

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA

IVD Para utilização em diagnóstico *in vitro* no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System

Para obter mais informações sobre atualizações do folheto informativo, aceder a: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx HBV Quant Assay é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do ADN do vírus da hepatite B (VHB) em espécimes de soro e plasma humano para genótipos A a H do VHB de indivíduos infetados com VHB. O NeuMoDx HBV Quant Assay implementado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]) integra a extração automatizada do ADN para isolar ácidos nucleicos-alvo de espécimes e de reações em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), tendo como alvo as sequências altamente conservadas do genoma viral da hepatite B.

O NeuMoDx HBV Quant Assay destina-se a ser utilizado como um auxiliar na gestão de pacientes com infeções por VHB. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay devem ser interpretados no contexto de todos os resultados clínicos e laboratoriais relevantes. O NeuMoDx HBV Quant Assay não se destina a ser utilizado como teste de rastreamento de sangue ou de produtos sanguíneos ou como ferramenta de diagnóstico para diagnosticar o estado clínico da infeção por VHB.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos estéreis para colheita de sangue que contém ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou ácido-citrato-dextrose (ACD) como agentes anticoagulantes ou em tubos para preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser utilizado na preparação do plasma, enquanto o soro deve ser colhido em tubos de colheita ou de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Para preparar o teste, o plasma ou o soro num tubo de espécime secundário ou o sangue fracionado num tubo de espécime primário compatíveis com o NeuMoDx System são carregados no NeuMoDx System, utilizando um transportador de tubos de espécime designado. Por cada espécime, uma alíquota da amostra de soro ou plasma é misturada com o NeuMoDx Lysis Buffer 1 e o NeuMoDx System desempenha automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o ADN isolado para uma amplificação de PCR em tempo real e, se presente, amplificar e detetar os produtos de amplificação (secções do genoma VHB-alvo na região altamente conservada a codificar a *proteína X* e a *proteína pré-C*). O NeuMoDx HBV Quant Assay inclui um controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) de ADN para ajudar a monitorizar a presença de possíveis substâncias inibidoras, assim como falhas do reagente ou do NeuMoDx System que podem acontecer durante o processo de extração e amplificação.

O vírus da hepatite B (VHB) é o agente causador da infeção no fígado por hepatite B e é um problema de saúde global. A hepatite B pode causar uma hepatite aguda ou progredir para uma condição crónica, resultando numa cirrose ou cancro do fígado. O risco de desenvolvimento de uma condição crónica está relacionado principalmente com a idade. Se o vírus for transmitido à nascença, há uma hipótese >90% de a condição crónica se desenvolver. Se o paciente infetado for adulto, a possibilidade de a condição crónica se desenvolver é de 2 a 6%.¹ O VHB é transmitido por contacto sanguíneo com uma pessoa infetada, por transmissão sexual, pela partilha de agulhas com uma pessoa infetada no consumo de drogas injetáveis ou por transmissão vertical da mãe para o filho durante o parto. Nos Estados Unidos da América, cerca de 850 000 pessoas vivem com infeção por VHB, sendo que a maioria das novas infeções resulta da transmissão sexual ou da utilização de drogas injetáveis². Em África e no Pacífico Ocidental, sabe-se que até 5% da população está infetada. Em todo o mundo, durante o ano de 2015, as infeções por VHB foram a causa de morte de 885 000 pessoas, a maioria devido a cirrose ou carcinoma hepatocelular.³ Existe uma vacina com uma eficácia de 95% na prevenção da infeção por VHB, resultando num número menor de casos diagnosticados por ano.⁴

O atual padrão de cuidados para a infeção por VHB é a terapia antiviral, que requer monitorização constante para assegurar que o tratamento está a progredir como desejado. A monitorização da terapia utilizando o NeuMoDx HBV Quant Assay pode fornecer aos médicos as informações necessárias para auxiliar na gestão de pacientes com infeções por VHB.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx HBV Quant Assay combina a extração, amplificação e deteção automatizadas de ADN por meio de PCR em tempo real. Os espécimes de sangue total são colhidos em tubos EDTA, ACD ou PPT para a preparação de plasma e/ou em tubos SST para a preparação de soro. O espécime de sangue primário (fracionado) ou uma alíquota de plasma/soro num tubo de espécime secundário compatível é etiquetado com um código de barras e carregado no NeuMoDx System. O NeuMoDx System aspira automaticamente uma alíquota do plasma/soro para misturar com NeuMoDx Lysis Buffer 1 e com os agentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate para iniciar o processamento. O NeuMoDx System automatiza e integra extração e concentração de ADN, preparação de reagentes e amplificação/deteção de ácidos nucleicos das sequências-alvo utilizando PCR em tempo real. O controlo de processo de amostra (Sample Process Control, SPC1) incluído ajuda a monitorizar a presença de substâncias inibidoras e falhas de sistema, processo ou reagentes. Não é necessária qualquer intervenção do operador depois de o espécime ser carregado no NeuMoDx System.

O NeuMoDx System utiliza uma combinação de calor, enzimas líticas e reagentes de extração para desempenhar automaticamente a lise, a extração de ADN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem, utilizando o NeuMoDx Wash Reagent. O ADN ligado é então eluído utilizando o NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System utiliza o ADN eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados que contêm todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos de VHB e SPC1. Isto permite a amplificação e deteção simultâneas de sequências de ADN de controlo e alvo. Depois da reconstituição dos reagentes de PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR numa câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A amplificação e deteção das sequências de ADN de controlo e alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para conter o amplificação decorrente da PCR, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos amplificados são detetados em tempo real, utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referida como química TaqMan®) com moléculas de sondas fluorogénicas de oligonucleotídeos específicas dos amplicões dos seus respetivos alvos. As sondas TaqMan consistem num fluoróforo covalentemente ligado à extremidade de 5' da sonda de oligonucleotídeos e num supressor na extremidade de 3'. Enquanto a sonda está intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora extinga a fluorescência emitida pelo fluoróforo via Transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram concebidas de forma a hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a Polimerase Taq de ADN expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Polimerase Taq de ADN degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda liberta o fluoróforo e quebra a sua proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido ao FRET e permitindo a deteção do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante, detetado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx System é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de alvo presente.

Uma sonda TaqMan marcada com um fluoróforo (excitação: 490 nm e emissão: 521 nm) na extremidade de 5' e um supressor de fluorescência na extremidade de 3' é utilizada para detetar ADN do VHB. Para deteção do SPC1, a sonda TaqMan é marcada com um marcador fluorescente alternativo (excitação: 535 nm e emissão: 556 nm) na extremidade de 5' e um supressor de fluorescência na extremidade de 3'. O software do NeuMoDx System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação estiver concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e comunica um resultado final (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]/NO RESULT [SEM RESULTADOS]). Se um resultado for positivo e a concentração calculada se encontrar dentro dos limites de quantificação, o software do NeuMoDx System fornece também um valor quantitativo associado à amostra.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos contendo iniciadores e sonda TaqMan específicos do VHB e do SPC1</i>	6	16	96

Materiais necessários, mas não fornecidos (disponibilizados em separado pela NeuMoDx)

REF	Conteúdo
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzimas líticas e controlos de processo de amostra secos</i>
800100 ou 800102	NeuMoDx HBV Calibrators <i>Conjuntos de utilização única de calibradores altos e baixos de VHB para estabelecer a validade da curva de calibração</i>
900101 ou 900102	NeuMoDx HBV External Controls <i>Conjuntos de utilização única de controlos positivos e negativos</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pontas Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros

Instrumentos necessários

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx HBV Quant Test Strip destina-se apenas para utilização em diagnóstico *in vitro* com NeuMoDx Systems.
- Não utilizar os reagentes ou consumíveis depois da data de validade indicada.
- Não utilizar quaisquer reagentes que tenham o selo de segurança aberto ou cuja embalagem tenha sido danificada ao chegar ao destino.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes cuja bolsa protetora tenha sido aberta ou danificada ao chegar ao destino.
- Deve estar disponível uma calibração de teste válida (gerada através do processamento de calibradores altos e baixos dos NeuMoDx HBV Calibrators) antes de os resultados de teste poderem ser gerados para as amostras clínicas.
- Os NeuMoDx HBV External Controls devem ser processados a cada 24 horas ao longo dos testes com o NeuMoDx HBV Quant Assay.
- O volume mínimo do espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do processamento do volume do espécime, tal como definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- A utilização de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou para além dos períodos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou erróneos.
- Evitar sempre a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Se forem utilizados tubos secundários, é recomendada a utilização de pipetas de transferência descartáveis estéreis e isentas de DNase. Utilizar uma nova pipeta para cada espécime.
- Para evitar a contaminação, não manusear nem destruir um NeuMoDx Cartridge após a amplificação. Não recuperar NeuMoDx Cartridges do contentor de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) em quaisquer circunstâncias. O NeuMoDx Cartridge foi concebido para prevenir a contaminação.
- Nos casos em que são também realizados em laboratório testes de PCR de tubo aberto, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx HBV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para teste, o equipamento de proteção individual como luvas e batas de laboratório e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- Devem ser utilizadas luvas de nitrilo, sem pó e limpas durante o manuseio de reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter especial cuidado para não tocar na parte superior da superfície do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx HBV Quant Test Strip, na NeuMoDx Extraction Plate ou na parte superior da superfície do NeuMoDx Lysis Buffer 1. O manuseamento dos consumíveis e reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- São fornecidas fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS) para cada reagente (conforme aplicável) em www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavar muito bem as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipetar com a boca. Não fumar, beber ou comer em áreas onde estiverem a ser manuseados espécimes ou reagentes.
- Manusear sempre os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com os procedimentos laboratoriais de segurança, tal como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ e no documento M29-A4 do CLSI.⁶
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, regionais e locais.
- Não reutilizar.

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx HBV Quant Test Strips permanecem estáveis dentro da embalagem primária até à data de validade indicada na etiqueta do produto, quando armazenadas a temperaturas entre 4 e 28 °C.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não utilizar qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária tiver danos visíveis.
- Não carregue novamente qualquer produto de teste que tenha sido previamente carregado noutra NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx HBV Quant Test Strip pode permanecer a bordo do NeuMoDx System durante 62 dias. O prazo de validade restante de tiras de teste carregadas é controlado pelo software e comunicado ao utilizador em tempo real. O sistema irá solicitar a remoção das tiras de teste que tenham sido utilizadas para além do período permitido.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes, calibradores e controlos como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congele espécimes de sangue total ou quaisquer outros armazenados em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis, utilizando EDTA ou ACD como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante do tubo para colheita de espécimes relativamente à preparação e ao armazenamento.

4. Para preparar espécimes de soro, o sangue total deve ser colhido em tubos SST. Siga as instruções do fabricante do tubo para colheita de espécimes relativamente à preparação e ao armazenamento.
5. Os espécimes podem ser testados em tubos de colheita primários ou em tubos de espécime secundários. Recomendado para testes de tubos primários:
 - a. Espécimes de plasma: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) ou BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Espécimes de soro: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) ou BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Os espécimes preparados podem ser armazenados no NeuMoDx System até 8 horas no caso do plasma e 24 horas no caso do soro, antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
7. Os espécimes preparados devem ser armazenados a temperaturas entre 2 e 8 °C até 7 dias antes do teste e durante um máximo de 8 horas no caso do plasma e 24 horas no caso do soro, à temperatura ambiente.
8. Os espécimes preparados podem ser armazenados a ≤ -20 °C até 4 semanas (soro) ou 6 meses (plasma) antes do processamento. Os espécimes congelados não devem passar por mais do que 2 ciclos de congelamento/descongelamento no caso do plasma e 4 ciclos de congelamento/descongelamento no caso do soro, antes da sua utilização.
 - a. Se as amostras estiverem congeladas, permitir que descongelem à temperatura ambiente (15-30 °C); agitar para gerar uma amostra uniformemente distribuída.
 - b. Assim que as amostras congeladas estiverem descongeladas, o teste deverá ocorrer num espaço de 24 horas.
 - c. Não é recomendado o congelamento de plasma/soro em tubos de colheita primários.
9. Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e etiquetados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
10. Etiquetar claramente os espécimes e indicar que são para testes de VHB.
11. Avançar para a secção *Preparação para teste*.

O processo geral para implementação do NeuMoDx HBV Quant Assay está resumido abaixo na *Figura 1*.

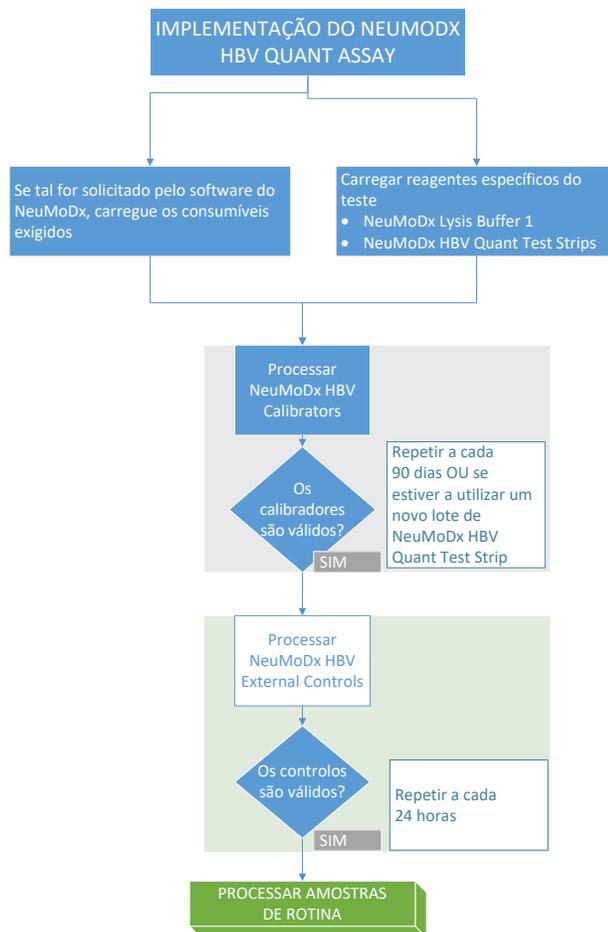


Figura 1: Fluxo de trabalho da implementação do NeuMoDx HBV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste

O NeuMoDx HBV Quant Assay pode ser processado diretamente a partir de tubos de colheita de sangue primários ou de alíquotas de espécimes em tubos secundários. O processamento pode ser executado utilizando um de dois fluxos de trabalho de processamento de volumes de espécimes – fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 μ L ou fluxo de trabalho de processamento de espécimes de 200 μ L. Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.

1. Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System. O tubo de colheita de sangue primário pode ser etiquetado e colocado diretamente num transportador de tubos de espécime de 32 tubos, após a centrifugação, conforme indicado pelo fabricante. Em alternativa, uma alíquota do plasma/soro pode ser transferida para um tubo secundário para processamento no NeuMoDx System.
2. Se estiver a testar o espécime no tubo de colheita primário, colocar o tubo etiquetado com código de barras num transportador de tubos de espécime e garantir que a tampa é removida antes de o carregar no NeuMoDx System. Os volumes mínimos **acima** da camada de gel/leucoplaquetária estão descritos abaixo e serão cumpridos se os espécimes forem colhidos e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. Não é garantido o desempenho em espécimes colhidos de forma desadequada.

Tipo de tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
	Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 200 µL
SST – 3,5 mL	1550 µL	1200 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1450 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2200 µL
K ₂ EDTA/Soro – 4,0 mL	1050 µL	700 µL
K ₂ EDTA/Soro – 6,0 mL	1250 µL	900 µL
K ₂ EDTA/Soro – 10,0 mL	1600 µL	1250 µL

3. Caso esteja a utilizar um tubo secundário, transferir uma alíquota do plasma/soro para um tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System conforme os volumes definidos abaixo:

Transportador de tubos de espécime	Tamanho do tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
		Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 200 µL
32-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 32 tubos)	Diâmetro entre 11–14 mm e altura entre 60–120 mm	700 µL	400 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 24 tubos)	Diâmetro entre 14,5–18 mm e altura entre 60–120 mm	1100 µL	800 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de baixo volume)	Tubo de microcentrifuga com base cónica de 1,5 mL	650 µL	300 µL

Operação dos NeuMoDx Systems

Para obter instruções detalhadas, consultar os Manuais do Operador do NeuMoDx 288 Molecular System e do NeuMoDx 96 Molecular System (P/N 40600108 e 40600317)

- Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o fluxo de trabalho de processamento de volume de espécimes e o tipo de tubo de espécime desejados:
 - São testados 550 µL de volume de espécime, definindo o tipo de espécime como "**Plasma**" ou "**Serum**" (Soro)
 - São testados 200 µL de volume de espécime, definindo o tipo de espécime como "**Plasma2**" ou "**Serum2**" (Soro2)
 - Caso não seja definido no pedido de teste, será utilizado o tipo de espécime **Plasma** num **Secondary Tube** (Tubo secundário) como predefinição
- Preencher um ou mais transportadores de NeuMoDx System Test Strips com a(s) NeuMoDx HBV Quant Test Strip(s) e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
- Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicionar os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
- Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, substituir o NeuMoDx Wash Reagent, o NeuMoDx Release Reagent, esvaziar os resíduos de iniciação, o contendor de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), o recipiente de resíduos de pontas (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
- Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, processar os NeuMoDx HBV Calibrators e/ou NeuMoDx HBV External Controls. Podem ser encontradas mais informações acerca dos calibradores e controlos na secção *Processamento de resultados*.
- Carregar o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controlo num transportador de tubos de espécime e garantir que as tampas foram removidas de todos os tubos.
- Colocar o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira do carregador automático e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Tal irá iniciar o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que esteja presente no sistema um pedido de teste válido.

LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx HBV Quant Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx Systems.
2. O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados com EDTA/ACD como anticoagulantes ou para espécimes de soro preparados em tubos de separação de soro. A utilização da NeuMoDx HBV Quant Test Strip com outras fontes não foi avaliada e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécimes.
3. O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi estabelecido para testes de tubos primários utilizando BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube e BD Vacutainer SST Tube.
4. Foi observado um pequeno aumento no limite de detecção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay ao utilizar um fluxo de trabalho de volume de espécimes de 200 µL.
5. O NeuMoDx HBV Quant Assay deve ser apenas utilizado para efeitos de monitorização quantitativa. Não deve ser utilizado para a detecção qualitativa.
6. O NeuMoDx HBV Quant Assay não deve ser utilizado com amostras humanas heparinizadas.
7. Uma vez que a detecção do VHB está dependente do número de partículas de ADN-alvo presentes na amostra, a obtenção de resultados fiáveis depende da colheita, do tratamento e do armazenamento adequados do espécime.
8. Os NeuMoDx HBV Calibrators e os NeuMoDx HBV External Controls devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos quando solicitado pelo software do NeuMoDx System, antes do processamento de amostras clínicas de rotina.
9. Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento e ao armazenamento inadequados dos espécimes, a erros técnicos ou à confusão de tubos de espécime. Para além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos porque o número de partículas virais presente na amostra está abaixo do limite de detecção do NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. A operação do NeuMoDx System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx System.
11. Se ambos os alvos de VHB e SPC1 não se amplificarem, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultados] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
12. Se o resultado do NeuMoDx HBV Quant Assay for Positivo (Positivo), mas o valor de quantificação exceder os limites de quantificação, o NeuMoDx System irá comunicar se o VHB detetado está *abaixo* do Limite inferior de quantificação (LIdQ) ou *acima* do Limite superior de quantificação (LSdQ).
13. Se o VHB detetado estiver *abaixo* do LIdQ, o ensaio pode ser repetido (se pretendido) com outra alíquota do espécime.
14. Se o VHB detetado estiver *acima* do LSdQ, o NeuMoDx HBV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:1000 em plasma negativo para VHB ou Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:
$$\text{concentração do espécime original} = \log_{10}(\text{fator de diluição}) + \text{concentração comunicada da amostra diluída}$$
15. A presença ocasional dos inibidores de PCR em plasma pode resultar num erro de quantificação do sistema. Se isto ocorrer, é recomendável que repita o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
16. Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de ADN do vírus da hepatite B.
17. As eliminações ou mutações nas regiões conservadas que são o alvo do NeuMoDx HBV Quant Assay podem afetar a detecção ou originar um resultado erróneo ao utilizar a NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay podem ser utilizados como complemento às observações clínicas e outras informações disponíveis para o médico. O ensaio não foi concebido para o diagnóstico da infeção.
19. São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes, de forma a evitar a contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos a partir do separador "Results" (Resultados) na janela Results (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx System. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx System, utilizando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no ficheiro de definição de ensaio do NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV Assay Definition File, HBV ADF). Um resultado pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive with a reported HBV concentration (Positivo com uma concentração de VHB comunicada), Positive above ULoQ (Positivo acima do LSdQ), Positive below LLoQ (Positivo abaixo do LIdQ), Indeterminate (Indeterminado, IND), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou No Result (Sem Resultados, NR), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controlo de processo de amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão do ADF, resumido na *Tabela 1* abaixo.

Tabela 1: Resumo do algoritmo de decisão do HBV Quant Assay

RESULTADO	Alvo do VHB	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)	Interpretação de resultados
Positive with Reported Concentration (Positivo com concentração comunicada)	Amplified (Amplificado) 0,9 ≤ [VHB] ≤ 9,0 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 550 µL) 1,4 ≤ [VHB] ≤ 9,0 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 200 µL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do VHB detetado dentro do intervalo quantitativo
Positive, above ULoQ (Positivo, acima do LsdQ)	Amplified (Amplificado) [VHB] > 9,0 log ₁₀ UI/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do VHB detetado acima do intervalo quantitativo
Positive, below LLoQ (Positivo, abaixo do LidQ)	Amplified (Amplificado) [VHB] < 0,9 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 550 µL) [VHB] < 1,4 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 200 µL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do VHB detetado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	ADN do VHB não detetado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Completed (Processamento de amostras concluído)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†
No Result (Sem resultados)*	Not Amplified (Não amplificado), System Error Detected (Erro do sistema detetado), Sample Processing Aborted (Processamento de amostras interrompido)		O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra†
Unresolved (Não resolvido)	Not Amplified (Não amplificado), No System Error Detected (Nenhum erro do sistema detetado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

*O sinalizador No Result (Sem resultados) é apenas comunicado nas versões 1.8 e superiores do software do NeuMoDx System

†O NeuMoDx System está equipado com a capacidade de Rerun (Reexecutar)/Repeat (Repetir) automática que o utilizador final pode optar por utilizar para assegurar que um resultado IND (Indeterminado) /UNR (Não resolvido) /NR (Sem resultados) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay, a concentração de ADN do VHB nas amostras é calculada utilizando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - O coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx HBV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão para um lote específico da NeuMoDx HBV Quant Test Strip num NeuMoDx System em particular.
 - O coeficiente de calibração está integrado na determinação final da concentração de ADN do VHB.
 - O software do NeuMoDx contabiliza o volume de entrada do espécime ao determinar a concentração de ADN do VHB por mL de espécime.
- Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay são comunicados em log₁₀ UI/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS para o VHB.

Calibração de teste

É necessária uma calibração válida com base na curva-padrão para quantificar o ADN do VHB presente nos espécimes. Para gerar resultados válidos, deve ser concluída uma calibração de teste utilizando os calibradores externos fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibradores

- Um conjunto de NeuMoDx HBV Calibrators necessita de ser processado com cada novo lote de NeuMoDx HBV Quant Test Strips, se for carregado um novo ficheiro de definição de ensaio VHB no NeuMoDx System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (definido atualmente em 90 dias) ou se o software do NeuMoDx System tiver sido modificado.
- O software do NeuMoDx System irá notificar o utilizador quando for necessário processar calibradores. Não é possível utilizar um novo lote de tiras de teste para análise até que os calibradores tenham sido processados com êxito.
- A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - É necessário processar um conjunto de dois calibradores – um (1) alto e um (1) baixo – de forma a estabelecer a validade.

- b) Pelo menos duas (2) das três (3) réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de $3,7 \log_{10}$ UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de $5,7 \log_{10}$ UI/mL.
 - c) É calculado um coeficiente de calibração para ter em conta a variação prevista entre lotes de tiras de teste. Este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final do VHB.
4. Se um ou ambos os calibradores falharem na verificação de validade, repetir o processamento do calibrador ou dos calibradores que falharam utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a validade, é possível repetir apenas o calibrador que falhou porque o sistema não necessita que o utilizador processe novamente ambos os calibradores.
 5. Se os calibradores falharem a verificação de validade consecutivamente, contactar a NeuMoDx Molecular, Inc.

Controlo de qualidade

Os regulamentos locais geralmente especificam que o laboratório é responsável pelos procedimentos de controlo que monitorizam o rigor e precisão de todo o processo analítico e deve estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controlo do teste, utilizando especificações verificadas de desempenho para um sistema de teste aprovado e não modificado.

Controlos externos

1. Os controlos externos positivos e negativos devem ser processados a cada 24 horas ao longo do teste com o NeuMoDx HBV Quant Assay. Se não existir um conjunto válido de resultados de controlos externos, o software do NeuMoDx System irá solicitar ao utilizador que estes controlos sejam processados antes de os resultados da amostra poderem ser comunicados.
2. A validade dos controlos externos irá ser avaliada pelo NeuMoDx System de acordo com o resultado previsto. O controlo positivo deve fornecer um resultado VHB Positivo (Positivo) e o controlo negativo um resultado VHB Negativo (Negativo).
3. O tratamento de resultados discrepantes de controlos externos deve ser realizado da seguinte forma:
 - a) Um resultado de teste Positivo (Positivo) para uma amostra de controlo negativo indica um problema de contaminação de espécimes.
 - b) Um resultado de teste Negativo (Negativo) para uma amostra de controlo positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c) Em ambos os casos acima ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado, IND) ou No Result (Sem resultados, NR), repetir os NeuMoDx HBV External Controls com novos frascos do controlo ou controlos que falharam o teste de validade.
 - d) Se um NeuMoDx HBV External Control positivo continuar a comunicar um resultado Negativo (Negativo), contactar a assistência técnica da NeuMoDx.
 - e) Se um NeuMoDx HBV External Control negativo continuar a comunicar um resultado Positivo (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a substituição de todos os reagentes, antes de contactar a assistência técnica da NeuMoDx.

Controlos (internos) do processo de amostra

Um controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) exógeno está integrado na NeuMoDx Extraction Plate e passa por todo o processo de extração do ácido nucleico e de amplificação PCR em tempo real com cada amostra. Estão também incluídos os iniciadores e a sonda específicos para o SPC1 em cada NeuMoDx HBV Quant Test Strip, permitindo a deteção do SPC1 em conjunto com o ADN alvo de VHB (se presente) via PCR em multiplex. A deteção da amplificação do SPC1 permite que o software do NeuMoDx System monitorize a eficácia dos processos de extração de ADN e de amplificação de PCR.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx HBV Quant Assay desempenhado no NeuMoDx System falhar na produção de um resultado válido a seguir à conclusão do processamento de amostras, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sem resultados, NR) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro que ocorreu.

Caso seja detetado um erro do NeuMoDx System durante o processamento da amostra, será comunicado um resultado IND (Indeterminado). Caso seja comunicado um resultado IND (Indeterminado), recomenda-se realizar um novo teste.

Será comunicado um resultado UNR (Não resolvido) se, na ausência de erros do sistema, não for detetada uma amplificação válida de ADN do VHB ou do SPC1, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Caso seja comunicado um resultado UNR (Não resolvido), recomenda-se, como primeiro passo, realizar um novo teste. Se o novo teste falhar, pode ser utilizada uma diluição de espécime para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

Se um NeuMoDx HBV Quant Assay efetuado no NeuMoDx System falhar na produção de um resultado válido e o processamento da amostra for abortado antes da conclusão, será comunicado como No Result (Sem resultados, NR). Caso seja comunicado um resultado NR (Sem resultados), recomenda-se realizar um novo teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de detecção utilizando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx HBV Quant Assay foi caracterizada testando espécimes negativos e uma série de diluições de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS em plasma e soro humano negativos analisados para determinar o Limite de detecção (LdD) nos NeuMoDx Systems. O LdD foi definido como o nível de alvo mais baixo detectado a uma taxa de 95% tal como determinado pela análise de estilo Probit. Os estudos foram realizados ao longo de 3 dias através de vários NeuMoDx Systems com vários lotes de reagentes NeuMoDx. Foi executado um estudo adicional para confirmar o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay ao utilizar o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 200 µL. As taxas de detecção de ambos os estudos são apresentadas na *Tabela 2*.

Tabela 2: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay

	Concentração do alvo [UI/mL]	Concentração do alvo [\log_{10} UI/mL]	PLASMA			SORO		
			Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
550 µL	20	1,30	108	108	100%	107	107	100%
	10	1	108	107	99%	108	104	96%
	5	0,70	108	98	91%	108	95	88%
	2,5	0,40	108	97	90%	108	72	67%
	1,25	0,10	108	73	68%	108	44	42%
	NEG	N/D	108	0	0%	107	0	0%
200 µL	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

O LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay para o genótipo A do VHB (4.º padrão internacional da OMS) em plasma foi determinado como sendo de 5,2 UI/mL (IC de 95% para 4,1 a 7,6 UI/mL) [(0,72 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% para 0,61 a 0,88 \log_{10} UI/mL)] ao utilizar o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL (*Figura 2*). O LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de soro foi determinado como sendo de 8,0 UI/mL (IC de 95% para 6,5 a 10,8 UI/mL) [(0,9 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% para 0,8 a 1,0 \log_{10} UI/mL)] ao utilizar o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL (*Figura 2*).

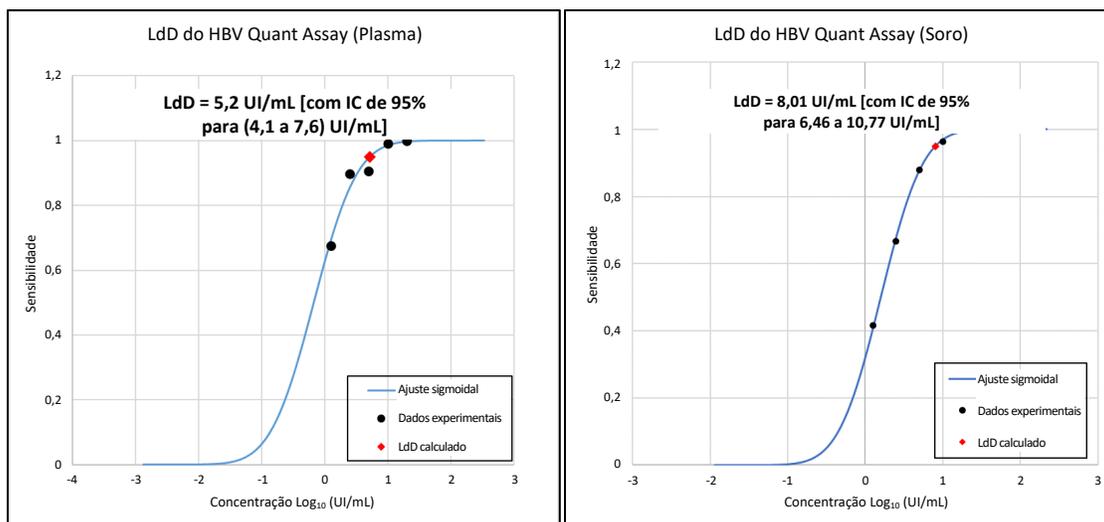


Figura 2: Análise de estilo Probit utilizada para determinar o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay, Plasma (à esquerda) e Soro (à direita)

Sensibilidade analítica – Limite de quantificação – Limite inferior de quantificação (LidQ) utilizando o padrão da OMS

O Limite inferior de quantificação (LidQ) é definido como o nível de alvo mais baixo a que uma detecção > 95% é atingida e o TAE é ≤ 1,0. Para determinar o LidQ, o erro analítico total (total analytical error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis do alvo de VHB que apresentaram uma detecção > 95% como parte do cálculo do LdD. O TAE é definido da seguinte forma:

$$\text{TAE} = \text{tendência} + 2 * \text{DP} \quad \text{[Estatística Westgard]}$$

A tendência é o valor absoluto da diferença entre a média da concentração calculada e a concentração prevista. O DP refere-se ao desvio-padrão do valor quantificado da amostra.

Os resultados compilados para os 5 níveis de espécimes do VHB utilizados no estudo de LIdQ de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS estão apresentados na *Tabela 3*. O LIdQ determinado de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS em plasma utilizando o NeuMoDx HBV Quant Assay (fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL) é de 5,5 UI/mL (0,74 log₁₀ UI/mL). Foi efetuado um estudo em separado para confirmar o LIdQ ao utilizar o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 200 µL e os respectivos resultados demonstraram um LIdQ de 25 UI/mL e são apresentados na *Tabela 3*.

O LIdQ do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de soro foi determinado como sendo de 6,0 UI/mL utilizando o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL e 25 UI/mL utilizando o fluxo de trabalho de baixo volume de espécimes (200 µL), conforme apresentado na *Tabela 3*.

Tabela 3: LIdQ do NeuMoDx HBV Quant Assay com tendência e TAE

	Conc. do alvo [UI/mL]	Conc. do alvo [log ₁₀ UI/mL]	Plasma					Soro				
			Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Deteção (%)	DP	Ten dência	TAE	Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Deteção (%)	DP	Ten dência	TAE
550 µL	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 µL	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Sensibilidade analítica – LdD e LIdQ entre genótipos do VHB

O LdD foi inicialmente estabelecido para o genótipo A (4.º padrão internacional da OMS) sendo depois realizados testes adicionais em torno do LdD estabelecido, utilizando cada um dos outros 7 genótipos. Foram testadas trinta e seis (36) réplicas em níveis correspondentes a 2X, 1X e 0,5X do limite superior do IC de 95% do LdD (~7 UI/mL), utilizando o NeuMoDx HBV Quant Assay com o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL. A taxa de percentagem positiva para cada um dos genótipos em cada um destes níveis testados foi tabelada e utilizada para calcular o LdD, utilizando uma análise de estilo Probit.

Foi também calculado o erro analítico total a estes níveis. O nível mais baixo com uma deteção positiva de 95% e o TAE calculado ≤1,0 foi novamente considerado como sendo o LIdQ do genótipo. Entre os genótipos, foi demonstrado que o limite de deteção do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de plasma utilizando o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL foi de 6,2 UI/mL (0,79 log₁₀ UI/mL) e que o LIdQ foi de 7,6 UI/mL (0,88 log₁₀ UI/mL), conforme apresentado na *Tabela 4*.

Tabela 4. Genótipos do VHB testados em plasma usando o fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL

GENÓTIPO	LdD [UI/mL]	LIdQ [UI/mL]
Genótipo A	5,2	5,2
Genótipo B	6,2	6,2
Genótipo C	3,5	6,2
Genótipo D	5,2	5,7
Genótipo E	3,5	3,5
Genótipo F	5,1	6,2
Genótipo G	3,5	3,5
Genótipo H	5,2	7,6

Com base no resultado destes estudos, o NeuMoDx indica um **LdD e um LIdQ de 25 UI/mL (1,4 log₁₀ UI/mL)** para o NeuMoDx HBV Quant Assay em **plasma e soro** utilizando o **fluxo de trabalho de volume de espécimes de 200 µL**.

O NeuMoDx indica um **LdD e um LIdQ de 8,0 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** para o NeuMoDx HBV Quant Assay em **plasma e soro** utilizando o **fluxo de trabalho de volume de espécimes de 550 µL**.

Sensibilidade analítica – Linearidade e determinação do limite superior de quantificação (LSdQ)

A linearidade e o limite superior de quantificação (LSdQ) do NeuMoDx HBV Quant Assay foram estabelecidos em plasma, preparando uma série de diluições utilizando amostras clínicas de VHB alto-positivo (Access Biologicals, Vista, CA) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS. Um painel de 11 membros foi preparado em plasma negativo para VHB agrupado em pools de forma a criar um painel de teste que abrangesse um intervalo de concentração de 9,02 a 1,02 log₁₀ UI/mL. O Painel de teste foi processado com 6 réplicas em cada nível por 2 NeuMoDx Systems e 3 lotes de reagentes críticos. O NeuMoDx HBV Quant Assay demonstrou a capacidade de quantificar o VHB num intervalo linear de 8 log₁₀ (incluindo pontos de decisão médica críticos) com um desvio de ±0,22 log₁₀ UI/mL. Nenhum benefício significativo foi obtido utilizando ajustes de regressão de 2.ª e 3.ª ordem. Utilizando os dados deste estudo, o LSdQ foi determinado como sendo de 9,02 log₁₀ UI/mL [Tabela 5 e Figura 3].

Tabela 5: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay (avaliado com o genótipo A)

Conc. do alvo (UI/mL)	Conc. do alvo (log ₁₀ UI/mL)	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Desvio-padrão	Tendência	Ajuste linear previsto	Desvio do ajuste não linear
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05E+06*	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

*Pontos de decisão médica próximos

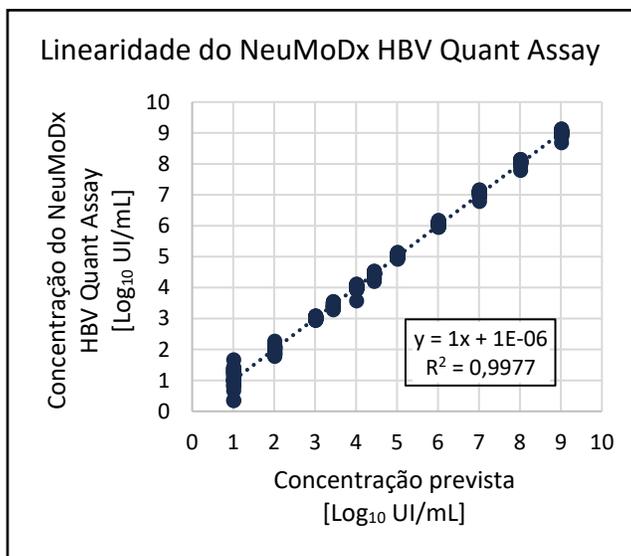


Figura 3: Intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay em plasma

Foi realizado um estudo subsequente para demonstrar a equivalência da matriz e a análise em comparação com os resultados quantitativos do NeuMoDx HBV para amostras preparadas em plasma e soro, utilizando dois modelos de ajuste de regressão diferentes, incluindo a ferramenta de regressão do MS Excel e de Passing-Bablok. Os resultados demonstraram uma correlação forte, representada por valores de inclinação e intersecção perto de 1,00 e 0,00, respetivamente, e um valor de R² de 0,99 (ferramenta de regressão do MS Excel) ou um valor p de 0,270 (Passing-Bablok). As concentrações do HBV Quant Assay comunicadas pelo NeuMoDx System para a matriz de plasma em comparação com as amostras de soro correspondentes estão apresentadas na Figura 4.

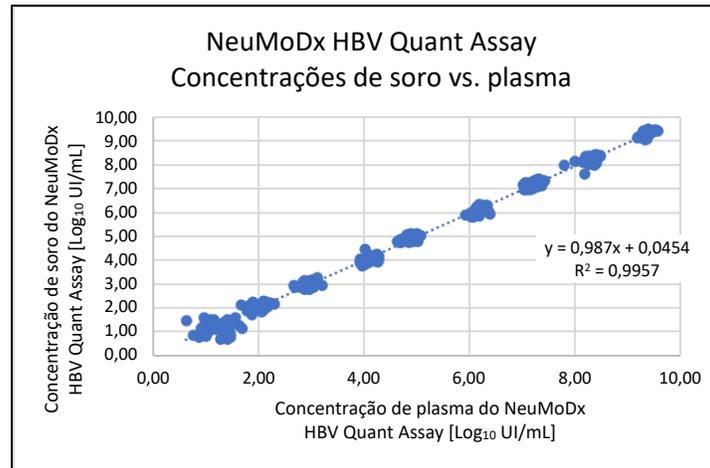


Figura 4: Intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay entre matrizes

A linearidade e o L_{SdQ} foram, em seguida, confirmados pelo fluxo de trabalho de 200 µL de volume de espécimes ao longo de um intervalo de 9,31 a 1,71 log₁₀ UI/mL. As comparações de equivalência foram efetuadas entre as concentrações comunicadas pelo NeuMoDx Software para os fluxos de trabalho de 200 µL e de 550 µL. As análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok apresentaram uma excelente correlação e uma inclinação próxima de 1 e interceções (tendências) mínimas das concentrações comunicadas para amostras de plasma e soro no intervalo linear. Uma comparação Bland-Altman entre a concentração comunicada para o fluxo de 200 µL de volume de espécimes e a concentração média comunicada para fluxos de trabalho de volume de espécimes de 200 µL e 550 µL apresentou uma tendência mínima, atribuindo exatidão ao algoritmo utilizado para gerar resultados para o fluxo de trabalho de 200 µL. Além disso, uma regressão linear simples comparando a concentração prevista com a concentração comunicada para o fluxo de trabalho de 200 µL teve uma inclinação próxima de 1, o que demonstra uma excelente correlação [Figura 5]. Consideradas em conjunto, estas comparações demonstram uma quantificação exata do VHB no intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay, utilizando o fluxo de trabalho de 200 µL de volume de espécimes.

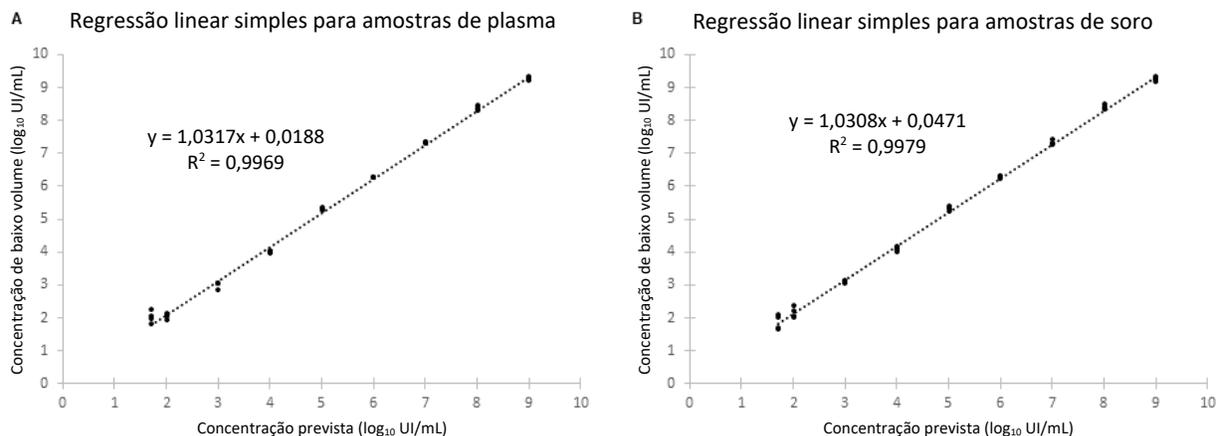


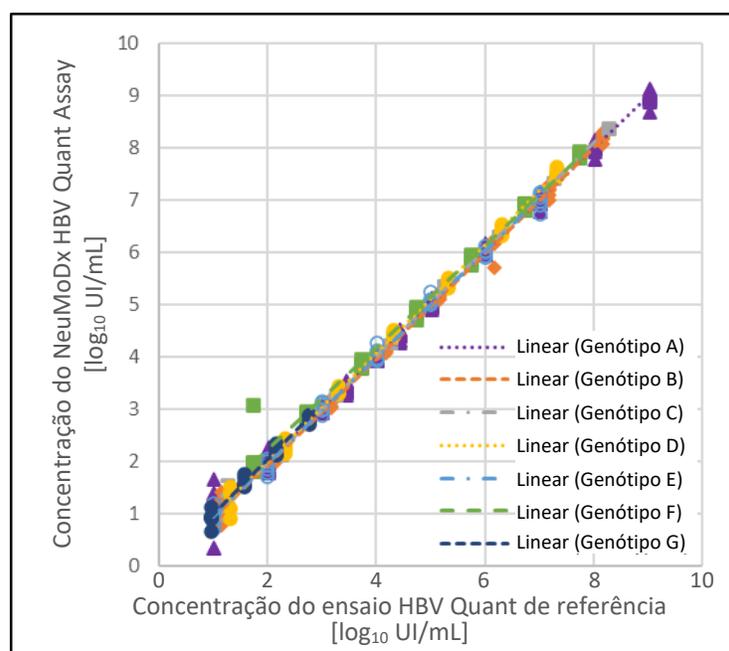
Figura 5: Relação linear entre as concentrações previstas e comunicadas pela NeuMoDx para o fluxo de trabalho de 200 µL em a) plasma e b) soro

Linearidade entre genótipos

A linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay em espécimes de plasma para os genótipos do VHB foi caracterizada através da análise de pelo menos quatro (4) concentrações diferentes de cada genótipo do VHB, preparadas em plasma negativo para VHB agrupado em pool. Os níveis testados do alvo VHB utilizado neste estudo estavam dependentes da concentração do espécime original e, por este motivo, variavam entre genótipos. O estudo foi realizado com cada genótipo a utilizar 6 réplicas em cada nível. A linearidade nos genótipos do VHB é apresentada na Tabela 6 e na Figura 6.

Tabela 6: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade y = Quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay x = Quantificação esperada	R ²
A	$y = 1x + 1E-06$	0,9977
B	$y = 1,0129x - 0,0964$	0,9975
C	$y = 1,0250x - 0,0898$	0,998
D	$y = 1,0379x - 0,0896$	0,9975
E	$y = 1,0182x - 0,096$	0,9956
F	$y = 0,9736x + 0,276$	0,9906
G	$y = 1,0547x - 0,0835$	0,9813


Figura 6: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay entre genótipos

Especificidade analítica e reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 32 organismos habitualmente presentes em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao VHB no que diz respeito à reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de entre 4 e 6 organismos e testados a uma elevada concentração. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 7*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx HBV Quant Assay.

Tabela 7: Patógenos utilizados para demonstrar a especificidade analítica – Reatividade cruzada

Adenovírus 2	Dengue V1	Hepatite A	HPV 16	Ilhéus (ILHV)	Febre amarela
Adenovírus 5	Dengue V2	Hepatite C	HPV 18	Influenza A	Vírus Zika
Vírus Banzi	Dengue V3	Vírus herpes humano 6a	HSV1	Parvo B19	
Vírus BK	Dengue V4	Vírus herpes humano 8	HSV 2	Rubéola	
Citomegalovírus	Vírus Epstein-Barr	HIV 1	HTLV 1	Encefalite de São Luís	
VZV	Vírus Vaccinia	HIV 2	HTLV 2	Vírus do Nilo Ocidental	

Substâncias interferentes – Organismos comensais

O NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado em relação a interferências na presença de organismos não-alvo, utilizando as mesmas pools de organismos que foram preparadas para o teste de especificidade analítica. Os organismos foram testados individualmente ou agrupados em pools de 4 a 6 organismos em plasma negativo para VHB analisado e enriquecidos com controles de VHB a uma concentração de 3,7 log₁₀ UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença destes organismos comensais, tal como indicado pelo desvio mínimo da quantificação dos espécimes de controle que não continham qualquer agente interferente. [Tabela 8].

Tabela 8: Teste de interferência – Organismos comensais

Organismos não alvo	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Grupo 1 [Vírus BK, Citomegalovírus, Vírus Epstein-Barr, Vírus herpes humano 6a, Vírus herpes humano 8]	3,51	0,10
Grupo 2 [Adenovírus 2, Adenovírus 5, Dengue V2, Dengue V3, Dengue V4]	3,38	0,22
Grupo 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilhéus (ILHV), Febre amarela, Vírus Zika]	3,62	0,06
Grupo 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengue V1]	3,57	0,04
Grupo 5 [Encef. São Luís, VZV, Vírus Vaccinia, Vírus do Nilo Ocidental]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Vírus Banzi	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubéola	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Substâncias interferentes – Substâncias endógenas e exógenas

O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas nos espécimes clínicos de plasma com VHB. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 9*. Cada uma das substâncias endógenas e exógenas listadas abaixo na *Tabela 10* foi adicionada a plasma humano negativo para VHB analisado e enriquecido com $3,7 \log_{10}$ UI/mL de VHB e os dados observados em relação à interferência. Além disso, foi também analisado plasma comum em estado de doença associada à infecção por hepatite B em relação a possíveis interferências.

Tabela 9: Teste de interferência – Agentes exógenos (classificação de medicamentos)

Pool	Medicamento	Classificação
1	Zidovudina (ZDV)	Inibidor da transcriptase reversa
	Saquinavir	Inibidor da protease do VIH
	Ritonavir	Inibidor da protease do VIH
	Claritromicina	Antibiótico
	Interferão alfa-2a	Modulador imune
	Interferão alfa-2b	Modulador imune
2	Sulfato de abacavir	Inibidor da transcriptase reversa
	Amprenavir	Inibidor da protease
	Ribavirina	Modulador imune
	Entecavir	Antiviral do VHB
	Fluoxetina	Antidepressivo ISRS
	Cloridrato de valaciclovir	Antiviral
3	Tenofovir disoproxil	Antiviral do VHB/VIH
	Lamivudina	Antiviral do VHB/VIH
	Ganciclovir	Antiviral do CMV
	Valganciclovir	Antiviral do CMV
	Nevirapina	Inibidor da transcriptase reversa
4	Efavirenz	Inibidor da transcriptase reversa
	Lopinavir	Inibidor da protease
	Enfuvirtida	Inibidor da fusão VIH
	Ciprofloxacina	Antibiótico
	Paroxetina	Antidepressivo ISRS
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azitromicina	Antibiótico
	Sulfato de indinavir	Inibidor da protease do VIH
	Sertralina	Antidepressivo ISRS

Tabela 10: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenas	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Hemoglobina	3,50	0,20
Triglicéridos	3,51	0,09
Bilirrubina	3,56	0,13
Albumina	3,51	0,17
Exógenos (medicamentos)	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Pool 1: Zidovudina (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Claritromicina, Interferão alfa-2a, Interferão alfa-2b	3,58	0,08
Pool 2: Sulfato de abacavir, Amprenavir, Ribavirina, Entecavir, Fluoxetina, Cloridrato de valaciclovir	3,56	0,04
Pool 3: Tenofovir disoproxil, Lamivudina, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapina	3,59	0,06
Pool 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtida, Ciprofloxacina, Paroxetina,	3,60	0,07
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), Azitromicina, Sulfato de indinavir, Sertralina	3,56	0,19
Estado de doença	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Anticorpo antinuclear (ANA)	3,61	0,10
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	3,63	0,10
Artrite reumatoide (AR)	3,57	0,09
Anticorpos VHC	3,58	0,07
Anticorpos VHB	3,64	0,11
Cirrose hepática	3,68	0,15
Fator reumatoide (FR)	3,63	0,10
Esteatose hepática não alcoólica (EHNA)	3,49	0,06

Precisão intralaboratorial

A precisão da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi determinada testando um painel de 8 membros de espécimes de VHB abrangendo os genótipos A e C, utilizando três NeuMoDx Systems ao longo de 12 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema, e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo $\leq 0,22 \log_{10}$ UI/mL. A precisão entre operadores não foi determinada, uma vez que o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System. Os resultados de precisão intralaboratorial são apresentados na *Tabela 11*.

Tabela 11: Resultados do estudo de precisão intralaboratorial

MEMBRO DO PAINEL	CONC. DO ALVO [Log ₁₀ UI/mL]	CONC. MÉDIA [Log ₁₀ UI/mL]	N	Tendência	DP intraensaio	DP intradiário	DP intrassistema	DP geral
Genótipo A	7,75	7,89	36	0,14	0,06	0,07	0,07	0,07
	5,75	5,83	36	0,11	0,07	0,10	0,10	0,10
	3,75	3,70	36	0,11	0,11	0,13	0,15	0,15
	1,75	1,54	36	0,23	0,16	0,22	0,22	0,22
Genótipo C	6,27	6,23	36	0,10	0,08	0,09	0,10	0,10
	4,27	4,18	36	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10
	3,27	3,14	36	0,09	0,08	0,12	0,12	0,12
	2,27	2,08	36	0,12	0,12	0,15	0,16	0,16

Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade de lote para lote da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi determinada utilizando três lotes diferentes dos principais reagentes: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate e NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Foi utilizado um painel de 8 membros de genótipos A e C do VHB para avaliar o desempenho. O teste foi realizado utilizando os três lotes de reagentes em três NeuMoDx Systems ao longo de 6 dias. Foi analisada a variação intralote e entre lotes. A tendência geral máxima foi de 0,12 log₁₀ UI/mL e o DP geral máximo foi de 0,24 log₁₀ UI/mL. Nenhuma diferença significativa foi observada no desempenho entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância. Os resultados de reprodutibilidade lote a lote são apresentados abaixo na *Tabela 12*.

Tabela 12: Resultados do estudo de reprodutibilidade lote a lote

MEMBRO DO PAINEL	CONC. DO ALVO [log ₁₀ UI/mL]	CONC. MÉDIA [log ₁₀ UI/mL]	N	Tendência	DP INTRALOTE	DP ENTRE LOTES	DP geral
Genótipo A	8,02	7,99	36	0,03	0,15	0,09	0,17
	6,02	5,96	36	0,06	0,17	0,06	0,18
	4,02	3,90	36	0,12	0,14	0,09	0,17
	2,02	1,92	36	0,10	0,21	0,12	0,24
Genótipo C	6,27	6,32	36	0,05	0,06	0,08	0,10
	4,27	4,31	36	0,04	0,22	0,09	0,24
	3,27	3,30	36	0,03	0,20	0,07	0,21
	2,27	2,32	36	0,05	0,13	0,13	0,18

Eficácia do controle

A eficácia do SPC1 incluído no NeuMoDx HBV Quant Assay para comunicar quaisquer falhas nos passos do processo ou inibição que afeta o desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliada utilizando dois genótipos comuns do VHB (A e C). As condições testadas são representativas de falhas críticas nos passos do processo que podem potencialmente ocorrer durante o processamento de amostras e *poderão não ser detetadas* pelos sensores de monitorização de desempenho do NeuMoDx System. A eficácia do SPC1 foi avaliada simulando tais condições de falha. As ineficácias do processo que tiveram um efeito adverso na detecção/quantificação do VHB foram refletidas pelo desempenho do alvo SPC1 (presença do inibidor e passo Lack of Wash [Ausência de solução de lavagem]). Para as condições em que a amplificação do SPC1 não foi afetada, o alvo de VHB foi também apresentado como sendo amplificado dentro de uma quantificação comunicada de 0,2 log₁₀ UI/mL das amostras de controle.

Tabela 13: Eficácia do controle de processo de amostra

Falha do passo do processo testada	Estado de amplificação do controle de processo de amostra	Estado de amplificação do alvo VHB	Resultado do ensaio
Presence of Inhibitor (Presença do inibidor)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Delivered (Sem fornecimento da solução de lavagem)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Blowout (Sem expulsão da solução de lavagem)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive with Quantitation within 0.2 Log ₁₀ IU/mL of Control (Positivo com quantificação dentro de 0,2 Log ₁₀ UI/mL do controle)

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada do NeuMoDx HBV Quant Assay foi determinada testando três conjuntos de espécimes de VHB, contendo espécimes alternados altamente positivos e negativos. No total, isto envolveu o teste de 144 réplicas de um espécime normal de plasma com EDTA humano negativo para VHB e 144 réplicas de um espécime de VHB de elevada titulação a 8,0 log₁₀ UI/mL. Todas as 144 réplicas dos espécimes negativos foram negativas, o que demonstra que não houve contaminação cruzada durante o processamento das amostras no NeuMoDx System.

Equivalência da matriz de espécimes

Foi realizado um teste para demonstrar resultados equivalentes com espécimes de plasma colhidos em tubos de colheita com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e com ácido-citrato-dextrose (ACD). Além disso, foi realizado outro teste para demonstrar a equivalência entre espécimes recém-colhidos e congelados. Foram colhidos quarenta espécimes de doadores individuais, através da BioIVT, em tubos de colheita EDTA e ACD. As amostras recém-colhidas foram enriquecidas com quatro níveis de genótipo A ou C do VHB e testadas em relação à equivalência. Em seguida, as amostras foram congeladas durante um período mínimo de 24 horas, descongeladas e novamente testadas. Através de uma análise de regressão, foi demonstrada uma equivalência excelente entre espécimes recém-colhidos e congelados e os espécimes em EDTA e ACD.

Tabela 14: Análise de regressão dos resultados de equivalência de espécimes

Parâmetro [critérios de aceitação]	Recém-colhidas vs. Congeladas	ACD vs. K2EDTA
Inclinação [0,9–1,1]	1,002	0,996
Intersecção [<0,5]	-0,031	0,018
Coefficiente de determinação [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Foram realizados testes adicionais para demonstrar a equivalência do desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay, utilizando espécimes em tubos de colheita primários vs. secundários. Primeiro, foram processados painéis de espécimes de doadores negativos quanto ao VHB enriquecidos com alvo de VHB (AccuPlex™ HBV Control) a partir de tubos de espécime primários. O plasma restante de cada espécime foi separado em alíquotas para um tubo de espécime secundário e novamente processado. Não foi observada qualquer diferença significativa nos resultados comunicados entre o processamento dos tubos de espécimes primários e secundários.

Foi igualmente avaliada a equivalência de desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay em espécimes recém-colhidos vs. congelados de soro, utilizando um painel de espécimes de soro recém-colhidos de doadores individuais, enriquecidos com o VHB em concentrações que abrangem o intervalo linear do ensaio. Após o processamento dos espécimes recém-colhidos, as amostras de soro foram congeladas durante um período mínimo de 24 horas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em seguida, as amostras congeladas foram descongeladas e novamente testadas. Foi avaliada a equivalência linear entre amostras idênticas recém-colhidas e congeladas, utilizando as análises de regressão de Passing-Bablok e de Deming. O valor p de 0,329 (superior a 0,05) da regressão de Passing-Bablok e o coeficiente de correlação de 0,989 da regressão de Deming apresentaram uma equivalência excelente entre o processamento de amostras recém-colhidas e anteriormente congeladas. A tendência entre o estado recém-colhido e congelado foi determinada pelo método de Bland-Altman como sendo um valor extremamente negligenciável de $-0,002\text{ log}_{10}\text{ UI/mL}$ que reforça a equivalência do processamento de espécimes recém-colhidos e congelados. Por último, a correlação entre as concentrações de VHB comunicadas pelo sistema e as concentrações previstas para as amostras recém-colhidas e congeladas foi determinada por uma regressão linear simples com valores R^2 comunicados de 0,991 e 0,985, respectivamente.

Estabilidade do espécime

Os espécimes de soro e plasma com EDTA negativo para VHB foram enriquecidos com VHB a $3,7\text{ log}_{10}\text{ UI/mL}$ e testados em momentos de avaliação diferentes durante o seu armazenamento no NeuMoDx System – imediatamente (momento 0), após 4 horas, após 8 horas e após 24 horas. Não foi observada uma diferença significativa no desempenho ao longo dos momentos de avaliação, indicando que um espécime pode ser carregado no NeuMoDx System até 24 horas sem haver qualquer impacto no desempenho do ensaio.

Também foi realizado um teste semelhante com espécimes de plasma e soro armazenados num frigorífico do laboratório (entre $2\text{ e }8\text{ }^{\circ}\text{C}$) até 7 dias antes do teste e não foi observada qualquer diferença significativa no desempenho.

Finalmente, os espécimes armazenados a $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante até 6 meses (plasma) e até 4 meses (soro) antes do processamento foram testados e não apresentaram diferenças significativas quando comparados com os espécimes recém-colhidos. O ciclo de congelamento/descongelamento foi repetido e, mais uma vez, não foi apresentada qualquer diferença no desempenho após 2 ciclos de congelamento/descongelamento (plasma) ou 4 ciclos de congelamento/descongelamento (soro).

Método de correlação

Espécimes de plasma

O desempenho qualitativo e quantitativo do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE, testando espécimes clínicos de plasma não diluídos de pacientes infetados com o VHB. O teste foi realizado internamente na NeuMoDx através de um estudo cego único que utilizou espécimes clínicos obtidos de três laboratórios independentes de referência. Os resultados de um total de 308 amostras positivas e negativas para VHB foram compilados na análise qualitativa, de forma a calcular a sensibilidade e a especificidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay. A análise qualitativa foi concluída incluindo e excluindo as amostras positivas abaixo do LidQ , uma vez que a classificação de espécimes tão baixas pode variar entre testes. Foi utilizado um total de 97 espécimes clínicos positivos para VHB dentro do intervalo linear comum a ambos os testes para gerar a regressão linear e definir o desempenho quantitativo. Para além de oferecer uma excelente especificidade e sensibilidade, a NeuMoDx HBV Quant Test Strip demonstrou uma excelente correlação quantitativa com o ensaio comparativo. De acordo com estes resultados, a sensibilidade do NeuMoDx HBV Quant Assay foi estimada como sendo de 100% (IC de 96,4% a 100%) e a especificidade foi estimada como sendo de 95,6% (IC de 91,9% a 97,7%). Estes intervalos de confiança de 95% foram calculados utilizando o método de intervalo de confiança de 95% da EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol. 28, No 3.⁶

Tabela 15: Métricas de especificidade e sensibilidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de plasma no NeuMoDx 288 Molecular System

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	103	205	308
SENSIBILIDADE = 100% IC de 95% (96,4% a 100%) ESPECIFICIDADE = 95,6% IC de 95% (91,9% a 97,7%)			

Tabela 16: Métrica de especificidade e sensibilidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay no NeuMoDx 288 Molecular System com amostras de plasma <LidQ excluído

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	99	201	300
SENSIBILIDADE = 100% IC de 95% (96,3% a 100%) ESPECIFICIDADE = 97,5% IC de 95% (94,3% a 98,9%)			

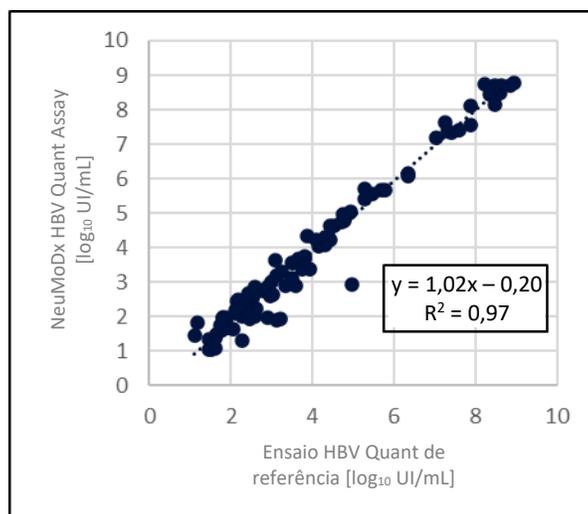


Figura 7: Estudo de correlação do método quantitativo utilizando o NeuMoDx HBV Quant Assay

Foram realizados testes adicionais no NeuMoDx 96 Molecular System, utilizando 159 espécimes residuais de plasma clínico. Tal como em testes anteriores realizados no NeuMoDx 288, os resultados obtidos através do NeuMoDx 96 foram comparados com os resultados comunicados por ensaios com marcação CE e/ou aprovados pela FDA, utilizados pelos laboratórios de origem para o teste de padrão de cuidados. Os resultados e a tabela de decisão com a sensibilidade e especificidade clínicas são apresentados com um IC de 95% na *Tabela 17*.

Tabela 17: Resumo do desempenho clínico – NeuMoDx HBV Quant Assay no NeuMoDx 96 Molecular System

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
TOTAL	61	97	158
SENSIBILIDADE = 98% IC de 95% (90% a 100%) ESPECIFICIDADE = 98% IC de 95% (92% a 100%)			

Espécimes de soro

O desempenho quantitativo do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE, testando espécimes residuais de soro positivos para VHB não identificados de pacientes infetados com o VHB. Foi testado internamente na NeuMoDx um total de 66 espécimes clínicos de soro reconhecidamente positivos para VHB de dois laboratórios de referência independentes utilizando o NeuMoDx HBV Quant Assay. Entre os espécimes de soro reconhecidamente positivos, 58 foram identificados como resultados positivos, havendo nove (9) resultados abaixo do LidQ e acima do LSdQ para o NeuMoDx HBV Quant Assay e/ou o teste de referência. Foi utilizado um total de 49 espécimes clínicos positivos para VHB dentro do intervalo linear comum a ambos os testes para gerar as análises de regressão e definir o desempenho quantitativo.

Foram criados gráficos de equivalência e residuais para representar a correlação entre as concentrações do NeuMoDx HBV Quant Assay e os valores de concentração dos testes de referência em todas as amostras testadas, utilizando as análises de regressão de Passing-Bablok e de Deming, tal como apresentado na Figura 8 e 9. A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada por um coeficiente de inclinação de 0,99 com um IC de 95% (0,93 a 1,07) e uma intersecção (tendência) de -0,22 com um IC de 95% (-0,56 a 0,12), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HBV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável. A qualidade do ajuste linear de Passing-Bablok é ilustrada por um coeficiente de inclinação de 0,99 com um IC de 95% (0,91 a 1,06) e uma intersecção (tendência) de -0,25 com um IC de 95% (-0,48 a 0,06), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HBV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável, tal como apresentado na Tabela 18.

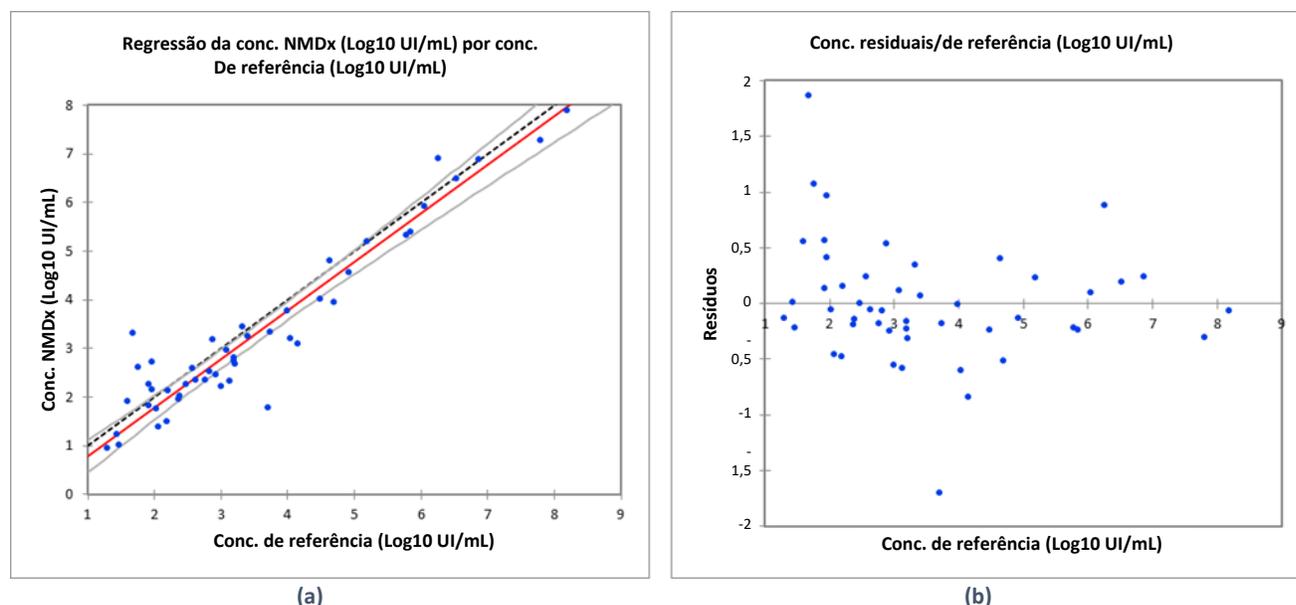


Figura 8: Gráficos de equivalência (a) e residuais (b) – Análise cumulativa dos resultados do NeuMoDx HBV Test vs. testes de referência – Análise de Deming.

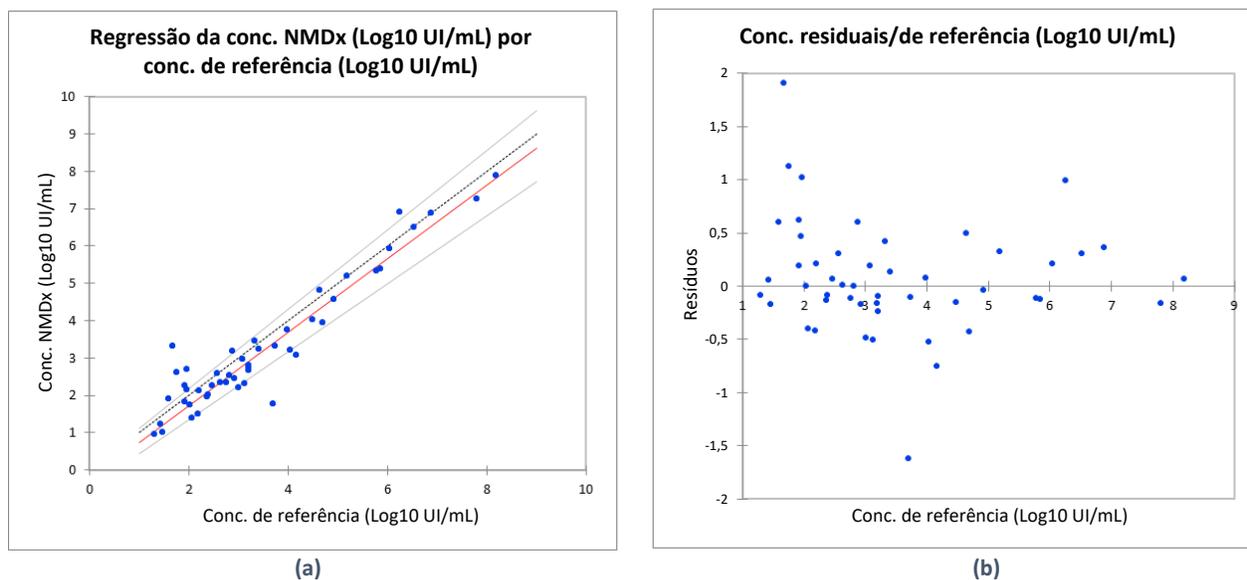


Figura 9: Gráficos de equivalência (a) e residuais (b) – Análise cumulativa dos resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay vs. testes de referência – Análise de Passing-Bablok.

Tabela 18. Resumo da análise de regressão linear de Deming e de Passing-Bablok para espécimes de soro

Análise de Deming			Análise de Passing-Bablok		
Intersecção	Coefficiente de inclinação	R2	Intersecção	Coefficiente de inclinação	Valor p
-0,22 IC de 95% (-0,56, 0,12)	0,99 IC de 95% (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 IC de 95% (-0,48, 0,06)	0,99 IC de 95% (0,91, 1,06)	0,89

Teste de espécimes artificiais – fluxo de trabalho de volume de espécimes de 200 µL

A correlação quantitativa entre fluxos de trabalho de 200 µL e 550 µL de volume de espécimes foi confirmada utilizando um painel constituído por amostras individuais de soro e plasma negativas para VHB enriquecidas com quatro níveis reconhecidos de material de controlo de VHB, rastreável de acordo com o 4.º padrão internacional da OMS para testes de ácido nucleico de ADN de VHB. Estes espécimes individuais de soro e plasma foram processados utilizando fluxos de trabalho de 200 µL e 550 µL de volume de espécimes num total de 288 testes efetuados. As comparações de equivalência entre a concentração comunicada pelo software do NeuMoDx para fluxos de trabalho de volume de espécimes de 200 µL e 550 µL com o painel artificial foram efetuadas numa base individual de amostras. As análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok tiveram uma inclinação de 0,985 e 0,998 com intersecções de -0,001 e 0,053, respetivamente em plasma, e 1,024 e 1,018 com intersecções de 0,095 e 0,070, respetivamente em soro, o que demonstra uma excelente concordância de quantificações de VHB entre os dois volumes de processamento. Uma comparação Bland-Altman apresentou uma tendência mínima entre os dois fluxos de trabalho. Além disso, análises de regressão linear simples com concentração prevista e concentração comunicada para fluxos de trabalho de 200 µL tiveram uma inclinação de 1,047 e um coeficiente de correlação de 0,998 (plasma) e de 1,113 e 0,992 (soro), reforçando o excelente desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay em fluxos de trabalho de 200 µL de volume de espécimes. Os resultados destes estudos estão resumidos abaixo na *Figura 10* e na *Figura 11*.

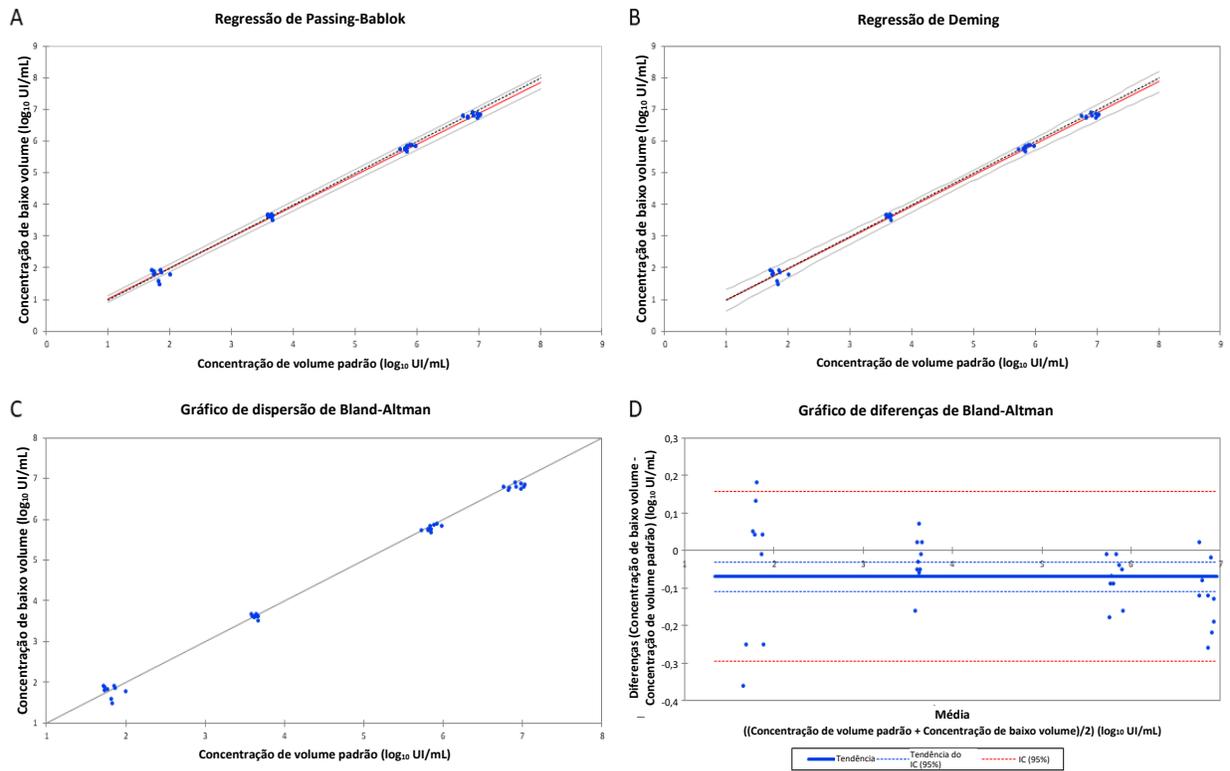


Figura 10: Comparações do gráfico de equivalências para concentrações comunicadas de baixo volume com concentrações comunicadas de volume padrão de espécimes. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferenças de Bland-Altman – Espécimes de plasma

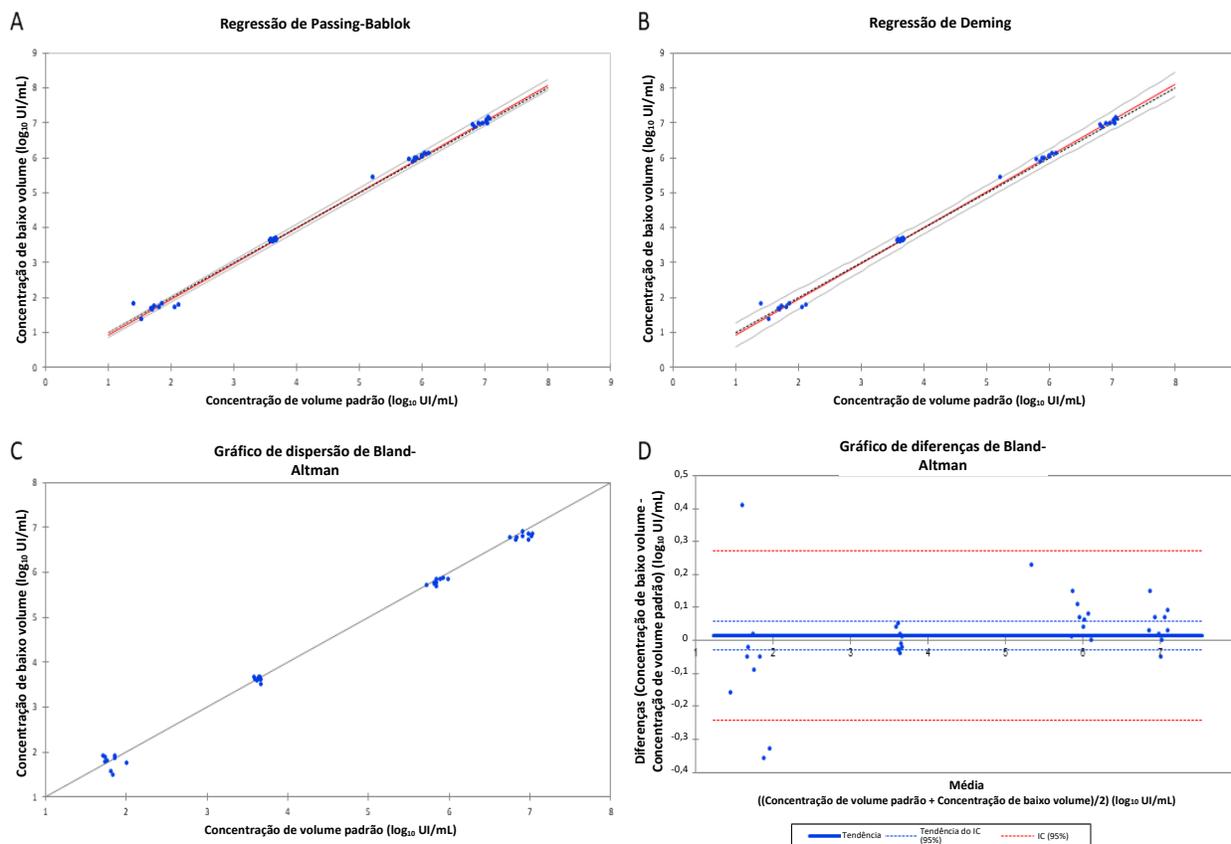


Figura 11: Comparações do gráfico de equivalências para concentrações comunicadas de baixo volume com concentrações comunicadas de volume padrão de espécimes. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferenças de Bland-Altman – Espécimes de soro

REFERÊNCIAS

1. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. Andersson, Monique I et al. The Lancet Global Health, Volume 3, Issue 7, e358 - e359
2. Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67(No. RR-1):1–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>.
3. World Health Organization. Hepatitis B: fact sheet. April 2017. <http://www.who.int> (last accessed 20 November 2017)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIAIS

NeuMoDx™ é uma marca comercial da NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ é uma marca comercial da NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® é uma marca comercial registrada da Roche Molecular Systems, Inc.

Todos os outros nomes de produto, marcas comerciais e marcas registradas que possam ser referidos neste documento pertencem aos seus respectivos proprietários.

SÍMBOLO

R only	Sujeito a receita médica		Limite de temperatura
	Fabricante		Não reutilizar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Contém o suficiente para <n> testes
EC REP	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Consultar as instruções de utilização
REF	Número de catálogo		Cuidado
LOT	Código de lote		Riscos biológicos
	Data de validade	CE	Marcação CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, EUA

Patrocinador (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Austrália



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Países Baixos

CE 2797

Assistência técnica/relatórios de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents