DP ^a	CV ^b	DP ^a	CV ^b	DP ^a	CV ^b	DP ^a	CV ^b
1,60	0,24	58,6%	0,29	73,6%	0,23	57,6%	0,25	62,5%
2,00	0,20	48,8%	0,20	47,3%	0,22	53,1%	0,20	49,1%
3,00	0,10	22,6%	0,08	18,2%	0,10	22,6%	0,09	20,5%
4,00	0,06	13,7%	0,07	17,3%	0,09	19,8%	0,07	17,1%
5,00	0,06	13,8%	0,07	16,3%	0,08	17,7%	0,08	17,8%
6,00	0,05	12,4%	0,07	15,3%	0,07	16,2%	0,08	19,3%
7,00	0,06	14,3%	0,07	15,5%	0,09	21,5%	0,10	22,6%

a. DP total em log₁₀.

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

$$CV(\text{of the lognormal dist}) = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

A reprodutibilidade do ensaio HIV-1 VL foi avaliada utilizando a análise agrupada ANOVA com termos para Local/Instrumento, Lote, Dia, Operador/Processamento e No processamento. Foram calculados o desvio padrão e a percentagem de variabilidade devido a cada componente das concentrações transformadas do log₁₀ do HIV-1 (consultar a Tabela 7).

Tabela 7. Contributo do ensaio HIV-1 VL para a variação total e a precisão total

Concentração de RNA do HIV-1 (VIH-1) (log ₁₀ cp/ml)			Contributo para o desvio padrão de variação total (CV%)										Precisão total	
Previsto	Real (média)	N ^a	Local		Lot (Lote)		Dia		Operador/ Execução		No processamento		Total	
			DP	(%)	DP	(%)	DP	(%)	DP	(%)	DP	(%)	DP	CV ^b
1,60	1,54	212	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,09	11,7%	0,23	88,3%	0,25	62,5%
2,00	1,93	215	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,04	4,8%	0,20	95,2%	0,20	49,1%
3,00	2,98	215	0,01	0,9%	0,01	1,2%	0,00	0,0%	0,01	2,6%	0,09	95,3%	0,09	20,5%
4,00	3,98	214	0,00	0,0%	0,01	3,5%	0,01	1,7%	0,02	9,1%	0,07	85,7%	0,07	17,1%
5,00	4,99	213	0,00	0,0%	0,04	21,8%	0,00	0,0%	0,03	15,0%	0,06	63,2%	0,08	17,8%
6,00	5,96	215	0,00	0,0%	0,05	42,1%	0,02	4,4%	0,02	6,9%	0,06	46,7%	0,08	19,3%
7,00	6,94	213	0,00	0,0%	0,07	45,3%	0,01	0,9%	0,02	5,3%	0,07	48,5%	0,10	22,6%

- a. Número de réplicas válidas na gama do ensaio
- b. "CV" é o CV lognormal, conforme obtido utilizando a fórmula:

$$CV(\text{of the lognormal dist}) = \sqrt{10^{\ln(10) \cdot \sigma^2} - 1}$$

17.4 Gama linear

A gama linear do ensaio HIV-1 VL foi determinada através da análise a um painel de nove membros de 30 (1,48 log₁₀) a 1 x 10⁷ (7 log₁₀) cp/ml preparado por diluições paralelas de material de referência HIV-1 (VIH-1) (HIV-1 (VIH-1) subtipo B) em plasma EDTA negativo para HIV-1 (VIH-1). O material de referência usado foi calibrado de acordo com a norma internacional NIBSC da OMS, 3ª Norma Internacional do HIV-1 (VIH-1) (10/152). Dois operadores testaram o painel em réplicas de três em três dias de teste utilizando um lote de kit. Além disso, o mesmo painel foi testado em réplicas de três em um dia de teste utilizando dois lotes de kit adicionais num total de 30 réplicas por membro do painel. A análise de linearidade foi realizada de acordo com a directriz CLSI EP06-A.¹⁹ Os resultados combinados dos três lotes são apresentados na Figura 5. O ensaio HIV-1 VL é linear num intervalo de 30-1 x 10⁷ cp/ml com um valor R² de 0,994.

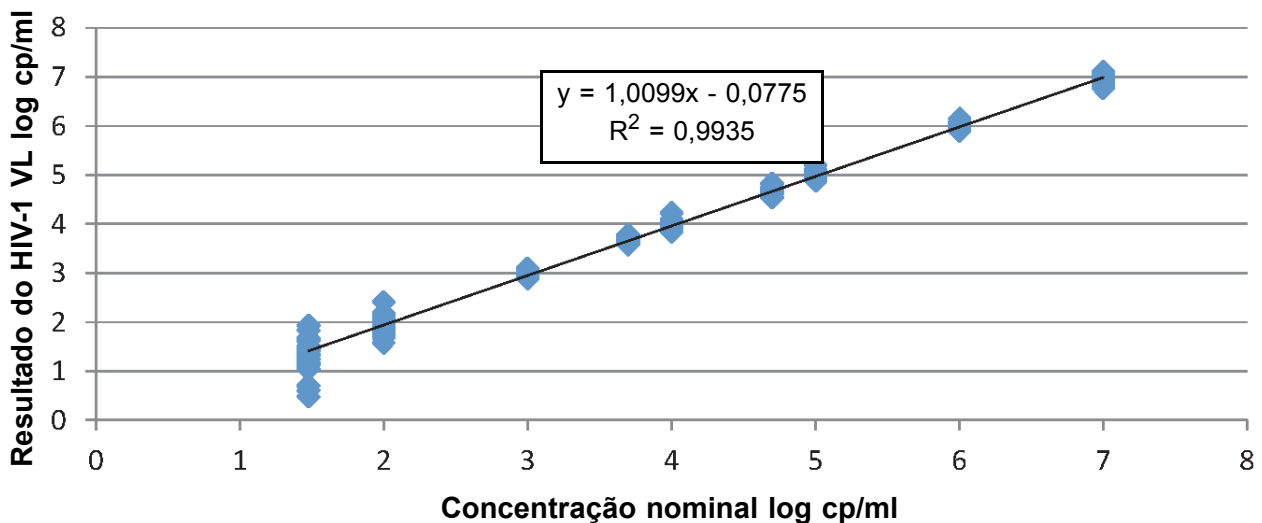


Figura 5. Linearidade para o ensaio HIV-1 VL

17.5 Reactividade analítica (Inclusividade)

A reactividade analítica do ensaio HIV-1 VL foi avaliada testando o representante de sobrenadante de cultura de células do Grupo M de HIV-1 (VIH-1) subtipos A-D, F-H, CRF A/G, e A/E; Grupo N; e Grupo O. A atribuição de concentrações nominais aos sobrenadantes de cultura de células foi realizada pelo ensaio Abbott HIV-1 RealTime. Cada sobrenadante de cultura de células foi diluído a concentrações de 1×10^2 , 1×10^4 e 1×10^6 cp/ml em plasma EDTA negativo para HIV-1 (VIH-1). Cada concentração foi testada em réplicas de seis num dia utilizando um lote do kit do ensaio HIV-1 VL. As concentrações \log_{10} médias obtidas com o ensaio HIV-1 VL para todos os subtipos e grupos foram comparadas com as concentrações \log_{10} nominais. Os resultados apresentados na Figura 6 ilustram um desempenho equivalente para todos os representantes testados de subtipos do Grupo M do HIV-1 (VIH-1) e Grupo O. Os resultados \log_{10} médios para todos os subtipos testados e Grupo O encontraram-se dentro de $\pm 0,5 \log_{10}$ da concentração de entrada atribuída.

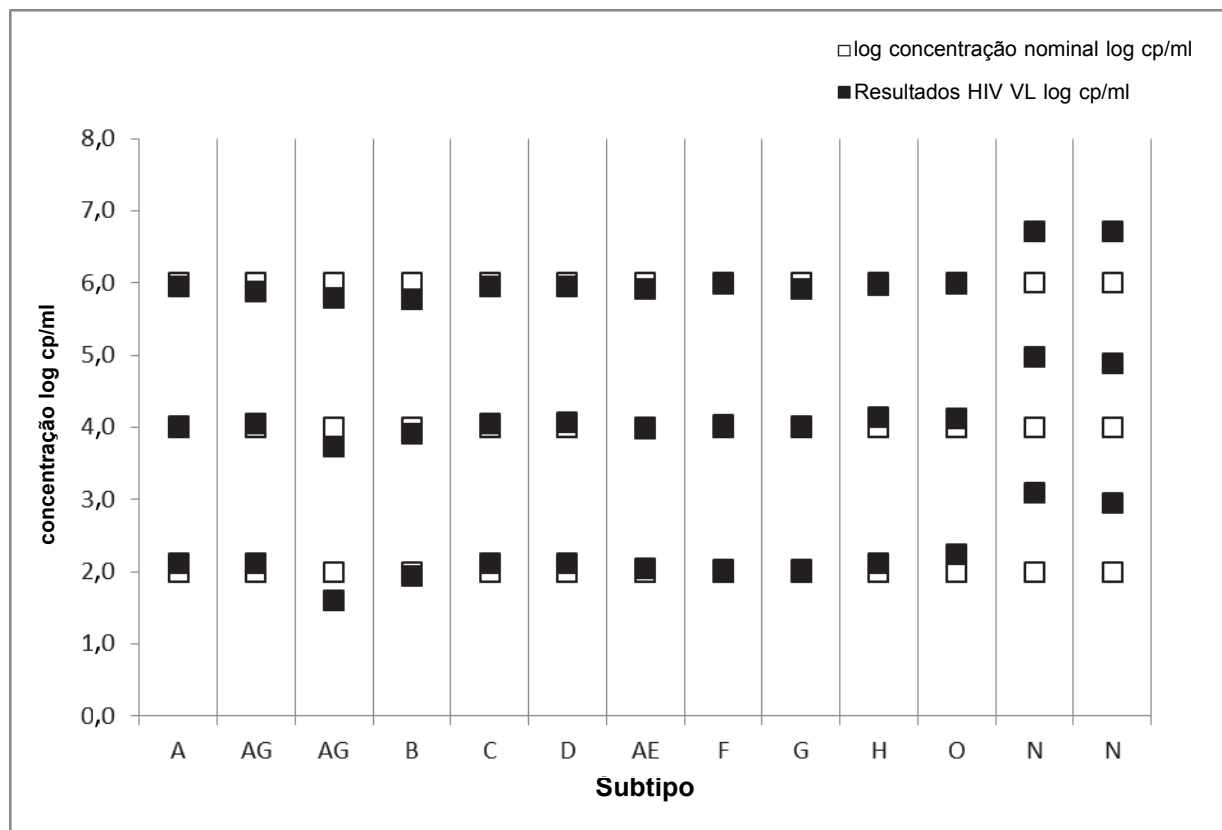


Figura 6. Inclusividade para o ensaio HIV-1 VL

17.6 Especificidade analítica (exclusividade)

A especificidade analítica do ensaio HIV-1 VL foi avaliada adicionando organismo em cultura a 5×10^4 partículas ou concentração de entrada cp/ml em plasma EDTA negativo para o HIV-1 (VIH-1) e em plasma que continha 1000 cp/ml de material de referência do HIV-1 (VIH-1) (HIV-1 (VIH-1) subtipo B). Os organismos testados são discriminados em Tabela 8.

Tabela 8. Especificidade analítica dos organismos

<i>Vírus da imunodeficiência humana 2</i>
<i>Vírus linfotrópico de células T humanas 1</i>
<i>Vírus linfotrópico de células T humanas 2</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Citomegalovírus</i>
<i>Vírus de Epstein-Barr</i>
<i>Vírus da hepatite A</i>
<i>Vírus da hepatite B</i>
<i>Vírus da hepatite C</i>
<i>Vírus herpes simplex tipo 1</i>
<i>Vírus herpes simplex tipo 2</i>
<i>Vírus de herpes humanos 6</i>
<i>Gripe A</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Nenhum dos organismos testados revelou reactividade cruzada e todas as réplicas positivas para o HIV-1 (VIH-1) resultaram numa titulação dentro de $\pm 0,5$ log do controlo positivo de HIV-1 (VIH-1) quando testadas com o ensaio HIV-1 VL.

17.7 Substâncias que podem interferir

Avaliou-se a susceptibilidade do ensaio HIV-1 VL à interferência devido a níveis elevados de substâncias endógenas, por fármacos prescritos para doentes infectados com HIV-1 (VIH-1), e marcadores de doenças autoimunes. Foram testados o plasma EDTA negativo para o HIV-1 (VIH-1) e o plasma que continha 1000 cp/ml de material de referência do HIV-1 (VIH-1) (HIV-1 (VIH-1) subtipo B).

Foi revelado que níveis elevados de substâncias endógenas discriminadas em Tabela 9 não interferem na quantificação do ensaio HIV-1 VL nem têm impacto na especificidade do ensaio.

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

Foi revelado que os componentes do fármaco apresentados em Tabela 10 não interferem na quantificação do ensaio HIV-1 VL nem têm impacto na especificidade do ensaio quando testados a três vezes a concentração do nível de pico em cinco grupos de fármacos.

Tabela 10. Grupos de fármacos testados

Grupo	Fármacos
Controlo	n/a
1	Zidovudina, Saquinavir, Ritonavir, Claritromicina
2	Sulfato de abacavir, Peginterferão 2b, Ribavirina
3	Tenofovir disoproxil fumarato, Lamivudina, (3TC), Sulfato de indinavir, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Aciclovir, Raltegravir
4	Estavudina (d4T), Efavirenz, Lopinavir/Ritonavir, Enfuvirtida (T-20), Ciprofloxacina
5	Nevirapina, Mesilato de nelfinavir, Azitromicina, Valaciclovir HCl
6	Fosamprenavir cálcico, Interferão alfa-2b

Teste de amostras de cinco indivíduos de cada marcador de doença autoimune; lúpus eritematoso sistémico (SLE), factor anti-nuclear (ANA) ou reumatóide (RF) não revelaram qualquer interferência com o ensaio HIV-1 VL.

17.8 Equivalência Anti-coagulante (EDTA, PPT-EDTA e ACD)

Para cada anti-coagulante EDTA, PPT-EDTA e ACD, foram colhidas amostras de 25 indivíduos com HIV-1 (VIH-1) positivo correspondentes e amostras de 25 indivíduos com HIV-1 (VIH-1) negativo correspondentes, que foram testadas com um lote de kit do ensaio HIV-1 VL.

Conforme se ilustra em Figura 7 e Figura 8, o desempenho equivalente do ensaio HIV-1 VL foi revelado para EDTA versus ACD anti-coagulante e EDTA versus PPT-EDTA anti-coagulante. Todas as amostras de HIV-1 (VIH-1) positivo colhidas em meio ACD ou PPT-EDTA produziram concentrações de RNA de HIV-1 (VIH-1) dentro de $\pm 0,5 \log_{10}$ cp/ml da amostra de HIV-1 (VIH-1) positivo colhida em meio EDTA quando testadas com o ensaio HIV-1 VL. O ensaio não detectou as 25 amostras de HIV-1 (VIH-1) negativo correspondentes.

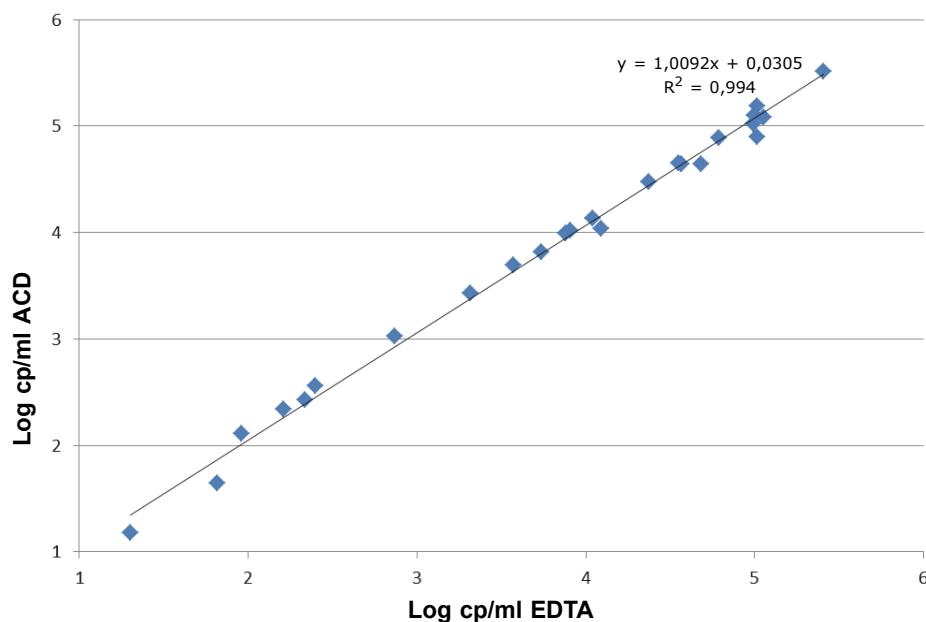


Figura 7. Gráfico de dispersão de Log cp/ml PPT-EDTA versus Log cp/ml EDTA

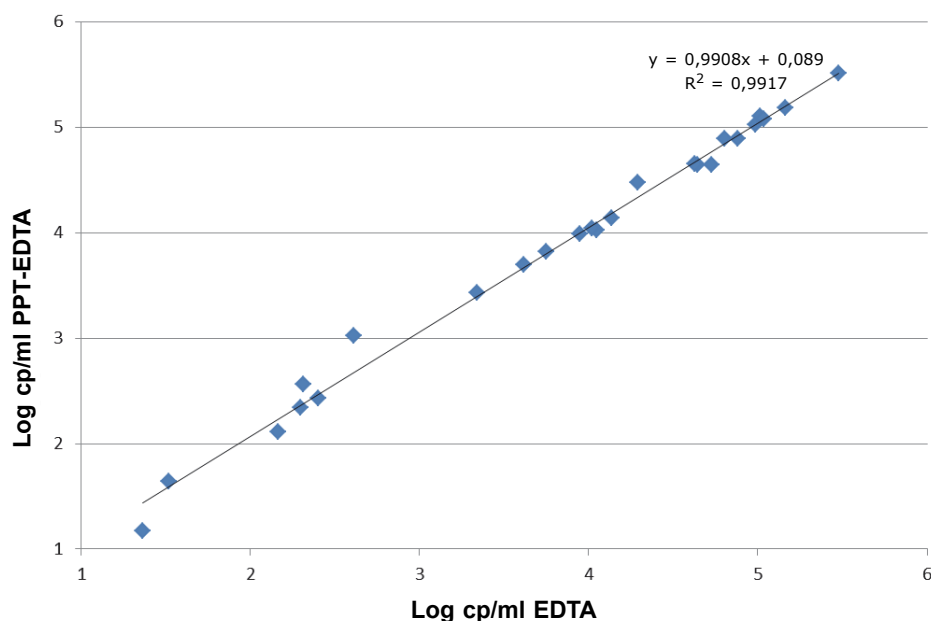


Figura 8. Gráfico de dispersão de Log cp/ml PPT-EDTA versus Log cp/ml EDTA

18 Características do desempenho – Desempenho clínico

18.1 Especificidade

A especificidade do ensaio HIV-1 (VIH-1) VL foi avaliada com 109 amostras de plasma EDTA de doadores de sangue HIV-1 (VIH-1) negativo. Nenhuma das 109 amostras testadas foram detectadas pelo ensaio HIV-1 VL resultando numa especificidade de 100% (95% IC = 96,7–100,0).

18.2 Correlação do método

Realizou-se um estudo em vários locais para avaliar o desempenho do ensaio HIV-1 VL em relação a um método de comparação utilizando amostras de plasma humano frescas e congeladas colhidas de indivíduos infectados com HIV-1 (VIH-1). Das 724 amostras elegíveis, cada um de indivíduos diferentes, 519 (71,8%) foram colhidas de indivíduos do sexo masculino. A idade média foi de $44,5 \pm 11,3$ anos com um intervalo de idades entre os 18 e os 83 anos.

Das 724 amostras, 390 encontraram-se no intervalo de quantificação de ambos os ensaios incluindo 47 HIV-1 (VIH-1) Grupo M não subtipos B, incluindo semelhantes a A, C e semelhantes a C, D, F, G, H, J, AE, AG e várias outras formas recombinantes em circulação (CRF). A regressão de Deming revela uma muito boa correlação entre o ensaio HIV-1 VL e o método de comparação com um declive de 1,0589 e uma ordenada de 0,1771. O R^2 foi de 0,9696.

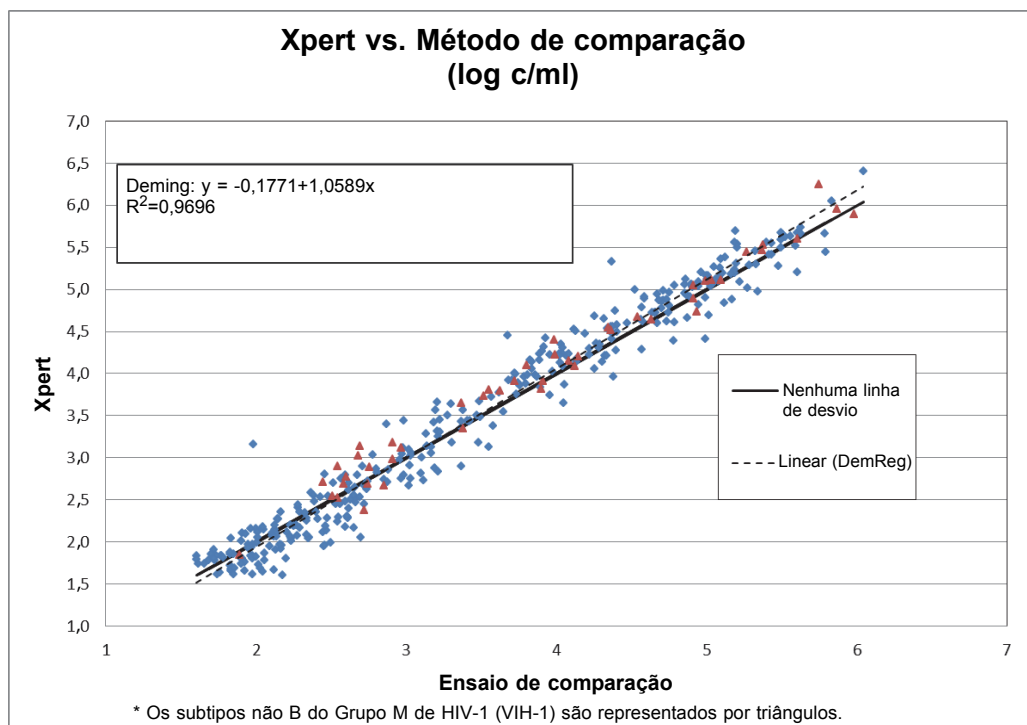


Figura 9. Desempenho do ensaio HIV-1 VL em relação a um método de comparação

19 Referências

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497–500.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500–503.
4. Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610–616.
5. Schochetman G, George JR, editors. *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues*. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
6. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: a randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association* 2000;283:1167–1174.
7. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271:1582–1586.
8. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emimi EA, Deutsch P, Lifson JD, Bonhoeffer S, Nowak MA, Hahn BH, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; 373:117–122.
9. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373:123–126.
10. Katzenstein DA, Hammer SM, Hughes MD, Gundacker H, Jackson JB, Fiscus S, Rasheed S, Elbeik T, Reichman R, Japour A, Merigan TC, Hirsch MS. The relation of virologic and immunologic markers to clinical outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200 to 500 CD4 cells per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Virology Study Team. *N Engl J Med* 1996; 335:1091–1098.
11. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P, Kingsley LA, Todd JA, Saah AJ, Detels R, Phair JP, Rinaldo CR, Jr. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997; 126:946–954.
12. Mellors JW, Rinaldo CR, Jr., Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272:1167–1170.
13. O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Esinhart J, Hill A, Benoit S, Rubin M, Simberkoff MS, Hamilton JD. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N Engl J Med* 1996; 334:426–431.
14. Ruiz L, Romeu J, Clotet B, Balague M, Cabrera C, Sirena G, Ibanez A, Martinez-Picado J, Raventos A, Tural C, Segura A, Foz M. Quantitative HIV-1 RNA as a marker of clinical stability and survival in a cohort of 302 patients with a mean CD4 cell count of 300 x 10(6)/l. *Aids* 1996; 10:F39–44.
15. Saag MS, Holodniy M, Kuritzkes DR, O'Brien WA, Coombs R, Poscher ME, Jacobsen DM, Shaw GM, Richman DD, Volberding PA. HIV viral load markers in clinical practice. *Nat Med* 1996; 2:625–629.
16. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline. Document EP17-A2 (Second Edition). Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2012.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*; Approved Guideline. NCCLS document EP06-A [ISBN 1-56238-498-8]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices*; Approved Guideline. Document EP5-A2.

20 Locais das sedes da Cepheid

Sede corporativa	Sede europeia
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 EUA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont França
Telefone: +1 408.541.4191	Telefone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

21 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 Service Tag (etiqueta de serviço) do Computador

Região	Telefone	E-mail:
EUA	+1 888.838.3222	TechSupport@cepheid.com
França	+33 563 825 319	Support@cepheideurope.com
Alemanha	+49 69 710 480 480	Support@cepheideurope.com
Reino Unido	+44 3303 332 533	Support@cepheideurope.com
África do Sul	+27 861 22 76 35	Support@cepheideurope.com
Outros países da Europa, do Médio Oriente e de África	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	Support@cepheideurope.com
Austrália, Nova Zelândia	+61 1800 107 884	Support@cepheideurope.com
Outros países não indicados acima	+1 408.400.8495	TechSupport@cepheid.com

As informações de contacto para outros escritórios da Cepheid estão disponíveis no nosso website em www.cepheidinternational.com no separador **SUPPORT** (Apoio). Seleccione a opção **Contact Us** (Contacte-nos).

22 Tabela de símbolos

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



Cepheid AB
 Röntegenvägen 5
 SE-171 54 Solna
 Suécia

