

**200700 NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip****CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA**

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

Este folheto informativo deve ser cuidadosamente lido antes da utilização do produto. As instruções do folheto informativo devem ser seguidas em conformidade.



A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto informativo não forem seguidas.

Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108

Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do operador do NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317



UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos automatizado e *in vitro*, destinado à identificação e à quantificação de ADN do adenovírus (AdV) humano em amostras extraídas de urina e plasma/soro humano. O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay implementado no NeuMoDx™ 288 Molecular System e no NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ Systems) integra a extração de ADN automatizada para isolar o ácido nucleico alvo do espécime e a reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction, PCR) em tempo real, tendo como alvo as sequências no genoma do AdV.

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais, destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico e na monitorização de infeções pelo AdV.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos estéreis para colheita de sangue que contêm EDTA como agente anticoagulante ou em tubos para preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser utilizado na preparação do plasma, enquanto o soro deve ser colhido em tubos de colheita ou de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Para testar um espécime de urina, uma amostra de urina é colhida num copo padrão para colheita de urina sem conservantes ou aditivos. Para preparar o teste, a urina ou o plasma/soro num tubo de espécimes primário ou secundário compatível com o NeuMoDx™ System é carregado no NeuMoDx™ System, utilizando um transportador de tubos de espécime designado para iniciar o processamento automatizado.

Para espécimes de plasma/soro, uma alíquota de 550 µL da amostra é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 do instrumento ou, alternativamente, uma alíquota de 100 µL da amostra de plasma/soro é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Para amostras de urina, uma alíquota de 550 µL da amostra é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 do instrumento.

O NeuMoDx™ System realiza automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico alvo, preparar o isolado de ADN para a amplificação por PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detetar produtos de amplificação. O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay inclui um controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) de ADN para ajudar a monitorizar a presença de possíveis substâncias inibidoras, assim como falhas do reagente ou do NeuMoDx™ System que podem acontecer durante os processos de extração e amplificação.

Os adenovírus (AdV) são vírus de ADN de cadeia dupla sem cápsula pertencentes ao género Mastadenovirus da família *Adenoviridae* e associados a uma grande variedade de síndromes clínicas em humanos. Os tipos e os genótipos de adenovírus humanos (HAdV) são conhecidos e classificados em sete espécies (A–G).¹ Devido à sua heterogeneidade genética, o tropismo das espécies de HAdV é bastante diverso, o que resulta em infeções de uma variedade de órgãos e tecidos. Os AdV podem causar epidemias de doença respiratória febril, febre faringoconjuntival, queratoconjuntivite ou gastroenterite e doença diarreica.¹ As infeções podem resultar da exposição a indivíduos afetados (inalação de gotículas aerossolizadas, inoculação conjuntival, disseminação fecal-oral), da aquisição de fontes exógenas (por exemplo, almofadas, roupa de cama, cacifos, armas) ou de reativação. O período de incubação varia entre 2 e 14 dias. O AdV latente pode permanecer no tecido linfóide, no parênquima renal ou noutros tecidos durante anos. A reativação pode ocorrer em pacientes com imunossupressão grave.¹

A importância da monitorização adequada do diagnóstico de HAdV é realçada pelo facto de que a morbidade e a mortalidade em pacientes imunocomprometidos com infeção invasiva podem ser muito elevadas, tanto em contextos pediátricos como de adultos.² As medições quantitativas da carga viral podem contribuir para o diagnóstico de infeção e funcionar como substitutos que se correlacionam com a resposta clínica à terapia. A PCR pode ser uma modalidade de rastreio eficaz para identificar pacientes assintomáticos em risco de doença progressiva associada ao adenovírus.²

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay no NeuMoDx™ System utiliza a NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, o NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, o NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 e reagentes de utilização geral da NeuMoDx™ para realizar a análise. A temperatura de armazenamento dos reagentes situa-se entre +15 e +30 °C.

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay combina a extração, a amplificação e a deteção automatizadas de ADN por meio de PCR em tempo real. Os espécimes de urina ou de plasma/soro em tubos de espécimes primários ou secundários compatíveis com o NeuMoDx™ System são colocados num transportador de tubos de espécime que, em seguida, é carregado no NeuMoDx™ System para processamento. Não é necessária intervenção adicional do operador.

Os NeuMoDx™ Systems utilizam uma combinação de calor, enzimas líticas e reagentes de extração para desempenhar automaticamente a lise celular, a extração de ADN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com a ligação de ácidos nucleicos, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge, onde os componentes não ADN e não ligados são retirados por lavagem através do NeuMoDx™ Wash Reagent e o ADN ligado é eluído utilizando o NeuMoDx™ Release Reagent. Em seguida, os NeuMoDx™ Systems utilizam o ADN eluído para reidratar os reagentes de amplificação congelados/secos patenteados da Sentinel CH (tecnologia STAT-NAT®), que contém todos os elementos necessários para a amplificação por PCR dos alvos específicos do AdV e do SPC1. Depois da reconstituição dos reagentes de PCR liofilizados, o NeuMoDx™ System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR para o NeuMoDx™ Cartridge. A amplificação e a deteção das sequências-alvo e de controlo de ADN (se presentes) ocorrem na zona da câmara de PCR do NeuMoDx™ Cartridge. O NeuMoDx™ Cartridge também foi concebido para conter o amplicão decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos amplificados são detetados em tempo real utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referidas como química TaqMan®), utilizando moléculas de sonda fluorogénica de oligonucleotídeos específicas dos amplicões dos respetivos alvos. As sondas TaqMan consistem num fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeos e a 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 ressonante de energia por fluorescência (Förster Resonance Energy Transfer, FRET). As sondas TaqMan foram concebidas de forma a hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a polimerase Taq de ADN expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease 5' a 3' da polimerase Taq de ADN degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda liberta o fluoróforo e quebra a proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido ao FRET e permitindo a deteção da fluorescência do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante, detetado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx™ System, é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de ADN alvo presente.³

As sondas TaqMan® marcadas com fluoróforos na extremidade 5' e supressores na extremidade 3' são utilizadas para detetar ADN do AdV e do SPC1. O software do NeuMoDx™ System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação estiver concluída, o software do NeuMoDx™ System analisa os dados e comunica um resultado final (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]/NO RESULT [SEM RESULTADOS]). Se um resultado for positivo e a concentração calculada se encontrar dentro dos limites de quantificação, o software do NeuMoDx™ System fornece também um valor quantitativo associado à amostra.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
200700	NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos/congelados que contêm sondas e iniciadores TaqMan® específicos para AdV para além de sonda e iniciadores TaqMan® específicos para SPC1.</i>	16	96

Reagentes e consumíveis necessários, mas não fornecidos (disponibilizados em separado pela NeuMoDx)

REF	Conteúdo
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzimas líticas e controlos de processo de amostra secos</i>
800801	NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit <i>Conjuntos de utilização única de calibradores secos altos e baixos de HAdV para estabelecer a validade da curva-padrão</i>
900801	NeuMoDx™ HAdV External Control Kit <i>Conjuntos de utilização única de controlos positivos secos e controlos negativos de HAdV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx HAdV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400500	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400900	NeuMoDx™ Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Pontas Hamilton CO-RE (300 µL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE (1000 µL) com filtros

Instrumentos necessários

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip destina-se apenas para utilização em diagnóstico in vitro com os NeuMoDx™ Systems.
- Ler todas as instruções no folheto informativo do kit antes de realizar o teste.
- Não utilizar os reagentes ou consumíveis depois da data de validade indicada.
- Não utilizar quaisquer reagentes que tenham o selo de segurança aberto ou cuja embalagem tenha sido danificada ao chegar ao destino.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes cuja bolsa protetora tenha sido aberta ou danificada ao chegar ao destino.
- Não misturar reagentes de outros kits comerciais para amplificação.
- Manter todas as NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips protegidas da luz e da humidade nos respetivos envelopes de alumínio.
- Deve estar disponível uma calibração de teste válida (gerada através do processamento de calibradores altos e baixos do NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit [REF 800801]) antes de os resultados de teste poderem ser gerados para as amostras clínicas.
- O NeuMoDx™ HAdV External Control Kit (REF 900801) deve ser processado a cada 24 horas ao longo dos testes com o NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do fluxo de trabalho de mL do volume de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- Realizar um ensaio AdV em espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou além do tempo de armazenamento especificado pode produzir resultados inválidos ou incorretos ao utilizar a NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.
- Evitar a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Se forem utilizados tubos secundários de espécimes, é recomendada a utilização de pipetas de transferência descartáveis estéreis e isentas de DNase. Utilizar uma nova pipeta para cada espécime.
- Para evitar a contaminação, não manusear nem destruir um NeuMoDx™ Cartridge após a amplificação. Não recuperar NeuMoDx™ Cartridges do contentor de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 96 Molecular System) em nenhuma circunstância. O NeuMoDx™ Cartridge foi concebido para prevenir a contaminação.
- Nos casos em que são também realizados em laboratório testes de PCR em tubo aberto, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, os consumíveis e os reagentes adicionais necessários para o teste, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx™ System não sejam contaminados.
- Devem ser utilizadas luvas de nitrilo limpas sem pó durante o manuseamento de reagentes e consumíveis da NeuMoDx™. É necessário ter especial cuidado para não tocar na parte superior da superfície do NeuMoDx™ Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip ou da NeuMoDx™ Extraction Plate, ou na parte superior da superfície dos recipientes de NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 e 5. O manuseamento dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- Existem fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS) disponíveis para cada reagente (conforme aplicável) em www.neumodx.com/client-resources.
- Lavar muito bem as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipetar com a boca. Não fumar, beber ou comer em áreas onde estiverem a ser manuseados espécimes ou reagentes.
- Manusear sempre os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais seguros, tal como os descritos nas normas da OSHA sobre agentes patogénicos transmitidos pelo sangue⁴ e o nível de biossegurança 2²⁻⁵ ou seguir outras práticas de biossegurança aplicáveis^{6,7} para utilizar materiais que contêm ou que se suspeita conterem agentes infecciosos.
- Eliminar reagentes não utilizados e resíduos em conformidade com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Os resultados do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.
- Tal como com outros testes, os resultados negativos não excluem a infeção por AdV.
- Uma barra vertical na margem do texto indica alterações em comparação com a versão anterior das instruções de utilização.
- Não reutilizar.

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips são estáveis dentro da embalagem primária a temperaturas entre 15 e 30 °C até à data de validade indicada na etiqueta do produto.
- Uma NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip carregada no NeuMoDx™ System é estável durante 28 dias; o software do NeuMoDx™ System irá solicitar a remoção das tiras de teste que foram utilizadas e estão dentro do NeuMoDx™ System há mais de 28 dias, devendo ser abertas (retire as tiras da embalagem) e carregadas novas NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips no NeuMoDx™ System. Não remova a película de alumínio da tira durante o carregamento da mesma no NeuMoDx™ System.
- Os NeuMoDx™ Calibrators e os NeuMoDx™ Controls não são infecciosos, mas devem ser descartados no recipiente de resíduos de risco biológico do laboratório depois de serem utilizados, pois terão material-alvo depois do processamento no sistema que pode provocar contaminação se não for manuseado de forma adequada.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congelar espécimes de sangue total ou de plasma/soro em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis, utilizando EDTA como anticoagulante. Os espécimes de soro devem ser preparados em tubos de separação de soro. As amostras de urina devem ser colhidas em tubos ou copos estéreis. Seguir as instruções do fabricante do tubo de colheita de espécimes.
4. O sangue total colhido nos dispositivos listados acima deve ser armazenado e/ou transportado até 24 horas a temperaturas entre 2 °C e 8 °C, antes da preparação do plasma/soro. A preparação das amostras deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
5. O armazenamento à temperatura ambiente de urina fresca não processada deve ser minimizado, dado que o baixo pH e o elevado teor de ureia desnaturam rapidamente o ADN, especialmente a uma temperatura de 25 °C e superior.
6. Os espécimes de plasma/soro preparados podem ser armazenados no NeuMoDx[™] System até 24 horas antes do processamento. Os espécimes de urina preparados podem ser armazenados no NeuMoDx[™] System até 16 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
7. Os espécimes de plasma/soro e urina preparados devem ser armazenados a temperaturas entre 2 e 8 °C até 8 dias antes do teste e durante um máximo de 24 (plasma/soro) ou 16 horas (urina) à temperatura ambiente.
8. Os espécimes preparados podem ser armazenados a uma temperatura <-20 °C até 8 semanas no caso do plasma e até 2 semanas no caso do soro, antes do processamento; nem as amostras de plasma nem as amostras de soro devem ser sujeitas a mais do que 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas:
 - a. Se as amostras estiverem congeladas, permitir que descongelem à temperatura ambiente (15–30 °C). Agitar para gerar uma amostra uniformemente distribuída.
 - b. Assim que as amostras congeladas estiverem descongeladas, o teste deverá ocorrer num espaço de 24 horas.
 - c. Não é recomendado o congelamento de plasma/soro em tubos de colheita primários.
9. Uma vez processadas, as amostras de urina podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C.
10. Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e rotulados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
11. Etiquetar claramente os espécimes e indicar que são para testes de AdV.
12. Avançar para a secção *Preparação para teste*.

O processo geral para implementação do NeuMoDx[™] HAdV Quant Assay está resumido na *Figura 1*.

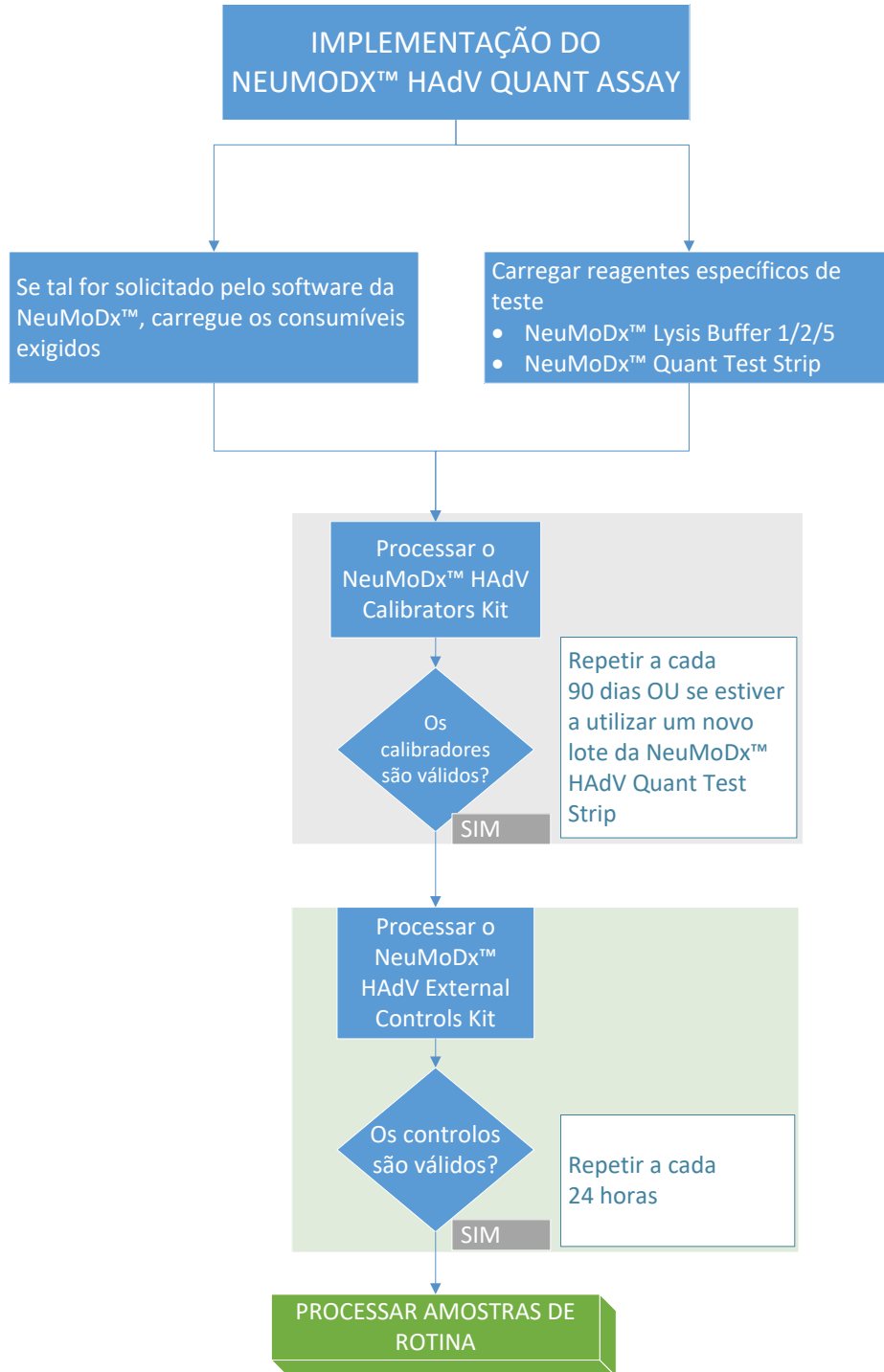


Figura 1: Fluxo de trabalho da implementação do NeuMoDx HAdV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste

Para amostras de plasma/soro, o NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pode ser processado diretamente a partir de tubos de colheita de sangue primários ou de alíquotas de espécimes em tubos secundários. O processamento pode ser executado utilizando um de dois fluxos de trabalho de processamento de volume de espécime – fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL ou fluxo de trabalho de processamento de espécimes de 100 µL. As amostras de urina são executadas utilizando apenas o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL.

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

Colheita de sangue Tipo de tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
	Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 100 µL
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/Soro – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/Soro – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/Soro – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. Para amostras de urina ou amostras de plasma/soro num 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	
		Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 100 µL (apenas plasma/soro)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 32 tubos)	Diâmetro entre 11–14 mm e altura entre 60–120 mm	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 24 tubos)	Diâmetro entre 14,5–18 mm e altura entre 60–120 mm	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de baixo volume)	Tubo de microcentrifuga com base cónica de 1,5 mL	650 µL	250 µL

Operação do NeuMoDx System

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

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o espécime e o tipo de tubo desejados:
 - É testado um volume de espécime de 550 µL, definindo o tipo de espécime como "Plasma", "Serum" (Soro) ou "Urine" (Urina)
 - É testado um volume de espécime de 100 µL, definindo o tipo de espécime como "Plasma2" ou "Serum2" (Soro2)
 - Caso não seja definido no pedido de teste, será utilizado o tipo de espécime Plasma num Secondary Tube (Tubo secundário) como predefinição.
2. Corte as bolsas de alumínio da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip nas zonas indicadas pelos entalhes laterais.
3. Remova as tiras das bolsas imediatamente antes da utilização.

4. Antes de utilizar as bolsas, certifique-se sempre de que estão bem seladas e de que a saqueta dessecante ainda está no seu interior. Utilize apenas embalagens não danificadas.
5. Elimine as bolsas de alumínio e o seu conteúdo se a cor da saqueta dessecante passar de cor de laranja a verde.
6. Preencha um ou mais transportadores de tiras de teste do NeuMoDx™ System Test Strip com a(s) NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip(s) e utilize o ecrã tátil para carregar os transportadores de tiras de teste no NeuMoDx™ System.
7. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, adicione os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx™ System e utilize o ecrã tátil para carregar os transportadores no NeuMoDx™ System.
8. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, substitua o NeuMoDx™ Wash Reagent e o NeuMoDx™ Release Reagent, e esvazie os resíduos de iniciação, o contentor de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), o recipiente de resíduos de pontas (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme adequado.
9. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, processe os Calibrators (REF 800801) e/ou os External Controls (REF 900801), conforme necessário. Podem ser encontradas mais informações acerca dos calibradores e controlos na secção Processamento de resultados.
10. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controlo num transportador de tubos padrão de 32 tubos e certifique-se de que as tampas foram removidas de todos os tubos.
11. Coloque o transportador de tubos de espécime em qualquer posição aberta da prateleira do carregador automático e utilize o ecrã tátil para carregar o transportador no NeuMoDx™ System. Tal irá iniciar o processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s), desde que esteja presente no sistema um pedido de teste válido.

LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx™ Systems.
- O desempenho da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma e soro, preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante, e para espécimes de urina. A utilização da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip com outros tipos de espécimes clínicos não foi avaliada e as características de desempenho do teste são desconhecidas para outros tipos de espécimes.
- Foi observado um pequeno aumento no limite de deteção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay ao utilizar um fluxo de trabalho de volume de espécime de 100 µL.
- O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay não deve ser utilizado com amostras humanas heparinizadas.
- Uma vez que a deteção de AdV está dependente do número de organismos presentes na amostra, os resultados fiáveis dependem da colheita, do manuseamento e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e controlos externos devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos e conforme solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, antes do processamento das amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento e ao armazenamento inadequados de espécimes, a erros técnicos ou à mistura de tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido ao facto de o número de partículas virais presentes na amostra estar abaixo do limite de deteção do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx™ System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx™ System.
- Se o alvo do AdV e o alvo de SPC1 não amplificarem, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultados] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx™ System irá comunicar se o AdV detetado está abaixo do limite inferior de quantificação (LidQ) ou acima do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o AdV detetado estiver abaixo do LidQ, o NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pode ser repetido (se pretendido) com outra alíquota do espécime.
- Se o AdV detetado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. Recomenda-se uma diluição de 1:1000 em plasma negativo para AdV ou Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:
$$\text{Concentração do espécime original} = \log_{10} (\text{fator de diluição}) + \text{concentração comunicada da amostra diluída}.$$
- A presença ocasional dos inibidores de PCR em plasma/soro ou urina podem resultar num erro de quantificação do sistema; se isto ocorrer, é recomendável que repita o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de ADN de AdV.
- Eliminações ou mutações nas regiões conservadas que são o alvo do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay podem afetar a deteção ou originar um resultado incorreto ao utilizar a NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay podem ser utilizados como complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico. O teste não foi concebido para o diagnóstico da infeção.
- São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes para evitar a contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos no separador "Results" (Resultados) na janela Results (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx™ System.

Os resultados do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx™ System, utilizando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no ficheiro de definição de ensaio do NeuMoDx™ HAdV (HAdV Assay Definition File, HAdV ADF). Um resultado do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de AdV comunicada, Positive (Positivo) acima do LSdQ, Positive (Positivo) abaixo do LidQ, Indeterminate (Indeterminado) (IND), Unresolved (Não resolvido) (UNR) ou No Result (Sem Resultados) (NR), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controlo de processo da amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão, resumido na *Tabela 1* abaixo.

Tabela 1: Resumo do algoritmo de decisão do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Resultado	AdV	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)	Interpretação de resultados
Positive (Positivo) com concentração comunicada	Amplified (Amplificado) $2 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ cópias/mL (fluxo de trabalho de 550 μ L)* $2,88 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ cópias/mL (fluxo de trabalho de 100 μ L)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HAdV detetado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) acima do limite superior de quantificação (LSdQ)	Amplified (Amplificado) [ADV] > 8,0 \log_{10} cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HAdV detetado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) abaixo do limite inferior de quantificação (LidQ)	Amplified (Amplificado) [ADV] < 2 \log_{10} cópias/mL (fluxo de trabalho de 550 μ L)* [ADV] < 2,88 \log_{10} cópias/mL (fluxo de trabalho de 100 μ L)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HAdV detetado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	ADN do HAdV não detetado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Não amplificado, Erro do sistema detetado, Processamento de amostras completo)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra †
No Result (Nenhum resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Não amplificado, Erro do sistema detetado, Processamento de amostras interrompido)		O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra †
Unresolved (Não resolvido)	Not Amplified, No System Error Detected (Não amplificado, Nenhum erro do sistema detetado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra †

*O fluxo de trabalho de 550 μ L é utilizado com espécimes de plasma/soro e urina. O fluxo de trabalho de 100 μ L é utilizado apenas com espécimes de plasma/soro.

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

Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, a concentração de ADN do AdV nas amostras é calculada utilizando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - Um coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados do NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit processado para estabelecer a validade da curva-padrão de um lote específico da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, num determinado NeuMoDx™ System.
 - O coeficiente de calibração está integrado na determinação final da concentração de ADN do AdV.
 - O software do NeuMoDx™ contabiliza o volume de entrada do espécime ao determinar a concentração de ADN do AdV por mL de espécime.
- Os resultados do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay são comunicados em \log_{10} cópias/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com um Painel de verificação de adenovírus comercial quantificado, expresso como cópias/mL pela PCR de gotícula digital (digital droplet PCR, ddPCR).

Calibração de teste

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

Calibradores

1. Os NeuMoDx™ HAdV Calibrators são fornecidos num kit (REF 800801) e são constituídos por um pellet seco de ADN sintético de AdV.
2. Um conjunto de calibradores de AdV necessita de ser processado com cada novo lote de NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips, se for carregado um novo ficheiro de definição de ensaio AdV no NeuMoDx™ System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (definido atualmente em 90 dias) ou se o software do NeuMoDx™ System for modificado.
3. O software do NeuMoDx™ System irá notificar o utilizador quando for necessário processar os calibradores; um novo lote de tiras de teste não pode ser utilizado em testes até que os calibradores tenham sido processados com êxito.
4. Se for necessário processar um novo conjunto de calibradores de AdV, consulte as instruções presentes no folheto informativo do NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit antes de realizar o teste.
5. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a) É necessário processar um conjunto de dois calibradores (alto e baixo) para estabelecer a validade.
 - 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 $3 \log_{10}$ cópias/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de $5 \log_{10}$ cópias/mL.
 - c) É calculado um coeficiente de calibração para ter em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste. Este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final de AdV.
6. Se um ou ambos os calibradores falharem na verificação de validade, repita o processamento dos calibradores que falharam utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a verificação de validade, é possível repetir o calibrador que falhou, pois o sistema não necessita que o utilizador execute novamente ambos os calibradores.

Controlo de qualidade

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

Controlos externos

1. Os HAdV External Controls são fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc. no HAdV External Control Kit (REF 900801). Os controlos positivos contêm um pellet seco de ADN sintético de AdV.
2. Os controlos positivos e negativos externos precisam de ser processados uma vez a cada 24 horas. Se não existir um conjunto válido de controlos externos, o software do NeuMoDx™ System irá solicitar ao utilizador que processe esses controlos antes de poderem ser comunicados os resultados da amostra.
3. Se forem necessários controlos externos, prepare os controlos positivos e negativos, conforme indicado no folheto informativo do NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, antes de realizar o teste.
4. Utilizando o ecrã tátil e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira do carregador automático, carregue os frascos de controlo positivo e negativo no NeuMoDx™ System. O NeuMoDx™ System irá reconhecer o código de barras e iniciar o processamento dos tubos de espécime, exceto quando não estiverem disponíveis os reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. A validade dos controlos externos irá ser avaliada pelo NeuMoDx™ System com base no resultado esperado. O controlo positivo deve fornecer um resultado AdV Positive (Positivo) e o controlo negativo um resultado de AdV Negative (Negativo).
6. O tratamento de resultados discrepantes de controlos externos deve ser realizado da seguinte forma:
 - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controlo negativo indica um problema de contaminação de espécimes.
 - b) Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controlo positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c) Em ambos os casos acima ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado) (IND) ou No Result (Sem resultados) (NR), repita o NeuMoDx™ HAdV External Control com um novo frasco do controlo ou controlos que falharam o teste de validade.
 - d) Se um NeuMoDx™ HAdV External Control positivo continuar a comunicar um resultado Negative (Negativo), contacte o apoio ao cliente da NeuMoDx™.
 - e) Se um NeuMoDx™ HAdV External Control negativo continuar a comunicar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a substituição de TODOS os reagentes antes de contactar o apoio ao cliente da NeuMoDx™.

Controlos (internos) do processo de amostra

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

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx™ HAdV Quant Assay realizado no NeuMoDx™ System falhar na produção de um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado) (IND), No Result (Sem resultados) (NR) ou Unresolved (Não resolvido) (UNR) com base no tipo de erro que ocorreu.

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

Será comunicado um resultado UNR (Não resolvido) se não for detetada uma amplificação válida do SPC1 ou do ADN do AdV, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Como primeiro passo, pode ser realizado um novo teste no caso de ser comunicado um resultado UNR (Não resolvido). Se o novo teste falhar, pode ser utilizado um espécime diluído para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de detecção¹²

A sensibilidade analítica do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay foi caracterizada através da análise de uma série de diluições do EDX AdV Verification Panel (Exact Diagnostics), em amostras de plasma/soro e urina negativas para AdV, para determinar o limite de detecção (LdD) nos NeuMoDx Systems. Para amostras de plasma/soro (550 µL) e urina, o LdD foi definido como o nível de alvo mais próximo, determinado de forma experimental, acima da concentração determinada pela análise de estilo Probit com um intervalo de confiança (IC) de 95%. Para plasma/soro (100 µL), uma única concentração de amostra de 750 cópias/mL foi investigada através da análise da taxa de identificação e validada para o LdD se a taxa de detecção fosse superior a 95%. O estudo foi realizado ao longo de 3 dias, em diversos sistemas, com vários lotes de reagentes da NeuMoDx™. Em cada nível de diluição, foram processadas 42 réplicas (amostras positivas) e 8 réplicas para amostras negativas por dia. As taxas de detecção estão descritas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plasma/soro [550 µL] e urina).

Concentração do alvo [cópias/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Fluxo de trabalho de 550 µL para PLASMA/SORO			URINA		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
200	2,30	42	42	100%	42	42	100%
100	2,00	42	41	97,62%	42	41	97,62%
70	1,85	42	39	92,86%	42	29	69,05%
50	1,48	42	20	47,62%	42	14	33,33%
NEG	0,00	24	0	0%	24	0	0%

Tabela 3: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plasma/soro [100 µL]).

Concentração do alvo [cópias/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Fluxo de trabalho de 100 µL para PLASMA/SORO		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
750	2,88	89	87	97,75%

O LdD do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay para plasma/soro (fluxo de trabalho de 550 µL) foi determinado como sendo de 100 cópias/mL (2 log₁₀ cópias/mL) com um intervalo de confiança (IC) de 95% para 82,85. Para urina, o LdD foi determinado como sendo de 100 cópias/mL (2 log₁₀ cópias/mL) com um intervalo de confiança (IC) de 95% para 98,27. Para plasma/soro (fluxo de trabalho de 100 µL), o LdD foi determinado como sendo de 750 cópias/mL (2,88 log₁₀ cópias/mL).

Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LIdQ) e Limite superior de quantificação (LSdQ)¹¹

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 a que uma detecção >95% é atingida e o TAE é ≤1,0. De forma a determinar o LIdQ e o LSdQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis do alvo de AdV que apresentaram uma detecção >95%. O TAE é definido da seguinte forma:

$$TAE = |Bias| + 2s \text{ (Westgard)}$$

A tendência é a raiz quadrada da soma entre o desvio-padrão e a soma de tendência, ambos ao quadrado.

Os resultados compilados para os 5 níveis dos espécimes de plasma/soro ou urina do HAdV, utilizados no estudo de LIdQ/LSdQ, são apresentados nas Tabelas 4 e 5. Com base neste conjunto de dados e no LdD anteriormente determinado, o LIdQ e o LSdQ foram determinados como sendo de 100 cópias/mL (2 log₁₀ cópias/mL) e de 8 cópias/mL para plasma/soro (550 µL) e urina, respectivamente, e de 750 cópias/mL (2,88 log₁₀ cópias/mL) para plasma/soro (100 µL).

Tabela 4: LIdQ e LSdQ da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, com tendência e TAE (plasma/soro [550 µL] e urina)

Conc. do alvo [cópias/mL]	Conc. do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Plasma/soro (550 µL)					Urina				
		Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE	Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
3,23 x 10 ⁸	8,5	9,11	100	0,16	0,61	0,93	8,98	100	0,20	0,48	0,89
200	2,30	2,46	100	0,15	0,16	0,46	2,47	100	0,22	0,17	0,61
100	2,00	2,23	97,62	0,26	0,23	0,75	2,34	97,62	0,21	0,34	0,75
70	1,85	2,13	92,86	0,31	0,28	0,91	2,32	69,05	0,33	0,47	1,14
30	1,48	2,08	47,62	0,22	0,61	1,04	2,05	33,33	0,26	0,58	1,10

Tabela 5: LIdQ e LSdQ da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, com tendência e TAE (plasma/soro [100 µL])

Conc. do alvo [cópias/mL]	Conc. do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Plasma/soro (100 µL)				
		Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
3,23 x 10 ⁸	8,5	8,81	100	0,20	0,62	0,72
750	2,88	2,96	97,75	0,30	0,08	0,69

Com base no resultado destes estudos, o LdD e o LIdQ do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 100 cópias/mL (2 log₁₀ cópias/mL) para plasma/soro e urina com o fluxo de trabalho de 550 µL, e de 750 cópias/mL (2,88 log₁₀ cópias/mL) para plasma/soro ao utilizar o fluxo de trabalho de 100 µL. O LSdQ para todos os tipos de espécimes é de 3,23 x 10⁸ cópias/mL (aqui limitadas a 8 log₁₀ cópias/mL).

Linearidade¹²

A linearidade do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay foi estabelecida em plasma/soro e urina ao preparar uma série de diluições com 11 diluições em série do AdV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies), preparadas em Basematrix 53 negativo para HAdV ou em urina humana negativa para HAdV agrupada em pools, abrangendo um intervalo de concentração de 8–2 log₁₀ cópias/mL para plasma/soro (550 µL) e urina. Seis diluições em série do HAdV Synthetic Plasmid foram preparadas com um intervalo de concentração de 8–3 log₁₀ cópias/mL para plasma/soro (100 µL).

As concentrações do ensaio HAdV comunicadas pelo NeuMoDx™ System em comparação com os valores esperados são apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4.

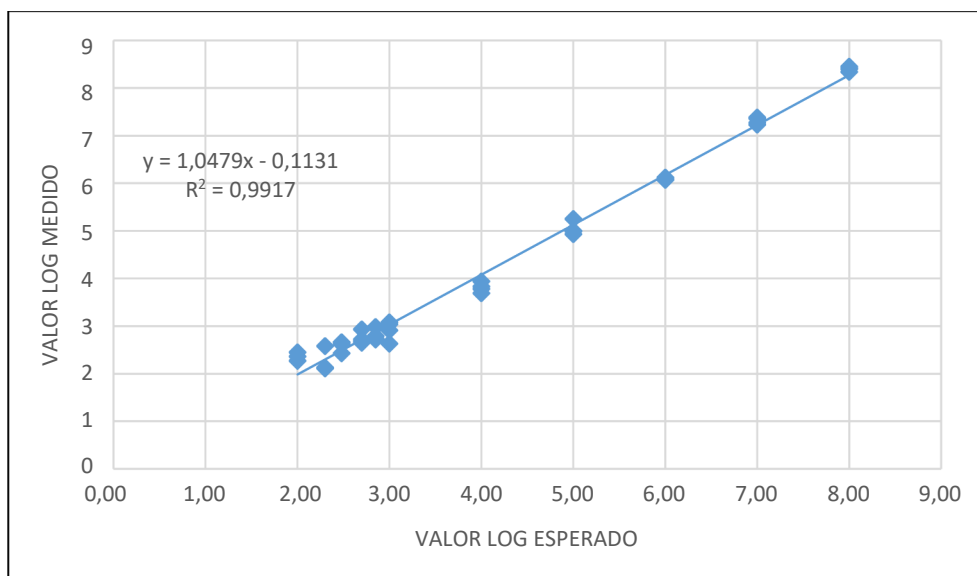


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay para plasma/soro (fluxo de trabalho de 550 µL).

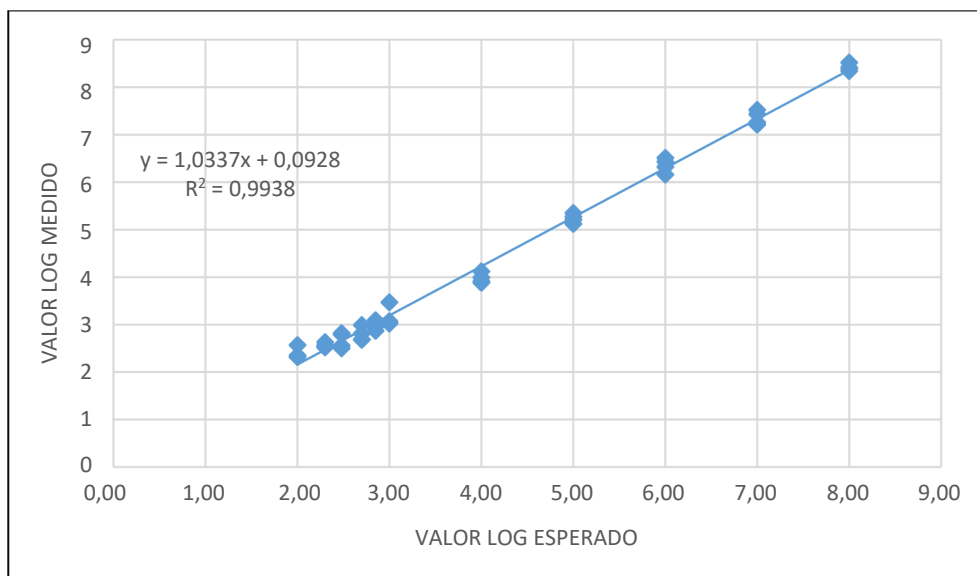


Figura 3: Linearidade da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip para espécimes de urina.

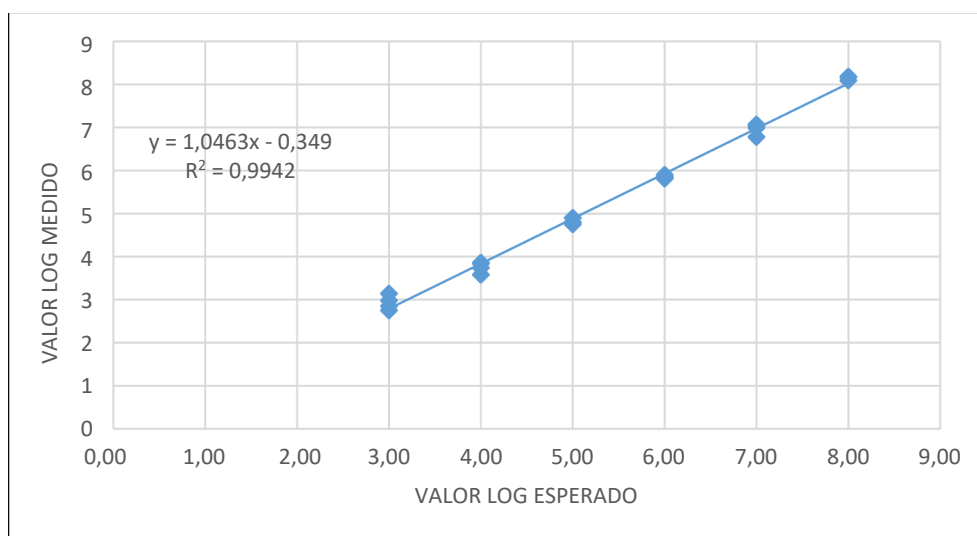


Figura 4: Linearidade da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip para plasma/soro (fluxo de trabalho de 100 µL)

Linearidade entre genótipos¹²

A linearidade do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay em sete genótipos de HAdV (adenovírus humano A, adenovírus humano B1, adenovírus humano B2, adenovírus humano C, adenovírus humano D, adenovírus humano E e adenovírus humano F) foi caracterizada ao testar cinco concentrações diferentes de cada genótipo de AdV preparado em Basematrix 53 negativo para AdV. O genótipo de adenovírus humano C não apresenta polimorfismos na região-alvo do gene abrangida pela NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.

O estudo foi realizado testando 2 réplicas de cada um dos 6 genótipos em 5 concentrações (série de diluições de 10 vezes). A linearidade em seis genótipos de AdV é apresentada na Tabela 6 e na Figura 5.

Tabela 6: Linearidade da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade y = Ct. do NeuMoDx HAdV Assay x = Série de diluições	R ²
Sequência de referência	$y = -3,529x - 0,7881$	0,99
HAdV A	$y = -3,626x + 1,348$	0,99
HAdV B1	$y = -3,449x + 1,1285$	0,97
HAdV B2	$y = -3,911x - 2,079$	0,99
HAdV D	$y = -3,384x + 3,9873$	0,99
HAdV E	$y = -3,687x - 1,2335$	0,99
HAdV F	$y = -3,036x + 5,28965$	0,98

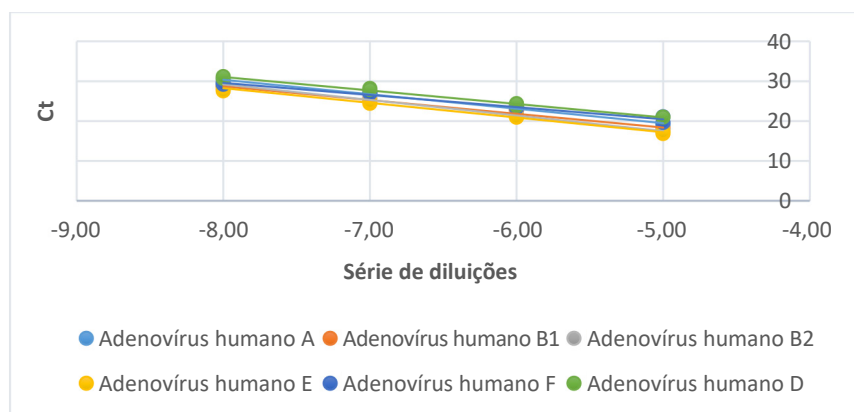


Figura 5: Linearidade da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip entre genótipos

Especificidade analítica – Reatividade cruzada^{9,10}

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 23 organismos habitualmente presentes em espécimes de plasma/soro e urina, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao AdV no que diz respeito à reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5/6 organismos e testados com uma concentração elevada. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 7*. Dois organismos (E. coli e HCV) foram analisados com a abordagem *in silico*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

Tabela 7: Patogénicos utilizados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo					
HTLV-1/2	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Vírus da hepatite B	Vírus BK	Vírus Epstein-Barr	Vírus varicela-zoster
<i>Cytomegalovirus</i>	Vírus da hepatite C	Vírus do herpes simples tipo 1	Vírus do herpes simples tipo 2	Vírus herpes humano tipo 6	Vírus herpes humano tipo 7
Vírus herpes humano tipo 8	Vírus da imunodeficiência humana 1	Vírus da imunodeficiência humana 2	Vírus JC	SV40	

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais^{9,10}

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay foi avaliado quanto à interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para a análise de reatividade cruzada indicados acima na *Tabela 7*. O plasma negativo para HAdV foi enriquecido com organismos agrupados em pools de 5/6 e também com HAdV alvo, com uma concentração de 2,5 log₁₀ cópias/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença destes organismos comensais, tal como indicado pelo desvio mínimo de quantificação dos espécimes de controlo que não continham qualquer agente interferente.

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, substâncias endógenas e exógenas^{9,10}

O NeuMoDx™ HAdV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas nos espécimes clínicos de plasma/soro ou urina com HAdV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos ou de urina, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 8*. Cada uma das substâncias foi adicionada a Basematrix 53 negativo para HAdV analisado ou urina humana enriquecida com 2,5 log₁₀ cópias/mL de HAdV, e as amostras foram analisadas em relação à interferência.

A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação a amostras de controle enriquecidas com o mesmo nível de HAdV são indicadas na *Tabela 9*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

Tabela 8: Teste de interferência – Agentes exógenos (classificação 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	ANTAGONISTA DE HISTAMINA
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomida	IMUNOSSUPRESSOR

Tabela 9: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenos (plasma/soro)	Conc. média	Tendência (absoluta)
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Triglicéridos 500 mg/dL	2,03	0,46
Bilirrubina conjugada (0,25 g/L)	2,21	0,28
Bilirrubina não conjugada (0,25 g/L)	2,71	0,22
Albumina (58,7 g/L)	2,74	0,25
Hemoglobina (2,9 g/L)	2,67	0,18
Endógenos (urina)	Conc. média	Tendência (absoluta)
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Urobilinogénio (>2 mg/dL)	2,65	0,30
Glicose (1000 mg/dL)	3,17	0,28
Urina pH 4	2,67	0,22
Urina pH 10	2,78	0,11
Leucócitos (1E6 células/mL)	2,72	0,22
Sangue 5%	2,62	0,29
Proteína (albumina >100 mg/dL)	3,07	0,18
Pó de talco	2,89	0,00
Exógenos (medicamentos)	Conc. média	Tendência (absoluta)
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Micofenolato mofetil	2,83	0,08
Pool 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	2,52	0,23

Repetibilidade e precisão intralaboratorial¹³

A precisão da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip foi determinada ao testar 2 réplicas de um painel de 5 membros de espécimes de AdV preparados com plasmídeo de HAdV duas vezes por dia, utilizando um NeuMoDx™ 96 System ao longo de 20 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, entre ensaios, intradiária e entre dias, e o desvio-padrão intralaboratorial (geral) foi determinado como sendo de $\leq 0,30 \log_{10}$ cópias/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente entre dias e ensaios, tal como apresentado na *Tabela 10*. A precisão entre operadores não foi determinada, uma vez que o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx™ System.

Tabela 10: Precisão intralaboratorial – NeuMoDx™ HAdV Quant Assay em NeuMoDx™ Systems

Amostra	DP intradiário (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP intraensaio (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre ensaios (log ₁₀ cópias/mL)	DP geral (intralaboratorial) (log ₁₀ cópias/mL)
Espécime de plasma/soro (550 µL)					
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,15	0,13	0,15	0,01	0,19
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,17	0,10	0,17	0,05	0,20
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,18	0,00	0,12	0,14	0,19
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,07	0,15	0,03	0,17
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina (550 µL)					
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,19	0,14	0,16	0,1	0,23
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,17	0,09	0,11	0,13	0,18
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,11	0,16	0,00	0,20
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,17	0,09	0,14	0,10	0,19
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Reprodutibilidade de lote para lote¹³

A reprodutibilidade de lote para lote da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip foi determinada utilizando três lotes diferentes de NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips. Um painel de 5 membros de HAdV preparado com plasmídeo de HAdV foi utilizado para avaliar o desempenho num NeuMoDx™ 96 Molecular System em 3 ensaios individuais. A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados foram expressos como uma tendência de quantificação absoluta entre lotes, apresentada na *Tabela 11*. A tendência geral máxima foi de $0,39 \log_{10}$ cópias/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância.

Tabela 11: Reprodutibilidade de lote para lote – NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Amostra	Tendência absoluta entre o lote 1 e o lote 2 (log ₁₀ cópias/mL)	Tendência absoluta entre o lote 1 e o lote 3 (log ₁₀ cópias/mL)	Tendência absoluta entre o lote 2 e o lote 3 (log ₁₀ cópias/mL)
Espécime de plasma/soro (550 µL)			
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,26	0,28	0,02
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,17	0,17
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,27	0,17	0,10
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,39	0,08	0,31
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina (550 µL)			
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,27	0,12	0,39
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,23	0,17	0,06
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,22	0,06	0,16
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,22	0,09	0,13
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00

Reprodutibilidade de instrumento para instrumento¹³

A reprodutibilidade de instrumento para instrumento da NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip foi determinada utilizando três sistemas diferentes (dois NeuMoDx™ 288 Molecular Systems e um NeuMoDx™ 96 Molecular System). Foi utilizado um painel de 5 membros do HAdV preparado com plasmídeo de HAdV para avaliar o desempenho. O teste foi efetuado em paralelo nos sistemas durante 5 dias. Foram caracterizadas as variações intradiária e entre sistemas, e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo $\leq 0,30 \log_{10}$ 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 12*).

Tabela 12: Reprodutibilidade de instrumento para instrumento – NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip

Amostra	DP intradiário (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP intrassistema (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre sistemas (log ₁₀ cópias/mL)	DP da reprodutibilidade (log ₁₀ cópias/mL)
Espécime de plasma/soro (550 µL)					
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,13	0,04	0,14	0,05	0,14
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,12	0,00	0,14	0,04	0,15
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,14	0,00	0,14	0,10	0,17
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,18	0,00	0,18	0,08	0,19
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina (550 µL)					
5,51 log ₁₀ cópias/mL	0,12	0,03	0,12	0,07	0,14
4,51 log ₁₀ cópias/mL	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
3,51 log ₁₀ cópias/mL	0,14	0,04	0,15	0,03	0,15
2,51 log ₁₀ cópias/mL	0,18	0,00	0,18	0,06	0,19
0 log ₁₀ cópias/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

REFERÊNCIAS

- 1) Joseph P. Lynch, III, and Adriana E. Kajon. 2016. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med.* 37(4): 586–602.
- 2) Michael G Ison, Randall T Hayden. 2016. Adenovirus. *Microbiol Spectr*; 4(4).
- 3) Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. *Clin Chim Acta.*15;439:231-50.
- 4) 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>
- 5) US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
- 6) World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- 7) CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- 8) CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
- 9) CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- 10) CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
- 11) CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
- 12) 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.
- 13) CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
- 14) CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

MARCAS COMERCIAIS















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

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

STAT-NAT® é uma marca comercial registrada da SENTINEL CH. S.p.A.

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

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Utilização apenas mediante receita médica
	Fabricante
	Distribuidor
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado, consultar a documentação fornecida
	Limites de temperatura
	Manter seco
	Não reutilizar
	Não expor à luz
	Contém o suficiente para <n> testes
	Prazo 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)
techsupport@neumodx.com

Relatórios de vigilância: www.neumodx.com/contact-us

Patente: www.neumodx.com/patents