

**202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip****CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA**

Para uso em diagnóstico *in vitro* com o NeuMoDx™ 288 Molecular System e o NeuMoDx™ 96 Molecular System

Este folheto informativo deve ser lido com atenção antes do uso do produto. As instruções do folheto informativo devem ser seguidas adequadamente.



Não é possível garantir a confiabilidade dos resultados do ensaio se houver qualquer desvio das instruções contidas neste folheto informativo.

Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System; nº ref. 40600108

Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx™ 96 Molecular System; nº ref. 40600317



USO PREVISTO

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação e diferenciação do DNA do vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1, alfa herpesvírus humano 1) e/ou do DNA do vírus herpes simplex tipo 2 (HSV-2, alfa herpesvírus humano 2) em plasma com EDTA de pacientes transplantados imunocomprometidos^{1,2}.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, conforme realizado no NeuMoDx™ 288 Molecular System e no NeuMoDx™ 96 Molecular System, incorpora a extração automatizada de DNA para isolar os ácidos nucleicos alvo do espécime e PCR em tempo real tendo como alvo duas regiões altamente conservadas nos genomas do HSV-1 e HSV-2.

O ensaio destina-se a ser usado como auxílio no monitoramento dos níveis de DNA do HSV-1 e/ou HSV-2 em plasma com EDTA. Este ensaio destina-se a ser usado em conjunto com um quadro clínico e outros marcadores laboratoriais de progresso da doença para a gestão clínica e o monitoramento das infecções por HSV-1 e/ou HSV-2.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não se destina a ser usado como teste de rastreio da presença de DNA de HSV-1/HSV-2 no sangue ou produtos sanguíneos.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay destina-se a ser usado por pessoal de laboratório clínico qualificado, especificamente instruído e treinado nas técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro* e/ou nos NeuMoDx™ Molecular Systems. O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não se destina ao autoteste ou ao uso no local de atendimento.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano coletado em tubos de coleta de sangue estéreis que contêm EDTA como agente anticoagulante ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser usado para a preparação de plasma. Para iniciar os testes, o plasma, em um tubo de espécime primário ou secundário compatível com o NeuMoDx™ System, é carregado no NeuMoDx™ System usando um transportador de tubos de espécime designado para iniciar o processamento automatizado.

Uma alíquota de 550 µL do espécime de plasma é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 e o NeuMoDx™ System executa automaticamente todas as etapas necessárias para extrair o ácido nucleico alvo, preparar o DNA isolado para a amplificação por PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detectar os produtos da amplificação. O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay inclui um controle de processo de amostras (Sample Process Control 1, SPC1) de DNA 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.

HSV-1 e HSV-2 são infecções comuns em todo o mundo. Nos Estados Unidos, as soroprevalências de HSV-1 e HSV-2 são de 58% e 17%, respectivamente. A transmissão desses vírus ocorre por contato direto com a pele infectada ou secreções infectadas. A transmissão pode ocorrer durante períodos de excreção viral subclínica quando os sintomas estão ausentes^{3,4}.

Entre adultos imunocompetentes, tanto o HSV-1 quanto o HSV-2 causam uma variedade de infecções primárias que envolvem superfícies mucocutâneas. As síndromes coincidem, mas o HSV-1 normalmente causa herpes orolabial, já o HSV-2 causa doença anogenital. Ambas as síndromes são caracterizadas por vesículas dolorosas e ulceradas na pele e membranas mucosas da região afetada. Após a infecção primária, o HSV-1 e o HSV-2 estabelecem uma infecção latente dos neurônios do gânglio sensorial. A reativação do vírus latente leva à doença mucocutânea recorrente. A doença grave por HSV-1 ou HSV-2 é incomum em adultos imunocompetentes. No entanto, síndromes neurológicas importantes, incluindo paralisia de Bell, meningite e encefalite, podem ocorrer e estão associadas a morbidade e mortalidade significativas se não forem imediatamente tratadas. Pacientes imunocomprometidos com doença por HSV desenvolvem mais comumente uma das síndromes mucocutâneas descritas acima, decorrentes da reativação da infecção latente^{3,4,5}.

Indivíduos imunocomprometidos também correm risco de extensão local da doença (por ex., esofagite por HSV) e infecção disseminada. A infecção disseminada por HSV com envolvimento de órgãos viscerais não contíguos está associada a uma mortalidade muito alta, especialmente com hepatite por HSV^{3,4,5}.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no NeuMoDx™ System utiliza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 e reagentes de uso geral NeuMoDx™ para realizar a análise. O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay combina extração de DNA automatizada com amplificação e detecção por PCR em tempo real. Os espécimes de plasma em tubos de espécime primários ou secundários compatíveis com o NeuMoDx™ System são colocados em um transportador de tubos de espécime que é carregado no NeuMoDx™ System para processamento. Nenhuma outra intervenção do operador é necessária.

Os NeuMoDx™ Systems usam uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para efetuar automaticamente a lise celular, a extração de DNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por microesferas magnéticas de afinidade. As microesferas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge, onde os componentes não ligados e não DNA são retirados por lavagem por meio do NeuMoDx™ Wash Reagent e o DNA ligado é eluído usando o NeuMoDx™ Release Reagent. Em seguida, os NeuMoDx™ Systems então usam o DNA eluído para reidratar os reagentes de amplificação SENTINEL CH. S.p.A. liofilizados patenteados que contêm todos os elementos necessários para a amplificação por PCR dos alvos específicos de HSV-1/HSV-2 e do alvo de SPC1. Após a reconstituição dos reagentes de PCR liofilizados, o NeuMoDx™ System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR no NeuMoDx™ Cartridge. A amplificação e a detecção das sequências de DNA (se presentes) do controle e do alvo ocorrem na área da câmara de PCR do NeuMoDx™ Cartridge. O NeuMoDx™ Cartridge também foi projetado para conter o amplicon decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação pós-amplificação.

Os alvos genômicos da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip são, respectivamente, os genes US6 e UL45 para o vírus HSV-1 e os genes US6 e UL30 para o vírus HSV-2. Estes alvos amplificados são detectados em tempo real por meio da química de sonda de hidrólise (comumente chamada de química TaqMan®) usando 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, o que faz com 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 se anelarem 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 provoca a perda de proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a detecção do fluoróforo por fluorescência. O sinal fluorescente resultante detectado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx™ System é diretamente proporcional ao fluoróforo liberado e pode ser correlacionado à quantidade de DNA alvo presente⁶.

Sondas TaqMan® marcadas com fluoróforos na extremidade 5' e supressores na extremidade 3' são usadas para detectar DNA de HSV-1, DNA de HSV-2 e DNA de SPC1. 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 o 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 ou relata se a concentração calculada está fora do intervalo linear.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR liofilizados contendo sondas e primers TaqMan® específicos para HSV-1, sondas e primers TaqMan® específicos para HSV-2, além de sondas e primers TaqMan® específicos para SPC1.</i>	16	96

Reagentes e consumíveis 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>
800900	NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators <i>Conjuntos de uso único de calibradores secos altos e baixos de HSV-1 HSV-2 para estabelecer a curva-padrão.</i>
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls <i>Conjuntos de uso único de controles secos positivos e controles negativos de HSV-1 e HSV-2 para estabelecer a validade diária do NeuMoDx™ HSV-1/2 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Ponteiras Hamilton CO-RE (300 µL) com filtros
235905	Ponteiras Hamilton CO-RE (1.000 µL) com filtros

Para obter detalhes sobre reagentes e consumíveis, consulte o folheto informativo relacionado

Instrumentos necessários

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) ou NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software versão 1.9.2.6 ou superior.

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip é destinada para uso em diagnóstico in vitro exclusivamente com os NeuMoDx™ Systems.
- Leia todas as instruções contidas no folheto informativo do kit antes de realizar o teste.
- 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.
- Não misture reagentes para amplificação de outros kits comerciais.
- Não reutilizar. Mantenha todas as NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips protegidas da luz e da umidade em seus envelopes de alumínio.
- Uma calibração de teste válida, gerada pelo processamento de calibradores altos e baixos dos NeuMoDx™ HSV-1/2 Calibrators (REF 800900) deve estar disponível antes que possam ser gerados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls (REF 900901) a cada 24 horas ao longo da testagem com a NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do volume de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão 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 a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Recomenda-se o uso de pipetas de transferência descartáveis, estéreis e livres de DNase em caso de utilização de 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™ HSV 1/2 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.
- Devem ser usadas luvas nitrílicas limpas e sem talco ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx™. Deve-se ter especial cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx™ Cartridge, na superfície do selo de papel alumínio da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ou da NeuMoDx™ Extraction Plate ou na superfície superior do recipiente do NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; o manuseio dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- As Fichas de dados de segurança (FDS) de cada reagente (conforme aplicável) estão disponíveis em www.neumodx.com/client-resources.
- Uma barra vertical na margem do texto indica mudanças em relação à versão anterior do folheto informativo.
- 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, tal como os descritos na norma da OSHA sobre patógenos transmitidos pelo sangue⁷. O nível de biossegurança 2⁸ ou outras práticas de biossegurança apropriadas^{9,10} devem ser usados para materiais que contenham ou se suspeite que contenham agentes infecciosos.
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais. Siga as recomendações da Ficha de dados de segurança (FDS).

ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips permanecem estáveis na embalagem primária entre 15 e 30 °C até a data de validade indicada no rótulo do produto.
- Uma NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip carregada no NeuMoDx™ System permanece estável por 32 dias; o software do NeuMoDx™ System solicitará a remoção das tiras de teste que tenham estado em uso no NeuMoDx™ System por mais de 32 dias e será necessário abrir (extrair as tiras da bolsa) e carregar novas NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips no NeuMoDx™ System. Não remova o papel alumínio da tira ao carregar no transportador de tiras de teste.
- Os calibradores e controles NeuMoDx™ HSV1/2 não são infecciosos, mas devem ser descartados com os resíduos de risco biológico após o uso, pois conterão material do alvo que pode causar contaminação se não for manuseado corretamente.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congele sangue total ou espécimes de plasma armazenados em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser coletado em tubos estéreis usando EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante do tubo de coleta de espécime.

4. Sangue total coletado nos dispositivos listados acima pode ser armazenado e/ou transportado por até 24 horas a temperaturas entre 2 e 8 °C antes da preparação do plasma. A preparação de amostras deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
5. O plasma preparado pode ser armazenado no NeuMoDx[™] System por até 24 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
6. Os espécimes de plasma preparados devem ser armazenados a uma temperatura entre 2 e 8 °C por no máximo 8 dias antes dos testes e no máximo 24 horas em temperatura ambiente.
7. Os espécimes preparados podem ser armazenados a < -20 °C por até 8 semanas antes do processamento; as amostras não devem ser submetidas a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes do uso:
 - a. Se as amostras forem congeladas, deixe-as descongelar completamente em temperatura ambiente (15–30 °C) antes do teste; agite-as para que fiquem uniformemente distribuídas.
 - b. Assim que as amostras forem descongeladas, a testagem deve ocorrer no prazo de 24 horas.
8. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
9. Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de HSV-1 e/ou HSV-2.
10. Avance para a seção *Preparação para teste*.

O processo geral de implementação do NeuMoDx[™] HSV 1/2 Quant Assay está resumido abaixo na *Figura 1*.

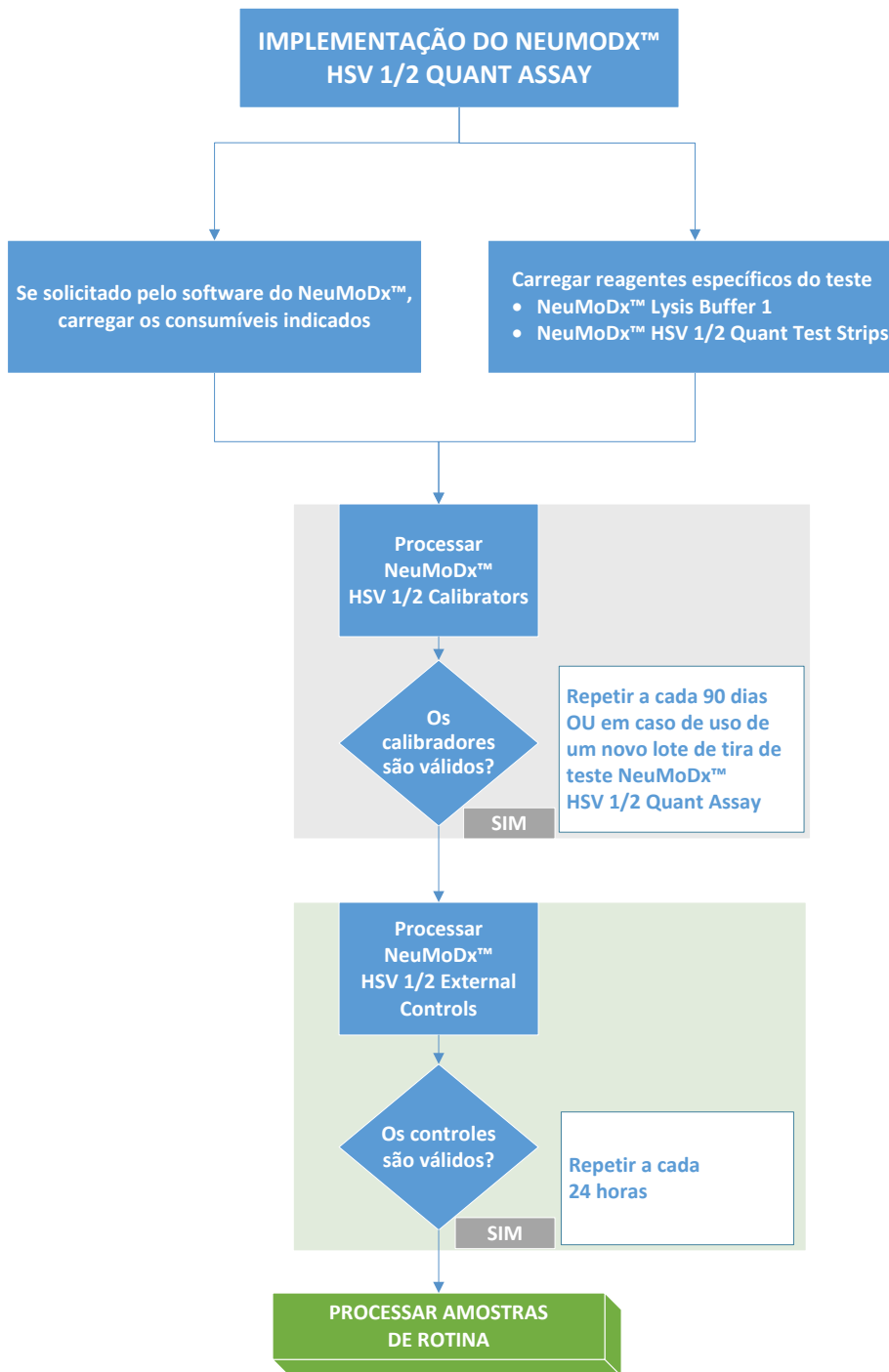


Figura 1: Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação para teste

Para amostras de plasma, o NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser executado diretamente a partir de tubos de coleta de sangue primários ou de alíquotas de espécime em tubos secundários.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras a 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 após centrifugação, conforme orientação do fabricante.
2. Se estiver testando o espécime de plasma no tubo de coleta primário, coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de que a tampa seja removida antes de carregá-lo no NeuMoDx™ System. Os volumes mínimos *acima* da camada de gel/leucoplaquetária são definidos abaixo e serão alcançados se os espécimes forem coletados e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. O desempenho não é garantido para espécimes coletados incorretamente.
3. Para amostras de plasma em um tubo secundário, transfira uma alíquota do espécime 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
Transportador de tubos de espécime de 32 tubos	11–14 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	750 µL
Transportador de tubos de espécime de 24 tubos	14,5-18 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	1100 µL
Transportador de tubos de espécime de baixo volume	Tubo para microcentrifuga com fundo cônico de 1,5 mL	650 µL

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 tipo de tubo desejado.
2. Recorte as bolsas de alumínio de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips no ponto indicado pelas marcas laterais.
3. Retire as tiras das bolsas imediatamente antes de usar.
4. Antes de abrir as bolsas, certifique-se sempre de que estejam bem seladas e que o sachê dessecante ainda está dentro delas. Use apenas bolsas não danificadas.
5. Descarte as bolsas de alumínio e o seu conteúdo se o sachê dessecante mudar de laranja para verde.
6. Preencha um ou mais NeuMoDx™ System Test Strip Carrier(s) com NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip(s) e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx™ System.
7. 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.
8. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, reponha NeuMoDx™ Wash Reagent e NeuMoDx™ Release Reagent, esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx™ 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiros (apenas NeuMoDx™ 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
9. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, processe os calibradores (REF 800900) e/ou os controles externos (REF 900901) conforme necessário. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção Processamento de resultados.
10. Carregue o(s) tubo(s) de calibrador/controle em um transportador de 32 tubos padrão e certifique-se de que as tampas sejam removidas de todos os tubos.
11. 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 o(s) teste(s) identificado(s), desde que um pedido de teste válido exista no sistema.

LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip somente pode ser usada em NeuMoDx™ Systems.
- O desempenho da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total coletado com EDTA como anticoagulante. O uso da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip com outros tipos de espécimes não foi avaliado e as características de desempenho do teste são desconhecidas com outros tipos de espécime.
- O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não deve ser usado com amostras humanas heparinizadas.
- Visto que a detecção de DNA de HSV-1 e/ou HSV-2 depende do número de organismos presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
- Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão entre 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™ HSV 1/2 Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx™ System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx™ System.
- Se os alvos de HSV-1, HSV-2 e SPC1 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se ocorrer um erro de sistema antes da conclusão do processamento da amostra, "No Result" (Sem resultado) será relatado e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx™ System relatará se o DNA de HSV-1 e/ou HSV-2 detectado estava abaixo do limite inferior de quantificação (LIdQ) ou acima do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o DNA de HSV-1 e/ou HSV-2 detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. Recomenda-se uma diluição de 1:100 ou 1:1000 em plasma negativo para DNA de HSV-1 e HSV-2 ou em Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). O sistema irá calcular automaticamente a concentração do espécime original da seguinte forma: Concentração do espécime original = \log_{10} (fator de diluição) + concentração relatada da amostra diluída, desde que o fator de diluição tenha sido selecionado corretamente no software antes da repetição.
- A presença ocasional de inibidores da PCR em plasma pode resultar em um erro de quantificação do sistema; caso isso ocorra, recomenda-se repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo indica a presença de DNA de HSV-1 e/ou HSV-2.
- Exclusões ou mutações nas regiões conservadas que são alvo do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay podem afetar a detecção ou levar a um resultado errôneo usando a NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay devem ser utilizados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não se destina a diagnosticar infecção.
- 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) na janela Results (Resultados) da tela sensível ao toque do NeuMoDx™ System. Os resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx™ System usando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no arquivo de definições de ensaio do NeuMoDx™ HSV 1/2 (versão 4.0.0 do ADF de HSV1/2). Um resultado do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser relatado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de HSV-1 e/ou HSV-2 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 processamento de resultados do ADF, resumidos abaixo na *Tabela 1*.

Os resultados da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.

Tabela 1: Resumo da interpretação dos resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Resultado	HSV-1/HSV-2	Controle de processo de amostras (SPC1)	Interpretação do resultado
Positive (Positivo) com concentração relatada	Amplified (Amplificado) $2,05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-1 detectado dentro do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) $1,78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-2 detectado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo), acima do limite superior de quantificação [LSdQ]	Amplified (Amplificado) $[\text{HSV-1}] > 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-1 detectado acima do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) $[\text{HSV-2}] > 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-2 detectado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo), abaixo do limite inferior de quantificação [LIdQ]	Amplified (Amplificado) $[\text{HSV-1}] < 2,05 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-1 detectado abaixo do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) $[\text{HSV-2}] < 1,78 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HSV-2 detectado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)*	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	DNA do HSV-1/HSV-2 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 Completed (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 Errors Noted (Não amplificado, Nenhum erro de sistema detectado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

*Assim como acontece com outros testes, resultados negativos não excluem infecção por HSV-1 e/ou HSV-2.

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

Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, a concentração de DNA de HSV-1 e de DNA de HSV-2 nas amostras é calculada usando as curvas-padrão relativas armazenadas em conjunto com os coeficientes de calibração.
 - Um coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão de um determinado lote da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, em um NeuMoDx™ System específico, para cada alvo.
 - O coeficiente de calibração é integrado à determinação final da concentração de DNA de HSV-1 e DNA de HSV-2.
- Os resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay são relatados em \log_{10} cópias/mL e cópias/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o EDX HSV-1 Verification Panel e o HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), ambos quantificados por PCR digital em gotas (ddPCR).

Calibração de teste

É necessária uma calibração válida com base na curva-padrão para quantificar o DNA de HSV-1 e/ou DNA de HSV-2 presente nos espécimes. Para gerar resultados válidos, é necessário concluir um teste de calibração para o HSV-1 e HSV-2 usando os calibradores fornecidos pela NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibradores

1. Os NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators são fornecidos em um kit (REF 800900) e são compostos de um pellet seco de DNA sintético de HSV-1 e HSV-2 e tampão específico.
2. É necessário processar um conjunto de calibradores de HSV-1/HSV-2 com cada novo lote de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips, se for carregado um novo arquivo de definições de ensaio de HSV-1/HSV-2 no NeuMoDx™ System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (atualmente definido em 90 dias) ou se o software do NeuMoDx™ System ter sido modificado.
3. 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 até que os calibradores tenham sido processados com sucesso.
4. Se for necessário processar um novo conjunto de calibradores de HSV-1/HSV-2, leia todas as instruções contidas no folheto informativo dos NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators antes de realizar o teste.
5. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a. É necessário gerar dois coeficientes de calibração, um para o HSV-1 e um para o HSV-2, processando um conjunto de dois calibradores para cada alvo, alto e baixo, para estabelecer a validade de cada curva.
 - b. Para gerar resultados válidos, pelo menos 2 das 3 réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de 3,12 log₁₀ cópias/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de 5,12 log₁₀ cópias/mL para os conjuntos de calibradores de HSV-1 e HSV-2.
 - c. Um coeficiente de calibração é calculado para levar em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste; este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final de HSV-1 e/ou HSV-2.
6. 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.
7. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação por duas vezes consecutivas, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN.

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

1. Os HSV-1 e HSV-2 External Controls (REF 900901) são fornecidos pela NeuMoDx™. Os controles positivos contêm um pellet seco de DNA sintético de HSV-1 HSV-2. O controle negativo é o tampão.
2. É necessário processar controles externos negativos e positivos uma vez a cada 24 horas. Se não houver um conjunto de controles externos válido, o software do NeuMoDx™ System solicitará que o usuário processe esses controles antes que os resultados das amostras possam ser relatados.
3. Se precisar de controles externos, prepare os controles positivo e negativo conforme indicado no folheto informativo dos HSV 1/2 External Controls antes de realizar o teste.
4. Usando a tela sensível ao toque e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira de autocarregamento, carregue os controles positivo e negativo no NeuMoDx™ System. O NeuMoDx™ System reconhecerá o código de barras e começará a processar os tubos de controle externo, a menos que não estejam disponíveis reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. 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 HSV-1 e HSV-2 e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para HSV-1 e HSV-2.
6. Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
 - a. Um resultado de teste Positive (Positivo) relatado para uma amostra de controle negativo indica um problema de contaminação do espécime, e os procedimentos de controle de qualidade do laboratório precisam ser examinados para encontrar uma causa raiz. Certifique-se de usar áreas separadas para a preparação de amostras, manuseio de controles e preparação de PCR em tempo real. Para obter mais dicas de solução de problemas, consulte o *Manual do operador do NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System*.
 - b. Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c. Em qualquer dos casos acima, ou no caso de um resultado No Result (Sem resultado, NR), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou Indeterminate (Indeterminado, IND), repita o(s) controle(s) que falharam com um novo frasco recém-preparado do(s) controle(s) que tenha(m) falhado o teste de validação.
 - d. Se os NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls positivos continuarem relatando um resultado Negative (Negativo), entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN.
 - e. Se o NeuMoDx™ HSV 1/2 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 QIAGEN.
7. Se os Controles externos não apresentarem os resultados esperados, será necessário repetir um conjunto de controles positivos e negativos. As amostras não serão processadas até que um conjunto válido de Controles externos seja processado pelo sistema. Caso as amostras estejam em processamento enquanto os controles externos expiram, o sistema exigirá que um conjunto válido de Controles externos seja executado. Se o conjunto de controles externos não fornecer resultados válidos, os resultados das amostras não serão relatados.

Controles (internos) de processo de amostras

Um controle de processo de amostras (Sample Process Control, SPC1) exógeno está integrado à NeuMoDx™ Extraction Plate e passa por todo o processo de extração de ácido nucleico e de amplificação por PCR em tempo real com cada amostra/controle/calibrador. Estão incluídos primers e sonda específicos para o SPC1 em cada NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, permitindo a detecção da presença de SPC1 em conjunto com o DNA de HSV-1 e HSV-2 alvo (se presente) via PCR em tempo real multiplex. A detecção da amplificação do SPC1 permite que o software do NeuMoDx™ System monitore a eficácia dos processos de extração de DNA e de amplificação por PCR.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay realizado no NeuMoDx™ System não produzir um resultado válido, será relatado como Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sem resultado, NR) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro que ocorreu. O teste deve ser repetido para obter um resultado válido.

Um resultado Indeterminate (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 No Result (Sem resultado) será relatado se um erro do NeuMoDx System for detectado e o processamento da amostra for cancelado. No caso de um resultado No Result (Sem resultado), é recomendável repetir o teste.

Um resultado UNR (Não resolvido) será relatado se nenhum alvo for detectado e não houver amplificação do DNA do HSV-1, do DNA do HSV-2 ou do SPC1, o que indica uma possível falha dos reagentes ou a presença de inibidores. Caso seja relatado um resultado UNR (Não resolvido), um primeiro passo poderá ser a repetição do teste. Se uma repetição do teste falhar, é possível utilizar um espécime diluído para mitigar os efeitos de uma possível inibição da amostra (consulte a seção de limitações para obter mais instruções).

Consulte o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System (nº ref.: 40600108) ou o Manual do operador do NeuMoDx 96 Molecular System (nº ref.: 40600317) para obter uma lista de códigos de erro que podem estar associados a resultados inválidos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO^{11,12,16}

Sensibilidade analítica – Limite de detecção¹³

A sensibilidade analítica do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi determinada pela testagem de uma série de diluições do EDX HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) e do HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), em amostras de plasma negativas para HSV-1/HSV-2, a fim de determinar o limite de detecção (LdD) nos NeuMoDx™ Systems. O LdD foi definido como o nível de alvo mais próximo, determinado experimentalmente, acima da concentração determinada pela análise Probit com um intervalo de confiança (IC) de 95%. O estudo foi realizado durante 3 dias em vários sistemas com vários lotes de reagentes NeuMoDx™. Cada sistema processou 42 réplicas em cada nível de diluição (amostras positivas) e 8 réplicas de amostras negativas por dia. As taxas de detecção estão descritas na *Tabela 2* e 3.

Tabela 2: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Concentração de alvo [cópias/mL]	Concentração de alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção	Concentração de alvo [cópias/mL]	Concentração de alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
160	2,20	42	40	95,24 %	100	2,00	42	41	97,62 %
100	2,00	42	40	95,24 %	60	1,78	41	39	95,12 %
80	1,90	42	35	83,33 %	40	1,60	42	40	95,24 %
40	1,60	38	26	68,42 %	20	1,30	42	27	64,29 %
NEG	0,00	20	0	0 %	NEG	0,00	24	0	0%

Por meio da análise Probit, determinou-se que o LdD do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay era de 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) (Intervalo de confiança de 95%: 93,5 a 133,7 cópias/mL) para o HSV-1 e de 56 cópias/mL (1,75 log₁₀ cópias/mL) (Intervalo de confiança de 95%: 44,7 a 66,2 cópias/mL) para o HSV-2.

A concentração de LdD (114 cópias/mL) do HSV-1 foi confirmada pela análise de taxa de identificação em isolados de diferentes áreas geográficas: Ásia, Europa, África e América do Norte (Tabela 3).

Tabela 3: Análise de taxa de identificação em isolados de HSV-1 de diferentes áreas geográficas confirmando o limite inferior de detecção. Nível de concentração testado: 114 cópias/mL.

Isolado de área geográfica	Testes válidos	Amostras detectadas	Taxa de detecção
América do Norte	24	24	100
Europa	24	24	100
Ásia	24	24	100
África	24	24	100

Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LIdQ) e limite superior de quantificação (LSdQ)¹³

O limite inferior de quantificação (LIdQ) e o limite superior de quantificação (LSdQ) são definidos como o nível de alvo mais baixo e o nível de alvo mais alto em que >95% de detecção é alcançada e o TAE ≤1,0. Para determinar o LIdQ e o LSdQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis de alvo de HSV-1 e HSV-2 que apresentaram uma detecção >95% no teste de limite de detecção. O TAE é definido da seguinte forma:

$$TAE = |\text{Bias}| + 2 * SD \text{ [Estatística de Westgard]}$$

O viés 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 para os 5 níveis de espécimes de plasma de HSV-1/HSV-2 utilizados no estudo de LIdQ/LSdQ são mostrados nas Tabelas 4 e 5. Com base neste conjunto de dados e no LdD previamente determinado, determinou-se que o LIdQ e o LSdQ eram de 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) e 1,26x10⁶ cópias/mL (aqui arredondado para 6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-1 e de 60 cópias/mL (1,78 log₁₀ cópias/mL) e 1,19x10⁶ cópias/mL (aqui arredondado para 6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-2.

Tabela 4: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; LSdQ e LIdQ do HSV-1, com viés e TAE

Conc. de alvo [cópias/mL]	Conc. de alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Detecção (%)	DP	Viés	TAE
1.26x10 ⁶	6,10	6,10	100	0,22	0,10	0,54
160	2,20	2,46	95,24	0,26	0,25	0,78
100	2,00	2,37	95,24	0,31	0,37	0,98
80	1,90	2,33	83,33	0,29	0,42	1,01
40	1,60	2,25	68,42	0,38	0,65	1,41

Tabela 5: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; LSdQ e LIdQ do HSV-2, com viés e TAE

Conc. de alvo [cópias/mL]	Conc. de alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Detecção (%)	DP	Viés	TAE
1.19x10 ⁶	6,08	5,95	100	0,07	0,13	0,27
100	2,00	2,29	97,62%	0,20	0,29	0,69
60	1,78	2,21	95,12%	0,21	0,43	0,84
40	1,60	2,21	95,24%	0,21	0,61	1,02
20	1,30	2,00	64,29%	0,27	0,69	1,24

Com base nos resultados desses estudos, determinou-se que o LIdQ do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay era de 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-1 e de 60 cópias/mL (1,78 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-2. O LSdQ para todos os tipos de espécimes é de 1,26x10⁶ cópias/mL (6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-1 e de 1,19x10⁶ cópias/mL (6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-2.

Linearidade¹⁴

A linearidade da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi estabelecida em plasma preparando uma série de diluições usando o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) e o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Foram criadas oito (8) diluições em série de painéis de HSV-1/HSV-2, preparadas em plasma humano negativo para HSV-1/HSV-2, para abranger uma faixa de concentração de 6–2 log₁₀ cópias/mL.

As concentrações do ensaio de HSV-1/HSV-2 relatadas pelo NeuMoDx™ System em comparação com os valores esperados são apresentadas nas Figuras 2 e 3.

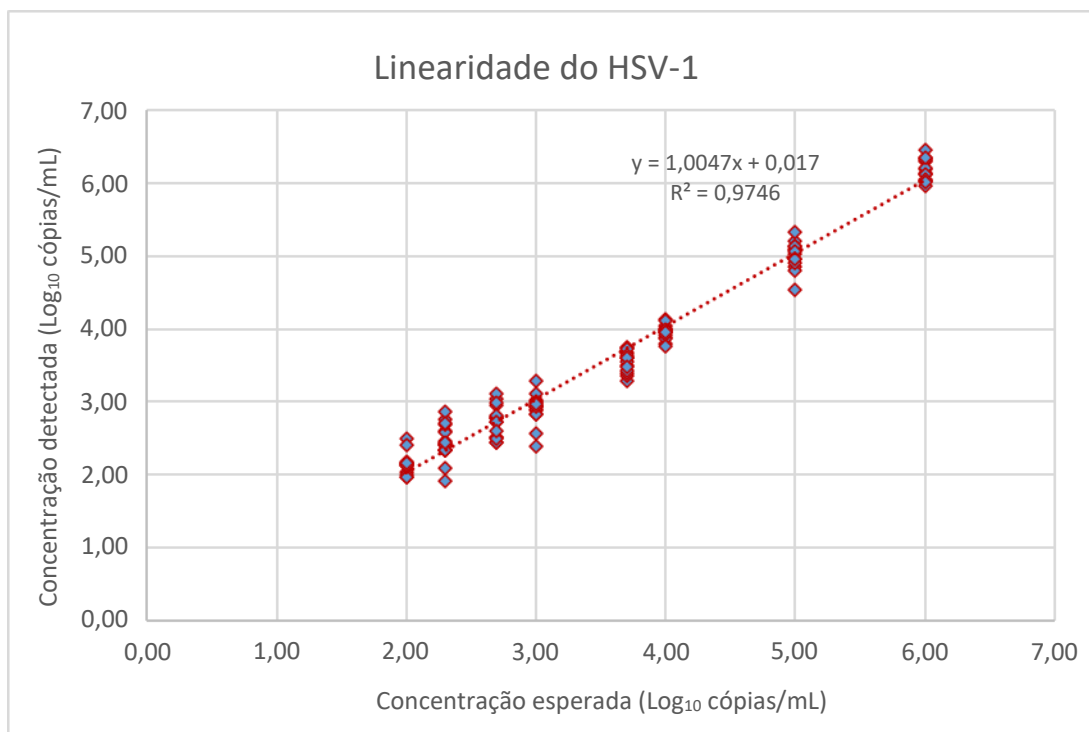


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para o HSV-1

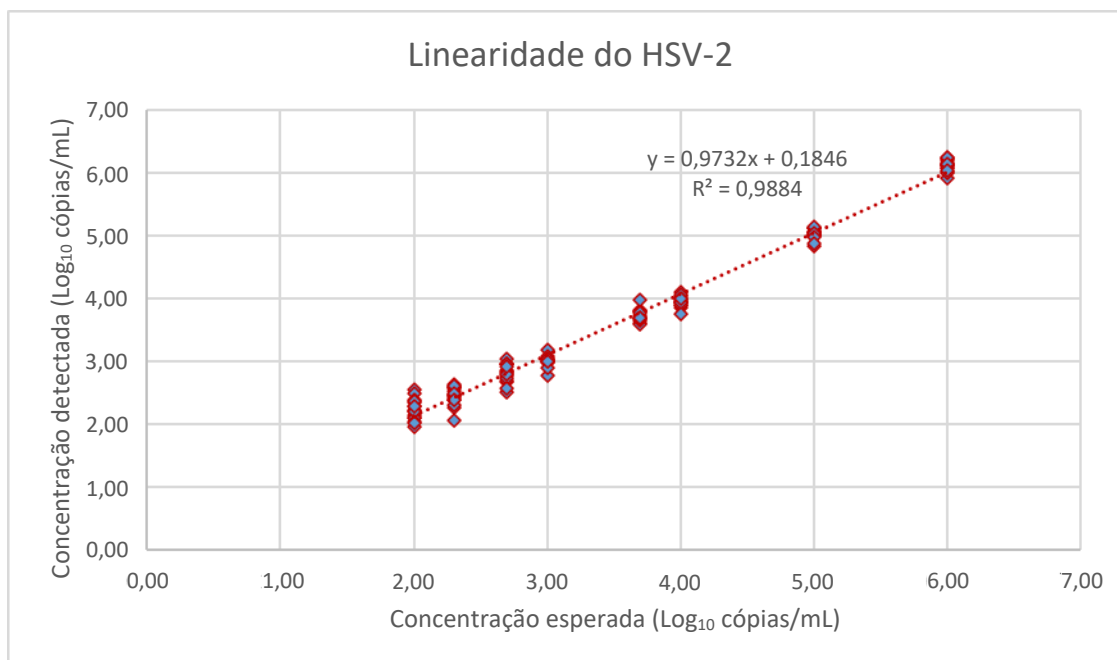


Figura 3: Linearidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para o HSV-2

Especificidade analítica – Reatividade cruzada^{11, 12}

A especificidade analítica foi demonstrada por meio da análise de 22 organismos normalmente encontrados em espécimes de plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao HSV-1 e HSV-2 quanto a reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5/6 organismos e testados em alta concentração. Os organismos testados são exibidos na *Tabela 6*. Não foi observada reatividade cruzada com nenhum dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabela 6: Patógenos usados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Vírus da imunodeficiência humana tipo 1	Vírus da hepatite B	Adenovírus tipo 5	Vírus Epstein-Barr	Vírus varicela-zoster	Enterovírus 68
Vírus BK	Vírus herpes humano tipo 6	Vírus herpes humano tipo 8	Citomegalovírus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	Vírus JC	SV40	Vírus da imunodeficiência humana tipo 2		

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais^{11, 12}

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para a análise de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 6*. O plasma negativo para HSV-1/HSV-2 foi misturado com os organismos agrupados em pools de 4–7 e também com o alvo de HSV-1/HSV-2 a uma concentração de 2,47 log₁₀ cópias/mL (300 cópias/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^{11, 12}

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias interferentes exógenas e endógenas tipicamente encontradas em plasma clínico de HSV-1/HSV-2. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 7*. Cada uma das substâncias foi adicionada a Basematrix 53 negativo para HSV-1/HSV-2 triado misturado com 2,47 log₁₀ cópias/mL (300 cópias/mL) de HSV-1/HSV-2, e as amostras foram analisadas quanto a interferência. A concentração e o viés médios de todas as substâncias testadas em comparação com amostras de controle misturadas com o mesmo nível de HSV-1/HSV-2 são relatados na *Tabela 8*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabela 7: Testes de interferência – Agentes exógenos (classificações de medicamentos)

Pool	Nome do medicamento	Classificação
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednisona	IMUNOSSUPRESSOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaxima	ANTIBIÓTICO
	Micofenolato mofetil	IMUNOSSUPRESSOR
Pool 2	Vancomicina	ANTIBIÓTICO
	Tacrolimus	IMUNOSSUPRESSOR
	Famotidina	ANTI-HISTAMÍNICO
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomida	IMUNOSSUPRESSOR

Tabela 8: Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos

Endógenos (Plasma)	HSV-1		HSV-2	
	Conc. média	Viés	Conc. média	Viés
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Triglicerídeos (500 mg/dL)	3,04	-0,19	2,51	0,07
Bilirrubina conjugada (0,25 g/L)	3,18	-0,18	2,72	0,15
Bilirrubina não conjugada (0,25 g/L)	3,62	-0,27	2,53	0,24
Albumina (58,7 g/L)	2,88	-0,14	1,99	0,01
Hemoglobina (2,9 g/L)	2,8	-0,07	2,69	-0,01
Exógenos (Medicamentos)	Conc. média	Viés	Conc. média	Viés
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Micofenolato mofetil	2,16	0,33	2,18	0,35
Pool 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	2,53	0,32	2,44	0,56

Repetibilidade e precisão intralaboratorial¹⁵

A precisão da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada com a testagem de 2 réplicas de um painel de 3 membros de espécimes de HSV-1/HSV-2 preparadas com plasmídeo de HSV-1 ou HSV-2 duas vezes ao dia, usando um NeuMoDx™ 96 System por 20 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio e intradiária, e determinou-se que o desvio-padrão geral era de $\leq 0,30$ log₁₀ cópias/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente entre dias e execuções, conforme apresentado na *Tabela 9*. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx™ System.

Tabela 9: Precisão intralaboratorial – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no NeuMoDx™ System 96

Amostra	DP de repetibilidade (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre execuções (log ₁₀ cópias/mL)	DP intradiário (log ₁₀ cópias/mL)	Entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP (intralaboratorial) geral (log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
5,5 log ₁₀ cópias/mL	0,18	0,00	0,18	0,10	0,20
4,5 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,10	0,19	0,00	0,19
3,0 log ₁₀ cópias/mL	0,19	0,09	0,21	0,10	0,23
HSV-2					
5,7 log ₁₀ cópias/mL	0,14	0,05	0,15	0,07	0,16
4,7 log ₁₀ cópias/mL	0,11	0,00	0,11	0,07	0,13
3,1 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,13	0,20	0,00	0,20

Reprodutibilidade lote a lote¹⁵

A reprodutibilidade lote a lote da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada usando três lotes diferentes de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips. Um painel de 4 membros de HSV-1 e HSV-2 preparado com o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) ou o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) foi usado para avaliar o desempenho em um NeuMoDx™ 96 Molecular System em 5 execuções separadas. Foi analisada a variação intralote e entre lotes e os resultados, expressos como desvio-padrão entre lotes, são apresentados na *Tabela 10*. O maior desvio-padrão máximo foi de 0,26 log₁₀ cópias/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre lotes, uma vez que o desvio-padrão de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância (DP de reprodutibilidade $\leq 0,3$ log₁₀ cópias/mL).

Tabela 10: Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Amostra	DP de repetibilidade (Log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (Log ₁₀ cópias/mL)	DP intralote (Log ₁₀ cópias/mL)	DP entre lotes (Log ₁₀ cópias/mL)	DP de reprodutibilidade (Log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
1,26 x10 ⁵ cópias/mL	0,12	0,22	0,25	0,00	0,25
1,26 x10 ⁴ cópias/mL	0,16	0,19	0,25	0,00	0,25
300 cópias/mL	0,18	0,17	0,25	0,00	0,25
HSV-2					
1,26 x10 ⁵ cópias/mL	0,13	0,12	0,17	0,00	0,18
1,26 x10 ⁴ cópias/mL	0,77	0,10	0,13	0,00	0,13
300 cópias/mL	0,21	0,12	0,24	0,00	0,24

Reprodutibilidade instrumento a instrumento¹⁵

A reprodutibilidade instrumento a instrumento da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada usando três sistemas diferentes (um NeuMoDx™ 288 Molecular System e dois NeuMoDx™ 96 Molecular System). Um painel de 4 membros de HSV-1/HSV-2 preparado com o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) ou o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) foi usado para avaliar o desempenho. O teste foi realizado nos sistemas por 5 dias. Foram caracterizadas as variações intradiária e entre sistemas, e determinou-se que o desvio-padrão geral era de ≤0,30 log₁₀ cópias/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre sistemas, uma vez que o DP na quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância (Tabela 11).

Tabela 11: Reprodutibilidade instrumento a instrumento – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Amostra	DP de repetibilidade (Log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (Log ₁₀ cópias/mL)	DP intrassistema (Log ₁₀ cópias/mL)	DP entre sistema (Log ₁₀ cópias/mL)	DP de reprodutibilidade (Log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
1,26 x10 ⁵ cópias/mL	0,25	0,04	0,26	0,13	0,29
1,26 x10 ⁴ cópias/mL	0,26	0,08	0,28	0,07	0,28
300 cópias/mL	0,19	0,08	0,21	0,08	0,23
HSV-2					
1,26 x10 ⁵ cópias/mL	0,15	0,16	0,22	0,00	0,22
1,26 x10 ⁴ cópias/mL	0,14	0,18	0,23	0,08	0,24
300 cópias/mL	0,14	0,20	0,25	0,00	0,25

REFERÊNCIAS

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Lee, D.H., Zuckerman, R.A., AST Infectious Diseases Community of Practice, 2019. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant 33, e13526. <https://doi.org/10.1111/ctr.13526>
3. Reid GE, Lynch JP 3rd, Weigt S, Sayah D, Belperio JA, Grim SA, Clark NM. Herpesvirus Respiratory Infections in Immunocompromised Patients: Epidemiology, Management, and Outcomes. Semin Respir Crit Care Med. 2016 Aug;37(4):603-30. doi: 10.1055/s-0036-1584793. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27486740; PMCID: PMC7171758.
4. Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Ortega-Quijano D, Burgos-Blasco P, Pindado-Ortega C, Bea-Ardebol S. A case of atypical disseminated herpes simplex virus 1 with hepatitis in a liver transplant recipient: the need for dermatologic evaluation. Dermatol Online J. 2020 Feb 15;26(2):13030/qt3k90n5s9. PMID: 32239894.
5. Rostamzadeh Khameneh Z, Sepehrvand N, Taghizadeh-Afshari A, Motazakker M, Ghafari A, Masudi S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2 in kidney transplant recipients: a single-center experience. Iran J Kidney Dis. 2010 Apr;4(2):158-61. PMID: 20404429.
6. Navarro E, Serrano-Heras G et al. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
7. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
8. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
9. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020

11. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
12. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
13. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
14. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
15. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
16. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

MARCAS















NeuMoDx[™] é uma marca da NeuMoDx Molecular, Inc.

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

Seracare[®] é uma marca registrada da Seracare Life Sciences, Inc.

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

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Sujeito a prescrição médica
	Fabricante
	Distribuidor
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Consultar as instruções de uso
	Cuidado, consultar documentos anexos
	Limites de temperatura
	Manter seco
	Não reutilizar
	Não expor à luz
	Contém o suficiente para <n> testes
	Data de validade



SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Milano, Italy

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
Assistência técnica: support.qiagen.com
Informação de vigilância: support.qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents