cobas® DPX

Teste duplo de ácidos nucleicos de HAV e parvovírus B19

Para diagnóstico *in vitro*

cobas® DPX – 192	P/N: 09171126190
cobas® DPX Control Kit	P/N: 09040749190
cobas® Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
cobas® omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas® omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas® omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Índice

Utilização prevista **4**

Resumo e explicação do teste **4**

Reagentes e materiais **8**

Reagentes e controlos do **cobas**® DPX 8

Reagentes **cobas**® **omni** para preparação da amostra 10

Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes 11

Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema **cobas**® 5800 11

Requisitos de manuseamento de reagentes para os sistemas **cobas**® 6800/8800 12

Materiais adicionais necessários para o sistema **cobas**® 5800 13

Materiais adicionais necessários para os sistemas **cobas**® 6800/8800 13

Equipamentos e software necessários 14

Precauções e requisitos de manuseamento **15**

Advertências e precauções 15

Manuseamento de reagentes 16

Boas práticas de laboratório 16

Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras **17**

Amostras de dadores vivos 17

Instruções de utilização **20**

Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional) 20

Definição de cut-off para o parvovírus B19 20

Sistema **cobas**® 5800 20

Sistemas **cobas**® 6800/8800 20

Notas do procedimento 20

Execução do **cobas**® DPX no sistema **cobas**® 5800 21

Execução do **cobas**® DPX nos sistemas **cobas**® 6800/8800 22

Resultados **23**

Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema **cobas**® 5800 23

Resultados de controlo no sistema **cobas**® 5800 23

Controlo de qualidade e validade dos resultados nos sistemas **cobas**® 6800/8800 24

Interpretação dos resultados 25

Interpretação dos resultados no sistema **cobas**® 5800 26
Interpretação dos resultados nos sistemas **cobas**® 6800/8800 27
Repetição de testes de amostras individuais 27
Limitações do procedimento 27
Equivalência dos sistemas/comparação dos sistemas 27
Avaliação do desempenho não clinico executado nos sistemas cobas® 6800/8800 ... 28
Características principais de desempenho – amostras de dadores vivos 28
Limite de deteção (LoD) 28
Intervalo linear de quantificação do parvovírus B19 29
Reprodutibilidade 30
Precisão 30
Inclusividade do genótipo – HAV 31
Verificação de genótipos de parvovírus B19 32
Especificidade analítica 33
Especificidade analítica – substâncias interferentes 34
Correlação 35
Falha global do sistema 36
Contaminação cruzada 36
Desempenho clínico 37
Reprodutibilidade 37
Informações adicionais 39
Características principais do teste 39
Símbolos 40
Apoio técnico 41
Fabricante e importador 41
Marcas comerciais e patentes 41
Direitos de autor 41
Bibliografia 42
Revisão do documento 46

Utilização prevista

O teste **cobas**® DPX para utilização nos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 é um teste *in vitro* para a quantificação direta do ADN dos genótipos 1, 2 e 3 do parvovírus B19 e para a deteção qualitativa direta do ARN dos genótipos I, II e III do vírus da hepatite A (HAV) em plasma humano.

Este teste destina-se a ser utilizado como um teste *in vitro* para quantificar o ADN do parvovírus B19 isolado, ou para simultaneamente quantificar o ADN do parvovírus B19 e detetar ARN do HAV em amostras de dadores de sangue total, componentes sanguíneos ou plasma para posterior utilização pela indústria de fracionamento de plasma. O plasma de todos os dadores pode ser testado como amostras individuais ou em pools constituídas por alíquotas de amostras individuais.

Este teste não se destina a ser utilizado em amostras de sangue do cordão umbilical.

Este teste não se destina a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de parvovírus B19 ou HAV.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos: rastreio do sangue para infeções virais transmitidas por transfusões

O parvovírus humano B19 é um vírus pequeno, não envelopado, de ADN de cadeia simples pertencente ao género Erythrovirus da família *Parvoviridae*.[1] Os eritrovírus humanos são agrupados em três genótipos distintos: genótipo 1 (estirpes B19), genótipo 2 (estirpes A6) e genótipo 3 (estirpes V9/D91/1).[2, 3] Praticamente todas as amostras de vírus são do genótipo 1.[1] O genótipo 2 é encontrado esporadicamente nos EUA, na Europa e na América do Sul, principalmente em pacientes nascidos antes de 1940.[1] O genótipo 3 ocorre sobretudo no norte e no ocidente de África, mas também foi identificado em França.[1]

O parvovírus B19 (B19V) é um agente patogénico comum, estando distribuído por todo o mundo. A prevalência de anticorpos circulantes B19 IgG, que indica infeções anteriores, aumenta com a idade e varia de cerca de 20% para idades compreendidas entre 1 e 4 anos, para mais de 60% em adultos, e até 85% na população idosa.[4-6] Apesar de os anticorpos serem prevalentes na população geral, a viremia ou a presença de ADN viral é rara.[4] A manifestação e a gravidade das doenças clínicas depende dos estados imunológico e hematológico do indivíduo afetado.[1, 7, 8] Em indivíduos imunocompetentes, a infeção é frequentemente assintomática ou poderá causar leves enfermidades autolimitativas, incluindo eritema infeccioso ("quinta doença") em crianças ou artropatia em adultos.[1, 7, 9, 10] O parvovírus B19, contudo, poderá causar doenças graves, tais como a anemia aplástica transitória em pacientes com distúrbios hematológicos a hidropisia fetal, a anemia congénita, e a perda do feto em mulheres grávidas.[1, 7, 11–13] A prevalência de parvovírus B19 em dadores de sangue e plasma varia entre 0,16% e 0,9%, a maioria com níveis muito baixos de ADN viral.[14-18] Os estudos do setor de fabrico de plasma reportaram uma prevalência inferior.[19]

O parvovírus B19 é transmitido normalmente pelas vias respiratórias, mas pode ocorrer a transmissão por produtos derivados de plasma, assim como por transfusão de glóbulos vermelhos.[1, 20] A deteção de ADN de parvovírus B19 em produtos derivados de plasma, incluindo fator VIII concentrado, outros fatores de coagulação, e pool de plasma tratado com solvente- detergente, assim como a transmissão a recetores a partir destes produtos, está bem descrita na literatura.[20-30] A transmissão relacionada com produtos derivados de plasma tem sido associada ao tamanho de pools de plasma; à incidência de infeções agudas, inaparentes de parvovírus B19; aos níveis elevados de ADN viral (até 10^{12} UI/ml) em dádivas virémicas; e à resistência do parvovírus B19 à maioria dos passos comuns de inativação ou extração viral, tais como o tratamento solvente/detergente (S/D) ou a pasteurização.[20, 21, 27–30] Têm sido reportados muito poucos casos clínicos de transmissão de parvovírus B19 a partir de transfusões de glóbulos vermelhos.[20] Além disso, a transmissão a recetores de componentes com níveis baixos a moderados de ADN de parvovírus B19 (< 10^6 UI/ml) é extremamente rara.[20]

O HAV é um vírus ARN pequeno, não envelopado, que pertence ao grupo de hepatovírus da família *Picornaviridae*.[31] O HAV está distribuído por todo o mundo e é transmitido por via oral-fecal, principalmente pelo contacto pessoal próximo.[32-34] Foram identificados vários genótipos e subtipos.[34] As epidemias são comuns nos países em desenvolvimento, onde os padrões de higiene são baixos, e a infeção é adquirida normalmente no início da vida e resulta numa grande proporção de população com anticorpos de proteção contra o HAV.[31-34] Nos países industrializados, a diminuição da taxa de incidência do vírus e a disponibilidade de vacinas causou um desvio da infeção para a idade adulta.[31, 34] No norte da Europa, no Japão, no Canadá, e nos EUA, a prevalência do vírus na população geral é muito baixa (~0,01%) e os surtos estão principalmente associados a grupos de risco, tais como pessoas que viajam para regiões endémicas.[32, 33]

As infeções de HAV em humanos variam entre infeções assintomáticas, que ocorrem principalmente em crianças de tenra idade, e a hepatite fulminante, que em alguns casos poderá causar a morte.[31, 32] O HAV causa uma infeção aguda, que é solucionada sem alcançar o estado de portador crónico; consequentemente, a infeção por HAV raramente é relacionada com transfusões e os bancos de sangue não testam as dádivas relativamente à presença de HAV, confiando, em vez disso, no historial clínico dos dadores, para eliminar os dadores com um histórico de hepatite.[35] Foram reportadas apenas algumas infeções de HAV transmitidas por transfusões, as quais resultaram em doença ligeira do fígado.[36, 37] Apesar de poder ser encontrado HAV infeccioso no sangue durante o período de janela serológica, o risco de transmissão de HAV por transfusão é muito baixo.[35, 38] Também foi reportada a transmissão de HAV a partir de dadores num estado virémico assintomático.[35-38] O HAV não tem um envelope de lípidos e, assim, não é inativado facilmente por tratamento S/D ou por pasteurização, tal como acontece durante o fabrico de derivados de plasma.[35] Como resultado, foi reportada a transmissão de HAV por derivados de plasma, principalmente fatores de coagulação.[36, 39, 40]

Embora uma dádiva individual possa conter ADN do parvovírus B19 e também ARN do HAV, a prevalência de coinfeção parvovírus B19/HAV na população de dadores não está bem estudada ou documentada na literatura.[41-43] São conhecidos casos raros de coinfeção parvovírus humano B19/HAV em bebés e crianças, que não fazem parte da população de dadores.[41-43] O risco de coinfeção poderá ser calculado utilizando a prevalência de cada vírus. Embora a prevalência do HAV não esteja bem caracterizada na população de dadores, a prevalência na população geral é de ~0,01%, e ainda mais baixa na população de dadores de amostras de origem plasmática (~0,0004%).[32, 33, 44, 45] Utilizando uma prevalência de parvovírus B19 de ~0,9%[14-18], o risco calculado de coinfeção parvovírus B19/HAV é de ~0,0000036% (0,0004% × 0,9%) ou 1 em ~28 000 000 dádivas.

Fundamentos dos testes NAT

Os testes NAT podem ser utilizados para detetar HAV e a contaminação por parvovírus B19. No início de 2000, alguns fabricantes de plasma iniciaram o rastreio com testes NAT do ARN do HAV e do ADN do parvovírus B19, para o fabrico posterior de plasma, em resposta a relatórios de transmissão de ambos os vírus através de produtos derivados do plasma.[46] Os testes de NAT, considerados testes de processamento, tinham por objetivo a remoção de quaisquer unidades contaminadas por HAV e a redução do parvovírus B19 em pools de plasma.[47] Em 2004, a Farmacopeia Europeia começou a requerer que todos os fabricantes garantissem que os níveis de ADN do parvovírus B19 estivessem abaixo de 10^4 UI/ml nas pools utilizadas para a produção de imunoglobulina anti-D humana e nas pools de plasma humano, tratado para a inativação de vírus.[48] De forma similar, indicações da FDA de 2009 recomendam aos fabricantes de produtos derivados de plasma a execução de teste NAT de parvovírus B19 em todos os produtos derivados de plasma, para assegurar que a carga viral de ADN de parvovírus B19 na pool de fabrico não exceda 10^4 UI/ml.[47] Nem as agências reguladoras dos EUA nem as europeias requerem atualmente os testes de NAT de HAV em pools de plasma utilizados para posterior fabrico; contudo, os requisitos regulamentares europeus indicam que, se os testes de NAT de HAV forem utilizados na pool de fabrico, como parte dos testes de processamento, o teste é capaz de detetar um controlo que contenha 100 UI/ml de ARN do HAV.[49]

Explicação do teste

O teste **cobas**® DPX é um teste duplex que é executado nos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800. O teste **cobas**® DPX permite a quantificação simultânea de ADN dos genótipos 1, 2 e 3 do parvovírus B19 e a deteção qualitativa de ARN dos genótipos I, II e III do vírus da hepatite A (HAV) em plasma humano.

Princípios do procedimento

O teste **cobas**® DPX por tecnologia de PCR em tempo real baseia-se na preparação totalmente automática da amostra (extração e purificação do ácido nucleico) seguida de amplificação por PCR e deteção.

O sistema **cobas**® 5800 é constituído por um único equipamento integrado. Os sistemas **cobas**® 6800/8800 são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é executada pelo software **cobas**® 5800/6800/8800, que calcula resultados quantitativos (em UI/ml) para o parvovírus B19, mediante a utilização de um padrão de quantificação (QS), diretamente comparável ao padrão internacional da OMS de B19.[47] O software **cobas**® 5800/6800/8800 também classifica os resultados de testes para a presença do vírus da hepatite A como não reativos, reativos, ou inválidos. Quando for utilizado o sistema **cobas**® 5800/6800/8800, os resultados podem ser examinados diretamente no ecrã do sistema, impressos em forma de relatório, ou podem ser enviados para um Sistema de gestão de informações laboratoriais (LIMS) ou para outro sistema de gestão de resultados.

As amostras podem ser testadas individualmente ou, opcionalmente, podem ser testadas em pools constituídas por várias amostras. No caso de as amostras serem testadas em pools, poderá opcionalmente utilizar num passo pré-analítico, os equipamentos **cobas**® p 680, ou o software **cobas**® **Synergy** com o Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD.

Os ácidos nucleicos da amostra e o ARN protegido do controlo interno (IC) (que serve como controlo de todo o processo, desde a preparação da amostra até à amplificação/deteção) são extraídos simultaneamente. O IC monitoriza se existe alguma interferência que poderia causar resultados negativos. As amostras potencialmente afetadas são invalidadas. As moléculas de DNA QS também servem como controlo do processo de preparação da amostra e do processo de amplificação/deteção e são extraídas em simultâneo. Os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR (como a hemoglobina), são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem e o ácido nucleico purificado é eluído das partículas de vidro magnéticas com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva do ácido nucleico alvo da amostra de dador é conseguida através da utilização de primers diretos e reversos específicos do vírus que são selecionados de regiões altamente conservadas do ácido nucleico viral. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a transcrição reversa e para a amplificação. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicão).[50-52] Qualquer amplicão de contaminação de corridas de PCR anteriores são destruído pela enzima AmpErase [uracil-N-glicosilase], que está incluída na mistura principal de PCR, quando aquecida no primeiro passo do termociclagem. No entanto, os amplicões acabados de formar não são destruídos, uma vez que a enzima AmpErase fica inativada quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® DPX contém sondas de deteção que são específicas para o ácido nucleico de QS e IC, assim como de B19 e HAV. As sondas de deteção específicas do B19, HAV, IC, e QS estão marcadas com um de quatro corantes fluorescentes únicos, que atua como um sinalizador. Cada sonda tem também um quinto corante, que atua como um supressor. Os quatro corantes sinalizadores são medidos em comprimentos de onda definidos, permitindo assim a deteção e a discriminação simultâneas dos alvos B19, HAV amplificados, IC e QS.[53, 54] O sinal fluorescente das sondas intactas é suprimido pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridação das sondas para o alvo específico de cadeia simples de ADN resulta na clivagem, pela atividade nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Com cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas, aumentando concomitantemente o sinal cumulativo do corante reporter. Uma vez que os quatro corantes sinalizadores específicos são medidos a comprimentos de onda definidos, é possível a deteção e discriminação simultâneas dos alvos amplificados de B19 e HAV e do QS e IC.

Reagentes e materiais

Reagentes e controlos do cobas® DPX

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

Tabela 1 Teste **cobas**® DPX

Conservar entre 2 e 8 °C
Cassete de 192 testes (P/N 09171126190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase, glicerol EUH210: Folhas de dados de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina do *Bacillus subtilis*. Pode desencadear uma reação alérgica.	22,3 ml
Controlo interno e padrão de quantificação de DPX (DPX IC/QS)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,01% de estrutura de armored RNA de Controlo interno (ARN não infeccioso encapsulado em bacteriófagos MS2), < 0,01% de ADN não infeccioso e sintético do QS B19 encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago Lambda, < 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida de sódio	21,2 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml
Reagente 1 da Mistura Principal (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida de sódio	7,5 ml
Reagente 2 da Mistura Principal de DPX (DPX MMX-R2)	Tampão de tricina, acetato de potássio, glicerol, 18% de sulfóxido de dimetilo, Tween 20, EDTA, < 0,06% de dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% de dUTP, < 0,01% de primers ascendente e descendente do parvovírus B19, HAV, primers de padrão de quantificação e controlo interno, < 0,01% de sondas de parvovírus B19 e HAV de marcação fluorescente, < 0,01% de sondas de parvovírus B19 QS e HAV IC de marcação fluorescente, < 0,01% de aptâmero oligonucleótido, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	9,7 ml

Tabela 2 **cobas**® DPX Control Kit

Conservar entre 2 e 8 °C
(P/N 09040749190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo positivo duplo do DPX (DPX D(+)C)	< 0,001% de (armored) ARN sintético do HAV encapsulado num bacteriófago MS2 revestido com proteínas, < 0,001% ADN (de plasmídeo) sintético do parvovírus B19 encapsulado num bacteriófago Lambda revestido com proteínas, plasma humano normal, não reativo em testes aprovados para anticorpo do B19, ARN do HAV não detetável por métodos de PCR, ADN de B19 não detetável por métodos de PCR ou abaixo do nível em que é afetada a funcionalidade do controlo (≤ 5 UI/ml) 0,1% de conservante ProClin® 300**	8 ml (8 × 1 ml)	**ADVERTÊNCIA** H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).
Controlo positivo alto do DPX (DPX H(+)C)	< 0,001% ADN (de plasmídeo) sintético do parvovírus B19 encapsulado num bacteriófago Lambda revestido com proteínas, plasma humano normal, não reativo em testes aprovados para anticorpo do B19, ARN do HAV não detetável por métodos de PCR, ADN de B19 não detetável por métodos de PCR ou abaixo do nível em que é afetada a funcionalidade do controlo (≤ 5 UI/ml) 0,1% de conservante ProClin® 300**	8 ml (8 × 1 ml)	**ADVERTÊNCIA** H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância perigosa

Tabela 3 **cobas**® Buffer Negative Control Kit

Conservar entre 2 e 8 °C
(P/N 09051953190)

Componente do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
Tampão de controlo negativo (Buffer-NC)	Tampão Tris, EDTA, 0,002% de ARN de poli rA (sintético), < 0,1% de azida de sódio	16 ml (16 × 1 ml)	Não aplicável

Reagentes cobas® omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagentes **cobas**® **omni** para preparação da amostra*

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança**
cobas® **omni MGP Reagent (MGP)** Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	480 testes	Não aplicável
cobas® **omni Specimen Diluent (SPEC DIL)** Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	4 × 875 ml	Não aplicável
cobas® **omni Lysis Reagent (LYS)** Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5% (p/v) de polidocanol**, 2% (p/v) de ditiotreitol**, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 **PERIGO** H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: 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. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
cobas® **omni Wash Reagent (WASH)** Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

* Estes reagentes não estão incluídos no kit do teste **cobas**® DPX. Consulte a lista dos materiais adicionais necessários (Tabela 8 e Tabela 9).

** A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

*** Substância perigosa

Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5, Tabela 6 e Tabela 7.

Quando os reagentes não estiverem nos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

Tabela 5 Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® DPX – 192	2 a 8 °C
cobas® DPX Control Kit	2 a 8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas® **omni** Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas® **omni** MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas® **omni** Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas® **omni** Wash Reagent	15 a 30 °C

Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas® 5800

Os reagentes carregados no sistema **cobas**® 5800 são armazenados a temperaturas apropriadas e as respetivas datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema apenas permite que os reagentes sejam usados, se as condições indicadas na Tabela 6 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A Tabela 6 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes exigidas pelo sistema **cobas**® 5800.

Tabela 6 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelo sistema **cobas**® 5800

Reagente	Prazo de validade do kit	Estabilidade do kit aberto	Número de corridas para as quais este kit pode ser usado	Estabilidade a bordo do equipamento (tempo acumulado a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas® DPX – 192	Prazo não ultrapassado	90 dias desde a primeira utilização	Máx. 40 corridas	Máx. 36 dias**
cobas® DPX Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável*	Não aplicável	Máx. 36 dias**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável*	Não aplicável	Máx. 36 dias**
cobas® **omni** Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** MGP Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** Wash Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável

* Reagentes de utilização única.

** O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado no sistema **cobas**® 5800.

Requisitos de manuseamento de reagentes para os sistemas cobas® 6800/8800

Os reagentes carregados nos sistemas **cobas**® 6800/8800 são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema apenas permite que os reagentes sejam usados, se as condições indicadas na Tabela 7 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A Tabela 7 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes impostas pelos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Tabela 7 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos sistemas **cobas**® 6800/8800

Reagente	**Prazo de validade do kit**	**Estabilidade do kit aberto**	**Número de corridas para as quais este kit pode ser usado**	**Estabilidade a bordo do equipamento (tempo acumulado a bordo do equipamento fora do frigorífico)**
cobas® DPX – 192	Prazo não ultrapassado	90 dias desde a primeira utilização	Máx. 40 corridas	Máx. 40 horas**
cobas® DPX Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável*	Não aplicável	Máx. 8 horas**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável*	Não aplicável	Máx. 10 horas**
cobas® **omni** Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** MGP Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável
cobas® **omni** Wash Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento**	Não aplicável	Não aplicável

* Reagentes de utilização única.

** O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado nos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Materiais adicionais necessários para o sistema cobas® 5800

Tabela 8 Material e consumíveis para utilização no sistema **cobas**® 5800

Material	P/N
cobas® **omni** Processing Plate 24	08413975001
cobas® **omni** Amplification Plate 24	08499853001
cobas® **omni** Liquid Waste Plate 24	08413983001
Ponta CORE TIPS com filtro, 1 ml	04639642001
Ponta CORE TIPS com filtro, 300 µl	07345607001
cobas® **omni** Liquid Waste Container	07094388001
cobas® **omni** Lysis Reagent	06997538190
cobas® **omni** MGP Reagent	06997546190
cobas® **omni** Specimen Diluent	06997511190
cobas® **omni** Wash Reagent	06997503190
Saco de resíduos sólidos ou Saco de resíduos sólidos com inserto	07435967001 ou 08030073001

Materiais adicionais necessários para os sistemas cobas® 6800/8800

Tabela 9 Material e consumíveis para utilizar nos sistemas **cobas**® 6800/8800

Material	P/N
cobas® **omni** Processing Plate	05534917001
cobas® **omni** Amplification Plate	05534941001
cobas® **omni** Pipette Tips	05534925001
cobas® **omni** Liquid Waste Container	07094388001
cobas® **omni** Lysis Reagent	06997538190
cobas® **omni** MGP Reagent	06997546190
cobas® **omni** Specimen Diluent	06997511190
cobas® **omni** Wash Reagent	06997503190
Saco de resíduos sólidos	07435967001
Saco de resíduos sólidos com inserto	08030073001

Equipamentos e software necessários

O pacote de análise **cobas**® DPX para o sistema **cobas**® 5800 deverá ser instalado no sistema **cobas**® 5800. O software x800 Data Manager para o sistema **cobas**® 5800 será fornecido com o sistema. O software **cobas**® **Synergy** pode ser instalado, se aplicável.

O software **cobas**® 6800/8800 e o pacote de análise **cobas**® DPX deverão estar instalados no(s) equipamento(s). O servidor IG (Instrument Gateway) será fornecido com o sistema. O software **cobas**® **Synergy** pode ser instalado, se aplicável.

Tabela 10 Equipamentos

Equipamento	**P/N**
Sistema **cobas**® 5800	08707464001
Sistema **cobas**® 6800 (opção móvel)	05524245001 e 06379672001
Sistema **cobas**® 6800 (fixo)	05524245001 e 06379664001
Sistema **cobas**® 8800	05412722001
Módulo de abastecimento de amostras dos sistemas **cobas**® 6800/8800	06301037001
Opções para pipetagem e pooling	**P/N**
Licença eletrónica do software **cobas**® **Synergy** (apenas para o sistema **cobas**® 5800)	09311246001
Equipamento **cobas**® p 680	06570577001
Licença eletrónica do software **cobas**® **Synergy** (apenas para os sistemas **cobas**® 6800/8800) (opcional)	09311238001
Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

Para informações adicionais, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800 ou dos sistemas **cobas**® 6800/8800. Para mais informações sobre os tubos de amostra primários e secundários aceites nos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador do equipamento **cobas**® p 680 ou a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**.

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks para pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- Todas as amostras deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.[55, 56] Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de materiais com risco biológico e na utilização do teste **cobas**® DPX, dos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800, do equipamento **cobas**® p 680 (para os sistemas **cobas**® 6800/8800) ou do Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD com o software **cobas**® **Synergy**.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infeciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,6% em água destilada ou desionizada ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas**® DPX Control Kit contém plasma derivado de sangue humano. O material de origem foi submetido a testes aprovados de anticorpos e considerado como não reativo para a presença de anticorpos do B19 IgG e IgM. Os testes de plasma humano normal por métodos de PCR não demonstraram ARN do HAV detetáveis e níveis de ADN do B19 que ou não são detetáveis ou são suficientemente baixos para não terem um impacto na funcionalidade dos controlos de DPX positivos. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infeciosos.
- Não congele sangue total.
- Recomenda-se a utilização de pipetas esterilizadas descartáveis e de pontas de pipetagem isentas de nucleases. Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (FDS) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- A disrupção das várias camadas célula-plasma ou a difusão do material após a centrifugação pode originar taxas de invalidade mais elevadas.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspecione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de fuga, não utilize esse material para testes.
- O **cobas**® **omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- Os kits de teste **cobas**® DPX, o **cobas**® **omni** MGP Reagent e o **cobas**® **omni** Specimen Diluent contêm azida de sódio como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas**® **omni** Lysis Reagent, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de sódio (lixívia). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de kits **cobas**® DPX e reagentes **cobas**® **omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfecte cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,6% em água desionizada ou destilada. Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrer um derrame nos equipamentos **cobas**® 6800/8800, siga as instruções do Manual do operador dos sistemas **cobas**® 6800/8800 para limpar e descontaminar corretamente as superfícies do(s) equipamento(s).
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas**® 5800, siga as instruções indicadas na Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800 para limpar e descontaminar adequadamente a superfície do(s) equipamento(s).

Colheita, transporte, armazenamento e pooling de amostras

Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infeciosos.

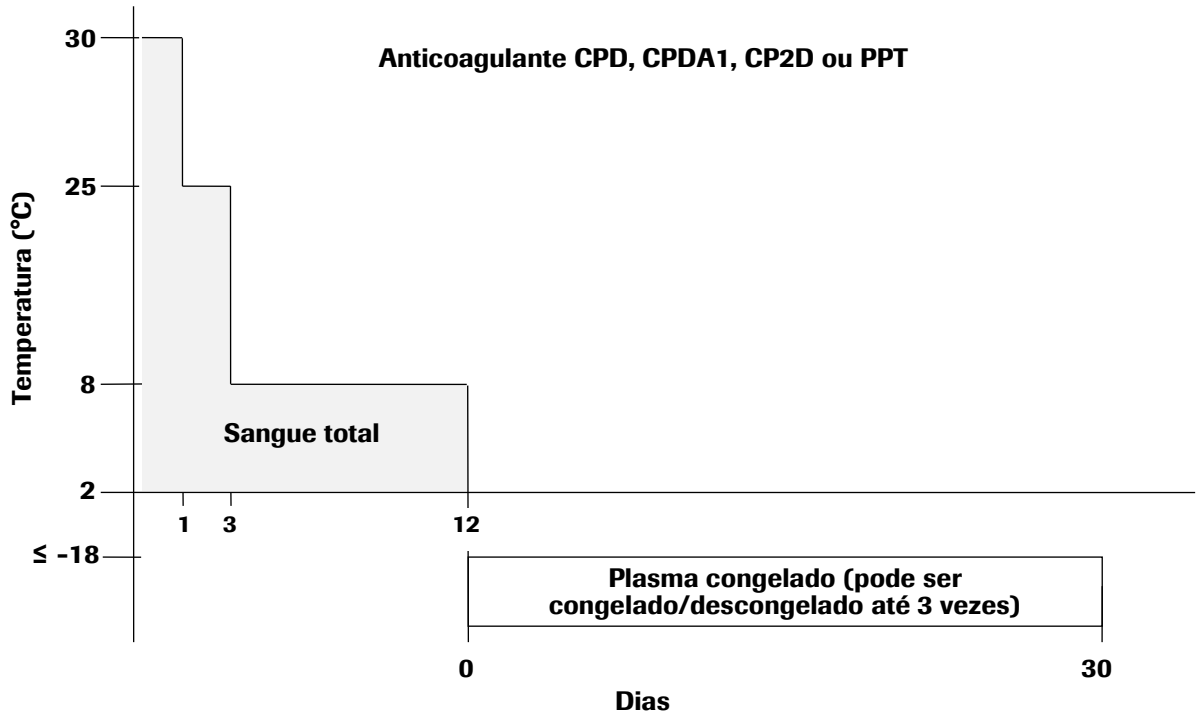
Armazene todas as amostras de dadores às temperaturas especificadas.

A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Amostras de dadores vivos

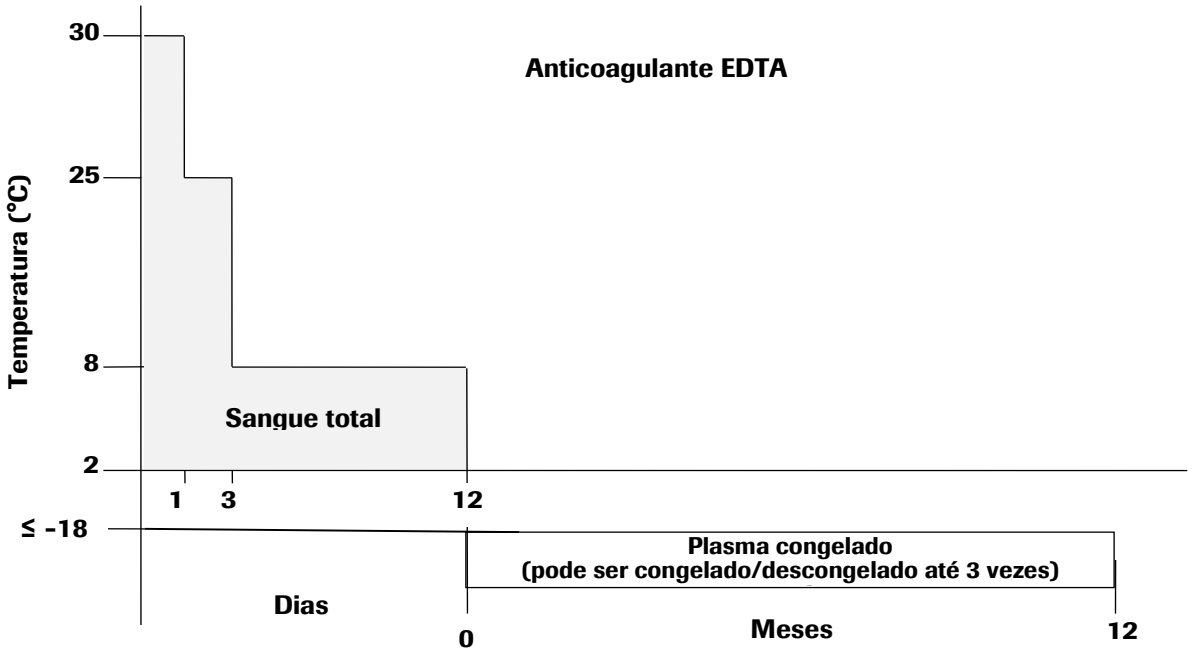
- O plasma colhido com anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1, CP2D e citrato de sódio a 4% podem ser utilizados com o teste **cobas**® DPX. Para o manuseamento e a centrifugação, siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra/sacos de colheita de amostras.
- O sangue colhido em anticoagulante EDTA, tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) poderá ser sujeito a centrifugação adicional a 600 × g durante 5 minutos antes de ser carregado, antes de pooling opcional ou antes de ser testado novamente.
- Os tubos de sangue colhido com anticoagulante CPD, CPDA1, CP2D ou tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) poderão ser armazenados até 12 dias nas seguintes condições:
    - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
    - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
    - Além do indicado acima, as amostras podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 30 dias a temperaturas ≤ -18 °C com 3 ciclos de congelação/descongelação. Consulte a Figura 1.

Figura 1 Condições de armazenamento de amostras de dadores



- O sangue colhido com anticoagulante EDTA pode ser armazenado durante um máximo de 12 dias nas seguintes condições:
    - As amostras devem ser centrifugadas no prazo de 72 horas após a colheita.
    - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
    - Além do indicado acima, as amostras podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 12 meses a temperaturas ≤ -18 °C com 3 ciclos de congelação/descongelação. Consulte a Figura 2.

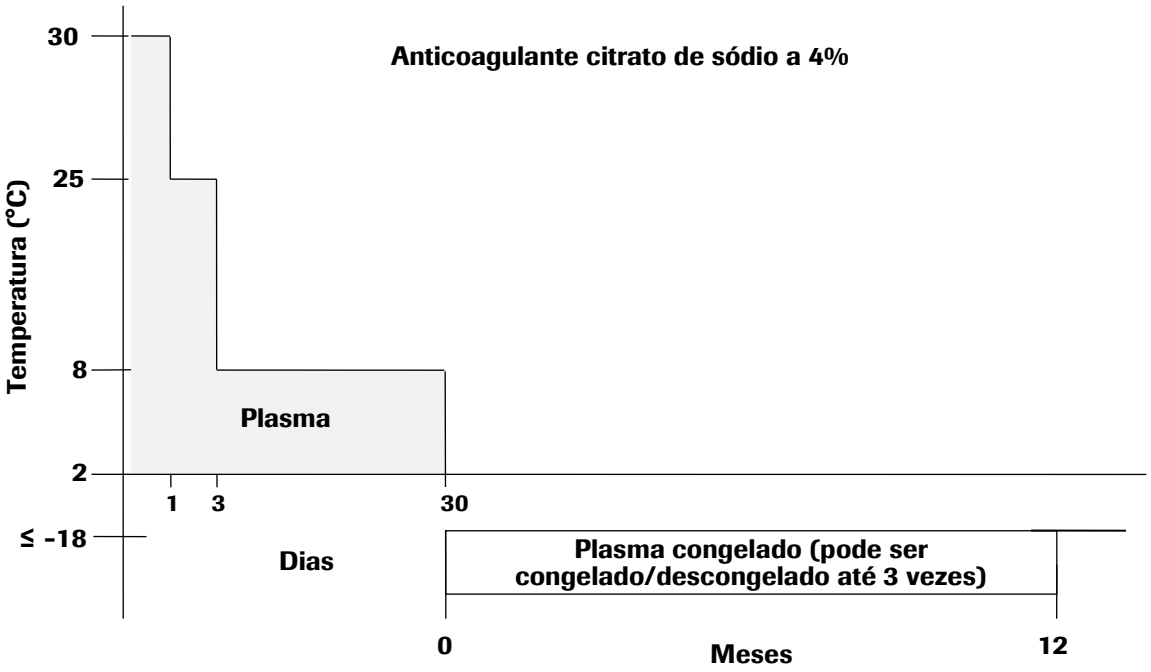
Figura 2 Condições de armazenamento de amostras de dadores



- O plasma em anticoagulante de citrato de sódio a 4% pode ser armazenado durante um máximo de 30 dias entre 2 e 8 °C.
    - Para armazenamento acima dos 8 °C, as amostras podem ser armazenadas durante 72 horas a temperaturas até 25 °C, e até 30 °C durante 24 das 72 horas.
    - Além do indicado acima, as amostras podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C. Além disso, o plasma separado dos glóbulos sanguíneos pode ser armazenado até 12 meses a temperaturas ≤ -18 °C com 3 ciclos de congelação/descongelação (ver a Figura 3).

- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

Figura 3 Condições de armazenamento de amostras em anticoagulante citrato de sódio a 4%



Instruções de utilização

Pooling e pipetagem de amostras automáticos (opcional)

O equipamento **cobas**® p 680 ou o software **cobas**® **Synergy** com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD pode ser utilizado como um componente opcional com os sistemas **cobas**® 6800/8800 para pipetagem e pooling automáticos de alíquotas de várias amostras primárias para uma amostra em pool.

O software **cobas**® **Synergy** com o Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD pode ser utilizado como um acessório do sistema **cobas**® 5800 para pipetagem e pooling automáticos de alíquotas de várias amostras primárias para uma amostra em pool.

Para mais informações, consulte a Assistência ao utilizador do equipamento **cobas**® p 680 ou a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**.

Definição de cut-off para o parvovírus B19

Sistema cobas® 5800

O sistema **cobas**® 5800 apresentará o título B19V na interface de utilizador do software **cobas**® 5800. No entanto, o cutoff para criar o resultado qualitativo correspondente só pode ser definido no software **cobas**® **Synergy**. Consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**.

Sistemas cobas® 6800/8800

O supervisor do laboratório determina o cut-off de título B19V, definindo-o para pools de 1. O valor aqui introduzido é utilizado pelo software para atribuir um resultado de "B19V < cut-off" ou "B19V ≥ cut-off" (Tabela 13). O software calcula automaticamente o resultado, dependendo do cut-off introduzido e do tamanho do pool.

Para atribuir o cut-off de título de B19V:

O cut-off de B19V de DPX pode ser encontrado na interface de utilizador (IU) em Administração –> Definições –> Definições de processamento –> Testes Roche. Em "Definições" do DPX ASAP e de B19V de DPX ASAP, o valor de cutoff pode ser definido utilizando o botão "Editar".

Ao utilizar a solução **cobas**® **Synergy**

Em combinação com o DPX-S e DPX-B19-S ASAPs, os resultados finais dos testes B19 e DPX só ficam disponíveis no software **cobas**® **Synergy** e não nos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Para atribuir os valores de cut-off de título B19V (por tamanho do pool em UI/ml), siga a descrição na assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**. Recomendamos definir o cut-off no software **cobas**® 6800/8800 para 1.

Notas do procedimento

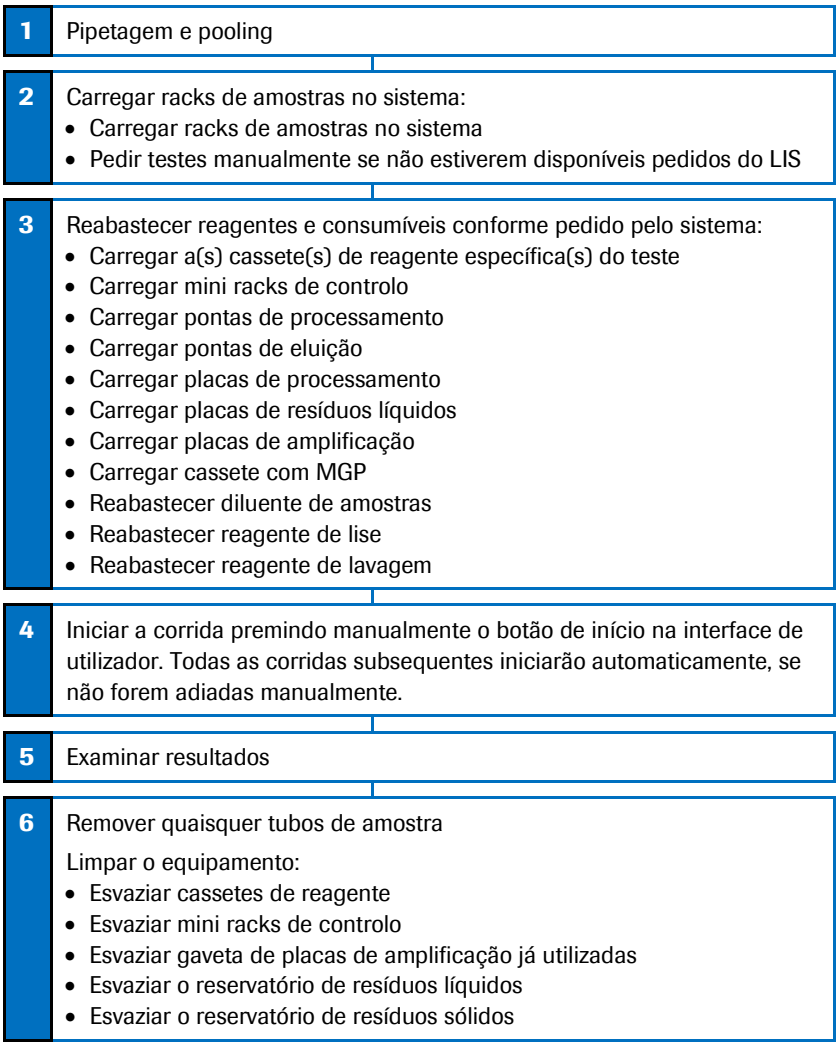
- Não utilize reagentes do **cobas**® DPX, do **cobas**® DPX Control Kit, do **cobas**® Buffer Negative Control Kit ou do **cobas**® **omni** depois de expirados os respetivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Para a manutenção adequada dos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800.
- Para a manutenção adequada dos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas**® 6800/8800.

- Para detalhes dos procedimentos opcionais de pooling e da manutenção adequada dos equipamentos, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**, conforme aplicável.
- Resultados inválidos podem ter sido influenciados por vários fatores contribuintes, incluindo, entre outros, as características da amostra, substâncias interferentes e fluxos de trabalho pré-analíticos.

Execução do cobas® DPX no sistema cobas® 5800

O procedimento de teste é descrito detalhadamente na Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800. A Figura 4 a seguir resume o procedimento. Para detalhes dos procedimentos opcionais de pooling, consulte a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**, conforme aplicável.

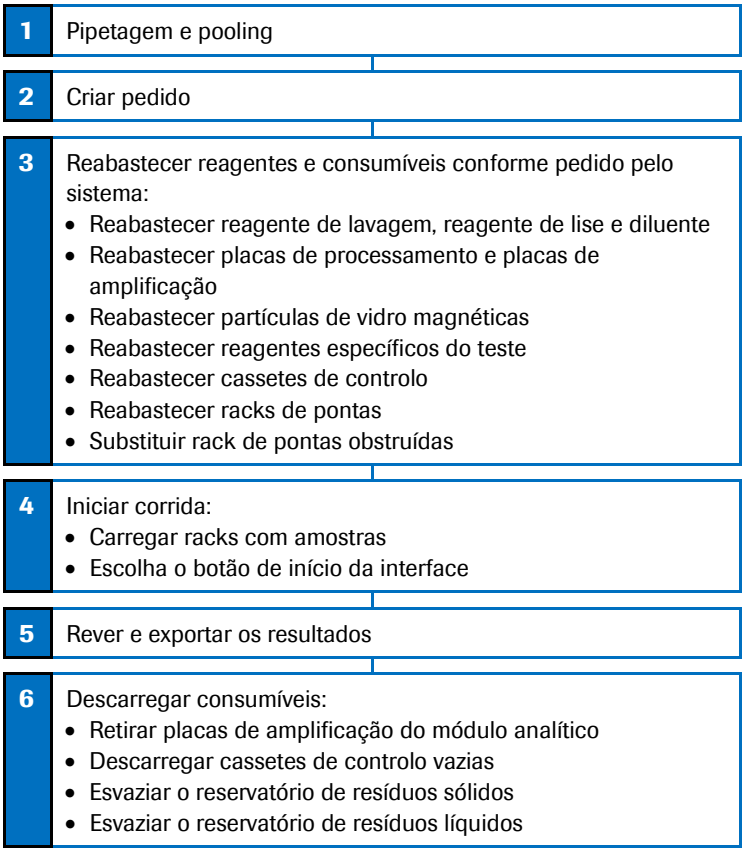
Figura 4 Procedimento do teste **cobas**® DPX no sistema **cobas**® 5800



Execução do cobas® DPX nos sistemas cobas® 6800/8800

O procedimento de teste é descrito detalhadamente na Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas**® 6800/8800; para detalhes sobre os procedimentos opcionais de pooling, consulte a Assistência ao utilizador do equipamento **cobas**® p 680 ou a Assistência ao utilizador do software **cobas**® **Synergy**, conforme aplicável.

Figura 5 Procedimento do teste **cobas**® DPX nos sistemas **cobas**® 6800/8800



Resultados

Os sistemas **cobas**® 5800 e **cobas**® 6800/8800 determinam automaticamente a concentração de ADN de parvovírus B19 para controlos e amostras de dadores. A concentração de ADN de parvovírus B19 é indicada em Unidades internacionais por mililitro (UI/ml). Além disso, os sistemas **cobas**® 5800 e **cobas**® 6800/8800 detetam automaticamente o ARN do HAV das amostras e dos controlos.

Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema cobas® 5800

O sistema **cobas**® 5800 é fornecido com a predefinição de executar controlos (positivo e negativo) com cada corrida, mas pode ser configurado para uma programação de controlos menos frequente por um técnico de assistência da Roche ou contactando o serviço de apoio ao cliente da Roche, com base nos procedimentos do laboratório e/ou nos regulamentos locais.

- No relatório e/ou no sistema **cobas**® 5800, verifique os alarmes e os respetivos resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- As amostras associadas são válidas, se não aparecer nenhum alarme para nenhum dos três controlos.

A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo sistema **cobas**® 5800, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

Resultados de controlo no sistema cobas® 5800

Os resultados dos controlos estão indicados no software do **cobas**® 5800 na app "Controlos".

- Os controlos estão assinalados com um "Válido" na coluna "Resultado do controlo" se todos os alvos do controlo forem considerados válidos. Os controlos estão assinalados com um "Inválido" na coluna "Resultado do controlo" se um ou todos os alvos do controlo forem considerados inválidos.
- Os controlos assinalados com um "Inválido" apresentam um sinalizador na coluna "Sinalizadores". Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o controlo é indicado como inválido, incluindo informações sobre o sinalizador.
- Se o controlo positivo for inválido, repita os testes dos controlos positivos e todas as amostras associadas. Se o controlo negativo for inválido, repita os testes de todos os controlos e todas as amostras associadas.

Tabela 11 Alarmes de controlo dos controlos positivos e negativo no sistema **cobas**® 5800

Controlo negativo	**Sinalizador**	**Resultado**	**Interpretação**
(–) Ctrl	É indicado um sinalizador	Invalid	Se o resultado do (–) Ctrl for inválido, todo o batch é considerado inválido.
Controlo positivo	**Sinalizador**	**Resultado**	**Interpretação**
DPX D (+) C	É indicado um sinalizador	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado para o parvovírus B19 não se encontra dentro do intervalo atribuído ou o resultado de HAV é não reativo. Apenas B19: um resultado inválido devido ao correspondente QS inválido ou ao resultado de titulação calculado para parvovírus B19 não se encontrar dentro do intervalo atribuído. Apenas HAV: um resultado inválido devido ao correspondente IC inválido ou ao resultado de HAV ser não reativo. Se o resultado do DPX D (+) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.
DPX H (+) C	É indicado um sinalizador	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído. Se o resultado do DPX H (+) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.

Se um dos controlos for inválido, repita os testes do(s) respetivo(s) controlo e todas as amostras associadas.

Controlo de qualidade e validade dos resultados nos sistemas cobas® 6800/8800

- Com cada batch são processados um controlo negativo [(–) Ctrl] e dois controlos positivos [DPX D (+) C e DPX H (+) C].
- No relatório e/ou no software **cobas**® 6800/8800, verifique os alarmes e os respetivos resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- O batch é válido se não aparecer nenhum sinalizadores para os três controlos.

A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo software **cobas**® 6800/8800, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

Resultados de controlo nos sistemas cobas® 6800/8800

Tabela 12 Alarmes de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Sinalizador	Resultado	Interpretação
(–) Ctrl	Q02	Invalid	Se o resultado do (–) Ctrl for inválido, todo o batch é considerado inválido.
Controlo positivo	**Sinalizador**	**Resultado**	**Interpretação**
DPX D (+) C	Q02	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado para o parvovírus B19 não se encontra dentro do intervalo atribuído ou o resultado de HAV é não reativo. Apenas B19: um resultado inválido devido ao correspondente QS inválido ou ao resultado de titulação calculado para parvovírus B19 não se encontrar dentro do intervalo atribuído. Apenas HAV: um resultado inválido devido ao correspondente IC inválido ou ao resultado de HAV ser não reativo. Se o resultado do DPX D (+) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.
DPX H (+) C	Q02	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído. Se o resultado do DPX H (+) C for inválido, todo o batch é considerado inválido.

Se o batch for inválido, repita os testes de todo o batch, incluindo todas as amostras e controlos.

Interpretação dos resultados

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software dos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido poderá incluir resultados de amostras de dadores válidos e inválidos consoante os alarmes obtidos individualmente nas amostras.
- Os resultados de amostras apenas são válidos, se os respetivos controlos positivos e controlos negativos do batch correspondente forem válidos.

Quatro parâmetros são medidos em simultâneo para cada amostra: um para o parvovírus B19, um para HAV, um para o padrão quantitativo e outro para controlo interno. Os resultados de amostra finais do teste **cobas**® DPX são indicados pelo software. As amostras de dadores de uma pool invalidada têm de ser testadas de novo. Os resultados do alvo individuais serão apresentados no software **cobas**® 5800/6800/8800 e deverão ser interpretados como a seguinte descrição na Tabela 13. Além disso, no **cobas**® 6800/8800, o resultado global é apresentado combinando o resultado dos dois alvos.

Tabela 13 Resultados do alvo para interpretação do resultado do alvo individual

Resultados alvo	Interpretação
HAV Non-Reactive	Nenhum sinal do alvo detetado para o HAV e sinal do IC detetado.
HAV Reactive	Sinal do alvo detetado para o HAV e sinal do IC poderá ter sido ou não detetado.
B19 Target Not Detected	Nenhum sinal do alvo detetado para o ADN de B19 e sinal de QS detetado.
B19 < Titer Min	É detetado B19 e o título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio.
B19 > Titer Max	É detetado B19 e o título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio.[a]
B19 Titer	Resultado de título de B19: é detetado B19 e o título calculado está entre o limite superior de quantificação (ULoQ) e o limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio.
B19 < valor de cutoff (excluindo **cobas**® 5800 sem **cobas**® **Synergy**)	O título de B19 é inferior ao cut-off tal como foi definido pelo utilizador; o título é reportado. Nota: **cobas**® p 680 – o valor de cut-off de B19 é apresentado no software dos sistemas **cobas**® 6800/8800. **cobas**® **Synergy** – o valor de cut-off de B19 é apresentado no software **cobas**® **Synergy**.
B19 ≥ valor de cutoff (excluindo **cobas**® 5800 sem **cobas**® **Synergy**)	O título B19 é superior ao cut-off tal como foi definido pelo utilizador; o título é reportado. Nota: **cobas**® p 680 – o valor de cut-off de B19 é apresentado no software dos sistemas **cobas**® 6800/8800. **cobas**® **Synergy** – o valor de cut-off de B19 é apresentado no software **cobas**® **Synergy**.
Invalid	O alvo de HAV e/ou o controlo interno não cumprem os critérios de validade. Os resultados não reativos para o HAV serão indicados como inválidos se o título de B19 for > 10^6 UI/ml. O sinal do QS de B19 não é detetado e o sinal do alvo de B19 pode ou não ser detetado.

[a] Caso seja desejado um resultado quantitativo, a amostra original deverá ser diluída com plasma EDTA negativo para parvovírus B19 e o teste deverá ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição. Se utilizar o software **cobas**® **Synergy**, a revisão do cálculo do resultado final pode ser feita através do software **cobas**® **Synergy**.

Interpretação dos resultados no sistema cobas® 5800

Os resultados das amostras são indicados no sistema **cobas**® 5800. Recomenda-se que a revisão dos resultados seja efetuada no software **cobas**® **Synergy**.

- As amostras associadas a um batch de controlo válido (conforme definido pela configuração dos controlos do seu sistema) são indicadas como "Válido" na coluna "Resultado do controlo". As amostras associadas a um batch de controlo falhado são indicados como "Inválido" na coluna "Resultado do controlo".
- Se os controlos associados a um resultado da amostra forem inválidos, será adicionado um sinalizador específico aos resultados da amostra como se segue:
    - Q05D: falha de validação de resultado, devido a um controlo positivo inválido
    - Q06D: falha de validação de resultado, devido a um controlo negativo inválido
- Os valores na coluna "Resultados" para os resultados do alvo de amostra individuais devem ser interpretados como indicado na Tabela 13 acima.
    - O sistema **cobas**® 5800 indicará os resultados dos alvos individuais para HAV qualitativo e B19 quantitativo. Um resultado B19, baseado no cutoff definido por um utilizador, não está disponível no sistema **cobas**® 5800; só será apresentado na vista de resultados do software **cobas**® **Synergy**
    - O resultado global não está disponível na interface de utilizador dos sistemas **cobas**® 5800. Só será indicado na vista de resultados do software **cobas**® **Synergy**.
    - Para informações mais detalhadas sobre resultados de amostras e sinalizadores, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas**® 5800.

Interpretação dos resultados nos sistemas cobas® 6800/8800

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software dos sistemas **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras estão assinaladas com "Sim" na coluna "Válido" se todos os resultados dos alvos pedidos indicaram resultados válidos. As amostras assinaladas com "Não" na coluna "Válido" podem necessitar de interpretação e ação adicionais.
- Os valores do resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 13 acima.
- Para informações mais detalhadas sobre resultados de amostras e alarmes, consulte a Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas**® 6800/8800.

Repetição de testes de amostras individuais

Os tubos de amostra com um resultado final inválido para um alvo necessitam de repetição do teste, independentemente dos resultados válidos dos outros alvos. O resultado da repetição de um HAV inválido devido a um título de B19 alto ($> 10^6$ UI/ml) permanecerá inválido. Uma centrifugação adicional a 600 × g durante 5 minutos poderá reduzir a repetição de resultados inválidos no caso de sangue colhido em anticoagulante EDTA, tubos de preparação de plasma EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™).

Limitações do procedimento

- O teste **cobas**® DPX foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **cobas**® DPX Control Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent e **cobas**® **omni** Wash Reagent para utilização nos sistemas **cobas**® 5800/6800/8800.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Não utilize plasma heparinizado com este teste, porque foi verificado que a heparina inibe a PCR.
- A deteção do ADN do parvovírus B19 e do ARN do HAV depende do número de partículas virais presentes na amostra e pode ser afetada pelos métodos de colheita, armazenamento e manuseamento de amostra, por fatores inerentes ao próprio doente (p. ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou o estadio da infeção e o tamanho do pool.
- Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas de um genoma viral abrangidas pelo teste **cobas**® DPX podem afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou insucesso na deteção de presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos especificos.

Equivalência dos sistemas/comparação dos sistemas

Foi demostrada a equivalência do sistema **cobas**® 5800 com os sistemas **cobas**® 6800/8800 através de estudos de equivalência.

Os resultados apresentados nestas Instruções de utilização, baseiam-se no desempenho equivalente de todos os sistemas.

Avaliação do desempenho não clinico executado nos sistemas cobas® 6800/8800

Características principais de desempenho – amostras de dadores vivos

Limite de deteção (LoD)

Padrões Internacionais da OMS

Os limites de deteção (LoD) do teste **cobas**® DPX para o ARN do HAV e o ADN do parvovírus B19 foram determinados utilizando os Padrões Internacionais da OMS para o HAV (código NIBSC 00/560) e o parvovírus B19 (NIBSC 99/802).

Foram preparadas 3 séries de diluição independentes de cada padrão viral com pools de plasma humano negativo para o vírus, colhido com anticoagulante EDTA. Cada série de diluição foi testada utilizando três lotes diferentes de kits de reagente **cobas**® DPX, com aproximadamente 21 réplicas por lote, num total de cerca de 189 réplicas por concentração. Os dados combinados de todas as réplicas testadas para cada vírus foram submetidos a análise PROBIT para calcular o limite de deteção (LoD) e os limites inferior e superior do intervalo de confiança de 95%. Os resultados do estudo do Limite de deteção estão resumidos da Tabela 14 até à Tabela 16.

Tabela 14 Resultados da análise PROBIT sobre dados de LoD obtidos com padrões virais em plasma EDTA

Analito	Unidade de medida	LoD	Limite inferior de confiança de 95%	Limite superior de confiança de 95%
HAV	UI/ml	1,1	0,9	1,3
Parvovírus B19	UI/ml	13,9	11,7	17,4

Tabela 15 Resumo das taxas de reatividade para o HAV em plasma EDTA

Concentração de ARN do HAV (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
6	189	189	100%	98,4%
3	189	189	100%	98,4%
1,5	186	189	98,4%	95,9%
0,75	165	189	87,3%	82,6%
0,375	119	189	63,0%	56,8%

Tabela 16 Resumo das taxas de reatividade para o parvovírus B19 em plasma EDTA

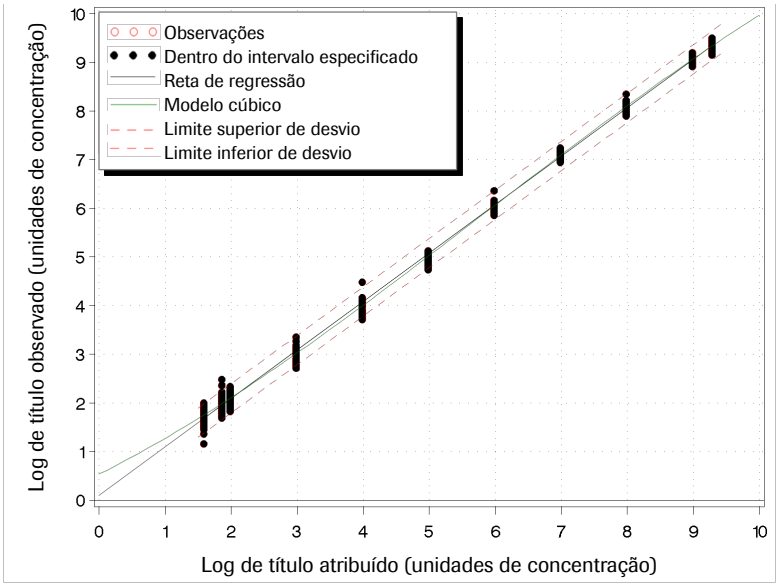
Concentração de ADN de Parvovírus B19 (UI/ml)	Número de reativos	N.º de réplicas válidas	% de reativos	Limite inferior do intervalo de confiança de 95% (unilateral)
40	187	189	98,9%	96,7%
20	184	189	97,4%	94,5%
10	175	189	92,6%	88,7%
5	145	189	76,7%	71,1%
2,5	91	189	48,1%	42,0%

Intervalo linear de quantificação do parvovírus B19

Foi efetuado um estudo de linearidade de quantificação do parvovírus B19 do teste **cobas**® DPX com uma série de diluições, utilizando um painel de 12 membros, abrangendo o intervalo linear pretendido para o genótipo 1 do parvovírus B19 predominante. A avaliação foi desempenhada de acordo com a diretiva CLSI EP6-A. Foram analisados três lotes de reagentes em três sistemas **cobas**® 6800/8800, por três operadores diferentes e no total 16 réplicas por membro do painel e por lote ao longo de 12 dias de testes.

O estudo foi efetuado com três lotes de reagentes. O intervalo linear foi determinado como estando entre 40 UI/ml e 1,00E+09 UI/ml (38,5–1,93E+09 UI/ml) e mostra um desvio absoluto da regressão não linear mais adequada de menos de ±0,3 $\log_{10}$ em plasma EDTA humano (consultar Tabela 6).

Figura 6 Determinação de intervalo linear para o parvovírus B19 em plasma EDTA



Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste **cobas**® DPX foi avaliada para três lotes de reagentes, em três dias diferentes, quatro sistemas/operadores individuais e variabilidade de corrida-a-corrida. Os resultados dos lotes de reagente estão resumidos na Tabela 17.

Tabela 17 Reprodutibilidade lote-a-lote de reagentes

Analito	Concentração	Lote de reagente	% de reativos (reativos/réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança de 95%	Limite superior do intervalo de confiança de 95%
HAV	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	96,8% (61/63)	89,0%	99,6%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 × LoD	1	79,4% (50/63)	67,3%	88,5%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%

Precisão

A precisão do **cobas**® DPX foi determinada para o parvovírus B19, pela análise de diluições em série de uma amostra positiva do parvovírus B19 em plasma EDTA negativo. Foram testados oito níveis de diluição em 48 réplicas para cada nível com três lotes de reagentes de testes **cobas**® DPX, utilizando três equipamentos e três operadores ao longo de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® DPX em sistemas **cobas**® 6800/8800. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 18.

O **cobas**® DPX para o parvovírus B19 demonstrou alta precisão para três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de 1,00E+03 UI/ml a 2,0E+09 UI/ml.

Tabela 18 Precisão intralaboratório do teste **cobas**® DPX*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Plasma EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP em pool
2,00E+09	1,93E+09	Amostra clínica	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Amostra clínica	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Amostra clínica	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Amostra clínica	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Amostra clínica	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Amostra clínica	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Amostra clínica	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Amostra clínica	0,05	0,09	0,04	0,06

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação $\log_{10}$. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Inclusividade do genótipo – HAV

Foi avaliado o desempenho do teste **cobas**® DPX para detetar três genótipos de HAV, através de testes a um total de 12 amostras clínicas únicas, ao padrão da OMS de HAV (código NIBSC 00/560) e a oito isolados de cultura de HAV com genótipos conhecidos. Todas as amostras clínicas e isolados de cultura foram quantificados com o teste **cobas**® DPX, utilizando o método de diluições seriadas do calibrador. Todas as amostras clínicas foram testadas puras e após diluição com plasma EDTA humano normal e negativo para o vírus (HAV) para 3,6 × LoD do teste **cobas**® DPX. Todos os oito isolados de cultura e o padrão da OMS de HAV foram testados após a diluição com plasma EDTA humano normal e negativo para o vírus (HAV) para 3,6 × LoD do teste **cobas**® DPX. As amostras clínicas e os isolados de cultura foram todos detetados puros e/ou a 3,6 × LoD (Tabela 19).

Tabela 19 Amostras clínicas e isolados de cultura do HAV

Genótipo	Amostras clínicas		Isolados de cultura
	% de reativas (reativas/amostras testadas) puras	% de reativas (reativas/amostras testadas) diluídas a 3,6 × LoD	% de reativas (reativas/amostras testadas) diluídas a 3,6 × LoD
I A	100,0% (11/11)	100,0% (12/12)**	Não testada*
I B	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
II A	Não testada*	Não testada*	100,0% (1/1)
II B	Não testada*	Não testada*	100,0% (1/1)
III A	Não testada*	Não testada*	100,0% (3/3)
III B	Não testada*	Não testada*	100,0% (2/2)

* Volume insuficiente para testar pura/diluída.

** Incluindo o padrão da OMS de HAV (código NIBSC 00/560).

Verificação de genótipos de parvovírus B19

O desempenho do teste **cobas**® DPX nos genótipos do parvovírus B19 foi avaliado por:

- Verificação do limite de deteção dos genótipos 1, 2 e 3
- Verificação da linearidade dos genótipos 2 e 3

Verificação do limite de deteção dos genótipos 1 a 3

As amostras clínicas de ADN do Parvovírus B19 para três genótipos diferentes (1, 2, 3a) foram diluídas para o mesmo nível de concentração, em plasma EDTA. O plasmídeo parvovírus B19 do genótipo 3b estava diluído a um determinado nível de concentração em plasma EDTA. A determinação da taxa de reatividade foi realizada com 21 réplicas. Os testes foram efetuados com um lote de reagentes de **cobas**® DPX. Os resultados de plasma EDTA são exibidos na Tabela 20. Estes resultados verificam que o teste **cobas**® DPX detetou ADN do parvovírus B19 para três genótipos diferentes, em concentrações de 10,3-17,4 UI/ml, com uma taxa de reatividade de 100%.

Tabela 20 Inclusividade do genótipo do parvovírus B19

Genótipo	Concentração	% de reativos (reativos/réplicas válidas)	Limite inferior do intervalo de confiança de 95%	Limite superior do intervalo de confiança de 95%
1	17,4 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
2	10,3 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3a	10,3 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3b	17,4 UI/ml	100% (20/20)	83,2%	100,0%

Verificação do intervalo linear dos genótipos 2 e 3a

No estudo de verificação de linearidade dos genótipos do teste **cobas**® DPX, foram utilizadas séries de diluição de um painel de sete membros, que abrangia o intervalo de linearidade pretendido. Os membros de título elevado do painel foram preparados a partir de um stock de ADN de plasmídeo de título elevado, enquanto que os membros de título mais baixo do painel foram feitos a partir do 1º Painel de referência internacional da OMS para genótipos do parvovírus B19 (NIBSC 09/110). O painel de linearidade foi concebido para ter uma sobreposição de título de aproximadamente 2 $\log_{10}$ entre estes dois materiais de origens diferentes. O intervalo linear do teste **cobas**® DPX estendeu-se desde LLoQ (40 UI/ml) ao ULoQ (1,00E+09 UI/ml) e incluiu um ponto de decisão clínica. Os testes foram efetuados com um lote de reagente do **cobas**® DPX; foram testadas 11 réplicas por nível em plasma EDTA. O intervalo linear do teste **cobas**® DPX foi verificado para ambos os genótipos (2 e 3a). O desvio máximo entre a regressão linear e o método de regressão não linear mais adequado foi igual ou inferior a 0,3 $\log_{10}$.

Especificidade analítica

A especificidade analítica do teste **cobas**® DPX foi avaliada para reatividade cruzada, testando um painel de 27 microrganismos a 10^6 partículas, UI, cópias ou CFU/ml, tal como é mostrado na Tabela 21. Os microrganismos foram adicionados a uma pool de plasma humano normal, negativo quanto a vírus, e testados com e sem HAV ou parvovírus B19 adicionados a uma concentração de aproximadamente 3 × LoD para HAV ou 5 × LLoQ para parvovírus B19 do teste **cobas**® DPX. Foram obtidos resultados não reativos com o teste **cobas**® DPX em todas as amostras de microrganismos sem HAV ou parvovírus B19 adicionados e foram obtidos resultados reativos em todas as amostras de microrganismos com HAV ou parvovírus B19 adicionados. Além disso, o título médio de $\log_{10}$ de cada uma das amostras positivas para parvovírus B19 contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava ±0,5 $\log_{10}$ dentro do título médio de $\log_{10}$ do respetivo controlo. Os microrganismos testados não apresentaram reação cruzada com o teste **cobas**® DPX.

Os microrganismos testados não interferem com o teste **cobas**® DPX.

Tabela 21 Microrganismos testados relativamente a especificidade analítica

Vírus	**Flavivírus**	**Bactérias**	**Leveduras**
Adenovírus 5	Vírus do Nilo ocidental (WNV)	*Escherichia coli*	*Candida albicans*
Vírus chikungunya	Vírus do dengue tipo 1	*Propionibacterium acnes*	-
Citomegalovírus (CMV)	Vírus Usutu	*Staphylococcus aureus*	-
Vírus de Epstein-Barr (EBV)	-	*Staphylococcus epidermidis*	-
Vírus da hepatite B (HBV)	-	*Staphylococcus haemolyticus*	-
Vírus da hepatite C (HCV)	-	*Streptococcus viridans*	-
Vírus da hepatite E (HEV)	-	-	-
Vírus da hepatite G (GBV C)	-	-	-
Vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1)	-	-	-
Vírus herpes simplex tipo 2 (HSV-2)	-	-	-
Vírus do herpes humano tipo 6A (HHV-6)	-	-	-
Vírus da imunodeficiência humana adquirida (subtipos HIV-1M e HIV-2)	-	-	-
Vírus linfotrópico da célula T humana de tipo I (HTLV I)	-	-	-
Vírus linfotrópico da célula T humana de tipo II (HTLV II)	-	-	-
Vírus da gripe A	-	-	-
Vírus varicella zoster (VVZ)	-	-	-

Foram testadas amostras de plasma de cada um dos outros estados de doença indicados na Tabela 22, com e sem HAV ou parvovírus B19 adicionados a uma concentração de aproximadamente 3 × LoD para HAV e 5 × LLoQ para parvovírus B19 do teste **cobas**® DPX. O teste **cobas**® DPX produziu resultados não reativos para todas as amostras sem HAV nem parvovírus B19 adicionados. O teste **cobas**® DPX produziu resultados reativos para todas as amostras com HAV ou parvovírus B19 adicionados. Além disso, o título médio de $\log_{10}$ de cada uma das amostras positivas para parvovírus B19 contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava ±0,5 $\log_{10}$ dentro do título médio de $\log_{10}$ do respetivo controlo. Estes estados de doenças não interferiram com o teste **cobas**® DPX.

Tabela 22 Amostras de estados de doença testadas relativamente a especificidade analítica

Agentes causadores de doença		
Adenovírus tipo 5	Vírus da hepatite C	Vírus linfotrópico da célula T humana tipo I
Citomegalovírus	Vírus da hepatite E	Vírus linfotrópico da célula T humana tipo II
Vírus do dengue	Vírus herpes simplex tipo 1	Vírus do Nilo Ocidental
Vírus de Epstein Barr	Vírus herpes simplex tipo 2	-
Vírus da hepatite B	Vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV-1M)	-

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Substâncias com interferência endógena

Amostras de plasma com níveis anormalmente elevados de triglicéridos (até 33 g/l), de hemoglobina (até 2 g/l), de bilirrubina não conjugada (até 0,2 g/l), de bilirrubina conjugada (até 0,2 g/l) de albumina (até 60 g/l), ou de ADN humano (até 1,8 mg/l) foram testadas com e sem HAV ou parvovírus B19 adicionado a uma concentração de aproximadamente 3 × LoD para HAV e 5 × LLoQ para parvovírus B19 do teste **cobas**® DPX. As amostras contendo estas substâncias endógenas não interferiram com a sensibilidade, a quantificação ou a especificidade do teste **cobas**® DPX.

Substâncias com interferência exógena

Amostras de plasma EDTA humano normal, negativo quanto a vírus, contendo concentrações anormalmente elevadas de fármacos (Tabela 23) foram testadas com e sem HAV e parvovírus B19 adicionados a uma concentração de 3 × LoD para HAV e 5 × LLoQ para parvovírus B19 do **cobas**® DPX. Estas substâncias exógenas não interferiram com a sensibilidade, a quantificação ou a especificidade do teste **cobas**® DPX.

Tabela 23 Amostras clínicas testadas com fármacos

Nome do fármaco testado	**Concentração**
Acetaminofeno	1324 µmol/l
Ácido acetilsalicílico	3620 µmol/l
Ácido ascórbico	342 µmol/l
Atorvastatina	600 µg eq/l
Fluoxetina	11,2 µmol/l
Ibuprofeno	2425 µmol/l
Loratadina	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxeno	2170 µmol/l
Paroxetina	3,04 µmol/l
Fenilefrina HCl	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

Correlação

Avaliação do desempenho do teste cobas® DPX em comparação com o teste cobas® TaqScreen DPX

O desempenho do teste **cobas**® DPX e do teste **cobas**® TaqScreen DPX foi comparado utilizando 84 amostras de plasma positivas para HAV NAT, 100 amostras positivas para NAT de parvovírus B19, e 100 amostras negativas para HAV e parvovírus B19.

As amostras negativas demonstraram uma especificidade de 100%, ao gerar 100 de 100 resultados não reativos com ambos os métodos.

Para amostras positivas do HAV, o teste **cobas**® DPX e o teste **cobas**® TaqScreen DPX foram concordantes para 84 de 84 amostras (Tabela 24). Isto resulta numa concordância na percentagem de positivos de 100%.

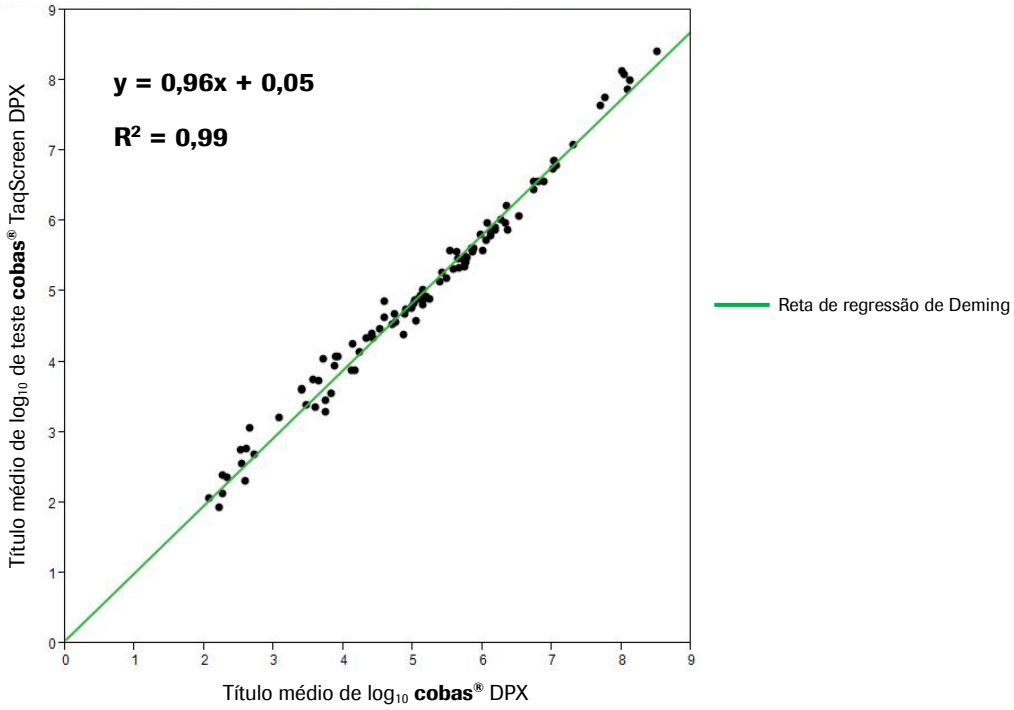
Tabela 24 Correlação de amostras positivas/negativas do HAV

Métodos		Resultados do HAV	
cobas® TaqScreen DPX	**cobas® DPX**	**Amostras positivas**	**Amostras negativas**
Não reativo	Não reativo	0	100
Reativo	Não reativo	0	0
Não reativo	Reativo	0	0
Reativo	Reativo	84	0
Total		84	100
Teste de McNemar, valor de p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		1,00	1,00

As amostras positivas do parvovírus B19 foram testadas com o teste **cobas**® DPX e o teste **cobas**® TaqScreen DPX em duplicados. Foi realizada uma análise de regressão de Deming. O desvio médio de título das amostras testadas com os dois testes foi de 0,15 $\log_{10}$. Além disso, dentro do intervalo de titulação de 1,0E+03–1,0E+06 UI/ml o desvio médio com os dois testes foi de 0,14 $\log_{10}$.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 7.

Figura 7 Análise de regressão do **cobas**® DPX vs teste **cobas**® TaqScreen DPX, 100 amostras de parvovírus B19 positivo



Falha global do sistema

A taxa de falha global do sistema para o teste **cobas**® DPX foi determinada, testando 100 réplicas de plasma EDTA adicionadas de HAV e parvovírus B19. Estas amostras foram testadas a uma concentração alvo de aproximadamente 3 × LoD e a respetiva corrida foi executada em pools de uma (não diluídas). O estudo foi realizado utilizando o sistema **cobas**® 8800 com o equipamento **cobas**® p 680 (pipetagem e pooling).

Os resultados do estudo determinaram que todas as réplicas eram reativas para o parvovírus B19, originando uma taxa de falha global do sistema de 0%. O intervalo de confiança bilateral exato de 95% foi de 0% para o limite inferior e de 3,62% para o intervalo superior [0%: 3,62%].

Os resultados do estudo determinaram que 99 em 100 réplicas eram reativas para HAV, originando uma taxa de falha global do sistema de 1%. O intervalo de confiança bilateral exato de 95% foi de 0% para o limite inferior e de 5,45% para o intervalo superior [0%: 5,45%].

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada do teste **cobas**® DPX foi determinada ao testar 239 réplicas de tampão de controlo negativo e 223 réplicas de uma amostra do parvovírus B19 de título elevado a 1,00E+08 UI/ml. O estudo foi realizado utilizando o sistema **cobas**® 8800. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 239 réplicas do tampão de controlo negativo foram não reativas, originando uma taxa de contaminação cruzada de 0%. O intervalo de confiança bilateral exato de 95% foi de 0% para o limite inferior e de 1,53% para o intervalo superior [0%: 1,53%].

Desempenho clínico

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do **cobas**® DPX foi estabelecida testando um painel de 16 membros, composto por dois plasmas negativos relativamente a HAV e inferiores ao limite inferior de quantificação (LLOQ) para o parvovírus B19, assim como por 14 amostras de plasma positivas constituídas por duas amostras positivas relativamente a HAV em cada uma das 3 concentrações diferentes (aproximadamente 0,5 ×, 1,0 × e 3,0 × LoD do **cobas**® DPX relativamente a HAV) e por duas amostras do parvovírus B19 em cada uma das 4 concentrações diferentes (variando de 10^3 a 10^6 UI/ml).

Os operadores em cada um dos três locais do **cobas**® DPX realizaram cinco dias de testes, utilizando 3 lotes de reagentes do **cobas**® DPX para obter dois batches válidos por dia. Foram testadas duas réplicas por concentração para produzir até 180 testes por vírus de membro de painel em cada um das três concentrações de HAV e em cada uma das quatro concentrações para o parvovírus B19.

Relativamente a HAV, foram analisados todos os batches e resultados de testes válidos calculando a percentagem de resultados de teste reativos para cada membro do painel e a percentagem de resultados não reativos para o painel negativo de controlo (Tabela 25). Este estudo demonstrou que o **cobas**® DPX revela um desempenho reprodutível ao longo das variáveis avaliadas (lote, local/equipamento, dia, batch e dentro de batch) em cada uma das três concentrações de HAV diferentes testadas.

Tabela 25 Resultados de testes de HAV resumidos por local/equipamento, lote, dia e batch (membros positivos do painel)

				Número de testes reativos/Número total de resultados válidos											
Concentração de HAV	Ct médio	Ct DP	CV% de Ct	Lote			Local/equipamento			Dia			Batch		
				ID	Reativo/ Válido	%	ID	Reativo/ Válido	%	ID	Reativo/ Válido	%	ID	Reativo/ Válido	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Nota: Ct = limite do ciclo.

Todos os batches e resultados de teste válidos foram analisados relativamente ao parvovírus B19 calculando o desvio padrão para cada uma das variáveis (lote, local/equipamento, dia, batch e dentro do batch) e o desvio padrão de precisão total para cada uma das concentrações B19 (Tabela 26). Este estudo demonstrou que o **cobas**® DPX revela um desempenho reprodutível ao longo das variáveis avaliadas (lote, local/equipamento, dia, batch e dentro de batch) em cada uma das quatro concentrações do parvovírus B19 diferentes testadas.

Tabela 26 Resultados de testes do parvovírus B19 resumidos por local/equipamento, lote, dia e batch (membros positivos do painel)

Concentração de ADN de B19 esperada (log_{10} UI/ml)	Concentração de ADN de B19 esperada (UI/ml)	Concentração média de ADN de B19 (log_{10} UI/ml)	Concentração média lognormal de ADN de B19 (UI/ml)[a]	N.º de testes[b]	Lote	Local/ equip.	Dia	Batch	Dentro do batch	Desvio padrão total da concentração de ADN de B19 log_{10}
3,000	1.000	3,09	1252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10.000	4,04	11.008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100.000	5,04	111.745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1.000.000	6,08	1.216.471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

[a] Média lognormal = $10^{\hat{\mu}+\hat{\sigma}^2 \bullet 1.151}$ onde a média e o desvio padrão são estimados a partir de efeitos aleatórios de modelos de componentes de variância.

[b] Número de testes com carga viral detetável. Foram planificados pelo menos 180 testes/membros do painel. Não foram repetidos testes inválidos.

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Plasma*
Quantidade de amostra necessária	1000 µl
Quantidade de amostra processada	850 µl

* Os tubos utilizados para os testes podem ter volumes mortos diferentes e poderão precisar de mais ou menos volume mínimo. Para mais informações, contacte o representante local da assistência da Roche.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 27 Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

Age/DOB	Idade ou data de nascimento		Dispositivo não para testagem junto do paciente	QS IU/PCR	UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
SW	Software auxiliar		Dispositivo não se destina a autodiagnóstico		
Assigned Range [copies/mL]	Intervalo atribuído (cópias/ml)		Distribuidor *(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)*	SN	Número de série
Assigned Range [IU/mL]	Intervalo atribuído (UI/ml)		Não reutilizar	Site	Centro
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Mulher	Procedure Standard	Procedimento padrão
BARCODE	Folha de dados de códigos de barras		Apenas para avaliação do desempenho IVD	STERILE EO	Esterilizado com óxido de etileno
LOT	Número do lote	GTIN	Global Trade Item Number		Armazenar no escuro
	Risco biológico		Importador		Limite de temperatura
REF	Número de catálogo	IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*	TDF	Ficheiro de definição de teste
CE	Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*	LLR	Limite inferior do intervalo atribuído		Este lado para cima
			Homem	Procedure UltraSensitive	Procedimento ultrassensível
Collect Date	Data da colheita		Fabricante	UDI	Identificador único do dispositivo
	Consulte as instruções de utilização	CONTROL −	Controlo negativo	ULR	Limite superior do intervalo atribuído
Σ	Conteúdo suficiente para <*n*> testes	NON STERILE	Não esterilizado	Urine Fill Line	Linha de enchimento da urina
CONTENT	Conteúdo do kit		Nome do paciente	Rx Only	Para os EUA: Atenção: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um médico ou a pedido deste.
CONTROL	Controlo		Número do paciente		
	Data de fabrico		Abra aqui		Prazo de validade
	Dispositivo para testagem junto do paciente	CONTROL +	Controlo positivo		
	Dispositivo de autodiagnóstico	QS copies / PCR	Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.		

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência), entre em contacto com a sua filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabela 28 Fabricante e importador

Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876, USA
www.roche.com

Fabricado nos EUA

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

Consulte https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents

Direitos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

CE
2797

Bibliografia

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother*. 2010;37:339-50.
2. Molenaar-de Backer MW, Lukashov VV, van Binnendijk RS, Boot HJ, Zaaijer HL. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PloS One*. 2012;7:e43206.
3. Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol*. 2002;76:9124-34.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
5. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135:1354-62.
6. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1564-75.
7. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric parvovirus B19: spectrum of clinical manifestations. *Cutis*. 2013;92:179-84.
8. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-97.
9. Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, et al. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol*. 2011;21:24-31.
10. Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46:1975-8.
11. Lassen J, Jensen AK, Bager P, et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:803-7.
12. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011;118:175-86.
13. Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jenum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. *BJOG*. 2009;116:1492-8.
14. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion*. 2007;47:1756-64.
15. Thomas I, Di Giambattista M, Gérard C, et al. Prevalence of human erythrovirus B19 DNA in healthy Belgian blood donors and correlation with specific antibodies against structural and non-structural viral proteins. *Vox Sang*. 2003;84:300-7.
16. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol*. 2004;78:12169-78.
17. Plentz A, Hahn J, Knöll A, et al. Exposure of hematologic patients to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion*. 2005;45:1811-5.

18. Lee TH, Kleinman SH, Wen L, et al. Distribution of parvovirus B19 DNA in blood compartments and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 2011;51:1896-908.

19. Koppelman MH, Cuypers HT, Emrich T, Zaaijer HL. Quantitative real-time detection of parvovirus B19 DNA in plasma. *Transfusion*. 2004;44:97-103.

20. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*. 2009;114:3677-83.

21. Wu C-G, Mason B, Jong J, et al. Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2005;45:1003-10.

22. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*. 1996;93:714-9.

23. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, et al. Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost*. 1996;76:1120.

24. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang*. 2001;81:228-35.

25. Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting-factor concentrates. *Lancet*. 1983;2:482-4.

26. Azzi A, Ciappi S, Zakvrzewska K, et al. Human parvovirus B19 infection in hemophiliacs first infused with two high-purity, virally attenuated factor VIII concentrates. *Am J Hematol*. 1992;39:228-30.

27. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*. 2002;42:1473-81.

28. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion*. 2000;40:1203-6.

29. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion*. 1997;37:517-22.

30. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, et al. Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion*. 2007;47:883-9.

31. Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. *Hepatology*. 2006;43:S164-72.

32. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012;86:1027-34.

33. Keeffe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable diseases. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-37.

34. Vaughan G, Goncalves Rossi LM, Forbi JC, et al. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol*. 2014;21:227-43.

35. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99.

36. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion-transmitted hepatitis A virus. *Transfusion*. 2004;44:1555-61.

37. Diwan AH, Stubbs JR, Carnahan GE. Transmission of hepatitis A via WBC-reduced RBCs and FFP from a single donation. *Transfusion*. 2003;43:536-40.

38. Normann A, Jung C, Vallbracht A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia and viral load in the blood of human hepatitis A patients. *J Med Virol*. 2004;72:10-6.

39. Soucie JM, Robertson BH, Bell BP, McCaustland KA, Evatt BL. Hepatitis A virus infections associated with clotting factor concentrate in the United States. *Transfusion*. 1998;38:573-9.

40. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B, et al. A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol*. 1999;57:91-9.

41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B19-induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfected with hepatitis A and E viruses. *J Trop Pediatr*. 2009;55:335-7.

42. Ozçay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infections in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol*. 2006;17:148-50.

43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, Tripathi G, Dhole TN. Coinfection of parvovirus b19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:649-50.

44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, et al. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion*. 2014;54:2202-6.

45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. Poster SP395 presented at: ABB Annual Meeting and CTTXPO; 2013 October 12-15; Denver, CO. *Transfusion*. 2013;53(Suppl 2):211A.

46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests, for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang*. 2013;104:19-29.

47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Updated July 2009; Accessed: 09 September 2022. https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry---Nucleic-Acid-Testing--to-Reduce-the-Possible-Risk-of-Parvovirus-B19-Transmission-by-Plasma-Derived-Products.pdf.

48. Council of Europe. Human anti-D immunoglobulin (monograph 0557) (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration (monograph 1527) (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/7/2004). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.

49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.

50. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.

51. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.

52. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.

53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.

54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.

55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.

56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 2.0 12/2024	Adicionado o equipamento **cobas**® 5800 ao longo do documento. Informações de marcas e de registo atualizadas em todo o documento. Secção **Princípios do procedimento** atualizada. Secção **Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas**® **5800** adicionada. Secção **Materiais adicionais necessários para o sistema cobas**® **5800** adicionada. Secção **Equipamentos e software necessários** atualizada. Secção **Precauções e requisitos de manuseamento** atualizada. Secção **Instruções de utilização** atualizada. Secção **Resultados** atualizada e secção **Equivalência dos sistemas/comparação dos sistemas** adicionada. Rx Only removido da primeira página. Atualizada a página de símbolos harmonizados. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link: https://ec.europa.eu/tools/eudamed