

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA

IVD Para uso em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular Systems*Para obter atualizações de folhetos informativos, visite: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System; nº de ref. 40600108**Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx 96 Molecular System; nº de ref. 40600317***USO PREVISTO**

O NeuMoDx HCV Quant Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* automatizado destinado à quantificação de RNA do vírus da hepatite C (HCV) em espécimes de plasma e soro humano para genótipos 1 a 6 positivos para anticorpos do HCV de indivíduos infectados com o HCV. O NeuMoDx HCV Quant Assay, implementado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]), incorpora extração automatizada de RNA para isolar o ácido nucleico-alvo do espécime e transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) em tempo real tendo como alvo as sequências altamente conservadas no genoma viral da hepatite C.

O NeuMoDx HCV Quant Assay destina-se a ser usado como auxílio no tratamento de pacientes com infecções pelo HCV. Os resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay devem ser interpretados dentro do contexto de todos os achados clínicos e laboratoriais relevantes. O NeuMoDx HCV Quant Assay não se destina a ser usado como um teste de triagem de sangue ou produtos sanguíneos nem para diagnosticar o estado clínico da infecção pelo HCV.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Para a preparação do plasma, é possível usar sangue total humano coletado em tubos de coleta de sangue estéreis com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou ácido-citrato-dextrose (ACD) como agentes anticoagulantes ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), enquanto o soro deve ser coletado em tubos de soro ou tubos de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Na preparação para os testes, o plasma ou o soro em um tubo de espécime secundário ou o sangue fracionado em um tubo de espécime primário compatível com o NeuMoDx System é carregado no NeuMoDx System usando um transportador de tubos de espécime designado. Para cada espécime, uma alíquota da amostra de plasma/soro é misturada com NeuMoDx Lysis Buffer 3 e o NeuMoDx System executa automaticamente todas as etapas necessárias para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o RNA isolado para a amplificação por RT-PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detectar os produtos da amplificação. O NeuMoDx HCV Quant Assay visa duas regiões altamente conservadas do genoma do HCV para aumentar a robustez do ensaio. O NeuMoDx HCV Quant Assay também inclui um controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) de RNA para ajudar a monitorar a presença de potenciais substâncias inibidoras e de falhas do NeuMoDx System ou dos reagentes que podem ocorrer durante o processo de extração e amplificação.

O HCV é um vírus de RNA de fita única de sentido positivo capaz de causar infecção aguda e crônica.¹ Atualmente, não há vacina para a hepatite C. Embora a infecção aguda seja geralmente assintomática e muito raramente associada a doenças potencialmente fatais, mais da metade das pessoas infectadas com o HCV podem desenvolver uma infecção crônica. Entre as pessoas com infecção crônica pelo HCV, o risco de cirrose hepática é de 15–30% em 20 anos. Estima-se que, em todo o mundo, há 71 milhões de pessoas suspeitas de ter infecção crônica pelo HCV, das quais se espera que um número significativo evolua para cirrose ou câncer de fígado.²⁻⁴ Por ser um vírus transmitido pelo sangue, o HCV é transmitido principalmente pelo sangue e seus derivados. A adoção generalizada de testes de análise de sangue reduziu consideravelmente a incidência de infecções por sangue doado.¹

A detecção de anticorpos contra o HCV não diferencia entre infecções ativas e eliminadas. Consequentemente, os algoritmos de testes laboratoriais do HCV requerem o diagnóstico de infecções ativas pelo HCV em indivíduos com anticorpos positivos por meio da detecção do RNA do HCV em plasma ou soro antes do início da terapia (se necessário). A quantificação de RNA do HCV (carga viral) é usada atualmente de forma rotineira para definir e monitorar o tratamento bem-sucedido do HCV.

As diretrizes atuais para o controle e tratamento das infecções pelo HCV recomendam a realização de testes quantitativos de RNA do HCV antes do início da terapia antiviral para estabelecer a linha de base, e às 12 semanas ou mais, após o fim do tratamento. Às vezes, podem ser recomendados pontos de tempo adicionais. Uma resposta virológica sustentada (RVS) é o objetivo da terapia contra o HCV e é definida como RNA do HCV imperceptível (com um ensaio que tem um limite de detecção de < 25 UI/mL) após a terapia.⁵⁻⁷ Diretrizes recentes da American Association for the Study of Liver Diseases sugere testar o RNA do HCV não só no início, mas também periodicamente durante o tratamento (ou seja, às 4 semanas) e às 12 semanas após a conclusão do tratamento. Os testes de detecção de RNA do HCV, em combinação com os testes sorológicos, são usados para identificar uma infecção ativa pelo HCV.⁶

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx HCV Quant Assay combina extração de RNA automatizada com amplificação e detecção por RT-PCR em tempo real. Espécimes de sangue total são coletados em tubos com 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 em um tubo de espécime secundário compatível é identificado com código de barras e colocado no NeuMoDx System. O NeuMoDx System aspira automaticamente uma alíquota do plasma/soro para misturar com NeuMoDx Lysis Buffer 3 e com os agentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate para iniciar o processamento. O NeuMoDx System automatiza e integra a extração e concentração de RNA, a preparação de reagentes e a amplificação/detecção de ácidos nucleicos das sequências-alvo usando RT-PCR em tempo real. O controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) incluído ajuda a monitorar a presença de substâncias inibidoras e falhas de sistema, processos ou reagentes. Não é necessária qualquer intervenção do operador uma vez que o espécime estiver carregado no NeuMoDx System.

O NeuMoDx System usa uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para efetuar automaticamente a lise, a extração de RNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com ácido nucleico ligado, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem usando NeuMoDx Wash Reagent. O RNA ligado é, em seguida, eluído usando o NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System usa o RNA eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados contendo todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos específicos de HCV e SPC2. Isso permite a amplificação e a detecção simultâneas das sequências de RNA dos alvos e do controle. Após a reconstituição dos reagentes de RT-PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada pronta para RT-PCR em uma câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A transcrição reversa, a amplificação e a detecção das sequências do controle e do alvo (se presentes) ocorrem na área da câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi projetado para conter o amplicon decorrente da PCR em tempo real, eliminando praticamente o risco de contaminação pós-amplificação.

Os alvos amplificados são detectados em tempo real usando química de sondas de hidrólise (comumente chamada de química TaqMan®) com moléculas de sonda fluorogênica de oligonucleotídeos específicas dos amplicons dos respectivos alvos. As sondas TaqMan consistem em um fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeos e um supressor na extremidade 3'. Enquanto a sonda estiver intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo que a molécula supressora suprima a fluorescência emitida pelo fluoróforo via transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram projetadas para anelarem-se dentro de uma região do DNA amplificada por um conjunto específico de primers. À medida que a Taq DNA polimerase expande o primer e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que se anelou ao modelo. A degradação da sonda libera o fluoróforo e quebra a sua proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a detecção do fluoróforo. O sinal fluorescente resultante detectado no termociclador de RT-PCR quantitativa do NeuMoDx System é diretamente proporcional ao fluoróforo liberado e pode ser correlacionado à quantidade de alvo presente.

Uma sonda TaqMan, marcada com um fluoróforo (excitação: 490 nm e emissão: 521 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3' é usada para detectar o RNA do HCV. Para a detecção do SPC2, a sonda TaqMan é marcada com um corante fluorescente alternativo (excitação: 535 nm e emissão: 556 nm) na extremidade 5" e um supressor de fluorescência na extremidade 3". O software do NeuMoDx System monitora o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação é concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e relata um resultado final (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]/NO RESULT [SEM RESULTADO]). Se um resultado for positivo e a concentração calculada estiver dentro dos limites de quantificação, o software do NeuMoDx System também fornece um valor quantitativo associado à amostra.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF.	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip <i>Reagentes de RT-PCR secos contendo sondas e primers TaqMan específicos de HCV e SPC2</i>	6	16	96

Materiais necessários, mas não fornecidos (disponibilizados separadamente pela NeuMoDx)

REF.	Conteúdo
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica e controles de processo de amostras secas</i>
800200 ou 800202	NeuMoDx HCV Calibrators <i>Conjuntos de uso único de calibradores altos e baixos de HCV para estabelecer a validade da curva de calibração</i>
900201 ou 900202	NeuMoDx HCV External Controls <i>Conjuntos de uso único de controles positivos e negativos para HCV</i>
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Ponteiras 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 HCV Quant Test Strip é destinada para uso em diagnóstico *in vitro* exclusivamente com os NeuMoDx Systems.
- Não use os reagentes ou consumíveis após a data de validade indicada.
- Não use um reagente se o respectivo selo de segurança estiver rompido ou se a embalagem estiver danificada no momento da entrega.
- Não use consumíveis ou reagentes se a respectiva bolsa protetora estiver aberta ou quebrada no momento da entrega.
- Uma calibração de teste válida (gerada pelo processamento de calibradores altos e baixos dos NeuMoDx HCV Calibrators) deve estar disponível antes que possam ser gerados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx HCV External Controls a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx HCV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo, do transportador de tubos de espécime e do processamento do volume de espécime, conforme definido abaixo. Um volume inferior ao mínimo especificado poderá resultar em um erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- O uso de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou além dos prazos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou errôneos.
- Evite sempre a contaminação microbiana e por ribonuclease (RNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendado o uso de pipetas de transferência descartáveis estéreis e livres de RNase ao usar tubos de espécime secundários. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx Cartridge pós-amplificação. Sob nenhuma circunstância recolha os NeuMoDx Cartridges do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou da lixeira de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System). O NeuMoDx Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Nos casos em que também sejam realizados testes de PCR em tubo aberto pelo laboratório, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx HCV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para a testagem, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- É necessário usar luvas nitrílicas sem talco e limpas ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx HCV Quant Test Strip e da NeuMoDx Extraction Plate ou na superfície superior do NeuMoDx Lysis Buffer 3; os consumíveis e reagentes devem ser manuseados tocando somente nas superfícies laterais.
- As fichas de dados de segurança (FDS) de cada reagente (conforme aplicável) estão disponíveis em www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Lave muito bem as mãos após realizar o teste.
- Não pipete com a boca. Não fume, beba ou coma em áreas onde estão sendo manuseados espécimes ou reagentes.
- Sempre manuseie os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais de segurança como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ e no Documento M29-A4 do CLSI.⁹
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Não reutilizar.



ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx HCV Quant Test Strips permanecem estáveis em sua embalagem primária até a data de validade indicada no rótulo do produto quando armazenadas a uma temperatura entre 4 e 28 °C.
- Não use consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não use qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária apresentar danos visíveis.
- Não carregue novamente nenhum produto de teste que tenha sido carregado anteriormente em outro NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx HCV Quant Test Strip pode permanecer dentro do NeuMoDx System por até 14 dias. A vida útil restante das tiras de teste carregadas é controlada pelo software e informada ao usuário em tempo real. O sistema solicitará a remoção das tiras de teste que tiverem sido usadas além do prazo permitido.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes, calibradores e controles como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congele sangue total ou quaisquer outros espécimes armazenados em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser coletado em tubos estéreis usando EDTA ou ACD como anticoagulantes ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT). Siga as instruções de preparo e armazenamento do fabricante do tubo de coleta de espécimes.
4. Para preparar espécimes de soro, o sangue total deve ser coletado em tubos para soro ou tubos SST. Siga as instruções de preparo e armazenamento do fabricante do tubo de coleta de espécimes.
5. Os espécimes podem ser testados em tubos de coleta primários ou tubos de espécime secundários. Recomendado para testes em 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 por até 8 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados em alíquotas secundárias.
7. Os espécimes preparados devem ser armazenados entre 2 e 8 °C por no máximo 7 dias antes dos testes e por no máximo 8 horas à temperatura ambiente.
8. Os espécimes preparados em tubos secundários podem ser armazenados a ≤ -20 °C por até 24 semanas antes do processamento; os espécimes congelados não devem ser submetidos a mais de (2) ciclos de congelamento/descongelamento antes do uso.
 - a. Os espécimes de plasma que são congelados e submetidos a um (1) ciclo de congelamento/descongelamento podem ser armazenados dentro do sistema por mais 8 horas.
 - b. Os espécimes de plasma que são congelados e submetidos a dois (2) ciclos de congelamento/descongelamento não devem ser armazenados dentro do sistema por mais de 4 horas.
 - c. Os espécimes de soro que são congelados e submetidos a um (1) ou dois (2) ciclos de congelamento/descongelamento deverão ser testados imediatamente após o descongelamento.
 - d. Se as amostras forem congeladas, deixe-as descongelar completamente em temperatura ambiente (15–30 °C); agite-as para que fiquem uniformemente distribuídas.
 - e. Não é recomendável congelar o plasma/soro em tubos de coleta primários.
9. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
10. Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de HCV.
11. Avance para a seção *Preparação para teste*.

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

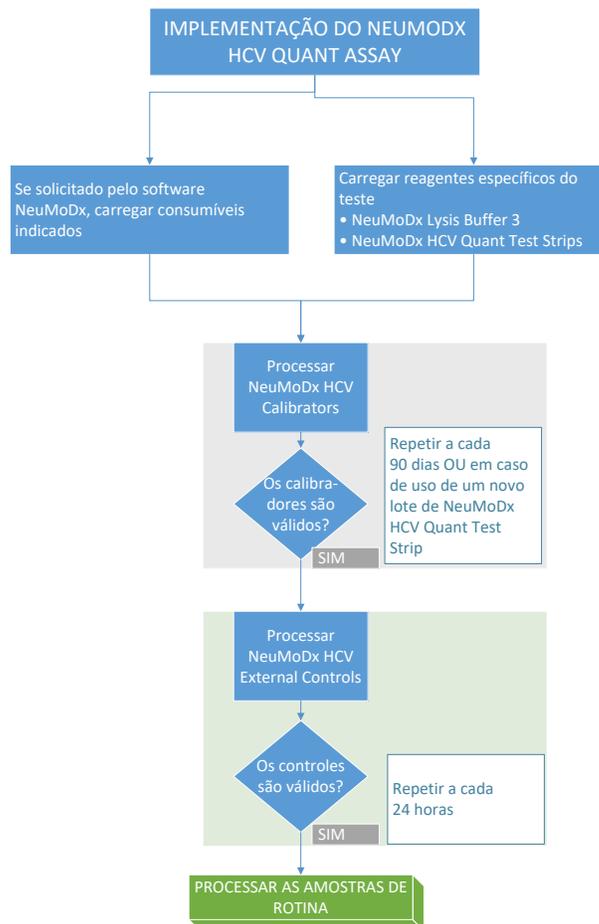


Figura 1: Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx HCV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação para teste

O NeuMoDx HCV Quant Assay pode ser executado diretamente a partir de tubos de coleta de sangue primários ou de alíquotas de espécime em tubos secundários. O processamento pode ser executado usando um dos dois fluxos de trabalho de processamento de volume de espécime: fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL ou fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System. O tubo de coleta de sangue primário pode ser etiquetado e colocado diretamente em um transportador de tubos de espécime de 32 tubos após centrifugação, conforme orientação do fabricante. Alternativamente, uma alíquota do plasma pode ser transferida para um tubo secundário para processamento no NeuMoDx System.
2. Se estiver testando o espécime no tubo de coleta primário, coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover a tampa antes de carregar no NeuMoDx System. Os volumes mínimos *acima* da camada leucoplaquetária são definidos abaixo e serão atendidos se os espécimes forem coletados e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. O desempenho não é garantido para espécimes coletados inadequadamente.

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. Se estiver usando um tubo secundário:
 - a. Agite suavemente em vórtex o espécime para obter uma distribuição uniforme
 - b. Usando uma nova pipeta de transferência para cada espécime, transfira uma alíquota do plasma ou soro para o tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System de acordo com 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
Transportador de tubos de espécime de 32 tubos	11–14 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	700 µL	400 µL
Transportador de tubos de espécime de 24 tubos	14,5–18 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	1100 µL	800 µL
Transportador de tubos de espécime de baixo volume	Tubo para microcentrifuga com fundo cônico de 1,5 mL	650 µL	300 µL

- c. É necessário ter cuidado para não transferir nenhum coágulo da amostra para o tubo de espécime.

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consulte os Manuais do operador dos NeuMoDx 288 e 96 Molecular Systems (nº de ref. 40600108 e 40600317)

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o fluxo de trabalho de volume de espécime e o tipo de tubo de espécime desejados.
 - O volume de espécime de 550 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma**" (Plasma) ou "**Serum**" (Soro)
 - O volume de espécime de 200 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma2**" (Plasma 2) ou "**Serum2**" (Soro 2)
 - Se não estiver definido no pedido de teste, o tipo de espécime **Plasma** (Plasma) em um **Secondary Tube** (Tubo secundário) será usado como padrão.

2. Preencha um ou mais NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) com NeuMoDx HCV Quant Test Strip(s) e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicione os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, reponha NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent e esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiros (somente NeuMoDx 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
5. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, processe NeuMoDx HCV Calibrators e/ou NeuMoDx HCV External Controls. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
6. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controle em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover as tampas de todos os tubos.
7. Coloque o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Isso iniciará o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que haja um pedido de teste válido no sistema.

LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx HCV Quant Test Strip somente pode ser usada em NeuMoDx Systems.
2. O desempenho da NeuMoDx HCV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados com EDTA/ACD como anticoagulante ou espécimes de soro preparados em tubos separadores de soro. O uso da NeuMoDx HCV Quant Test Strip com outras fontes não foi avaliado e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécime.
3. O desempenho da NeuMoDx HCV Quant Test Strip foi estabelecido para testes em tubos primários usando BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tubes, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tubes e BD Vacutainer SST Tubes.
4. O manuseio de espécimes além das condições de armazenamento pode impactar negativamente a exatidão quantitativa do NeuMoDx HCV Quant Assay, mas é menos provável que afete a taxa de determinação qualitativa (Positive [Positivo]/Negative [Negativo]).
5. Armazenar espécimes de soro dentro do sistema após um armazenamento congelado prolongado e submetê-los a dois ciclos de congelamento/descongelamento sem realizar um teste imediato pode impactar negativamente a exatidão quantitativa do NeuMoDx HCV Quant Assay.
6. Um pequeno aumento no limite de detecção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx HCV Quant Assay foi observado ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.
7. O NeuMoDx HCV Quant Assay não deve ser usado com amostras humanas heparinizadas.
8. Visto que a detecção de HCV depende do número de partículas virais de RNA-alvo presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
9. Os NeuMoDx HCV Calibrators e os NeuMoDx HCV 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.
10. Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão com os tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido a uma quantidade de partículas virais na amostra inferior ao limite de detecção do NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. A operação do NeuMoDx System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx System.
12. Se ambos os alvos de HCV e de SPC2 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
13. Se o resultado do NeuMoDx HCV Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx System relatará se o HCV detectado estava *abaixo* do limite inferior de quantificação (LidQ) ou *acima* do limite superior de quantificação (LSdQ).
14. Se o HCV detectado estiver *abaixo* do LidQ, o NeuMoDx HCV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com outra alíquota do espécime.
15. Se o HCV detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx HCV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:100 ou 1:1.000 em plasma negativo para HCV ou em Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original é calculada da seguinte forma:
$$\text{concentração do espécime original} = \log_{10}(\text{fator de diluição}) + \text{concentração relatada da amostra diluída}.$$
16. A presença ocasional de inibidores de PCR no plasma e soro pode resultar em um erro de quantificação do sistema. Se isso ocorrer, é recomendado repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.

17. Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença do RNA do vírus da hepatite C.
18. Exclusões ou mutações nas regiões conservadas que são alvo do NeuMoDx HCV Quant Assay podem afetar a detecção ou levar a um resultado errôneo usando a NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. Os resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay devem ser usados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não se destina a diagnosticar infecção.
20. É recomendável aplicar boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseio de espécimes de pacientes para evitar contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos na guia "Results" (Resultados) da janela "Results" (Resultados) na tela sensível ao toque do NeuMoDx System. Os resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx System usando o algoritmo de decisão e parâmetros de processamento de resultados especificados no arquivo de definições de ensaio de HCV (HCV Assay Definition File, HCV ADF) da NeuMoDx. Um resultado pode ser relatado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de HCV relatada, Positive (Positivo) acima do LSdQ, Positive (Positivo) abaixo do LidQ, Indeterminate (Indeterminado, IND), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou No Result (Sem resultado, NR), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controle de processo de amostras. Os resultados são relatados com base no algoritmo de decisão do ADF, resumido abaixo na *Tabela 1*.

Tabela 1. Resumo do algoritmo de decisão do NeuMoDx HCV Quant Assay

RESULTADO	Alvo de HCV	Controle de processo de amostras (SPC2)	Interpretação do resultado
Positive (Positivo) com concentração relatada	Amplified (Amplificado) $0,9 \leq [HCV] \leq 8,2 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL) $1,5 \leq [HCV] \leq 8,2 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 200 μL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	RNA do HCV detectado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) acima do LSdQ	Amplified (Amplificado) $[HCV] > 8,2 \log_{10} \text{ UI/mL}$	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	RNA do HCV detectado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) abaixo do LidQ	Amplified (Amplificado) $[HCV] < 0,9 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL) $[HCV] < 1,5 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 200 μL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	RNA do HCV detectado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	RNA de HCV não detectado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra concluído)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†
No Result* (Sem resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra cancelado)		O processamento da amostra foi cancelado; testar novamente a amostra†
Unresolved (Não resolvido)	Not Amplified, No System Error Detected (Não amplificado, Nenhum erro de sistema detectado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

*O sinalizador No Result (Sem resultado) somente é relatado nas versões 1.8 e superiores do software do NeuMoDx System.

†O NeuMoDx System está equipado com capacidade de reexecução/repetição automática que o usuário final pode escolher usar para garantir que um resultado IND (Indeterminado)/UNR (Não resolvido)/NR (Sem resultado) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.

Cálculo do teste

1. Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx HCV Quant Assay, a concentração de RNA do HCV nas amostras é calculada usando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - a. Um coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx HCV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão de um determinado lote da NeuMoDx HCV Quant Test Strip em um NeuMoDx System específico.
 - b. O coeficiente de calibração é integrado na determinação final da concentração de RNA do HCV.
 - c. O software do NeuMoDx System considera o volume de entrada de espécime ao determinar a concentração de RNA do HCV por mL de espécime.

- Os resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay são relatados em \log_{10} UI/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 5º Padrão Internacional da OMS para HCV.

Calibração de teste

É necessária uma calibração válida com base na curva-padrão para quantificar o RNA de HCV presente nos espécimes. Para gerar resultados válidos, é necessário concluir uma calibração de teste usando os calibradores externos fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibradores

- É necessário processar um conjunto de NeuMoDx HCV Calibrators com cada novo lote de NeuMoDx HCV Quant Test Strips, se um novo arquivo de definições de ensaio de HCV for carregado no NeuMoDx System, se o conjunto de calibradores atual estiver fora do período de validade (atualmente definido como 90 dias) ou se o software do NeuMoDx System for modificado.
- O software do NeuMoDx System notificará o usuário quando os calibradores precisarem ser processados. Não é possível usar um novo lote de tiras de teste para testes até que os calibradores tenham sido processados com sucesso.
- A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - É necessário processar um conjunto de dois calibradores, um (1) alto e um (1) baixo, para estabelecer a validade.
 - Pelo menos duas (2) das três (3) réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de $3 \log_{10}$ UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de $5 \log_{10}$ UI/mL.
 - É calculado um coeficiente de calibração para levar em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste. Este coeficiente de calibração é usado na determinação da concentração final do HCV.
- Se um ou ambos os calibradores falharem a validação, repita o processamento do(s) calibrador(es) com falha utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a validação, é possível repetir apenas o calibrador que falhou, pois o sistema não exige que o usuário processe ambos os calibradores novamente.
- Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação consecutivamente, entre em contato com a NeuMoDx Molecular, Inc.

Controle de qualidade

Os regulamentos locais normalmente especificam que o laboratório é responsável pelos procedimentos de controle que monitoram a exatidão e precisão de todo o processo analítico, devendo estabelecer o número, o tipo e a frequência dos materiais de controle da testagem utilizando especificações de desempenho validadas para um sistema de teste aprovado e não modificado.

Controles externos

- É necessário processar controles externos positivos e negativos a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx HCV Quant Assay. Se não houver um conjunto de resultados de controles externos válido, o software do NeuMoDx System solicitará que o usuário processe os controles antes de ser possível relatar resultados de amostras.
- A validade dos controles externos será avaliada pelo NeuMoDx System com base no resultado esperado. O controle positivo deve fornecer um resultado Positive (Positivo) para HCV e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para HCV.
- Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
 - Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controle negativo indica um problema de contaminação do espécime.
 - Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - Em qualquer um dos casos acima, ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado, IND) ou No Result (Sem resultado, NR), repita os NeuMoDx HCV External Controls com novos frascos do(s) controle(s) que falharam o teste de validação.
 - Se o NeuMoDx HCV External Control positivo continuar relatando um resultado Negative (Negativo), entre em contato com a assistência técnica da NeuMoDx.
 - Se o NeuMoDx HCV External Control negativo continuar relatando um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as fontes de potencial contaminação, incluindo a reposição de todos os reagentes, antes de entrar em contato com a assistência técnica da NeuMoDx.

Controles (internos) de processo de amostras

Um controle de processo de amostras (Sample Process Control 2, SPC2) exógeno está integrado na NeuMoDx Extraction Plate e passa por todo o processo de extração de ácido nucleico e de amplificação por RT-PCR em tempo real com cada amostra. Estão também incluídos primers e sonda específicos para SPC2 em cada uma das NeuMoDx HCV Quant Test Strip, que permitem a detecção da presença de SPC2 em conjunto com o RNA de HCV alvo (se presente) via RT-PCR em tempo real multiplex. A detecção da amplificação do SPC2 permite que o software do NeuMoDx System monitore a eficácia dos processos de extração de RNA e amplificação por RT-PCR.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx HCV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido após a conclusão do processamento de amostras, ele será relatado como Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sem resultado, NR) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro ocorrido.

Um resultado IND (Indeterminado) será relatado se um erro do NeuMoDx System for detectado durante o processamento da amostra. Caso seja relatado um resultado IND (Indeterminado), é recomendável repetir o teste.

Um resultado UNR (Não resolvido) será relatado se não for detectada uma amplificação válida de SPC2 ou de RNA de HCV na ausência de erros de sistema, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Caso seja relatado um resultado UNR (Não resolvido), um primeiro passo recomendável é repetir o teste. Se a repetição do teste falhar, é possível utilizar um espécime diluído para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

Se um NeuMoDx HCV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido e o processamento de amostras for cancelado antes da conclusão, ele será relatado como No Result (Sem resultado, NR). Caso seja relatado um resultado NR (Sem resultado), é recomendável repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de detecção usando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx HCV Quant Assay foi caracterizada através da testagem de espécimes negativos e uma série de diluições do 5º Padrão Internacional da OMS (genótipo 1) em plasma e soro humanos negativos triados para determinar o limite de detecção (Ld) nos NeuMoDx Systems. O Ld foi definido como o nível de alvo mais baixo detectado a uma taxa de 95% conforme determinado através da análise Probit. O estudo foi realizado ao longo de 3 dias em vários sistemas com vários lotes de reagentes NeuMoDx. Cada sistema (N288 e N96) processou 18 réplicas com cada nível de diluição por dia. As taxas de detecção estão indicadas na *Tabela 2*. Foi realizado um estudo adicional para determinar o Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL, cujos resultados são mostrados na *Tabela 3*.

Tabela 2. Taxas de detecção positiva para determinação do Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay – Fluxo de trabalho de 550 µL

Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de 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
30	1,48	108	108	100%	108	108	100%
15	1,18	108	108	100%	108	107	99%
10	1,00	108	105	97%	108	102	94%
7,5	0,88	108	102	94%	108	105	97%
3,75	0,57	108	84	78%	108	86	80%
1,875	0,27	108	47	44%	108	63	58%
NEG	0	108	0	0%	107	1	0,93%

Tabela 3. Taxas de detecção positiva para determinação do Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay – Fluxo de trabalho de 200 µL

Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de 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
75	1,88	N/A	N/A	N/A	22	22	100%
60	1,78	22	22	100%	22	22	100%
30	1,48	22	21	95,5%	22	20	90,9%
15	1,18	22	17	77,3%	22	19	86,4%
10	1,00	22	13	59,1%	22	15	68,2%
NEG	0	22	0	0%	22	0	0%

Determinou-se que o Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay em plasma em todos os genótipos é de 7,5 UI/mL (IC de 95% de 6,4 a 9,2 UI/mL) [(0,9 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% de 0,8 a 1,0 \log_{10} UI/mL)] conforme testado no NeuMoDx 288 Molecular System usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL (*Figura 2*). Determinou-se que o Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay para espécimes de soro é de 8,0 UI/mL (IC de 95% de 6,6 a 10,4 UI/mL) [(0,9 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% de 0,8–1,0 \log_{10} UI/mL)] usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL (*Figura 2*); a declaração de Ld para ambos os tipos de espécime usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL é de **8,0 UI/mL (0,9 \log_{10} UI/mL)**.

Determinou-se que o Ld do NeuMoDx HCV Quant Assay usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL é de 27,9 UI/mL (IC de 95% de 20,1–81,9) em espécimes de plasma e 29,8 UI/mL (IC de 95% de 20,5–94,0) em espécimes de soro (*Figura 3*); a declaração de Ld para ambos os tipos de espécime usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL é de **30,0 UI/mL (1,5 \log_{10} UI/mL)**.

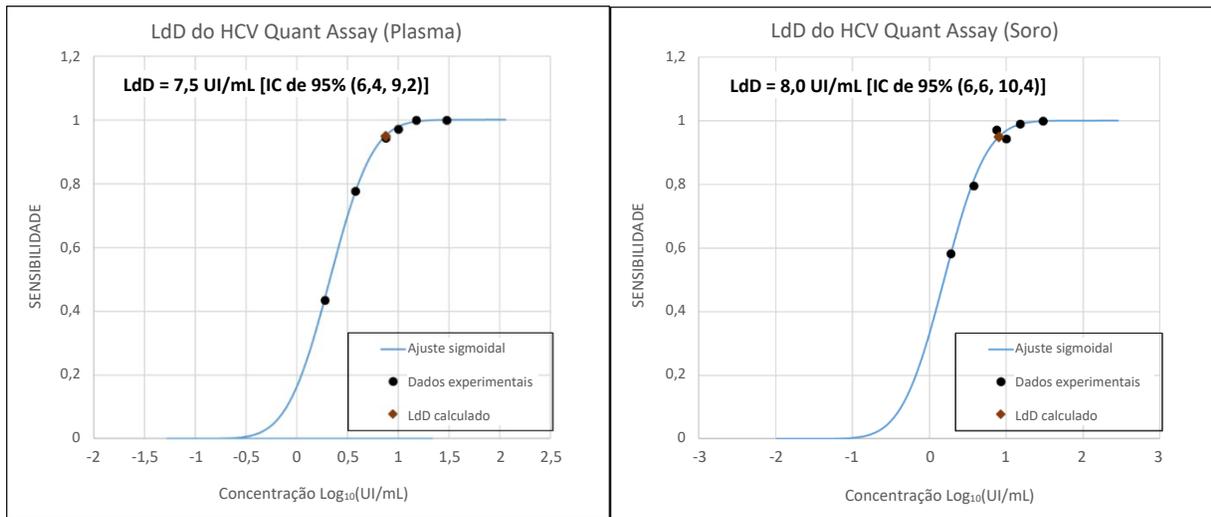


Figura 2: Análise Probit usada para determinar o LdD do NeuMoDx HCV Quant Assay; plasma (à esquerda) e soro (à direita) – Fluxo de trabalho de 550 µL

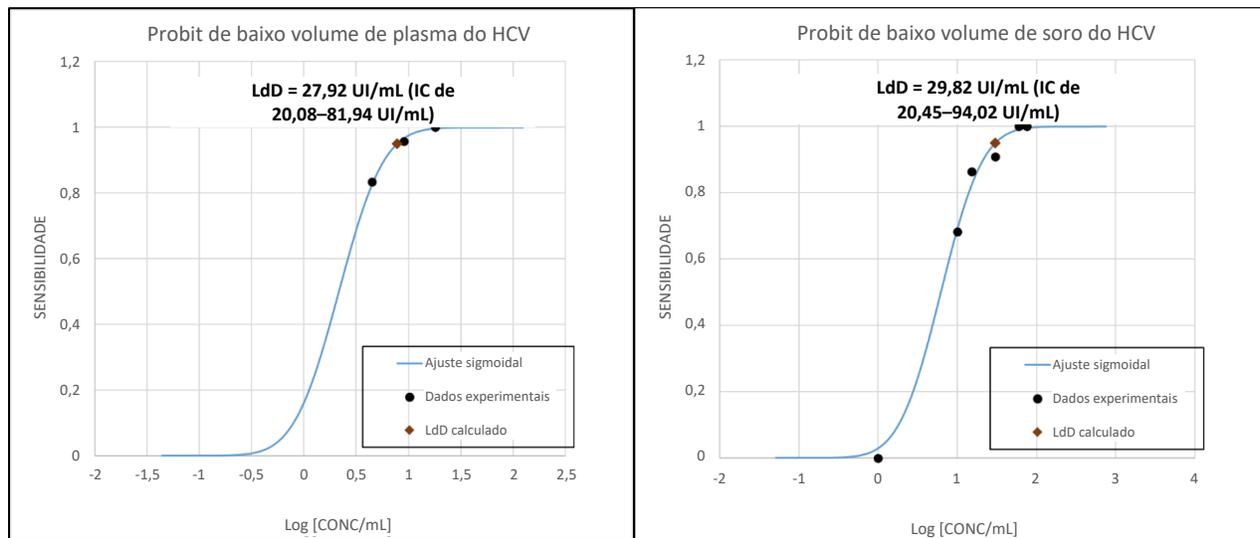


Figura 3: Análise Probit usada para determinar o LdD do NeuMoDx HCV Quant Assay; plasma (à esquerda) e soro (à direita) – Fluxo de trabalho de 200 µL

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

O limite inferior de quantificação (LidQ) é definido como o nível de alvo mais baixo no qual uma detecção > 95% é obtida e o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) é ≤ 1,0. Para determinar o LidQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis de alvo de HCV que apresentaram uma detecção > 95% como parte do cálculo do LdD. O TAE é definido da seguinte forma:

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

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

Os resultados compilados dos 6 níveis de espécimes de plasma e soro de HCV testados no estudo de LidQ usando o genótipo 1 com o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL são mostrados na *Tabela 4*. Os resultados dos testes adicionais usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL são mostrados na *Tabela 5*.

Tabela 4. LldQ do NeuMoDx HCV Quant Assay, com tendência e TAE – Fluxo de trabalho de 550 µL

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de 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
30,00	1,48	1,41	100	0,32	0,07	0,71	1,39	100	0,30	0,08	0,69
15,00	1,18	1,24	100	0,36	0,06	0,79	1,23	99	0,32	0,06	0,70
10,00	1,00	1,07	97	0,35	0,07	0,77	1,14	94	0,36	0,14	0,85
7,50	0,88	1,01	94	0,44	0,13	1,02	1,12	97	0,25	0,25	1,09
3,75	0,57	1,08	78	0,43	0,51	1,38	1,17	80	0,58	0,59	1,76
1,88	0,27	1,11	44	0,36	0,83	1,55	1,11	58	0,69	0,84	2,22

Tabela 5. LldQ do NeuMoDx HCV Quant Assay, com tendência e TAE – Fluxo de trabalho de 200 µL

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de 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
75	1,88	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1,56	100	0,23	0,32	0,78
60	1,78	1,93	100	0,39	0,15	0,93	1,56	100	0,27	0,22	0,76
30	1,48	1,35	96	0,44	0,11	0,99	1,45	91	0,41	0,03	0,85
15	1,18	1,37	77	0,42	0,18	1,03	1,36	86	0,53	0,18	1,25
10	1,00	1,26	59	0,56	0,25	1,36	1,15	68	0,53	0,15	1,21

Determinou-se que o LldQ do NeuMoDx HCV Quant Assay é de 7,7 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL) para plasma e de 8,4 UI/mL, (0,9 log₁₀ UI/mL) para soro usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL; determinou-se que o LldQ tanto para plasma quanto para soro é de **8,4 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL.

Determinou-se que o LldQ do NeuMoDx HCV Quant Assay usando o padrão da OMS é de 30,0 UI/mL (1,5 log₁₀ UI/mL) para plasma e de 29,8 UI/mL, (1,37 log₁₀ UI/mL) para soro usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL; determinou-se que o LldQ tanto para plasma quanto para soro é de **30,0 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.

Sensibilidade analítica – LdD e LldQ entre genótipos do HCV

O LdD foi inicialmente estabelecido para o Genótipo 1 (5º Padrão Internacional da OMS) e depois foram realizados testes adicionais em torno do LdD estabelecido usando cada um dos outros 5 genótipos. Foram testadas trinta e seis (36) réplicas em níveis correspondentes a 2X, 1X e 0,5X o limite superior do IC de 95% do LdD com o NeuMoDx HCV Quant Assay usando plasma com o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL. A taxa de porcentagem positiva para cada genótipo em cada um desses níveis testados foi tabelada e usada para calcular o LdD usando uma análise Probit.

O erro analítico total nesses níveis testados também foi calculado. O nível mais baixo com detecção positiva de 95% e TAE calculado de ≤ 1,0 foi novamente considerado o LldQ para o genótipo. Esses resultados confirmam que o NeuMoDx HCV Quant Assay tem um desempenho de detecção excelente e equivalente em todos os seis genótipos com um intervalo de 4,5–7,5 UI/mL, incluindo os resultados obtidos com o 5º Padrão Internacional da OMS (Genótipo 1). No geral, determinou-se que o LdD do NeuMoDx HCV Quant Assay entre os genótipos era de 7,5 UI/mL (0,88 Log₁₀ UI/mL) e determinou-se que o LldQ é o valor mais alto que é 7,7 UI/mL (0,9 Log₁₀ UI/mL), conforme relatado para o 5º Padrão Internacional da OMS (Genótipo 1, acima). A *Tabela 6* mostra os resultados de LdD e LldQ para testes dos genótipos do HCV conforme determinado em plasma.

Tabela 6. Genótipos do HCV testados em plasma usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL

GENÓTIPO	LdD [UI/mL]	LldQ [UI/mL]
1	7,5	7,7
2	4,5	5,2
3	7,5	7,5
4	6,0	6,0
5	4,8	5,5
6	4,5	6,7

Com base no resultado dos estudos referenciados acima, a NeuMoDx declara que o NeuMoDx HCV Quant Assay em **plasma e soro** tem um **LdD de 8,0 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** e um **LidQ de 8,4 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** usando o **fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL**.

O **LdD** e o **LidQ** do NeuMoDx HCV Quant Assay para **ambos os tipos de espécime (plasma e soro)** usando o **fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL** é de **30,0 UI/mL (1,5 log₁₀ UI/mL)**.

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

A linearidade e o limite superior de quantificação (LSdQ) do NeuMoDx HCV Quant Assay foram estabelecidos em plasma preparando uma série de diluições usando HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) e AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 5º Padrão Internacional da OMS. Um painel de 11 membros foi preparado em plasma negativo para HCV a fim de criar um painel que abrangesse um intervalo de concentração de 8,2–1,5 log₁₀ UI/mL. O NeuMoDx HCV Quant Assay demonstrou a capacidade de quantificar o HCV no intervalo linear de 8 log₁₀ com uma exatidão de ± 0,3 log₁₀ UI/mL com base no erro padrão calculado pelo intervalo de confiança de 95%. Não foram obtidos benefícios significativos usando ajustes de regressão de 2ª e 3ª ordem. O LSdQ em plasma foi determinado como sendo de 8,2 log₁₀ UI/mL. Foi realizado um estudo subsequente para demonstrar a equivalência da matriz e a análise comparou os resultados quantitativos de HCV da NeuMoDx para amostras preparadas em plasma e soro usando dois modelos de ajuste de regressão diferentes, incluindo a ferramenta de regressão do MS Excel e Passing-Bablok. Os resultados mostraram uma forte correlação representada por valores de declive e interseção muito próximos a 1,00 e 0,00 respectivamente e um valor de R² de 0,99 (ferramenta de regressão do MS Excel) ou um valor p de 0,600 (Passing-Bablok). As concentrações do ensaio de HCV relacionadas pelo NeuMoDx System em comparação com os valores esperados são apresentadas na *Figura 4*.

A linearidade e o LSdQ foram então avaliados com o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL. Foram realizadas comparações de equivalência entre as concentrações relatadas pelo software do NeuMoDx para os fluxos de trabalho de 200 µL e 550 µL. As análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok demonstraram uma excelente correlação e um declive próximo a 1 e intercepções mínimas (tendência) das concentrações relatadas para amostras de plasma e soro em todo o intervalo linear. Uma comparação de Bland e Altman da concentração relatada para o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL com a concentração média relatada para os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL demonstrou uma tendência mínima, atribuindo exatidão ao algoritmo usado para gerar resultados do fluxo de trabalho de 200 µL. Além disso, uma regressão linear simples comparando a concentração esperada com a concentração relatada para o fluxo de trabalho de 200 µL apresentou um declive próximo a 1, demonstrando excelente correlação (*Figura 5*). Juntas, essas comparações demonstram quantificação exata do HCV em todo o intervalo linear do NeuMoDx HCV Quant Assay usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.

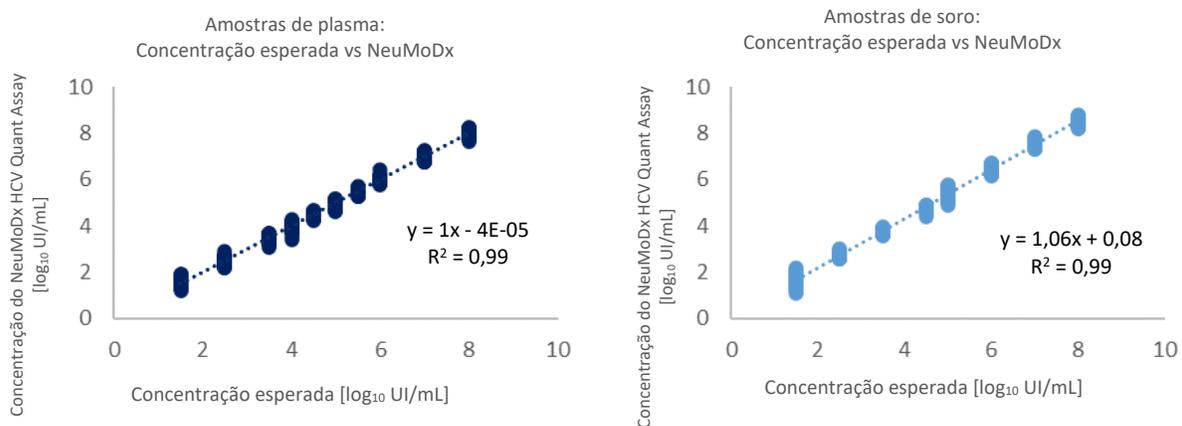


Figura 4: Intervalo linear do NeuMoDx HCV Quant Assay; plasma (à esquerda) e soro (à direita) – Fluxo de trabalho de 550 µL

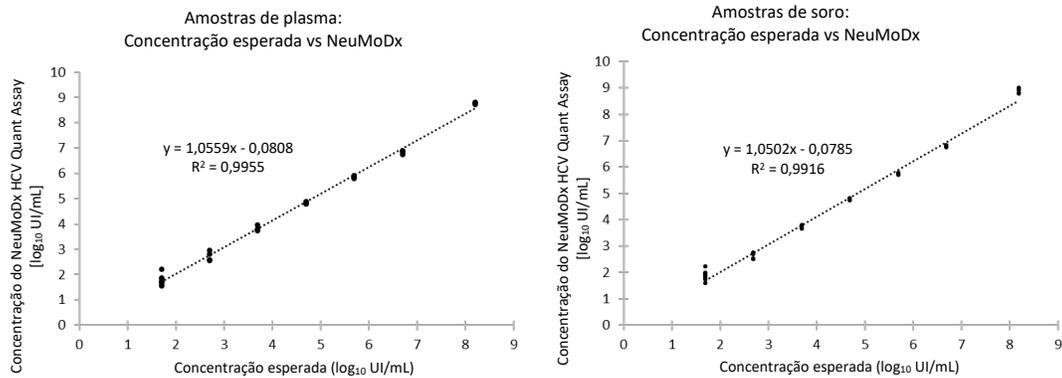


Figura 5: Intervalo linear do NeuMoDx HCV Quant Assay; plasma (à esquerda) e soro (à direita) – Fluxo de trabalho de 200 µL

Sensibilidade analítica – Linearidade entre genótipos

A linearidade do NeuMoDx HCV Quant Assay entre seis genótipos do HCV foi caracterizada testando pelo menos quatro (4) concentrações diferentes de cada genótipo do HCV preparadas em plasma negativo para HCV agrupado em pools. Os níveis de alvos de HCV testados nesse estudo dependiam da concentração do espécime original e, portanto, variaram entre os diferentes genótipos. O estudo foi realizado com cada genótipo usando 6 réplicas em cada nível. A linearidade entre seis genótipos de HCV é apresentada na *Tabela 7* e na *Figura 6*.

Tabela 7. Linearidade do NeuMoDx HCV Quant Assay entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade $y =$ Quantificação do NeuMoDx HCV Assay $x =$ Quantificação esperada	R^2
1	$y = 1,054x + 0,1325$	0,979
2	$y = 1,0792x - 0,0748$	0,985
3	$y = 1,0423x - 0,0439$	0,981
4	$y = 1,0158x + 0,0292$	0,973
5	$y = 0,9873x + 0,1524$	0,994
6	$y = 1,0393x + 0,0396$	0,997

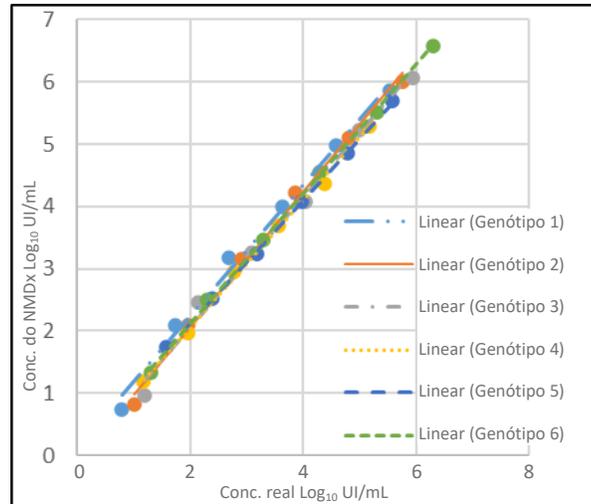


Figura 6: Linearidade do NeuMoDx HCV Quant Assay entre genótipos

Especificidade analítica – Reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 33 organismos normalmente encontrados em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao HCV quanto a reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 4 e 6 organismos e testados em alta concentração. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 8*. Não foi observada reatividade cruzada com nenhum dos organismos testados, confirmando a especificidade analítica de 100% do NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabela 8. Patógenos usados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo						
Adenovírus 2	Dengue V1	Hepatite A	Vírus da imunodeficiência humana tipo 2	Vírus linfotrópico de células T humanas 1	Propionibacterium acnes	Vírus do Nilo Ocidental
Adenovírus 5	Dengue V2	Hepatite B	Vírus do papiloma humano 16	Vírus linfotrópico de células T humanas 2	Rubéola	Febre amarela
Candida albicans	Dengue V3	Vírus herpes simplex (HSV) 1	Vírus do papiloma humano 18	Influenza A	Encefalite de St. Louis	Vírus Zika
Chlamydia trachomatis	Dengue V4	Vírus herpes simplex (HSV) 2	Vírus herpes humano 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Citomegalovírus	Vírus Epstein-Barr	Vírus da imunodeficiência humana tipo 1	Vírus herpes humano 8	Parvovírus B19	Staphylococcus epidermidis	

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais

O NeuMoDx HCV Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo usando os mesmos pools de organismos preparados para os testes de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 8*. Plasma negativo para HCV foi misturado com os organismos agrupados em pools de 4–6 e também com um controle positivo de HCV a uma concentração de 1,4 log₁₀ UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença desses organismos comensais, conforme indicado pelo desvio mínimo da quantificação em relação a espécimes de controle que não continham agentes interferentes.

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, substâncias endógenas e exógenas

O NeuMoDx HCV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias interferentes exógenas e endógenas tipicamente encontradas em espécimes clínicos de plasma de HCV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 9*. Cada uma das substâncias foi adicionada a plasma humano triado negativo para HCV misturado com 1,7 log₁₀ UI/mL de HCV e as amostras foram analisadas quanto a interferência. Além disso, foi também analisado plasma em estado de doença comum associada a infecção por hepatite C quanto a possível interferência. A concentração média e a tendência de todas as substâncias testadas são relatadas na *Tabela 10*. Nenhuma das substâncias exógenas e endógenas afetou a especificidade do NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabela 9. Testes de interferência – Agentes exógenos (classificações de medicamentos)

	Produto	Classificação		Produto	Classificação
Pool 1	Sofosbuvir	Antiviral de ação direta contra o HCV	Pool 2	Paritaprevir	Inibidor de protease NS3/4A do HCV
	Ledipasvir	Inibidor de HCV		Ombitasvir	Antiviral contra o HCV
	Velpatasvir	Inibidor de NSSA do HCV		Ritonavir	Inibidor da protease do HIV
	Claritromicina	Antibiótico		Sulfato de abacavir	Inibidor da transcriptase reversa
	Interferon alfa-2a	Modulador imunológico		Ribavirin	Modulador imunológico
Pool 3	Grazoprevir	Inibidor de protease NS3/4A do HCV	Pool 4	Efavirenz	Inibidor da transcriptase reversa
	Elbasvir	Inibidor de NSSA do HCV		Lopinavir	Inibidor de protease
	Tenofovir desopoxila	Antiviral contra o HBV/HIV		Azitromicina	Antibiótico
	Lamivudina	Antiviral contra o HBV/HIV		Dolutegravir	Antiviral contra o HIV
	Valganciclovir	Antiviral contra o CMV		Simeprevir	Inibidor de protease NS3/4A do HCV
Pool 5	Emtricitabina	Antiviral contra o HIV			
	Raltegravir	Antiviral contra o HIV			
	Amoxicilina	Antibiótico			
	Rilpivirina	Antiviral contra o HIV			
	Dasabuvir	Antiviral de ação direta contra o HCV			
	Glecaprevir	Inibidor de protease NS3/4A do HCV			

Tabela 10. Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos

Endógenos	Conc. média log ₁₀ UI/mL	Tendência log ₁₀ UI/mL
Hemoglobina	1,61	0,28
Triglicérides	1,31	-0,02
Bilirrubina	1,47	0,14
Albumina	1,47	0,14
Exógenos (medicamentos)	Conc. média log ₁₀ UI/mL	Tendência log ₁₀ UI/mL
Pool 1: Zidovudina (ZDV), saquinavir, ritonavir, claritromicina, interferon alfa-2a, interferon alfa-2b	1,48	0,15
Pool 2: Sulfato de abacavir, amprenavir, ribavirina, entecavir, fluoxetina, cloridrato de valganciclovir	1,40	0,07
Pool 3: Tenofovir desopoxila, lamivudina, ganciclovir, valganciclovir, nevirapina	1,40	0,07
Pool 4: Efavirenz, lopinavir, enfuvirtida, ciprofloxacina, paroxetina,	1,51	0,18
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), azitromicina, sulfato de indinavir, sertralina	1,40	0,07
Estado de doença	Conc. média log ₁₀ UI/mL	Tendência log ₁₀ UI/mL
Anticorpo antinuclear (AAN)	1,53	0,18
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	1,29	-0,06
Artrite reumatoide	1,39	0,04
Anticorpos contra o HBV	1,45	0,10
Cirrose alcoólica	1,43	0,08
Fator reumatoide	1,43	0,08
Esteatohepatite não alcoólica (EHNA)	1,32	-0,03

Precisão intralaboratorial

A precisão do NeuMoDx HCV Quant Assay foi determinada com a testagem de um painel de 7 membros de espécimes de HCV preparados (incorporando HCV Armored RNA e AcroMetrix HCV Control) usando três NeuMoDx Systems por 12 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema, e o desvio-padrão global foi determinado como sendo $\leq 0,26 \log_{10}$ UI/mL. Não foram encontradas diferenças significativas no desempenho entre sistemas, dias ou execuções, conforme apresentado na *Tabela 11*. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System.

Tabela 11. Precisão intralaboratorial – NeuMoDx HCV Quant Assay em NeuMoDx Systems

	Conc. de alvo [log ₁₀ UI/mL]	Conc. méd. [log ₁₀ UI/mL]	DP intrassistema	DP intradiário	DP intraensaio	DP (global) intralaboratorial
ARMORED	6	5,95	0,17	0,13	0,10	0,17
	5	4,87	0,20	0,14	0,12	0,20
	3	2,89	0,19	0,17	0,17	0,19
ACROMETRIX	4,4	4,45	0,12	0,10	0,08	0,13
	3,4	3,45	0,12	0,12	0,11	0,13
	2,4	2,41	0,17	0,15	0,15	0,17
	1,4	1,40	0,26	0,25	0,25	0,24

Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade lote a lote do NeuMoDx HCV Quant Assay foi determinada usando três lotes diferentes dos principais reagentes – NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates e NeuMoDx HCV Quant Test Strips. Um painel de 7 membros de HCV (incorporando HCV Armored RNA e AcroMetrix HCV Control) foi usado para avaliar o desempenho. Os testes foram realizados usando três lotes dos reagentes em três sistemas ao longo de 6 dias. A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados são apresentados na *Tabela 12*. A tendência global máxima foi de $0,24 \log_{10}$ UI/mL e o DP global máximo foi de $0,33 \log_{10}$ UI/mL. Não foram encontradas diferenças significativas no desempenho entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel estava dentro das especificações de tolerância.

Tabela 12. Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Conc. de alvo [log ₁₀ UI/mL]	Conc. média GLOBAL [log ₁₀ UI/mL]	n (Resultados válidos por lote)	TENDÊNCIA ABS.	DP entre lotes	DP intralote	DP global
ARMORED	6	5,76	36	0,24	0,35	0,13	0,37
	5	4,84	36	0,16	0,16	0,22	0,27
	3	2,81	36	0,19	0,31	0,16	0,35
ACROMETRIX	4,4	4,35	36	0,05	0,21	0,11	0,24
	3,4	3,31	36	0,09	0,17	0,11	0,20
	2,4	2,33	36	0,07	0,24	0,13	0,27
	1,4	1,38	36	0,02	0,23	0,13	0,33

Eficácia do controle

O controle de processo de amostras 2 (Sample Process Control 2, SPC2) está incluído no NeuMoDx HCV Quant Assay para reportar falhas nas etapas do processo ou inibição que afeta o desempenho do ensaio. A eficácia foi testada em condições representativas de falhas críticas nas etapas do processo que poderiam potencialmente ocorrer durante o processamento das amostras e *podem não ser detectadas* pelos sensores de monitoramento de desempenho do NeuMoDx System. Os espécimes positivos ($3 \log_{10}$ UI/mL) e negativos foram contestados na presença de um controle nas seguintes condições: presença de inibidor, sem aplicação de reagente de lavagem e sem expulsão do reagente de lavagem. As ineficiências do processo que tiveram um efeito adverso na detecção/quantificação de HCV foram refletidas pelo desempenho do alvo de SPC2, conforme apresentado na *Tabela 13*. Em todos os casos testados, foi demonstrado que ou o controle de processo de amostras monitorou as ineficiências do processo e a presença de inibidores adequadamente ou a ineficiência prevista do processo não teve um efeito adverso significativo na detecção do SPC2 nem na detecção e quantificação de HCV. Por este motivo, o SPC2 demonstrou ser bem-sucedido na monitorização eficaz do desempenho do ensaio no NeuMoDx System.

Tabela 13. Eficácia do controle de processo de amostras

Falha nas etapas do processo testada	Estado de amplificação do controle de processo de amostras	Estado de amplificação do alvo de HCV	Resultado do ensaio
Presence of Inhibitor (Presença de 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 (Positivo) com quantificação dentro de 0,3 Log ₁₀ UI/mL do controle

Taxa de resultados válidos

Uma análise retrospectiva dos dados obtidos durante a avaliação de desempenho do NeuMoDx HCV Quant Assay nos NeuMoDx Systems foi usada para determinar o percentual de resultados válidos. Os resultados de teste válidos serão relatados como Positive (Positivo) ou Negative (Negativo); os resultados de teste inválidos podem ser relatados ou como Indeterminate (Indeterminado, IND) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no estado de amplificação do alvo e do controle de processo de amostras. Uma determinação IND (Indeterminado) é normalmente causada por um erro do instrumento que leva a uma falha na amplificação do alvo e/ou do controle de processo interno. Uma determinação UNR (Não resolvido) é atribuída a amostras quando tanto o alvo como o controle de processo interno não são amplificados quando não é detectada uma falha do instrumento. Foram incluídos 1.962 resultados individuais do NeuMoDx HCV Quant Assay na análise retrospectiva, incluindo dados obtidos de espécimes de soro e plasma com o NeuMoDx 288 e com o NeuMoDx 96 System. A taxa de UNR (Não resolvido) foi determinada como sendo de 0,61% (12/1962) e a taxa de IND (Indeterminado) foi determinada como sendo de 0,41% (8/1962), satisfazendo assim os critérios de aceitação da análise. Desta forma, foi concluído que a taxa de resultados válidos do NeuMoDx HCV Quant Assay entre matrizes clínicas e NeuMoDx Systems foi de 99,0% com um IC de 95% de (98,4–99,3).

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada do NeuMoDx HCV Quant Assay foi determinada testando três conjuntos de espécimes de HCV incluindo espécimes alto positivos e negativos alternados. No total, isso envolveu a testagem de 144 réplicas de espécime humano negativo para HCV e de 144 réplicas de um espécime de HCV de alto título a 8,2 Log₁₀ UI/mL. Todas as 144 réplicas do espécime negativo foram relatadas como negativas, demonstrando a ausência de contaminação cruzada durante o processamento das amostras no NeuMoDx System.

Equivalência da matriz de espécimes

Foram realizados testes para demonstrar a equivalência da matriz de espécimes entre sangue total coletado em tubos de coleta com ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e com ácido-citrato-dextrose (ACD) para o preparo do plasma. Testes adicionais foram realizados para determinar a equivalência entre espécimes de plasma frescos e congelados (coletados nos dois tipos de tubo), bem como entre os espécimes de soro frescos e congelados. Os espécimes frescos foram mantidos a 4 °C até serem misturados com quatro níveis de HCV e testados quanto a equivalência. Em seguida, as amostras foram congeladas por no mínimo 24 horas a -20 °C. Após esse período de armazenamento congelado, os espécimes foram descongelados e testados novamente. Os resultados dos espécimes de plasma e soro frescos vs. congelados e dos espécimes de plasma em EDTA vs. ACD foram comparados quanto à sua equivalência por meio de uma análise de regressão. Os dados demonstraram uma excelente equivalência entre os espécimes de plasma em EDTA e ACD, espécimes de plasma frescos e congelados e espécimes de soro frescos e congelados.

Foram realizados testes adicionais para demonstrar a equivalência do desempenho do NeuMoDx HCV Quant Assay em espécimes primários vs espécimes secundários. Foram processados primeiro painéis de espécimes de doadores negativos para HCV misturados com alvo de HCV (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) e de espécimes de doadores positivos para HCV a partir dos tubos de espécime primários. Após o processamento dos tubos primários, o plasma ou soro remanescente de cada espécime foi aliquoteado em um tubo de espécime secundário e reprocessado. Não foram encontradas diferenças significativas nos resultados relatados entre o processamento de tubos de espécime primários e secundários.

Comparação de métodos clínicos

O desempenho qualitativo e quantitativo do NeuMoDx HCV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE testando espécimes clínicos não diluídos de pacientes infectados com HCV. Os testes foram realizados internamente na NeuMoDx através de um estudo simples cego de espécimes clínicos residuais desidentificados obtidos de seis laboratórios de referência externos. No total, 323 espécimes de plasma e 336 espécimes de soro foram processados usando o NeuMoDx HCV Quant Assay de forma cega (simples) em vários NeuMoDx Molecular Systems. Dessas amostras, 35 amostras de plasma e 13 amostras de soro foram processadas em AMBOS os NeuMoDx 288 e 96 Molecular Systems. Algumas das amostras que apresentaram um resultado INVALID (Inválido) não puderam ser processadas novamente devido à falta de disponibilidade de amostra suficiente.

Os erros de processamento e de sistema obtidos nos NeuMoDx Molecular Systems foram mínimos e satisfizeram os critérios. Um total de 4 resultados indeterminados (IND) foram inicialmente obtidos para as amostras de plasma e 4 resultados IND foram obtidos para as amostras de soro, o que resultou em uma taxa de IND inicial global de 1% (IC de 95% de 0,5%–3%) para plasma e 1% (IC de 95% de 0,4%–3%) para soro. Um total de 3 resultados UNRESOLVED (Não resolvido, UNR) foram inicialmente obtidos para as amostras de plasma e 5 resultados UNR foram obtidos para as amostras de soro, o que resultou em uma taxa global de 1% (IC de 95% de 0,2%–3%) para plasma e 1% (IC de 95% de 0,6%–4%) para soro.

Os espécimes com resultados inválidos (IND/UNR) ou um "Quantitation Error" (Erro de quantificação) foram testados novamente quando restou volume suficiente; foi realizada uma etapa de diluição em algumas amostras para produzir resultados válidos. Dos 13 espécimes que tiveram volume suficiente para serem repetidos (diluídos OU puros), foi obtido um resultado válido.

Dos 321 resultados válidos obtidos para os espécimes de plasma e 334 resultados válidos obtidos para as amostras de soro, 206 amostras de plasma e 154 amostras de soro foram relatadas como POSITIVE (Positivo) pelo NeuMoDx HCV Quant Assay com valores de concentração correspondentes atribuídos pelos testes de referência. Foram usadas análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok para estabelecer a correlação entre os valores de concentração do NeuMoDx HCV Quant Assay e os valores relatados pelos testes de referência para as amostras de plasma e soro.

Foram gerados gráficos de equivalência para representar a correlação entre as concentrações do NeuMoDx HCV Quant Assay e os valores de concentração dos testes de referência para todas as amostras testadas usando o ajuste de regressão de Deming e o ajuste de Passing-Bablok, apresentados na *Figura 7* e na *Figura 8*. A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada por um coeficiente de declive de 1,00 com um IC de 95% de (0,97–1,03) e uma interseção (tendência) de -0,16 com um IC de 95% de (-0,37, 0,06), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HCV 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 declive de 1,02 com um IC de 95% de (0,99, 1,05) e uma interseção (tendência) de -0,28 com um IC de 95% de (-0,43, -0,14), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HCV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável, conforme mostrado na *Tabela 14*.

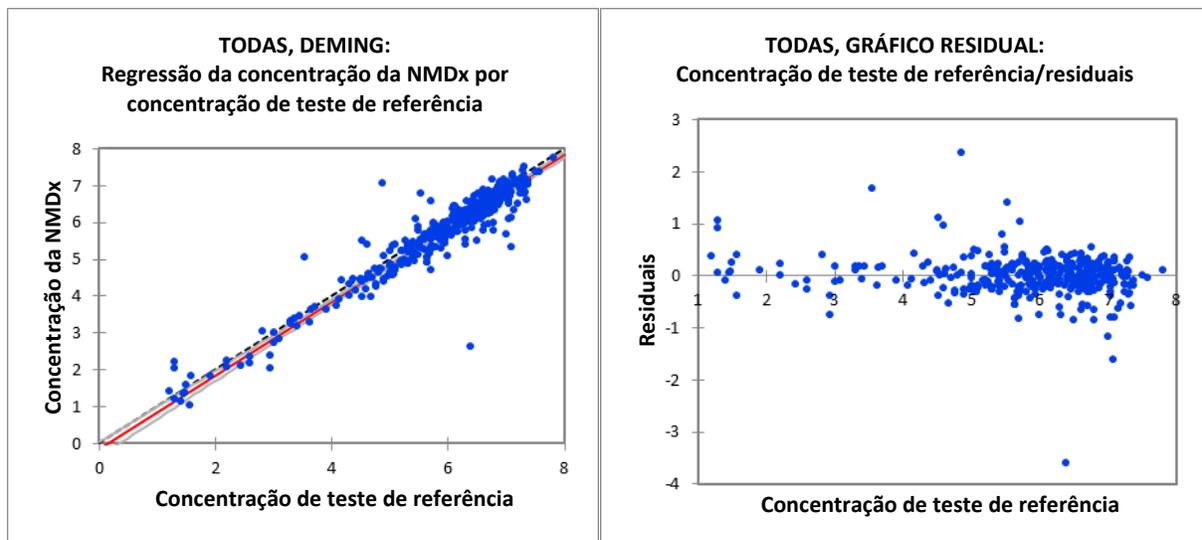


Figura 7: Gráficos de equivalência (à esquerda) e residual (à direita) – Análise cumulativa (em ambos os NeuMoDx Systems) dos resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay em comparação com os resultados de teste de referência de TODAS as amostras com base na análise de regressão de Deming.

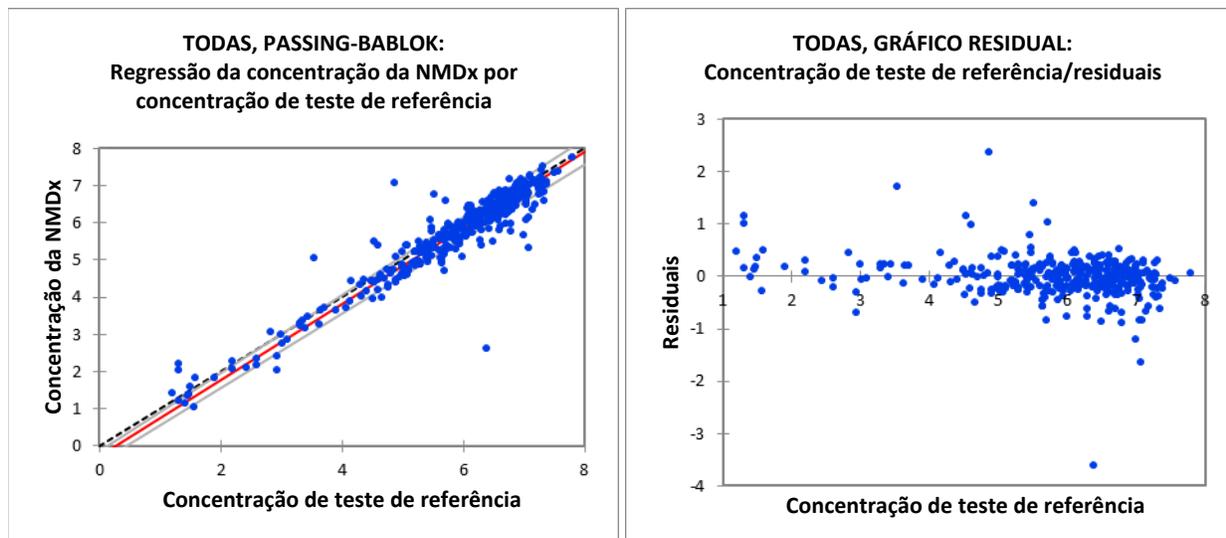


Figura 8: Gráficos de equivalência (à esquerda) e residual (à direita) – Análise cumulativa (em ambos os NeuMoDx Systems) dos resultados do NeuMoDx HCV Quant Assay em comparação com os resultados de teste de referência de TODAS as amostras com base na análise de regressão de Passing-Bablok.

Tabela 14. Resumo da análise de regressão linear de Deming e de Passing-Bablok

	Análise de Deming		Análise de Passing-Bablok	
	Interseção	Coefficiente de declive	Interseção	Coefficiente de declive
CUMULATIVA (Todas [Plasma + Soro])	- 0,16 IC de 95% (-0,37,0,06)	1,00 IC de 95% (0,97,1,03)	- 0,28 IC de 95% (-0,43,-0,14)	1,02 IC de 95% (0,99,1,05)

Dos 655 resultados válidos obtidos para espécimes de plasma e soro usando o NeuMoDx HCV Quant Assay, 361 foram relatados como positivos pelos testes de referência para HCV e 294 foram relatados como negativos. A sensibilidade e a especificidade do NeuMoDx HCV Quant Assay foram calculadas usando os dados de todas as amostras clínicas válidas em comparação com o teste de referência, o que é compilado e apresentado na *Tabela 15*. Das 361 amostras positivas testadas, 360 também foram relatadas como positivas pelo NeuMoDx HCV Quant Assay, demonstrando uma sensibilidade de 99,7% com um IC de 95% de (98,2%–100%). Das 294 amostras negativas testadas, 271 também foram relatadas como negativas pelo NeuMoDx HCV Quant Assay, demonstrando uma especificidade de 92,2% com um IC de 95% de (88,3%–94,9%).

A equivalência do NeuMoDx HCV Quant Assay foi demonstrada por meio de resultados altamente correlacionados do desempenho do ensaio entre o NeuMoDx 288 Molecular System, o NeuMoDx 96 Molecular System e o teste de referência para espécimes de plasma e soro.

Tabela 15. Resultados da comparação de métodos qualitativos para o NeuMoDx HCV Quant Assay comparando com os testes de referência – Plasma e soro

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
TOTAL	361	294	655
SENSIBILIDADE = 99,7% IC de 95% de (98,2%–100%) *ESPECIFICIDADE = 92,2% com IC de 95% de (88,3%–94,9%)			

***NOTA:** O LidQ do NeuMoDx HCV Quant Assay é de 0,9 Log₁₀ UI/mL, que é inferior ao ensaio comparativo usado como teste de referência. Foi realizada uma análise subsequente excluindo 9 amostras em que o HCV foi detectado pelo NeuMoDx, mas relatado como negativo pelo ensaio comparativo. Com a exclusão dessas 9 amostras, a especificidade do NeuMoDx HCV Quant Assay foi recalculada para ser 95,1% com um IC de 95% de (91,7–97,2).

Testes de espécimes artificiais – Fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL

A correlação quantitativa entre os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL foi confirmada usando um painel que consistia em amostras individuais de plasma e soro negativas para HCV misturadas com quatro níveis conhecidos de material de controle de HCV Accuplex, rastreáveis de acordo com o 5º Padrão Internacional da OMS para RNA do HCV para testes de ácido nucleico. Esses espécimes individuais de plasma e soro foram processados usando ambos os fluxos de trabalho de volume de espécime de 550 µL e 200 µL para um total de 324 testes realizados. As comparações de equivalência entre a concentração relatada pelo software do NeuMoDx para os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL com o painel artificial foram realizadas em uma base de amostra individual. A análise de regressão de Deming e de Passing-Bablok apresentou um declive de 1,003 e 1,000 com interseções de -0,082 e -0,085, respectivamente em plasma e 0,974 e 0,984 com interseções de 0,086 e 0,037, respectivamente em soro, demonstrando excelente concordância das quantificações do HCV entre os dois fluxos de trabalho de volume de processamento. Uma comparação de Bland e Altman demonstrou uma tendência mínima entre os dois fluxos de trabalho. Além disso, as análises de regressão linear simples com a concentração esperada e a concentração relatada para o fluxo de trabalho de 200 µL apresentaram um declive de 1,0432 e um coeficiente de correlação de 0,994 (plasma) e de 1,0007 e 0,993 (soro), o que respalda ainda mais o excelente desempenho usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL para o NeuMoDx HCV Quant Assay. Os resultados desses estudos são resumidos abaixo na *Figura 9* e na *Figura 10*.

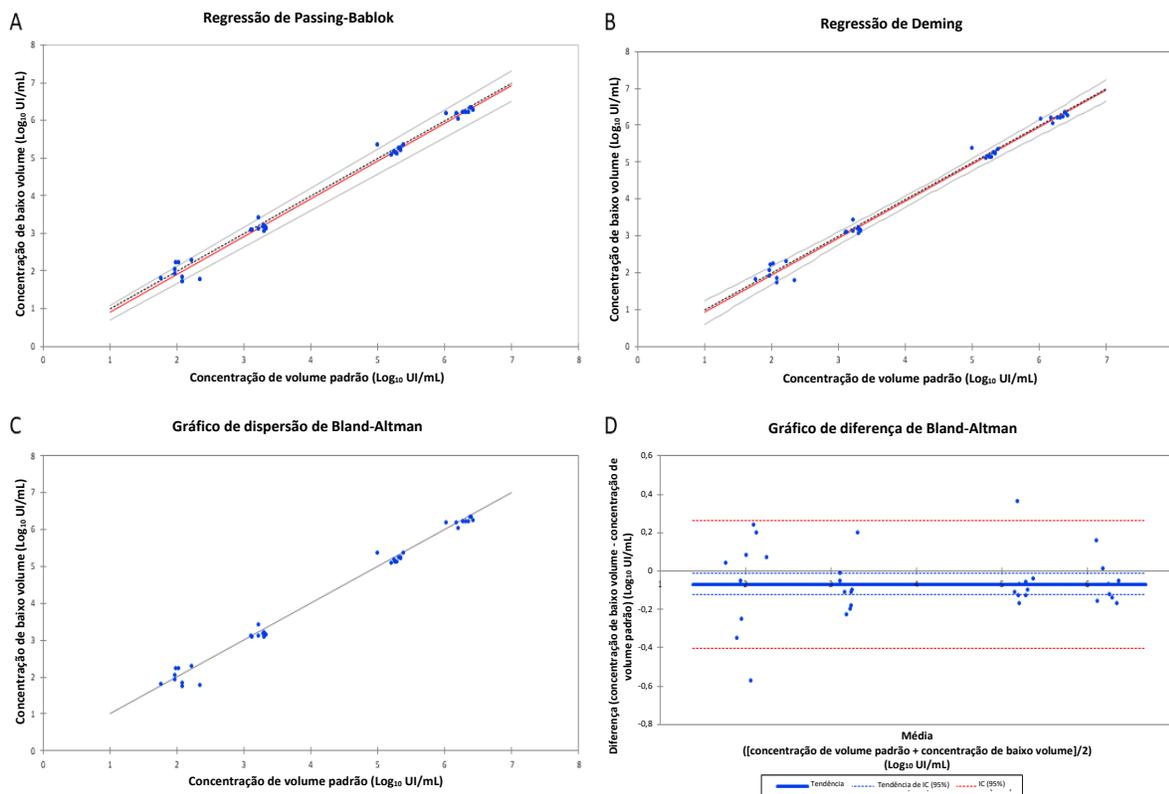


Figura 9: Comparações de gráficos de equivalência de concentrações relatadas do fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL com concentrações relatadas do fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferença de Bland-Altman – Espécimes de plasma

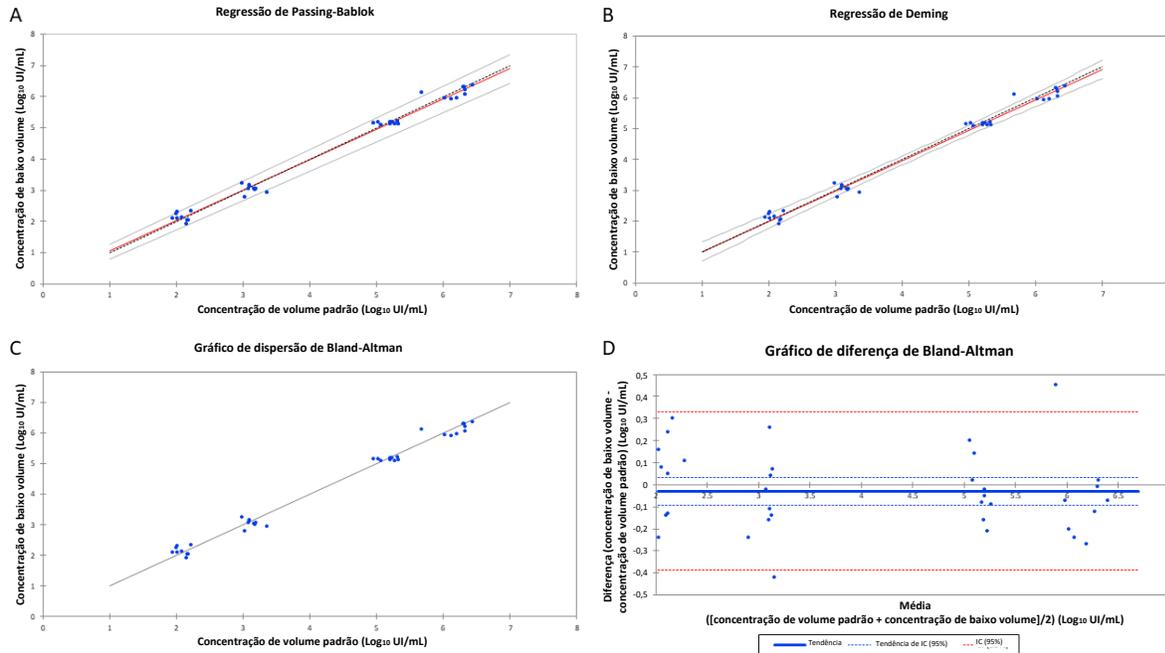


Figura 10: Comparações de gráficos de equivalência de concentrações relatadas do fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL com concentrações relatadas do fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferença de Bland-Altman – Espécimes de soro

REFERÊNCIAS

1. Rachel H. Westbrook, Geoffrey Dusheiko. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology Update: Hepatitis C*, Volume 61, Issue 1, Supplement, November 2014, Pgs S58-S68.
2. Annual Epidemiological Report for 2016, Hepatitis C, European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. (<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>)
3. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.
4. Surveillance for Viral Hepatitis – United States, 2016, CDC. <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/index.htm>
5. Diagnosis and management of hepatitis C virus-infected children. Javeri R. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2011;30(11):983 – 985.
6. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) and Infectious Disease Society of America (IDSA), HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C, Sept 21, 2017. (www.hcvguidelines.org)
7. Centers for Disease Control (CDC), Testing for HCV Infection: An Update of Guidance for Clinicians and Laboratorians Recommendations and Reports MMWR / Vol. 62 / May 7, 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
9. 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

NeuMoDx™ e NeuDry™ são marcas da NeuMoDx Molecular, Inc.
 AcroMetrix™ é uma marca da Thermo Fisher Scientific.
 Armored RNA® é uma marca registrada da Asuragen, Inc.
 BD Vacutainer® é uma marca registrada da Becton, Dickinson and Company
 BD, PPT™ e SST™ são marcas registradas da Becton, Dickinson and Company
 TaqMan® é uma marca registrada da Roche Molecular Systems, Inc.

Todos os outros nomes de produtos, marcas e marcas registradas que possam aparecer neste documento são propriedade de seus respectivos proprietários.

LEGENDA DE SÍMBOLOS

R only	Sujeito a prescrição médica		Limite de temperatura
	Fabricante		Não reutilizar
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Contém o suficiente para <n> testes
	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Consultar as instruções de uso
REF	Número de catálogo		Cuidado
LOT	Código de lote		Riscos biológicos
	Prazo de validade	CE	Marca 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
The Netherlands



Suporte técnico/Informação de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents