

**REF****201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0****R only**

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

**IVD**Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System.Para introducir actualizaciones, vaya a: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317

**USO PREVISTO**

El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* automatizada para la cuantificación de ADN del virus de Epstein-Barr (EBV) humano en EDTA plasma de pacientes de trasplantes inmunodeprimidos.

El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 realizado en el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System incorpora la extracción automatizada de ADN para aislar los ácidos nucleicos diana de la muestra y una RCP inmediata que actúa en dos regiones altamente conservadas en el genoma del EBV.

El ensayo está diseñado para utilizarse como ayuda en la supervisión de los niveles de ADN de EBV en la sangre periférica para evaluar la respuesta vírica al tratamiento. Este ensayo está diseñado para utilizarse junto con el cuadro clínico inicial y otros marcadores de laboratorio de progresión de la enfermedad para el tratamiento clínico y la supervisión de la infección por EBV.

Este ensayo no está diseñado para su uso como prueba de detección de la presencia de ADN de EBV en sangre o en hemoderivados. El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 está diseñado para que lo utilice personal de laboratorio clínico, instruido y formado específicamente en las técnicas de RCP inmediata y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro* y/o sistemas NeuMoDx Molecular System. El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 no está diseñado para el autodiagnóstico ni para el uso en el punto de atención.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN**

La sangre humana completa recogida en tubos estériles de recogida de sangre con EDTA como anticoagulante se puede utilizar para la preparación del plasma. Para iniciar la prueba, se coloca el plasma en un tubo de muestra compatible con el NeuMoDx System en un soporte de tubos de muestras y se carga sobre la mesa de trabajo del NeuMoDx System. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 550 µl de muestra de plasma con el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación (dos regiones altamente conservadas en el genoma del EBV). El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) de ADN para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras y de los fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que puedan acontecer durante el proceso de extracción y amplificación.

El EBV es un virus común de ADN bicatenario de la familia de virus del herpes humano que infecta a personas de todas las edades. Se estima que >90 % de la población mundial está o ha estado infectada por EBV.<sup>1</sup> El EBV se transmite a través de líquidos corporales como la saliva, la sangre, el semen y el trasplante de órganos. Muchas personas contraen infección por EBV durante la infancia. Estas personas, aunque están infectadas por EBV, generalmente no presentan síntomas. Las personas inmunodeprimidas pueden presentar síntomas más intensos y complicaciones más graves producto de la infección por EBV. La infección por EBV latente presenta el mayor riesgo para los pacientes después de un trasplante. Los trastornos linfoproliferativos postrasplante (Post Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD) incluyen la formación de tumores producidos por el EBV en los linfocitos B debido al efecto de los agentes inmunodepresores en el control inmunitario del EBV, una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en pacientes sometidos a cualquier tipo de trasplante de órganos.<sup>2</sup>

La supervisión de la carga vírica de EBV puede utilizarse en el diagnóstico y el tratamiento de los PTLD asociados con el EBV. Sin embargo, el diagnóstico debe realizarse mediante biopsia. La supervisión de la carga vírica de EBV también puede utilizarse para supervisar la respuesta al tratamiento de los PTLD asociados al EBV, normalmente con rituximab y una reducción en la terapia inmunodepresora.<sup>3</sup>

**PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO**

El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en el NeuMoDx System utiliza la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, los NeuMoDx EBV Calibrators, los NeuMoDx EBV External Controls, el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y los reactivos de uso general NeuMoDx para realizar el análisis. El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 combina la extracción automatizada de ADN, la amplificación y la detección mediante RCP inmediata. Se recogen muestras de sangre completa en tubos con EDTA para la preparación del plasma. La muestra de plasma en un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System se coloca en un soporte de tubos de muestras y se carga en la mesa de trabajo del NeuMoDx System para el procesamiento. No es necesaria ninguna otra intervención del operador.

Los NeuMoDx Systems utilizan una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis celular, la extracción del ADN y la eliminación de inhibidores. Las microesferas de afinidad magnética capturan los ácidos nucleicos liberados. Las microesferas, con los ácidos nucleicos unidos, se cargan en el NeuMoDx Cartridge, donde los componentes no unidos y distintos del ADN se eliminan mediante el NeuMoDx Wash Reagent y el ADN unido se eluye mediante el NeuMoDx Release Reagent. A continuación, los NeuMoDx Systems utilizan el ADN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación por RCP de los analitos específicos de EBV y SPC1. Tras la reconstitución de los reactivos para RCP NeuDry, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para RCP en el NeuMoDx Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de ADN de control y diana (si están presentes) tienen lugar en el área de la cámara de RCP del NeuMoDx Cartridge. El NeuMoDx Cartridge también está diseñado para contener el amplicón tras la RCP inmediata y prácticamente eliminar el riesgo de contaminación después de la amplificación.

El NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 actúa en dos regiones altamente conservadas, BALF5 y BXFL1, en el genoma del EBV. El diseño de doble analito reduce el riesgo de resultados falsos negativos en caso de mutaciones en una región diana y, de esa manera, aumenta la solidez del ensayo. Los analitos amplificados se detectan en el acto utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos.

Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, lo que provoca que la molécula supresora extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa de ADN Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y provoca la pérdida de proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y es posible la detección de fluorescencia del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de ADN diana presente.

Se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 490 nm y emisión: 521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar los dos analitos de ADN de EBV. Para detectar el SPC1, la sonda TaqMan está marcada con un colorante fluorescente alternativo (excitación: 535 nm y emisión: 556 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], NO RESULT [Sin resultado] o UNRESOLVED [No resuelto]). Si un resultado es POSITIVE (Positivo), el software del NeuMoDx System también proporciona un valor cuantitativo asociado con la muestra o informa si la concentración calculada está fuera del intervalo lineal.



## REACTIVOS/CONSUMIBLES

### Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> <i>Reactivos secos de la RCP con retrotranscriptasa que contienen cebadores y sondas TaqMan específicos para EBV y SPC1.</i>	6	16	96

### Materiales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en QIAGEN)

REF	Contenido
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> <i>Conjuntos de calibradores altos y bajos de EBV de un solo uso para establecer la validez de la curva estándar (1 vial de cada control = 1 conjunto)</i>
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> <i>Conjuntos de un solo uso de controles positivos bajos, positivos altos y negativos de EBV para establecer la validez diaria del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (1 vial de cada control = 1 conjunto)</i>
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secas</i>
400500	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Puntas Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) con filtros</b>
235905	<b>Puntas Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) con filtros</b>

### Instrumentos necesarios

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

Software NeuMoDx System versión 1.9.2.6 o superior



## PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems exclusivamente.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- Debe haber una calibración de prueba válida (generada mediante el procesamiento de calibradores altos y bajos NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) disponible para que puedan generarse resultados de la prueba para muestras clínicas.
- Los NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] se deben procesar cada 24 horas si se analiza con el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- El volumen mínimo de la muestra de alícuotas secundarias de plasma con EDTA se detalla a continuación en la sección Preparación de las pruebas. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Evite la contaminación microbiana y por desoxirribonucleasa (DNase) de todos los reactivos y consumibles. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 y la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del contenedor NeuMoDx Lysis Buffer; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar superficies laterales.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo (según proceda) en [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Lávese bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetee con la boca. No fume, beba ni coma en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos) y en el documento M29-A4 del CLSI.<sup>5</sup>
- Al trabajar con productos químicos, utilice siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) pertinentes.
- Elimine los reactivos no utilizados y los residuos de acuerdo con la normativa nacional, provincial, regional y local. Siga las recomendaciones de la ficha de datos de seguridad (Safety Data Sheet, SDS).

### NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Contiene: ácido bórico. Peligro! Provoca irritación ocular grave. Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto. Pedir instrucciones especiales antes del uso. No manipular la sustancia antes de haber leído y comprendido todas las instrucciones de seguridad. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección. EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Consultar a un médico. Guardar bajo llave. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

#### Información de urgencias

CHEMTREC

Fuera de EE. UU. y Canadá +1 703-527-3887



#### ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

1. Las NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de 15 a 28 °C.
2. Una vez cargada, la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 puede permanecer en el NeuMoDx System durante 14 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.
3. Aunque los NeuMoDx EBV Calibrators y los NeuMoDx EBV External Controls no son infecciosos, deben desecharse después del uso como desechos con riesgo biológico para reducir el riesgo de contaminación.

## RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

*Manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.*

1. No congele la sangre ni ninguna muestra almacenada en los tubos primarios.
2. Para preparar muestras de plasma, la sangre completa se debe recoger en tubos estériles con EDTA como anticoagulante. Siga las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de muestras.
3. La sangre total recogida en los dispositivos antes indicados puede almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma. La preparación del plasma debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante.
4. Las muestras preparadas de plasma pueden permanecer en el NeuMoDx System hasta 8 horas antes del procesamiento. Si es necesario extender el tiempo de almacenamiento, se recomienda refrigerar o congelar las muestras.
5. Las muestras de plasma preparado deben almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante 7 días como máximo antes de realizar la prueba y durante 8 horas como máximo a temperatura ambiente.
6. Las muestras preparadas de plasma pueden almacenarse a una temperatura -20 °C durante un máximo de 8 semanas; las muestras de plasma no deben someterse a más de 2 ciclos de congelación/descongelación antes del uso.
  1. Si las muestras están congeladas, deje que se descongelen por completo a temperatura ambiente (15-30 °C); agite en vórtex para generar una muestra distribuida de manera uniforme. Las muestras deben estar a temperatura ambiente antes de la prueba.
  2. Una vez que las muestras congeladas se han descongelado, la prueba debe realizarse dentro de las 8 horas posteriores.
7. Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.

## INSTRUCCIONES DE USO

### Preparación de las pruebas

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System, tal como se describe a continuación.
2. Transfiera una alícuota de la muestra al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System, en función de los volúmenes que se definen a continuación:
3. *Para muestras de plasma:*
  - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrífuga de fondo redondo de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo  $\geq 650 \mu\text{l}$

### Funcionamiento del NeuMoDx System

*Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador NeuMoDx 288 y el 96 Molecular System (ref. 40600108 y 40600317)*

1. Rellene uno o más soportes de tiras reactivas NeuMoDx System con las NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
2. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y el NeuMoDx Release Reagent, y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
4. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, procese los Calibrators [REF 800501] y/o los External Controls [REF 900502] según sea necesario. Puede encontrar más información sobre los calibradores y los controles en la sección *Procesamiento de los resultados*.
5. Cargue los tubos de muestras en el soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones y los exudados de todos los tubos.
6. Coloque el soporte de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

## LIMITACIONES

1. La NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 solo puede utilizarse en NeuMoDx Systems.
2. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 para muestras de plasma preparadas a partir de sangre completa recogida con EDTA como anticoagulante. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 con otras fuentes y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras.
3. Dado que la detección de EBV suele depender del número de partículas víricas presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
4. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión de los tubos de muestras. Además, los resultados negativos falsos se podrían deber a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

5. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
6. Si no se amplifica ni la diana del EBV ni la diana del SPC1, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
7. Si se produce un error en el sistema antes de procesar la muestra, se notificará “No Result” (Sin resultado) y se tendrá que repetir la prueba.
8. En caso de que el ADN de EBV se detecte por encima del ULoQ, el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 puede repetirse con una alícuota diluida de la muestra original. Se recomienda una dilución de 1:100 o de 1:1000 en plasma negativo para EBV o Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). El sistema calculará automáticamente la concentración de la muestra original de la siguiente manera: Concentración de la muestra original =  $\log_{10}$  (factor de dilución) + concentración notificada de la muestra diluida, siempre que el factor de dilución se haya seleccionado correctamente en el software antes de repetir la operación.
9. La presencia de inhibidores de la RCP en plasma puede causar un error de cuantificación en el sistema; si esto sucede, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra diluida en Basematrix en una proporción de 1:10 o de 1:100.
10. Un resultado positivo es indicativo de la presencia de ADN de EBV.
11. Aunque la posibilidad es baja, las eliminaciones o mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx EBV Quant Assay pueden afectar a la detección o la cuantificación y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
12. Los resultados del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición; la prueba no está diseñada para diagnosticar la infección.
13. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

## PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña Results (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo de NeuMoDx EBV Quant (EBV Quant ADF versión 4.0.0 o superior). Un resultado del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo) con una concentración de ADN de EBV notificada, Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sin resultados) o Unresolved (No resuelto) en función del estado de amplificación del analito y el control del procesamiento de muestras. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión de procesamiento de resultados del ADF, tal como se resume en la *Tabla 1* que aparece a continuación.

**Tabla 1:** Interpretación de los resultados de NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Resultado	Analitos de EBV	Control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1)
<b>Positive (Positivo)</b>	<b>AMPLIFIED (AMPLIFICADO)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR > 1,3 AND (Y) EP > 1200] OR (O) [28 < Ct < 38 AND (Y) EP > 1200]	N/D
<b>Positive (Positivo), por encima del límite superior de cuantificación [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	[CONC] (CONCEN.) > 8,0 log <sub>10</sub> UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT.)	N/D
<b>Positive (Positivo), por debajo del límite inferior de cuantificación [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	[CONC] (CONCEN.) < 1,48 log <sub>10</sub> UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT.)	N/D
<b>Negative (Negativo)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (NO AMPLIFICADO)</b> N/D OR (O) [2 ≤ Ct < 28 AND (Y) EPR ≤ 1,3 AND (Y) EP > 1200] OR (O) [28 ≤ Ct < 38 AND (Y) EP > 1200] OR (O) Ct > 38	<b>AMPLIFIED (AMPLIFICADO)</b> [29 < Ct < 35 and (y) EP ≥ 2000]
<b>No Result* (Sin resultado)</b>	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Aborted (No amplificado; Se ha detectado un error del sistema; Procesamiento de la muestra anulado)	
<b>Indeterminate* (Indeterminado)</b>	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Completed (No amplificado; Se ha detectado un error del sistema; Procesamiento de la muestra completado)	
<b>Unresolved* (No resuelto)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, No se ha detectado ningún error del sistema)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescencia final); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Cociente de fluorescencia final); C<sub>t</sub> = Cycling Threshold (Umbral de ciclado);

Quant = Cantidad calculada de EBV presente expresada en log<sub>10</sub> UI/ml. Consulte la sección Cálculo de la prueba a continuación.

\* El sistema cuenta con la opción Rerun/Repeat (Nuevo análisis/repetición) para habilitar el reprocesamiento automático en caso de obtener un resultado no válido y para minimizar así las demoras en la notificación de resultados.

## Cálculo de la prueba: muestras

1. En el caso de las muestras comprendidas dentro del intervalo lineal del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, la concentración de ADN de EBV en las muestras se calcula usando la curva estándar guardada junto con el coeficiente de calibración.
  1. Se calcula un "coeficiente de calibración" sobre la base de los resultados de los NeuMoDx EBV Calibrators procesados para establecer la validez de la curva estándar, para cada lote de las NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, en un NeuMoDx System específico.
  2. El sistema incorpora automáticamente el coeficiente de calibración en la determinación final de la concentración del ADN de EBV.
2. Los resultados del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 se indican en UI/ml y  $\log_{10}$  UI/ml.
3. La cuantificación resultante de las muestras desconocidas concuerda con el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para el virus de Epstein-Barr para las técnicas de amplificación de ácido nucleico.

## Cálculo de la prueba: calibradores

Se requiere una calibración válida basada en la curva estándar para cuantificar el ADN del EBV en las muestras. Para generar resultados válidos, se debe llevar a cabo una calibración de prueba con los calibradores proporcionados por NeuMoDx Molecular, Inc.

1. Los NeuMoDx EBV Calibrators se proporcionan en un kit [REF 800501] y contienen analito de EBV encapsulado no infeccioso preparado en Basematrix.
2. Se debe procesar un conjunto de EBV Calibrators con cada lote nuevo de NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, o si se carga un nuevo archivo de definición de ensayos del EBV en el NeuMoDx System, si el conjunto de calibradores actual ha pasado el periodo de validez (establecido en 90 días) o si se modifica el software del NeuMoDx System.
3. El software del NeuMoDx System indicará al usuario en qué momento se deben procesar los calibradores; no se puede usar un nuevo lote de tiras reactivas para las pruebas hasta que los calibradores se hayan procesado correctamente.
4. La validez de la calibración se establece de la siguiente manera:
  1. Es preciso procesar un conjunto de dos calibradores, alto y bajo, para establecer la validez.
  2. Para generar resultados válidos, al menos 2 de las 3 réplicas deben proporcionar resultados dentro de los parámetros predefinidos. El objetivo nominal del calibrador bajo es de  $3 \log_{10}$  UI/ml y el del calibrador alto es de  $5 \log_{10}$  UI/ml.
  3. Se calcula un coeficiente de calibración para contemplar la variación esperada entre los lotes de tiras reactivas; este coeficiente de calibración se utiliza en la determinación de la concentración final de ADN de EBV.
5. Si uno o ambos calibradores no superan la comprobación de validez, repita el procesamiento de los calibradores no aprobados con un nuevo vial. En caso de que un solo calibrador no supere la comprobación de validez, es posible repetir únicamente el calibrador no aprobado, ya que el sistema no requiere que el usuario procese ambos calibradores de nuevo.
6. Si los calibradores no superan la comprobación de validez por segunda vez consecutiva, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.

## Resultados no válidos

Si un NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sin resultado) o Unresolved (No resuelto) según el tipo de error que se haya producido, y la prueba se debe repetir para obtener un resultado válido.

Se notificará un resultado Indeterminate (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado Indeterminate (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado No Result (Sin resultados) si se detecta un error del NeuMoDx System y se anula el procesamiento de la muestra. En caso de obtener un resultado No Result (Sin resultados), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado Unresolved (No resuelto) si no se detecta ningún analito ni existe amplificación del control de proceso de muestras, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. En caso de obtener un resultado Unresolved (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si la nueva prueba falla, puede utilizarse una muestra diluida para mitigar el efecto de una posible inhibición (consulte la sección de limitaciones para obtener más instrucciones).

Consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System (ref.: 40600108) o el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System (ref.: 40600317) para consultar una lista de códigos de error que pueden estar asociados a los resultados no válidos.

## Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

## Controles externos

1. QIAGEN proporciona los controles externos, que contienen el analito de EBV encapsulado y no infeccioso en Basematrix para controles positivos, o Basematrix para controles negativos, en un kit que contiene los NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
2. Los controles externos positivos y negativos deben procesarse una vez cada 24 horas. Si no existe un conjunto de controles externos válidos, el software del NeuMoDx System le indicará al usuario que se deben procesar estos controles para que puedan notificarse los resultados de las muestras:

NeuMoDx EBV External Controls	Concentración esperada	Color de la etiqueta
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 UI/ml (4,18 log <sub>10</sub> UI/ml)	Rojo
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 UI/ml (2,18 log <sub>10</sub> UI/ml)	Gris
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/D	Negro

3. Si está procesando los controles externos, coloque los controles en un soporte de tubos de muestras y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System desde el estante del cargador automático. El NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los controles, a menos que los reactivos o los consumibles necesarios para la prueba no estén disponibles.
4. El NeuMoDx System evaluará la validez de estos controles externos en función de los resultados esperados.

NeuMoDx EBV External Controls	Resultado de cuantificación de EBV	Resultado del SPC1
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (POSITIVO PARA EBV) [Conc] (Concen.) 3,68 – 4,68 log <sub>10</sub> UI/ml	Positivo para el SPC1
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (POSITIVO PARA EBV) [Conc] (Concen.) 1,58 – 2,78 log <sub>10</sub> UI/ml	Positivo para el SPC1
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (NEGATIVO PARA EBV)	Positivo para el SPC1

5. La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
  1. Un resultado de la prueba Positive (Positivo) notificado para una muestra de control negativo puede indicar contaminación y deben examinarse los procedimientos de control de calidad del laboratorio para encontrar la causa raíz. Asegúrese de usar zonas separadas para la preparación de la muestra, la manipulación del control y la configuración de la RT-RCP. Para obtener más consejos sobre la resolución de problemas, consulte el *Manual del operador del NeuMoDx 288 o 96 Molecular System*.
  2. Un resultado Negative (Negativo) notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el instrumento.
  3. En cualquiera de los casos anteriores, o en el caso de un resultado No Result (NR) (Sin resultado), Unresolved (UNR) (No resuelto) o Indeterminate (IND) (Indeterminado), repita el control erróneo con viales recién descongelados de los controles que no superaron la prueba de validez.
  4. Si el control externo positivo sigue notificando un resultado Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de QIAGEN.
  5. Si el control externo negativo sigue notificando un resultado Positive (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir todos los reactivos, y repita la serie antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.
6. Si los controles externos no ofrecen los resultados esperados, es necesario repetir un conjunto de controles positivos y negativos. Los resultados de la muestra no se notificarán si los controles no dan los resultados esperados.
7. El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun/Repeat (Nuevo análisis/Repeticón) automática que el usuario puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado INVALID (No válido) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

## Controles (internos) de procesamiento de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate, que se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RT-RCP inmediata con cada muestra/control/calibrador. Los cebadores y la sonda específicos para el SPC1 se incluyen en cada NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. Este SPC1 permite al NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ADN y amplificación por RT-RCP con retrotranscriptasa.

## CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

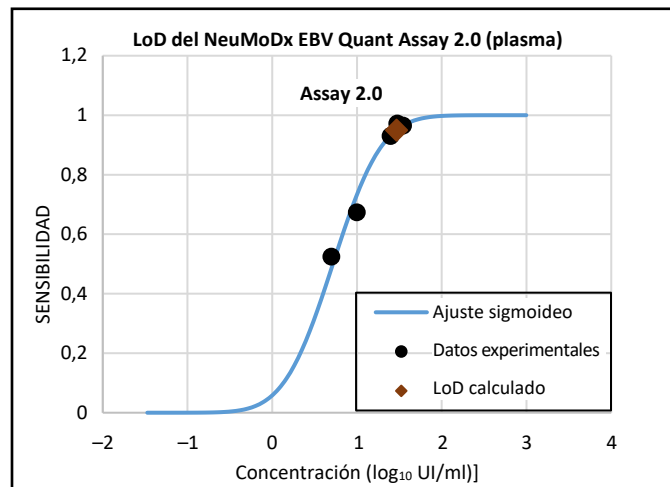
### SENSIBILIDAD ANALÍTICA: límite de detección

La sensibilidad analítica del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 se caracterizó en dos fases secuenciales: 1. Evaluación preliminar del límite de detección (Limit of Detection, LoD) (análisis probit) seguido de 2. Confirmación del LoD. En la parte 1, se analizaron las muestras negativas y una serie de diluciones del 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS en plasma humano negativo para EBV cribado a fin de determinar el LoD preliminar en los NeuMoDx Systems. El LoD preliminar se definió como el nivel diana más bajo que se detecta en una tasa del 95 % según lo determinado mediante el análisis probit. En la parte 2, el LoD preliminar se confirmó analizando un panel elaborado en el nivel de LoD. Las dos fases del estudio se realizaron durante 3 días en varios sistemas con varios lotes de reactivos NeuMoDx. En la parte 1, se procesó un total de 144 réplicas en cada nivel de dilución. En la Tabla 2 se muestran las tasas de detección.

**Tabla 2:** Determinación del LoD preliminar del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Concentración de analitos [UI/ml]	Concentración de analitos [ $\log_{10}$ UI/ml]	PLASMA		
		Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección
35	1,54	144	139	96,5 %
30	1,48	144	140	97,2 %
25	1,40	143	133	93,0 %
10	1,00	144	97	67,4 %
5	0,70	143	75	52,4 %
NEG	---	144	0	0,0 %

Se determinó que el LoD del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en plasma mediante el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV fue de 29,3 UI/ml ( $1,47 \log_{10}$  UI/ml) con un intervalo de confianza (IC) del 95 % de 24,4-37,1 UI/ml ( $1,39$ - $1,57 \log_{10}$  UI/ml) [Figura 1]. Este LoD se confirmó posteriormente mediante un análisis de tasa de aciertos que se refleja en la Tabla 3.


**Figura 1:** Análisis probit utilizado para determinar el LoD del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en muestras de plasma

**Tabla 3:** Confirmación del LoD del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Sistema	Concentración de analitos [UI/ml]	Concentración de analitos [ $\log_{10}$ UI/ml]	Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección
N96	29,3	1,47	96	94	97,9 %
N288			96	92	95,8 %
Todo			192	186	96,9 %

El LoD para el genotipo 2 (GT2) del EBV se confirmó como 29,3 UI/ml [ $1,47 \log_{10}$  UI/ml], según se determinó mediante análisis de la tasa de aciertos.

**Según el resultado de los dos estudios, se determinó que el LoD del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fue de 29,3 UI/ml [ $1,47 \log_{10}$  UI/ml].**

#### SENSIBILIDAD ANALÍTICA: límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

El LLoQ se define como el nivel diana más bajo en el que se logra una detección >95 % Y el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) es  $\leq 1,0$ . Para determinar el LLoQ, se calculó el TAE para cada uno de los niveles diana del EBV que notificaron una detección >95 % como parte del cálculo del LoD. El TAE se define de la siguiente forma:

$$\text{TAE} = \text{sesgo} + 2 * \text{SD} \text{ (estadística Westgard)}$$

El sesgo es el valor absoluto de la diferencia entre el promedio de la concentración calculada y la concentración esperada. SD se refiere a la desviación estándar (Standard Deviation, SD) del valor cuantificado de la muestra.

Los resultados compilados para los 5 niveles de las muestras de plasma con el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV usadas en el estudio de LLoQ se muestran en la Tabla 4. Basándose en este conjunto de datos y el LoD determinado previamente, se determinó que el LLoQ fue de 30,0 UI/ml ( $1,48 \log_{10}$  UI/ml) y, posteriormente, se confirmó para el genotipo 2 (GT2) del EBV.



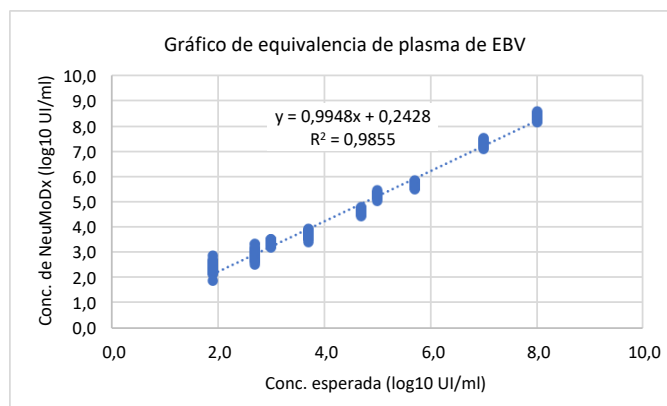
**Tabla 4:** LLoQ del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, con el sesgo y el TAE

Conc. deseada [UI/ml]	Conc. deseada [ $\log_{10}$ UI/ml]	Plasma				
		Conc. media [ $\log_{10}$ UI/ml]	Tasa de detección	SD	Sesgo	TAE
35	1,54	2,05	96,5 %	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2 %	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0 %	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4 %	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4 %	0,27	1,13	1,68

Según los resultados de estos estudios, se determinó que el LoD del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fue de 29,3 UI/ml (1,47  $\log_{10}$  UI/ml) y se determinó que el LLoQ fue de 30,0 UI/ml [1,48  $\log_{10}$  UI/ml].

### Linealidad y determinación del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

La linealidad y el límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 se determinaron en plasma preparando una serie de diluciones con el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV, además de los dos estándares secundarios: el analito de EBV encapsulado NeuMoDx y el cultivo de EBV ATCC (ATCC, Manassas, VA). La trazabilidad con el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV se estableció para todos los estándares secundarios antes de la prueba. Se preparó un panel de 10 componentes en plasma negativo combinado para el EBV a fin de crear un panel que cubriera un intervalo de concentración de 1,48-8,0  $\log_{10}$  UI/ml. Se determinó que el ULoQ del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fue de 8,0  $\log_{10}$  UI/ml. Se preparó un panel de confirmación para evaluar la linealidad de la curva estándar y se presentaron las concentraciones de ensayo de EBV notificadas por el NeuMoDx System en comparación con los valores esperados en la *Figura 2*.

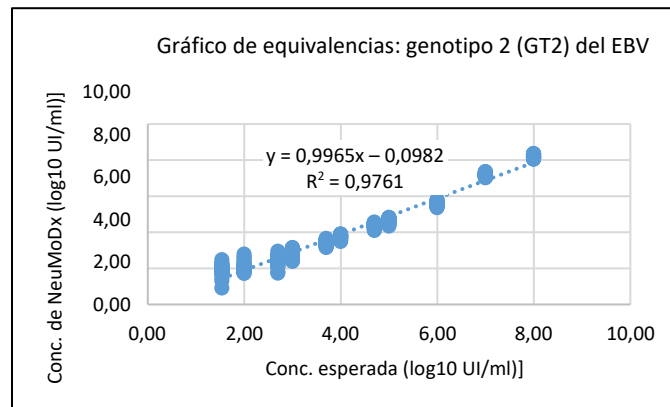

**Figura 2:** Linealidad del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

### Linealidad del genotipo 2 (GT2) del EBV

La linealidad del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en el genotipo 2 (GT2) del EBV se caracterizó analizando once concentraciones distintas de GT2 de EBV, con trazabilidad establecida según el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV, preparadas en plasma combinado negativo para EBV. El estudio se realizó analizando 36 réplicas en 11 concentraciones en los 2 NeuMoDx Systems y con 3 lotes de EBV Quant Test Strips 2.0. La linealidad para el genotipo 2 (GT2) del EBV se muestra en la *Tabla 5* y en la *Figura 3*.

**Tabla 5:** Linealidad del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para el genotipo 2 del EBV

Genotipo	Ecuación de linealidad		R <sup>2</sup>
	y = cuantificación del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0	x = cuantificación esperada	
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$		0,9761


**Figura 3:** Linealidad del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para el genotipo 2 del EBV

**Especificidad analítica: reactividad cruzada**

La especificidad analítica se mostró mediante el análisis de 36 microorganismos que pueden encontrarse en las muestras de sangre y plasma, así como en especies filogenéticamente similares al EBV para determinar la reactividad cruzada. Se prepararon microorganismos en altas concentraciones en grupos de 5-6 microorganismos. Los microorganismos analizados se muestran en la *Tabla 6*. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos analizados, lo que confirma una especificidad analítica del 100 % del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabla 6:** Patógenos utilizados para mostrar la especificidad analítica

Microorganismos no diana					
Poliomavirus BK	Adenovirus de tipo 5	Virus del herpes simple de tipo 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovirus	Virus de la hepatitis C	Virus del herpes simple de tipo 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virus del herpes humano de tipo 6	Parvovirus B19	Virus de la varicela-zóster	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virus del herpes humano de tipo 7	Virus JC	VIH 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Virus del herpes humano de tipo 8	Virus del papiloma humano 16	VIH 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de la hepatitis B	Virus del papiloma humano 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

**Especificidad analítica: sustancias causantes de interferencias, microorganismos comensales**

Se evaluó el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana utilizando los mismos grupos de microorganismos preparados para la prueba de reactividad cruzada que aparecen en la *Tabla 6*. El plasma negativo para el EBV se mezcló con los microorganismos distribuidos en grupos de 4-7; estos grupos también se mezclaron con analito de EBV a una concentración de 90 UI/ml [1,95 log<sub>10</sub> UI/ml]. No se observaron interferencias significativas en presencia de estos microorganismos, tal como indica la desviación mínima de la cuantificación con respecto a las muestras de control que no contenían agentes causantes de interferencias.

**Especificidad analítica: sustancias causantes de interferencias, sustancias endógenas y exógenas**

Se evaluó el rendimiento del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en presencia de sustancias exógenas y endógenas típicas causantes de interferencias que se encuentran en muestras clínicas de plasma del EBV. Estas incluían niveles anormalmente altos de hemoderivados y también de medicamentos antiviricos e inmunodepresores comunes, los cuales se clasifican en la *Tabla 7*. Cada sustancia se añadió a plasma humano negativo cribado para el EBV mezclado con EBV a 90 UI/ml [1,95 log<sub>10</sub> UI/ml] y las muestras se analizaron para detectar interferencias comparando la concentración notificada con el control positivo. Además, también se analizaron muestras de plasma de pacientes con enfermedades comunes asociadas con la infección por EBV para detectar posibles interferencias. La concentración promedio y el sesgo de todas las sustancias analizadas en comparación con las muestras de control mezcladas con EBV del mismo nivel se indican en la *Tabla 8*. Ninguna de las sustancias endógenas y exógenas influyó en la especificidad del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabla 7:** Análisis de interferencias: agentes exógenos (clasificaciones farmacológicas)

Grupo	Nombre del fármaco	Clasificación	Grupo	Nombre del fármaco	Clasificación
Grupo 1	Azatioprina	Inmunodepresor	Grupo 4	Trimetoprima	Antibiótico
	Ciclosporina	Inmunodepresor		Vancomicina	Antibiótico
	Foscarnet	Antivírico (Herpesviridae)		Tacrolimus	Inmunodepresor
	Ganciclovir	Antivírico (EBV)		Everolimus	Inmunodepresor
	Clorhidrato de valganciclovir	Antivírico (EBV)		Clavulanato de potasio	Antibiótico
Grupo 2	Prednisona	Corticoesteroide/ Inmunodepresor	Grupo 5	Famotidina	Antihistamínico
	Cidofovir	Antivírico (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiótico
	Cefotetan	Antibiótico (amplio espectro)		Valaciclovir	Antivírico (Herpesviridae)
	Cefotaxima	Antibiótico (amplio espectro)		Letermovir	Antivírico (EBV)
	Fluconazol	Antifúngico		Ticarcilina disódica	Antibiótico
Grupo 3	Micofenolato mofetilo	Inmunodepresor	Leflunomida	Inmunodepresor	
	Micofenolato de sodio	Inmunodepresor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirolimus/rapamicina	Inmunodepresor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

**Tabla 8:** Análisis de interferencias: agentes endógenos y exógenos

Endógenos + Estado de la enfermedad	Conc. media	Sesgo
	Log <sub>10</sub> UI/ml	Log <sub>10</sub> UI/ml
Hemoglobina	2,19	0,32
Triglicéridos	1,90	0,02
Bilirrubina	2,12	0,24
Albúmina	1,95	0,07
Lupus eritematoso sistémico (LES)	2,08	0,20
Anticuerpo antinuclear (ANA)	2,36	0,48
Artritis reumatoide (AR)	1,89	0,01
Control positivo	1,88	N/D
Exógenos (fármacos)	Conc. media	Sesgo
	Log <sub>10</sub> UI/ml	Log <sub>10</sub> UI/ml
Grupo 1: Azatioprina, ciclosporina, foscarnet, ganciclovir, clorhidrato de valganciclovir	2,19	0,09
Grupo 2: Prednisona, cidofovir, cefotetan, cefotaxima, fluconazol	2,11	0,01
Grupo 3: Micofenolato mofetilo, micofenolato de sodio, piperacilina, sirolimus/rapamicina, tazobactam	2,16	0,06
Grupo 4: Trimetoprima, vancomicina, tacrolimus, everolimus, clavulanato de potasio	2,24	0,14
Grupo 5: Famotidina, sulfametoxazol, letermovir, valaciclovir, ticarcilina disódica, leflunomida	2,26	0,16
Control positivo	2,10	N/D

## Precisión en el laboratorio

Se determinó la precisión del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 analizando 3 réplicas de un panel de 6 componentes de las muestras de EBV preparadas con NeuMoDx EBV Positive Control y cultivo de EBV (ATCC, Manassas, VA) dos veces por día, utilizando dos NeuMoDx 288 Systems y dos NeuMoDx 96 Systems durante 12 días. Se determinaron las precisiones dentro de la serie, en el día y dentro del sistema y se determinó que la desviación estándar general fue de  $\leq 0,18 \log_{10}$  UI/ml. Se mostró una excelente precisión entre los sistemas, días y series, tal como se muestra en la *Tabla 9*. No se determinó la precisión entre operadores, ya que el operador no desempeña un papel importante en el procesamiento de las muestras con el NeuMoDx System.

**Tabla 9:** Precisión en el laboratorio: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 en los NeuMoDx Systems

Conc. deseada de EBV [ $\log_{10}$ UI/ml]	Conc. media de EBV [ $\log_{10}$ UI/ml]	SD dentro del sistema	SD en el día	SD en la serie analítica	SD global (dentro del laboratorio)
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

## Reproducibilidad entre lotes

Se determinó la reproducibilidad entre lotes del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 al evaluar 3 lotes de NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 como parte del estudio de precisión intralaboratorio. Se usó un panel de 6 componentes de plasma positivo para EBV para evaluar el rendimiento (*Tabla 10*). Se analizaron los resultados generados entre lotes distintos y los resultados se presentan en la *Tabla 10*. El sesgo máximo fue de  $0,29 \log_{10}$  UI/ml y la SD máxima fue de  $0,18 \log_{10}$  UI/ml para las NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Se mostró un rendimiento equivalente entre los lotes, ya que la cuantificación de todos los componentes del panel se encontraba dentro de la especificación de tolerancia.

**Tabla 10:** Reproducibilidad entre lotes: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Conc. esperada ( $\log_{10}$ UI/ml)	Lote 1			Lote 2			Lote 3		
	Conc. media ( $\log_{10}$ UI/ml)	SD de conc. log.	Sesgo abs.	Conc. media ( $\log_{10}$ UI/ml)	SD de conc. log.	Sesgo abs.	Conc. Media ( $\log_{10}$ UI/ml)	SD de conc. log.	Sesgo abs.
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

## Eficacia del control de proceso de muestras

El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) está incluido en el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para notificar cualquier fallo en los pasos del proceso o inhibición que afecte al rendimiento del ensayo. Con el NeuMoDx CMV Quant Assay como modelo, se analizó la eficacia del SPC1 en muestras de plasma en condiciones representativas de fallos críticos de los pasos del procesamiento que podrían producirse durante el procesamiento de las muestras y que *posiblemente no sean detectados* por los sensores que monitorizan el rendimiento del NeuMoDx System. Se pusieron a prueba muestras positivas para citomegalovirus (con  $3 \log_{10}$  UI/ml) y muestras negativas bajo las siguientes condiciones: presencia de un inhibidor, sin administración de solución de lavado y sin expulsión de lavado. Las ineficiencias del proceso que tenían un efecto adverso en la detección o la cuantificación del analito vírico se reprodujeron en el rendimiento del valor diana del SPC1, tal como se muestra en la *Tabla 11*. En todos los casos analizados, se mostró que el control de proceso de muestras supervisó adecuadamente las ineficiencias del proceso y la presencia de inhibidores o que la ineficiencia anticipada del proceso no tuvo un efecto adverso significativo sobre la detección del SPC1 ni sobre la detección y la cuantificación del analito vírico. Por tanto, el SPC1 puso de manifiesto ser satisfactorio a la hora de supervisar eficazmente el rendimiento del ensayo en el NeuMoDx System.

**Tabla 11:** Efectividad del control de procesos de muestras para ADN vírico en plasma\*

Fallo del paso del proceso analizado	Estado de amplificación de control de procesos de muestras 1	Estado de amplificación deseado del CMV	Resultado del ensayo
Presence of Inhibitor (Presencia de inhibidor)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Delivered (Sin administración de lavado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Blowout (Sin expulsión de lavado)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive (Positivo) con cuantificación dentro de $0,3 \log_{10}$ UI/ml de control

\*Se usó citomegalovirus (CMV) en muestras de plasma como sistema modelo para evaluar la efectividad del control de proceso de muestras.

## Contaminación cruzada

Se determinó la tasa de contaminación cruzada de las muestras de plasma procesando muestras positivas altas y negativas alternas de EBV. Se utilizaron cinco conjuntos de dichas pruebas estilo tablero de ajedrez con un total de 60 réplicas de plasma negativo para EBV y 60 réplicas de un plasma de EBV mezclado en  $6,0 \log_{10}$  UI/ml en los NeuMoDx 288 y 96 Molecular Systems. En los dos sistemas, las 120 réplicas de la muestra negativa resultaron ser negativas, lo que demuestra que no hubo contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras de plasma en los NeuMoDx Systems.

## Equivalencia de la matriz de muestra

Se realizaron pruebas para mostrar la equivalencia entre muestras de plasma frescas y congeladas utilizando un virus de transmisión hemática similar, CMV, como modelo. Las muestras frescas se mantuvieron a una temperatura de 4 °C hasta que se mezclaron con tres niveles de CMV y se analizaron para determinar la equivalencia. Las muestras se congelaron durante un mínimo de 24 horas a -20 °C. Tras este periodo de almacenamiento bajo congelación, se descongelaron las muestras y se volvieron a analizar. Los resultados de las muestras de plasma frescas frente a congeladas se compararon mediante un análisis de regresión para determinar la equivalencia. Los datos mostraron una excelente equivalencia entre las muestras de plasma frescas y congeladas con una pendiente en 1,0 y un sesgo muy bajo (intersección), tal como se presenta en la *Tabla 12* a continuación.

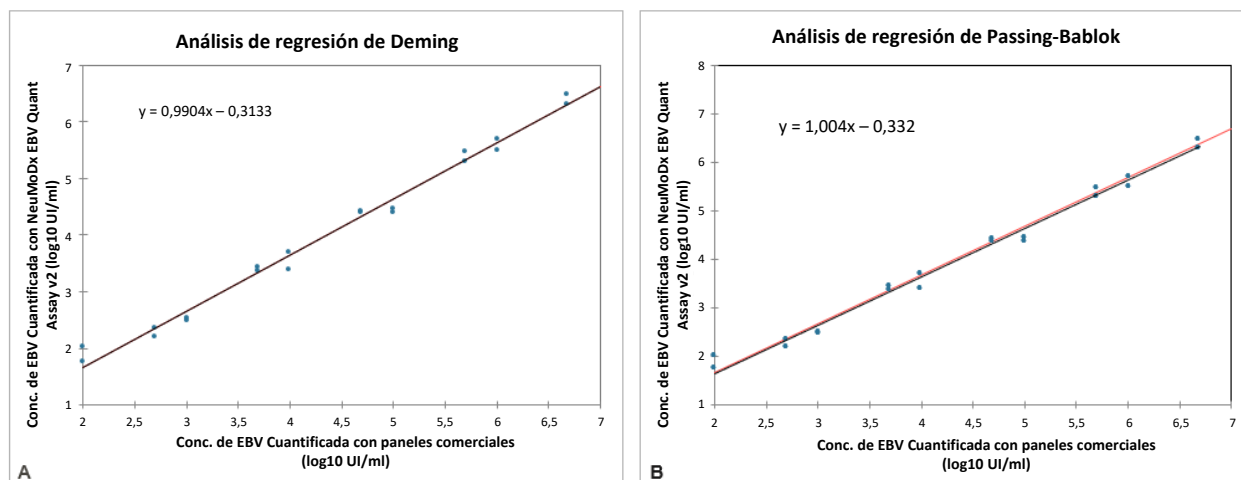
**Tabla 12:** Equivalencia de la matriz de muestras

Requisito del parámetro	EDTA fresco frente a congelado
Pendiente [0,9-1,1]	1,000
Intersección $<0,5 \log_{10}$ UI/ml	0,020
valor $p >0,05$	0,631

## Caracterización del rendimiento cuantitativo

El rendimiento cuantitativo del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 se caracterizó mediante el procesamiento de dos paneles de verificación de EBV comerciales de AcroMetrix and Exact Diagnostics (que concuerda con el 1.<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para el EBV) en los NeuMoDx Molecular Systems.

Se obtuvo una excelente correlación entre el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 y los dos paneles de verificación de EBV comerciales (*Figura 4*) al analizarlos con el método de regresión de Deming (*Figura 4A*) o el método Passing-Bablok (*Figura 4B*).



**Figura 4.** Gráfico de equivalencia entre paneles de verificación AcroMetrix y Exact Diagnostics y NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Análisis de regresión lineal con el método Deming. B. Análisis de regresión lineal con el método Passing-Bablok.

La calidad del ajuste de regresión de Deming se indica mediante un coeficiente de pendiente total de 0,990 y una intersección (sesgo) de -0,313, lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 y los paneles de verificación de EBV están correlacionados con un sesgo aceptable. El ajuste lineal de Passing-Bablok también respalda la importancia de la correlación entre los resultados obtenidos del NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 y los paneles de verificación EBV con un coeficiente de pendiente total de 1,004 y una intersección (sesgo) de -0,332. Se calculó que el valor  $p$  del análisis de Passing-Bablok fue de 0,988.

**Tabla 13:** Resumen del análisis de regresión lineal de Deming y Passing-Bablok

Análisis de Deming		Análisis de Passing-Bablok	
Intersección	Coefficiente de pendiente	Intersección	Coefficiente de pendiente
-0,313	0,990	-0,332	1,004
IC del 95 % (-0,620; -0,007)	IC del 95 % (0,928; 1,053)	IC del 95 % (-0,548; -0,116)	IC del 95 % (0,950; 1,047)

## REFERENCIAS

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. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, [www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html](http://www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. 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 COMERCIALES

NeuMoDx™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.


Seracare® es una marca comercial registrada de Seracare Life Sciences, Inc.

TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

## CLAVE DE SÍMBOLOS

<b>R only</b>	Solo para uso prescriptivo		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Fabricante		Consultar las instrucciones de uso
<b>IVD</b>	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Precaución
<b>EC REP</b>	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Riesgo para la salud
<b>REF</b>	Número de referencia	<b>CE</b>	Marca CE
<b>LOT</b>	Código de lote	<b>CONT</b>	Contiene
	Fecha de caducidad		Contiene material biológico de origen animal
	Límite de temperatura	<b>Boric Acid</b>	Ácido bórico
	No reutilizar		

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

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

Servicio técnico/Informes de vigilancia: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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

