

**REF** 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**R only**

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA

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

O NeuMoDx EBV Quant Assay é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação de DNA do vírus Epstein-Barr (EBV) humano em plasma. O NeuMoDx EBV Quant Assay implementado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Systems) integra extração automatizada de DNA para isolar o ácido nucleico alvo do plasma e reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction, PCR) em tempo real tendo como alvo duas regiões altamente conservadas do genoma do vírus Epstein-Barr.

O NeuMoDx EBV Quant Assay destina-se à detecção e quantificação *in vitro* de DNA do vírus Epstein-Barr em espécimes recém-colhidos e congelados de plasma humano utilizando o NeuMoDx 288 Molecular System e o NeuMoDx 96 Molecular System. O NeuMoDx EBV Quant Assay destina-se ao uso no diagnóstico e na monitorização de infecções por EBV. O ensaio pode ser utilizado para medir os níveis de DNA do EBV para avaliar a resposta ao tratamento antiviral. Este ensaio deve ser utilizado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais de progresso da doença para gestão e monitorização clínicas da infecção por EBV. O ensaio não deve ser utilizado como teste de rastreio da presença de EBV no sangue ou produtos sanguíneos.

**RESUMO E EXPLICAÇÃO**

O sangue total humano colhido em tubos de coleta de sangue estéreis contendo EDTA como agente anticoagulante pode ser usado para a preparação de plasma. Para iniciar a testagem, o plasma em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System é colocado em um transportador de tubos de espécime e carregado na mesa de trabalho do sistema NeuMoDx System. Para cada espécime, uma alíquota de 250 µL da amostra de plasma é misturada com NeuMoDx Lysis Buffer 5 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 de amplificação (duas regiões no genoma EBV altamente conservadas). O NeuMoDx EBV Quant Assay inclui um controle de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) de DNA para ajudar a monitorar a presença de possíveis substâncias inibidoras e falhas do reagente ou do NeuMoDx System que podem acontecer durante o processo de extração e amplificação.

O EBV é um vírus comum de DNA de cadeia dupla da família do vírus herpes humano que infecta pessoas de todas as idades. Estima-se que mais de 90% dos indivíduos em todo o mundo estão ou foram infectados com EBV.<sup>1</sup> O EBV se espalha através de fluidos corporais como saliva, sangue, sêmen e transplante de órgãos. Muitas pessoas são infectadas com EBV na infância. Esses indivíduos, embora infectados com EBV, são geralmente assintomáticos. As pessoas imunocomprometidas podem desenvolver sintomas e complicações mais graves da infecção por EBV. A infecção latente por EBV representa o maior risco para os pacientes transplantados. As doenças linfoproliferativas pós-transplante (DLPTs) incluem a formação de tumor induzida por EBV em células B devido ao efeito de agentes imunossupressores no controle imunológico do EBV, uma das causas mais significativas de morbidade e mortalidade em pacientes submetidos a qualquer tipo de transplante de órgãos.<sup>2</sup>

A utilização de monitoramento da carga viral do EBV facilita o diagnóstico e o tratamento de DLPTs associadas ao EBV. No entanto, a detecção de ácido nucleico de EBV no sangue não é suficiente para o diagnóstico de DLPT associada a EBV. O teste de ácido nucleico (Nucleic Acid Testing, NAT) só deve ser usado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais de progressão da doença para o gerenciamento e monitoramento clínicos de pacientes infectados por EBV. Embora as diretrizes atuais para o gerenciamento e o tratamento de infecções por EBV em indivíduos imunocomprometidos sejam ambíguas em termos de *quando* iniciar a terapia antiviral, todas elas requerem monitoramento constante da carga viral uma vez que a terapia antiviral é iniciada, para ajudar a mitigar os efeitos colaterais graves de medicamentos nessas populações.<sup>3,4</sup>

**PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO**

O NeuMoDx EBV Quant Assay no NeuMoDx System utiliza NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 e reagentes de uso geral NeuMoDx para realizar a análise. O NeuMoDx EBV Quant Assay combina extração, amplificação e detecção automatizadas de DNA por PCR em tempo real. Os espécimes de sangue total são colhidos em tubos com EDTA para a preparação de plasma. O espécime de plasma, em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, é colocado em um transportador de tubo de espécime e carregado na mesa de trabalho do 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 realizar automaticamente a lise celular, a extração de DNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os componentes não ligados e não DNA são retirados por lavagem usando NeuMoDx Wash Reagent e o DNA ligado é eluído usando NeuMoDx Release Reagent. Os NeuMoDx Systems então usam o DNA eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados contendo todos os elementos necessários para a amplificação por PCR dos alvos específicos de EBV e SPC1. Após a reconstituição dos reagentes de PCR NeuDry, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR no NeuMoDx Cartridge. A amplificação e detecção de sequências de DNA de controle e alvo (se presentes) ocorrem na 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.

O NeuMoDx EBV Quant Assay tem como alvo duas regiões altamente conservadas (BALF5 e BXFL1) no genoma do EBV. A concepção de duplo alvo diminui o risco de falsos negativos em caso de mutação, aumentando assim a robustez do ensaio. Os alvos amplificados são detectados em tempo real por meio da química de sondas 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, fazendo 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 anelarem-se dentro de uma região do DNA amplificada por um conjunto específico de primers. À medida que a Taq DNA polimerase expande o primer e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que se anelou ao modelo. A degradação da sonda libera o fluoróforo e 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 é diretamente proporcional ao fluoróforo liberado e pode ser correlacionado à quantidade de DNA alvo presente.

Uma sonda TaqMan marcada com um fluoróforo (490/521 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3' é usada para detectar DNA de EBV. Para a detecção do SPC1, a sonda TaqMan é marcada com um corante fluorescente alternativo (535/556 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3'. O software do NeuMoDx System monitora o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação é concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e relata um resultado (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]). Se o resultado for POSITIVE (POSITIVO), o software do NeuMoDx System também fornece um valor quantitativo associado à amostra ou relata se a concentração calculada está fora dos limites de quantificação.

### REAGENTES/CONSUMÍVEIS

#### Material fornecido

REF.	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
201500	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip</b> <i>Reagentes de PCR secos contendo sonda e primers TaqMan específicos de EBV e SPC1.</i>	16	96

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

REF.	Conteúdo
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica e controles de processo de amostras secos</i>
800500	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> <i>Conjuntos de uso único de calibradores altos e baixos de EBV para estabelecer a validade da curva-padrão</i>
900501	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> <i>Conjuntos para uso único de controles positivos e negativos de EBV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 5</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros</b>
235905	<b>Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros</b>

#### Instrumentos necessários

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

### AVISOS E PRECAUÇÕES

- O NeuMoDx EBV Quant Assay é para uso em diagnóstico *in vitro* apenas com NeuMoDx Systems.
- Os espécimes devem ser sempre manuseados como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais de segurança como os descritos na publicação Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>5</sup> e no documento M29-A4 do CLSI.<sup>6</sup>
- Um resultado positivo é indicativo da presença de DNA de EBV.

- A utilização do NeuMoDx EBV Quant Assay está limitada a pessoal treinado no uso do NeuMoDx System e no manuseio de materiais infecciosos.
- Não use os reagentes ou consumíveis após a data de validade indicada.
- Não use um reagente se o respectivo selo de segurança estiver rompido ou se a embalagem estiver danificada no momento da entrega.
- Não use consumíveis ou reagentes se a respectiva bolsa protetora estiver aberta ou quebrada no momento da entrega.
- Uma calibração de teste válida (gerada pelo processamento de NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500] altos e baixos) deve estar disponível antes que possam ser criados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx EBV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo/transportador de tubos 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.
- Sempre evite a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendado o uso de pipetas de transferência descartáveis, estéreis e livres de DNase. 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 EBV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para a testagem, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- É necessário usar luvas nitrílicas sem talco e limpas ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx. Deve-se ter especial cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx Cartridge, na superfície do selo de papel alumínio da NeuMoDx EBV Quant Test Strip ou da NeuMoDx Extraction Plate ou na superfície superior do recipiente do NeuMoDx Lysis Buffer 5; o manuseio dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- Estão disponíveis Fichas de dados de segurança (FDS) mediante solicitação.
- 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.
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.

### ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx EBV Quant Test Strips permanecem estáveis na embalagem primária até a data de validade indicada no rótulo do produto quando armazenadas a uma temperatura entre 18 e 23 °C.
- Não use consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não use qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária apresentar danos visíveis.
- Não carregue novamente nenhum produto de teste que tenha sido carregado anteriormente em outro NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx EBV Quant Test Strip pode permanecer a bordo do NeuMoDx System por 14 dias. A vida útil restante das tiras de teste carregadas é controlada pelo software e informada ao usuário em tempo real. O sistema solicitará a remoção das tiras de teste que tiverem sido usadas além do prazo permitido.
- Embora não sejam infecciosos, os NeuMoDx EBV Calibrators e os NeuMoDx EBV External Controls devem ser descartados no recipiente de resíduos de risco biológico do laboratório após o uso para reduzir o risco de contaminação pelo ácido nucleico alvo neles contido.

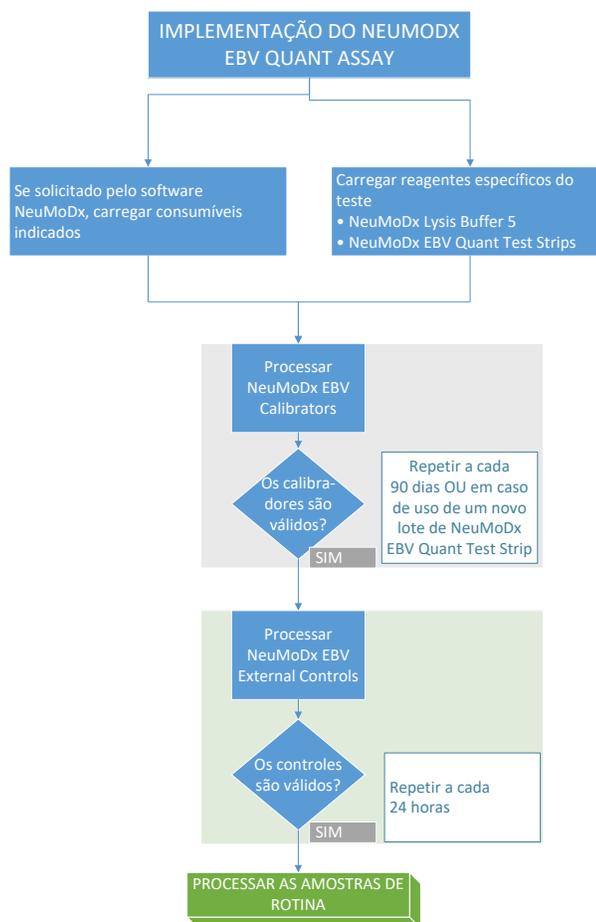
### COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

*Manuseie todos os espécimes como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.*

- Não congele sangue total ou quaisquer outros espécimes armazenados em tubos primários.
- Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis usando EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante do tubo de coleta de espécime.
- Sangue total colhido nos dispositivos listados acima pode ser armazenado e/ou transportado por até 24 horas a temperaturas entre 2 e 25 °C antes da preparação do plasma. A preparação do plasma deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
- Os espécimes de plasma preparados podem permanecer no NeuMoDx System por até 8 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados.
- Os espécimes de plasma preparados devem ser armazenados a uma temperatura entre 2 e 8 °C por no máximo 7 dias antes dos testes e no máximo 8 horas em temperatura ambiente.
- Os espécimes de plasma preparados podem ser armazenados a < -20 °C por até 8 semanas para plasma pré-processamento; as amostras de plasma não devem ser submetidas a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas.

- Se as amostras forem congeladas, deixe-as descongelar completamente em temperatura ambiente (15–30 °C); agite-as para que fiquem uniformemente distribuídas.
- Assim que as amostras forem descongeladas, a testagem deve ocorrer no prazo de 8 horas.
- Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
- Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de EBV.
- Avance para a seção Preparação para teste.

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



**Figura 1:** Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx EBV Quant Assay

## INSTRUÇÕES DE USO

### Preparação para teste

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.
2. Transfira uma alíquota do plasma 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 (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo  $\geq 400$  mL
  - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo  $\geq 850$  mL

### 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. Preencha um ou mais transportadores de tiras de teste do NeuMoDx System com NeuMoDx EBV Quant Test Strips e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
2. 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.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, reponha NeuMoDx Wash Reagent e/ou NeuMoDx Release Reagent e esvazie a lixeira de resíduos de preparação ou de resíduos de risco biológico conforme apropriado.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, processe os Calibrators [REF 800500] e/ou os External Controls [REF 900501] conforme necessário. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
5. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controle em um transportador de 32 tubos padrão e certifique-se de que as tampas sejam removidas de todos os tubos de espécime.
6. Coloque o transportador de tubos de espécime em qualquer posição aberta da prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o transportador no NeuMoDx System. Isso dará início ao processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s).

### LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx EBV Quant Test Strip só pode ser utilizada em NeuMoDx Systems.
- O desempenho da NeuMoDx EBV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante. A utilização da NeuMoDx EBV Quant Test Strip com outros tipos de espécimes clínicos não foi avaliada e as características de desempenho do teste são desconhecidas com outros tipos de espécime.
- Visto que a detecção de EBV depende do número de vírus presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e controles externos devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos e conforme solicitado pelo software do NeuMoDx System antes do processamento de amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados errôneos devido a coleta, manuseio e armazenamento incorretos de espécimes, erro técnico ou identificação incorreta de tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer falsos resultados negativos porque o número de partículas virais na amostra está abaixo do limite de detecção do NeuMoDx EBV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx System.
- Se ambos os alvos de EBV e o alvo de SPC1 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx EBV Quant Assay for Positivo (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx System relatará se o EBV detectado estava *abaixo* do limite inferior de quantificação (LidQ) ou *acima* do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o EBV detectado estiver abaixo do LidQ, o NeuMoDx EBV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com outra alíquota do espécime.
- Se o EBV detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx EBV 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 EBV 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 infecção viral ativa. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de DNA do vírus Epstein-Barr.
- Embora a possibilidade seja mínima, eliminações ou mutações em ambas as regiões conservadas do genoma do EBV visadas pelo NeuMoDx EBV Quant Assay podem afetar a detecção ou originar um resultado errôneo ao utilizar a NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx EBV 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) da janela "Results" (Resultados) na tela sensível ao toque do NeuMoDx System.

Os resultados do NeuMoDx EBV Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx System usando o algoritmo de decisão e parâmetros de processamento de resultados especificados no arquivo de definições de ensaio do ensaio NeuMoDx EBV (EBV Assay Definition File, EBV ADF). Um resultado do NeuMoDx EBV Quant Assay pode ser reportado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de EBV relatada, Positive (Positivo) acima do LSdQ, Positive (Positivo) abaixo do LidQ, Indeterminate (Indeterminado) ou Unresolved (Não resolvido), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controle de processo de amostra. Os resultados são relatados com base no algoritmo de decisão indicado na *Tabela 1*.

**Tabela 1: Algoritmo de decisão do NeuMoDx EBV Quant Assay**

Resultado	EBV	Controle de processo de amostras (SPC1)
Positive (Positivo)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (E) } EPR > 2 \text{ AND (E) } EP \geq 1500]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (E) } EP \geq 1500]$	N/A
Positive (Positivo), acima do limite superior de quantificação [LSdQ] ( $\text{Log}_{10}$ UI/mL)	$[CONC] > 8,0 \text{ Log}_{10}$ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/A
Positive (Positivo), abaixo do limite inferior de quantificação [LidQ] ( $\text{Log}_{10}$ UI/mL)	$[CONC] < 2,3 \text{ Log}_{10}$ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/A
Negative (Negativo)	N/A OR (OU) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (E) } EPR \leq 2]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (E) } EP < 1500]$ OR (OU) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) ( $29 \leq Ct \leq 35$ ) e $EP \geq 2000$
Indeterminate (Indeterminado)	NOT AMPLIFIED/Systems Errors Noted (Não amplificado/Erros de sistema observados)	
Unresolved (Não resolvido)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (Não amplificado/Nenhum erro de sistema detectado)	

EP = Fluorescência de ponto final (depois da correção da linha de base); EPR = Relação de fluorescência de ponto final;  $C_t$  = Limiar de ciclo; Quant = quantidade calculada de EBV presente expressa em  $\text{Log}_{10}$  UI/mL. Consulte Cálculo do teste abaixo.

#### Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx EBV Quant Assay, a concentração de DNA de EBV nas amostras é calculada usando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração.
  - O "coeficiente de calibração" é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx EBV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão, para cada lote de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, em um NeuMoDx System específico.
  - O coeficiente de calibração é integrado automaticamente pelo sistema na determinação final da concentração de DNA de EBV.
- Os resultados do NeuMoDx EBV Quant Assay são relatados em  $\text{Log}_{10}$  UI/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 1º padrão internacional da OMS para o vírus Epstein-Barr para técnicas de amplificação de ácido nucleico.

#### Calibração de teste

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

#### Calibradores

- Os NeuMoDx EBV Calibrators são fornecidos em um kit [REF 800500] e contêm alvo de EBV encapsulado não infeccioso preparado em Basematrix.
- É necessário processar um conjunto de calibradores de EBV com cada novo lote de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, se for carregado um novo arquivo de definições de ensaio de EBV no NeuMoDx System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (definido em 90 dias) ou no caso de o software do NeuMoDx System ter sido modificado.
- O software do NeuMoDx System notificará o usuário quando os calibradores precisarem ser processados; não é possível usar um novo lote de tiras de teste até que os calibradores tenham sido processados com sucesso.
- A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
  - É necessário processar um conjunto de dois calibradores (alto e baixo) para estabelecer a validade.
  - 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  $4 \text{ Log}_{10}$  UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de  $6 \text{ Log}_{10}$  UI/mL.
  - 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 EBV.

5. 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.
6. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação por duas vezes consecutivas, entre em contato com a NeuMoDx Molecular, Inc.

### Controle de qualidade

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

### Controles externos

1. Os materiais de controle externo, que contêm alvo de EBV encapsulado não infeccioso em Basematrix para controles positivos, são fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc. em um kit contendo os NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
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 de ser possível relatar resultados de amostras.
3. Se forem necessários controles externos, retire um conjunto de controles externos do freezer e deixe os frascos descongelarem em temperatura ambiente (15–30 °C). Agite suavemente para garantir homogeneidade.
4. Usando a tela sensível ao toque e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira de autocarregamento, carregue os frascos de controle positivo e negativo no NeuMoDx System. O NeuMoDx System reconhecerá o código de barras e começará a processar os tubos de espécime, 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 EBV e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para EBV.
6. Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
  - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controle negativo indica um problema de contaminação do espécime.
  - 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 um dos casos acima, repita o(s) NeuMoDx EBV External Control(s) com falha com um frasco recém-descongelado do(s) controle(s) que falharam o teste de validação.
  - d) Se o NeuMoDx EBV External Control positivo continuar a relatar um resultado Negative (Negativo), entre em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx.
  - e) Se o NeuMoDx EBV External Control negativo continuar a relatar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a reposição de TODOS os reagentes e consumíveis antes de entrar em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx.

### Controles (internos) de processo de amostras

Um controle de processo de amostras (Sample Process Control 1, SPC1) exógeno está integrado na 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. Estão também incluídos iniciadores e sonda específicos para o SPC1 em cada uma das NeuMoDx EBV Quant Test Strip, que permitem a detecção da presença de SPC1 em conjunto com o DNA de EBV alvo (se presente) via PCR em tempo real multiplex. A detecção de amplificação do SPC1 permite que o software do NeuMoDx System monitore a eficácia dos processos de extração de DNA e de amplificação por PCR.

Se um NeuMoDx EBV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não produzir um resultado válido, será reportado como Indeterminate (Indeterminado, IND) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro que ocorreu.

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

Será reportado um resultado UNR (Não resolvido) se não for detectada uma amplificação válida de SPC1 ou DNA de EBV, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Caso seja relatado um resultado UNR (Não resolvido), um primeiro passo poderá ser a repetição do teste. Se a repetição do teste falhar, é possível utilizar um espécime diluído para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

#### Sensibilidade analítica – Limite de detecção usando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx EBV Quant Assay foi confirmada testando espécimes de plasma negativos para EBV enriquecidos com uma diluição baixa do 1º padrão internacional da OMS para EBV para técnicas de amplificação de ácido nucleico. Esse teste de confirmação foi realizado no limite de detecção (LdD) esperado do NeuMoDx EBV Quant Assay nos NeuMoDx Systems a 200 UI/mL. O LdD foi definido como o nível de alvo mais baixo a ser detectado a uma taxa  $\geq 95\%$ . O estudo foi realizado em vários sistemas com lotes qualificados de reagentes NeuMoDx. As taxas de detecção estão indicadas na *Tabela 2*.

**Tabela 2:** Determinação do LdD do NeuMoDx EBV Quant Assay; Taxa de detecção positiva para espécimes de plasma

Concentração de alvo [UI/mL]	PLASMA		
	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

#### Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LIdQ)

O limite inferior de quantificação (LIdQ) é definido como o nível de alvo mais baixo em que uma detecção  $> 95\%$  é alcançada e o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) é  $\leq 1,0$ . De forma a confirmar um LdD e LIdQ de 200 UI/mL para o EBV Quant Assay, foram utilizados os resultados do estudo da taxa de identificação para determinar o TAE. Esse TAE calculado foi definido da seguinte forma:

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

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

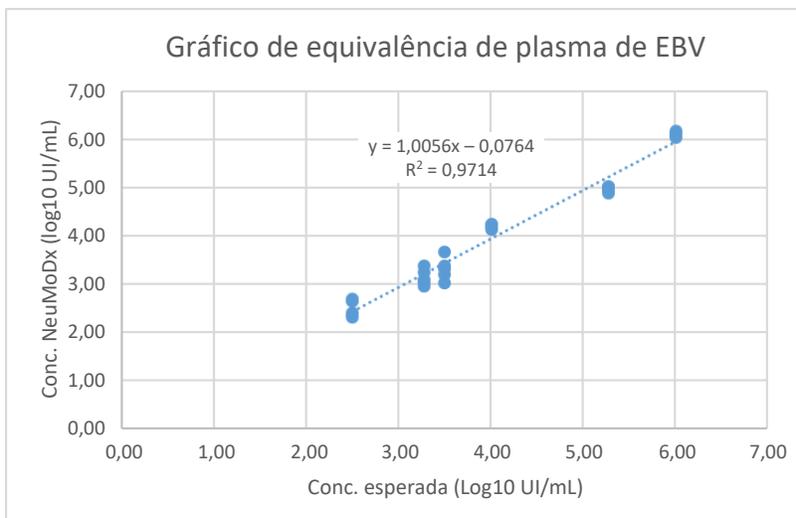
**Tabela 3:** LIdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay com tendência e TAE

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [ $\text{Log}_{10}$ UI/mL]	Plasma				
		Conc. média [ $\text{Log}_{10}$ UI/mL]	Detecção (%)	DP	Tendência	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Com base no resultado destes estudos, o LdD e o LIdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 200,0 UI/mL [2,30  $\text{Log}_{10}$  UI/mL].

#### Linearidade e determinação do limite superior de quantificação (LSdQ)

A linearidade e o limite superior de quantificação (LSdQ) do NeuMoDx EBV Quant Assay foram estabelecidos em plasma preparando uma série de diluições utilizando o alvo de EBV encapsulado NeuMoDx e Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 1º padrão internacional da OMS para EBV. Um painel de 10 membros foi preparado em plasma negativo para EBV em pools de forma a criar um painel que abrangesse um intervalo de concentração de 2,0–8,0  $\text{Log}_{10}$  UI/mL. O LSdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinado como sendo de 8,0  $\text{Log}_{10}$  UI/mL. Foi preparado um painel de confirmação para avaliar a linearidade da curva-padrão, e as concentrações do ensaio de EBV reportadas pelo NeuMoDx System em comparação com os valores esperados são apresentadas na *Figura 2*.



**Figura 2:** Linearidade do NeuMoDx EBV Quant Assay

### Especificidade analítica – Reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 35 organismos que podem ser encontrados em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao EBV quanto a reatividade cruzada. Foram preparados organismos a concentrações elevadas em pools de 5–6 organismos. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 4*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tabela 4:** Patógenos usados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo					
Poliomavírus BK	Adenovírus tipo 5	Vírus herpes simplex tipo 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovírus	Vírus da hepatite C	Vírus herpes simplex tipo 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Vírus herpes humano tipo 6	Parvovírus B19	Vírus varicela-zoster	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Vírus herpes humano tipo 7	Vírus JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Vírus herpes humano tipo 8	Vírus do papiloma humano 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus da hepatite B	Vírus do papiloma humano 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

### Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais

O NeuMoDx EBV 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 4*. Plasma negativo para EBV foi enriquecido com os organismos em pools de 4–7; estes pools foram depois enriquecidos com alvo de EBV a uma concentração de 3 Log<sub>10</sub> UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença desses organismos, tal como indicado pelo desvio mínimo da quantificação em relação a espécimes de controle que não continham qualquer agente interferente.

### Especificidade analítica – Substâncias interferentes, substâncias endógenas e exógenas

O NeuMoDx EBV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas em espécimes clínicos de plasma de EBV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais e imunossupressores comuns, classificados na *Tabela 5*. Cada uma das substâncias foi adicionada a plasma humano negativo para EBV, enriquecido com 3 Log<sub>10</sub> UI/mL de EBV, e as amostras foram analisadas quanto a interferência. Além disso, foi também analisado plasma em estado de doença comum associada a infecção por EBV quanto a possível interferência. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação a amostras de controle enriquecidas com o mesmo nível de EBV são reportadas na *Tabela 6*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tabela 5: Testes de interferência – Agentes exógenos (classificações de medicamentos)**

Pool	Nome do medicamento	Classificação	Pool	Nome do medicamento	Classificação
Pool 1	Azatioprina	Imunossupressor	Pool 4	Trimetoprima	Antibiótico
	Ciclosporina	Imunossupressor		Vancomicina	Antibiótico
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Tacrolimus	Imunossupressor
	Ganciclovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Imunossupressor
	Cloridrato de valganciclovir	Antiviral (EBV)		Clavulanato de potássio	Antibiótico
Pool 2	Prednisona	Corticosteroide/Imunossupressor	Pool 5	Famotidina	Antagonista do receptor de histamina
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiótico
	Cefotetan	Antibiótico (amplo espectro)		Valaciclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxima	Antibiótico (amplo espectro)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Fluconazol	Antifúngico		Ticarclina dissódica	Antibiótico
Pool 3	Micofenolato mofetil	Imunossupressor	Leflunomida	Imunossupressor	
	Micofenolato de sódio	Imunossupressor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirolimus/Rapamicina	Imunossupressor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

**Tabela 6: Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos**

Endógenos	Conc. média	Tendência
	Log <sub>10</sub> UI/mL	Log <sub>10</sub> UI/mL
Hemoglobina	3,20	0,23
Triglicérides	3,15	0,28
Bilirrubina	3,48	-0,05
Albumina	3,2	0,22
Exógenos (medicamentos)	Conc. média	Tendência
	Log <sub>10</sub> UI/mL	Log <sub>10</sub> UI/mL
Pool 1: Azatioprina, Ciclosporina, Foscarnet, Ganciclovir, Cloridrato de valganciclovir	3,30	0,13
Pool 2: Prednisona, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxima, Fluconazol	3,22	0,21
Pool 3: Micofenolato mofetil, Micofenolato de sódio, Piperacilina, Sirolimus/Rapamicina, Tazobactam	3,36	0,07
Pool 4: Trimetoprima, Vancomicina, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanato de potássio	3,32	0,11
Pool 5: Famotidina, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilina dissódica, Leflunomida	3,47	-0,10
Estado de doença	Conc. média	Tendência
	Log <sub>10</sub> UI/mL	Log <sub>10</sub> UI/mL
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	3,23	0,20
Anticorpo antinuclear (AAN)	3,33	0,10
Artrite reumatoide (AR)	3,19	0,24

### Precisão intralaboratorial

A precisão do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinada testando 3 réplicas de um painel de 4 membros de espécimes de EBV preparados com EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) três vezes por dia, utilizando dois NeuMoDx 288 Systems e um NeuMoDx 96 System por dois dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema, e o desvio-padrão global foi determinado como sendo  $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ . Foi demonstrada uma precisão excelente entre sistemas, dias e ensaios, tal como apresentado na *Tabela 7*. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System.

**Tabela 7:** Precisão intralaboratorial – NeuMoDx EBV Quant Assay em NeuMoDx Systems

Conc. de alvo de EBV [Log <sub>10</sub> UI/mL]	Conc. média de EBV [Log <sub>10</sub> UI/mL]	DP intrassistema	DP intradiário	DP intraensaio	DP (intralaboratorial) geral
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

### Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade lote a lote do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinada avaliando três lotes dos principais reagentes (NeuMoDx EBV Quant Test Strip e Lysis Buffer 5), como parte da análise de qualificação (Qualification Testing, QT). Foi utilizado um painel de 4 membros de plasma positivo para EBV para avaliar o desempenho (*Tabela 8*). A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados são apresentados nas *Tabelas 8-9*. A tendência global máxima foi de 0,03 Log<sub>10</sub> UI/mL e o DP global máximo foi de 0,20 Log<sub>10</sub> UI/mL para NeuMoDx EBV Quant Test Strips. A tendência global máxima foi de 0,12 Log<sub>10</sub> UI/mL e o DP global máximo foi de 0,41 Log<sub>10</sub> UI/mL para o NeuMoDx Lysis Buffer 5. 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 8:** Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Conc. de alvo de EBV [UI/mL]	Conc. média de EBV [Log <sub>10</sub> UI/mL]	N (Resultados válidos por lote)	Tendência	DP entre lotes	DP intralote	DP global
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

**Tabela 9:** Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Conc. de alvo de EBV [Log <sub>10</sub> UI/mL]	Conc. média de EBV [Log <sub>10</sub> UI/mL]	N (Resultados válidos por lote)	Tendência	DP entre lotes	DP intralote	DP global
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

### Eficácia do controle de processo de amostra

O controle de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) está incluído no NeuMoDx EBV Quant Assay para reportar falhas nas etapas do processo ou inibição que afeta o desempenho do ensaio. Utilizando o NeuMoDx CMV Quant Assay como modelo, a eficácia do SPC1 foi testada para espécimes de plasma em condições representativas de falhas críticas nas etapas do processo que podem potencialmente ocorrer durante o processamento de amostras e que *poderão não ser detectadas* pelos sensores de monitoramento do desempenho do NeuMoDx System. Os espécimes positivos (a 3 Log<sub>10</sub> UI/mL) e negativos para citomegalovírus foram contestados nas seguintes condições: presença de inibidor, sem fornecimento da solução de lavagem e sem expulsão da solução de lavagem. As ineficácias do processo que tiveram um efeito adverso na detecção/quantificação do alvo viral foram refletidas pelo desempenho do alvo de SPC1, conforme apresentado na *Tabela 10*. Em todos os casos testados, foi demonstrado que o controle de processo de amostra monitorou adequadamente as ineficácias do processo e a presença de inibidores ou a ineficácia prevista do processo não teve um efeito adverso significativo, seja na detecção do SPC1, seja na detecção e quantificação do alvo viral. Por este motivo, o SPC1 demonstrou ser bem-sucedido na monitorização eficaz do desempenho do ensaio no NeuMoDx System.

**Tabela 10:** Eficácia do controle de processo de amostra para DNA viral em plasma\*

Falha nas etapas do processo testada	Estado de amplificação do controle de processo de amostra 1	Estado de amplificação do alvo de CMV	Resultado do ensaio
Presence of Inhibitor (Presença de inibidor)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Delivered (Sem fornecimento da solução de lavagem)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Blowout (Sem expulsão da solução de lavagem)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive (Positivo) com quantificação dentro de 0,3 Log <sub>10</sub> UI/mL do controle

\*Foi utilizado citomegalovírus (CMV) em espécimes de plasma como sistema modelo para a avaliação da eficácia do controle de processo de amostra.

### Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada para espécimes de plasma foi determinada processando alternadamente amostras altamente positivas e negativas de um vírus de DNA semelhante que circula na corrente sanguínea, o citomegalovírus (CMV). Foram realizados três conjuntos de testes com este padrão com um total de 108 réplicas de plasma negativo para CMV e 108 réplicas de um plasma misturado com CMV a 6,0 Log<sub>10</sub> UI/mL. Todas as 108 réplicas do espécime negativo foram reportadas como negativas, o que demonstra que não houve contaminação cruzada durante o processamento de amostra de plasma no NeuMoDx System.

### Equivalência da matriz de espécimes

Foi realizada testagem para demonstrar a equivalência entre espécimes recém-colhidos e congelados de plasma utilizando um vírus semelhante que circula na corrente sanguínea, o CMV, como modelo. Os espécimes recém-colhidos foram mantidos a 4 °C até serem enriquecidos com três níveis de CMV e testados em relação à equivalência. Em seguida, as amostras foram congeladas por no mínimo 24 horas a -20 °C. Após esse período de armazenamento congelado, os espécimes foram descongelados e testados novamente. Os resultados dos espécimes de plasma recém-colhidos vs. congelados foram comparados em relação à equivalência por meio de análise de regressão. Os dados demonstraram uma excelente equivalência entre espécimes recém-colhidos e congelados de plasma com um declive de 1,0 e uma tendência (interseção) muito baixa, conforme apresentado na *Tabela 11* abaixo.

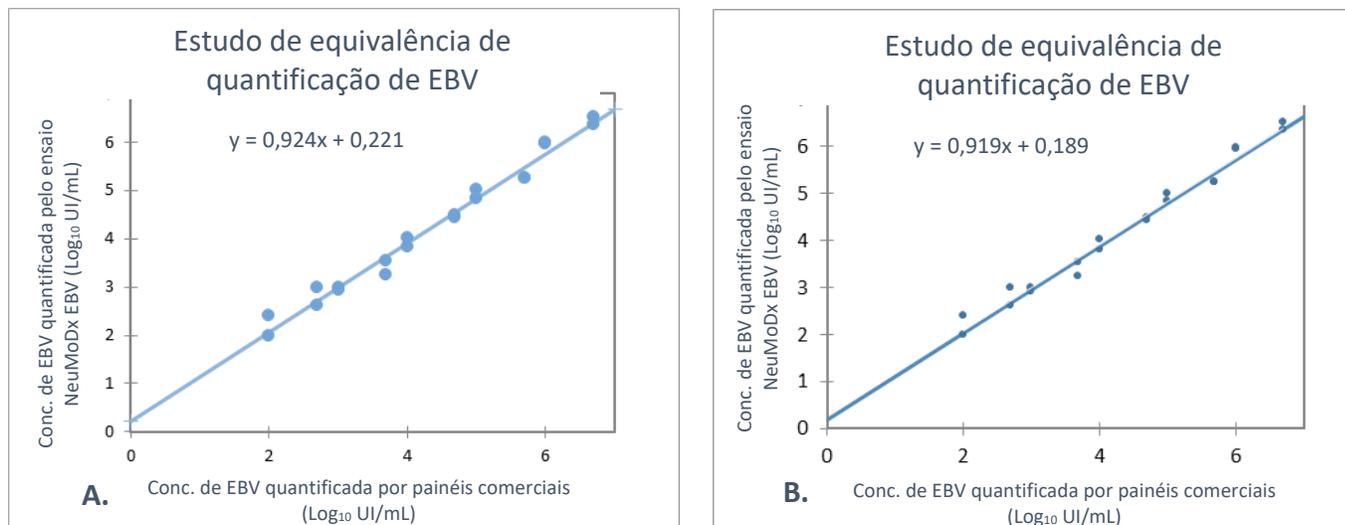
**Tabela 11:** Equivalência da matriz de espécimes

Requisito de parâmetro	EDTA recém-colhido vs. congelado
Declive [0,9–1,1]	1,000
Interseção < 0,5 Log <sub>10</sub> UI/mL	0,020
Valor $p > 0,05$	0,631

### Caracterização do desempenho quantitativo

O desempenho quantitativo do NeuMoDx EBV Quant Assay foi caracterizado processando dois painéis comerciais de verificação de EBV da AcroMetrix e da Exact Diagnostics (rastreadáveis de acordo com o 1º padrão internacional da OMS para EBV) nos NeuMoDx Molecular Systems.

Foi obtida uma excelente correlação entre o NeuMoDx EBV Quant Assay e os dois painéis comerciais de verificação de EBV (*Figura 3*) quando analisados com o método de regressão de Deming (*Figura 3A*) ou de Passing-Bablok (*Figura 3B*).



**Figura 3. Gráfico de equivalência entre painéis de verificação AcroMatrix e Exact Diagnostics e o NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Análise de regressão linear utilizando o método de Deming. B. Análise de regressão linear utilizando o método de Passing-Bablok.**

A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada por um coeficiente de declive geral de 0,92 e uma interseção (tendência) de 0,22, demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx EBV Quant Assay e os painéis de verificação de EBV estão correlacionados com uma tendência aceitável. O ajuste linear de Passing-Bablok também suporta a significância da correlação entre os resultados obtidos do NeuMoDx EBV Quant Assay e dos painéis de verificação de EBV com um coeficiente de declive geral de 0,92 e uma interseção (tendência) de 0,19. O valor *p* da análise de Passing-Bablok foi calculado como sendo de 0,40.

**Tabela 12:** Resumo da análise de regressão linear de Deming e de Passing-Bablok

Análise de Deming		Análise de Passing-Bablok	
Interseção	Coefficiente de declive	Interseção	Coefficiente de declive
0,22	0,92	0,19	0,92
IC de 95% (-0,11, 0,55)	IC de 95% (0,86, 0,99)	IC de 95% (-0,08, 0,41)	IC de 95% (0,87, 0,99)

### REFERÊNCIAS

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.  
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### MARCAS

NeuMoDx<sup>™</sup> é uma marca da NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry<sup>™</sup> é uma marca da NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan<sup>®</sup> é uma marca registrada da Roche Molecular Systems, Inc.

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

### SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
<b>Rx only</b>	Sujeito a prescrição médica
	Fabricante
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IVD</div>	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
<div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px;">EC</div> <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-left: 10px;">REP</div>	Representante autorizado na Comunidade Europeia
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">REF</div>	Número de catálogo
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">LOT</div>	Código de lote
	Prazo de validade
	Limite de temperatura
	Limite de umidade
	Não reutilizar
	Contém o suficiente para <n> testes
	Consultar as instruções de uso
	Cuidado
	Riscos biológicos
<b>CE</b>	Marca CE



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

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



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands



Suporte técnico/Informação de vigilância: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patente: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)