

REF

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

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA

IVD

Para uso em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular SystemsPara 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 NeuMoDx 288 Molecular System; nº de ref. 40600108

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

**USO PREVISTO**

O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação de DNA do vírus Epstein-Barr (EBV) humano em plasma EDTA de pacientes transplantados imunocomprometidos.

O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, conforme realizado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System, incorpora a extração automatizada de DNA para isolar os ácidos nucleicos-alvo do espécime e da PCR em tempo real visando duas regiões altamente conservadas no genoma do EBV.

O ensaio tem como uso previsto atuar como auxiliar no monitoramento de níveis de DNA do EBV no sangue periférico para avaliar a resposta viral ao tratamento. Este ensaio tem como uso previsto ser aplicado em conjunto com um quadro clínico e outros marcadores laboratoriais da evolução da doença a fim de monitorar e gerenciar a infecção por EBV.

O ensaio não deve ser utilizado como teste de rastreio da presença de DNA de EBV no sangue ou produtos sanguíneos. O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 destina-se a ser usado por pessoal de laboratório clínico qualificado, especificamente instruído e treinado nas técnicas de PCR em tempo real e procedimentos de diagnóstico *in vitro* e/ou nos NeuMoDx Molecular Systems. O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 não é destinado ao autoteste ou ao uso no local de atendimento.

**RESUMO E EXPLICAÇÃO**

O sangue total humano colhido em tubos de coleta de sangue estéreis que contêm 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 550 µL da amostra de plasma é misturada com NeuMoDx Lysis Buffer 1 e o NeuMoDx System executa automaticamente todas as etapas necessárias para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o DNA isolado para 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 2.0 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 por meio 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. Os indivíduos imunocomprometidos 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>

O monitoramento da carga viral do EBV pode ser usado como auxílio no diagnóstico e tratamento de DLPT associada ao EBV. No entanto, o diagnóstico deve ser realizado com uma biópsia. O monitoramento da carga viral de EBV também pode ser usado para monitorar a resposta ao tratamento de DLPT associado ao EBV, geralmente com rituximabe e uma redução na terapia imunossupressora.<sup>3</sup>

**PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO**

O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 no NeuMoDx System utiliza NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 e reagentes de uso geral NeuMoDx para realizar a análise. O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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 sistema NeuMoDx System para processamento. Nenhuma outra intervenção do operador é necessária.

Os NeuMoDx Systems usam uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para efetuar automaticamente a lise celular, a extração de DNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por microesferas de afinidade magnética. As microesferas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, no qual os componentes não ligados e sem DNA são retirados por lavagem usando o NeuMoDx Wash Reagent e o DNA ligado é eluído usando o 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 a detecção das sequências de DNA (se presentes) do controle e do alvo ocorrem na área da câmara de PCR do NeuMoDx Cartridge. O NeuMoDx Cartridge também foi projetado para conter o amplicon decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação pós-amplificação.

O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tem como alvo duas regiões altamente conservadas (BALF5 e BXFL1) no genoma do EBV. A concepção de duplo alvo diminui o risco de resultados negativos falsos em caso de mutação em uma região-alvo, 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 anelou-se 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 (excitação: 490 nm e emissão: 521 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3' é usada para detectar ambos os alvos de DNA de EBV. Para a detecção do SPC1, a sonda TaqMan é marcada com um corante fluorescente alternativo (excitação: 535 nm e emissão: 556 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3'. O software do NeuMoDx System monitora o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação é concluída, o software do NeuMoDx System analisa os dados e relata um resultado (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/NO RESULT [SEM RESULTADO]/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 do intervalo linear.



## REAGENTES/CONSUMÍVEIS

### Material fornecido

REF.	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> <i>Reagentes de RT-PCR secos contendo iniciadores e sonda TaqMan específicos de EBV e SPC1.</i>	6	16	96

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

REF.	Conteúdo
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> <i>Conjuntos de uso único de calibradores altos e baixos de EBV para estabelecer a validade da curva-padrão (1 frasco de cada controle = 1 conjunto)</i>
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> <i>Conjuntos de uso único de controles baixos positivos, altos positivos e negativos de EBV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (1 frasco de cada controle = 1 conjunto)</i>
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica e controles de processo de amostras 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>Hamilton® CO-RE / CO-RE II Tips (300 µL) with Filters</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µL) with Filters</b>

### Instrumentos necessários

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

NeuMoDx System Software – versão 1.9.2.6 ou superior



## AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 é destinada exclusivamente para uso em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx Systems.
- Não use os reagentes ou consumíveis após a data de validade indicada.
- Não use um reagente se o respectivo selo de segurança estiver rompido ou se a embalagem estiver danificada no momento da entrega.
- Não use consumíveis ou reagentes se a respectiva bolsa protetora estiver aberta ou quebrada no momento da entrega.
- Uma calibração de teste válida (gerada pelo processamento de NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501] 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 900502] a cada 24 horas ao realizar a testagem com o NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias de plasma EDTA é detalhado abaixo na seção Preparação para teste. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar em um erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).

- O uso de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou além dos prazos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou errôneos.
- Evite a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Recomenda-se o uso de pipetas de transferência descartáveis estéreis e livres de DNase ao usar tubos secundários. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx Cartridge pós-amplificação. Sob nenhuma circunstância recolha os NeuMoDx Cartridges do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou da lixeira de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System). O NeuMoDx Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Nos casos em que também sejam realizados testes de PCR em tubo aberto pelo laboratório, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, 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 2.0 e o NeuMoDx Extraction Plate ou na superfície superior do recipiente do NeuMoDx Lysis Buffer; o manuseio dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- As Fichas de Dados de Segurança (SDS) de cada reagente (conforme aplicável) estão disponíveis em [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Lave muito bem as mãos após realizar o teste.
- Não pipete com a boca. Não fume, beba ou coma em áreas onde estão sendo manuseados espécimes ou reagentes.
- Sempre manuseie os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais de segurança como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> e no Documento M29-A4 do CLSI.<sup>5</sup>
- Ao trabalhar com produtos químicos, use sempre um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (SDS) apropriadas.
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais. Siga as recomendações da Ficha de Dados de Segurança (SDS).

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Contém: ácido bórico. Perigo! Causa irritação ocular grave. Pode prejudicar a fertilidade ou o feto. Obtenha instruções especiais antes de usar. Não manuseie antes de ler e compreender todas as precauções de segurança. Use luvas de proteção/roupas de proteção/proteção ocular/proteção facial. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Consulte um médico. Armazene trancado. Descarte o conteúdo/recipiente em um local de descarte de resíduos aprovado.

### Informações de emergência

CHEMTREC

Fora dos EUA e Canadá +1 703-527-3887



### ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

1. As NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 permanecem estáveis na embalagem primária até a data de validade indicada no rótulo do produto quando armazenadas a uma temperatura entre 15 °C e 28 °C.
2. Uma vez carregada, a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 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.
3. 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.

### COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

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

1. Não congele sangue total ou quaisquer outros espécimes armazenados em tubos primários.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Os espécimes de plasma preparados podem ser armazenados a -20 °C por até 8 semanas; as amostras de plasma não devem ser submetidas a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas.
  1. Se os espécimes forem congelados, deixe-os descongelar completamente em temperatura ambiente (15 °C–30 °C); agite-os para que fiquem uniformemente distribuídos. Antes do teste, as amostras devem estar em temperatura ambiente.
  2. Assim que as amostras forem descongeladas, a testagem deve ocorrer no prazo de 8 horas.
7. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.

## 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, conforme descrito abaixo.
2. Transfira uma alíquota do espécime para o tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System de acordo com os volumes definidos abaixo:
3. *Para espécimes de plasma:*
  - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura; volume de enchimento mínimo de  $\geq 1100 \mu\text{L}$
  - Transportador de tubos de espécime de baixo volume (32 tubos): tubo para microcentrifuga de fundo cônico de 1,5 mL; volume de enchimento mínimo  $\geq 650 \mu\text{L}$

### 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 2.0 e utilize 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 o NeuMoDx Wash Reagent e o NeuMoDx Release Reagent e esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiros (somente NeuMoDx 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, processe os Calibrators [REF 800501] e/ou os External Controls [REF 900502] conforme necessário. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
5. Carregue o(s) tubo(s) de espécime em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover as tampas e os swabs de todos os tubos.
6. Coloque o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Isso iniciará o processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s), desde que um pedido de teste válido exista no sistema.

## LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 só pode ser utilizada em NeuMoDx Systems.
2. O desempenho da NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante. O uso da NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 com outras fontes não foi avaliado e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécime.
3. Visto que a detecção de EBV geralmente depende do número de partículas virais presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
4. Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão entre 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 2.0.
5. A operação do NeuMoDx System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx System.
6. 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.
7. Se ocorrer um erro de sistema antes da conclusão do processamento da amostra, "No Result" (Sem resultado) será relatado e o teste deverá ser repetido.
8. Se o DNA de EBV detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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.
9. A presença de inibidores da PCR em plasma pode resultar em um Quantitation Error (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.
10. Um resultado positivo é indicativo da presença de DNA de EBV.

- Embora a possibilidade seja baixa, as exclusões ou mutações nas regiões conservadas como alvo pelo NeuMoDx EBV Quant Assay podem afetar a detecção e/ou quantificação e podem levar a um resultado errôneo.
- Os resultados do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 devem ser utilizados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não se destina a diagnosticar infecção.
- Recomenda-se 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 2.0 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 Quant (versão EBV Quant ADF 4.0.0 ou superior). Um resultado do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pode ser relatado como Negativo, Positivo com uma concentração de DNA de EBV relatada, Indeterminate (Indeterminado), No result (Sem resultado) ou Unresolved (Não resolvido) com base no status de amplificação do alvo e controle do processo da amostra. Os resultados são relatados com base no algoritmo de decisão de processamento de resultados do ADF, resumidos abaixo na *Tabela 1*.

Tabela 1: Interpretação de resultados do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Result (Resultado)	Alvos de EBV	Controle de processo de amostras (SPC1)
<b>Positive (Positivo)</b>	<b>AMPLIFIED (Amplificado)</b> [2 ≤ Ct < 28 E EPR > 1,3 E EP > 1200] OU [28 < Ct < 38 E EP > 1200]	N/A (Não aplicável)
<b>Positive (Positivo), acima do limite superior de quantificação [LSdQ] (log10 UI/mL)</b>	[CONC] > 8,0 Log10 UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/A (Não aplicável)
<b>Positive (Positivo), abaixo do limite inferior de quantificação [LidQ] (log10 UI/mL)</b>	[CONC] < 1,48 Log10 UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/A (Não aplicável)
<b>Negative (Negativo)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (Não amplificado)</b> N/A (Não aplicável) OU [2 ≤ Ct < 28 E EPR ≤ 1.3 E EP > 1200] OU [28 ≤ Ct < 38 E EP > 1200] OU Ct > 38	<b>AMPLIFIED (Amplificado)</b> [29 < Ct < 35 e EP ≥ 2000]
<b>No Result* (Sem resultado)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra anulado)	
<b>Indeterminate* (Indeterminado)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra concluído)	
<b>Unresolved* (Não resolvido)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Não amplificado, Nenhum erro de sistema detectado)	

EP = Fluorescência de ponto final; EPR = Relação de fluorescência de ponto final; Ct = Limiar de ciclo;

Quant = quantidade calculada de EBV presente expressa em log<sub>10</sub> UI/mL. Consulte a seção Cálculo do teste abaixo.

\*O sistema possui capacidade de reexecução/repetição opcional para permitir o reprocessamento automático no caso de um resultado Invalid (Inválido) para minimizar atrasos no relato de resultados.

### Cálculo do teste: Amostras

- Para amostras dentro do intervalo linear do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, 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 Strip 2.0, 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 2.0 são relatados em UI/mL e Log<sub>10</sub> 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.

### Cálculo do teste: Calibradores

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.

- Os NeuMoDx EBV Calibrators são fornecidos em um kit [REF 800501] e contêm alvo de EBV encapsulado não infeccioso preparado em Basematrix.
- Será necessário processar um conjunto de calibradores de EBV com cada novo lote de NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0, 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 se o software do NeuMoDx System tiver 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 3 Log<sub>10</sub> UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de 5 Log<sub>10</sub> 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 DNA de EBV.
- Se um ou ambos os calibradores falharem a validação, repita o processamento do(s) calibrador(es) com falha usando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a validação, é possível repetir apenas o calibrador que falhou, pois o sistema não exige que o usuário processe ambos os calibradores novamente.
- Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação por duas vezes consecutivas, entre em contato com a Assistência técnica da QIAGEN.

### Resultados inválidos

Se um NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido, ele será relatado como Indeterminate (Indeterminado), No Result (Sem resultado) ou Unresolved (Não resolvido); com base no tipo de erro ocorrido, o teste deverá ser repetido a fim de obter um resultado válido.

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

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

Um resultado Unresolved (Não resolvido) será relatado se nenhum alvo for detectado e não houver amplificação do controle de processo de amostras, o que indica uma possível falha dos reagentes ou a presença de inibidores. No caso de um resultado Unresolved (Não resolvido), um primeiro passo recomendável é repetir o teste. Se a repetição do teste falhar, é possível utilizar um espécime diluído para mitigar os efeitos de uma possível inibição (consulte a seção de limitações para obter mais instruções).

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

### 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

- Os controles externos que contêm alvo de EBV encapsulado não infeccioso em Basematrix para controles positivos ou Basematrix para controles negativos, são fornecidos pela QIAGEN em um kit contendo NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
- É necessário processar controles externos negativos e positivos uma vez a cada 24 horas. Se não houver um conjunto de controles externos válido, o software do NeuMoDx System solicitará que o usuário processe esses controles antes que os resultados das amostras possam ser relatados:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Concentração esperada)	Esquema de cores da etiqueta
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 UI/mL (4,18 Log <sub>10</sub> UI/mL)	Vermelho
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 UI/mL (2,18 Log <sub>10</sub> UI/mL)	Cinza
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (Não aplicável)	Preto

- Ao processar controles externos, coloque os controles em um transportador de tubos de espécime e use a tela sensível ao toque para carregar o transportador no NeuMoDx System a partir da prateleira de autocarregamento. O NeuMoDx System reconhecerá os códigos de barras e iniciará o processamento dos controles, a não ser que os reagentes ou consumíveis necessários para os testes não estejam disponíveis.
- A validade desses controles externos será avaliada pelo NeuMoDx System com base nos resultados esperados.

NeuMoDx EBV External Controls	Resultado do EBV Quant	Resultado de SPC1
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (POSITIVO PARA EBV) [Conc] 3,68–4,68 Log <sub>10</sub> UI/mL	Positivo para SPC1
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (POSITIVO PARA EBV) [Conc] 1,58–2,78 Log <sub>10</sub> UI/mL	Positivo para SPC1
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (NEGATIVO PARA EBV)	Positivo para SPC1

5. Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
  1. Um Resultado de teste positivo relatado para uma amostra de controle negativo pode indicar contaminação e os procedimentos de controle de qualidade do laboratório precisam ser examinados para encontrar uma causa raiz. Certifique-se de usar áreas separadas para preparação de amostras, manuseio de controle e RT-PCR configurado. Consulte o Manual do operador do *NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System* para obter mais dicas de solução de problemas.
  2. Um resultado Negative (Negativo) relatado para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com reagentes ou o instrumento.
  3. Em qualquer dos casos acima, ou no caso de um resultado No Result (Nenhum resultado, NR), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou Indeterminate (Indeterminado, IND), repita o controle que falhou o teste de validação com um frasco recém-descongelado do(s) controle(s) invalidado(s).
  4. Se o controle externo positivo continuar relatando um resultado Negative (Negativo), entre em contato com a Assistência técnica da QIAGEN.
  5. Se o controle externo negativo continuar relatando um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a reposição de todos os reagentes, e repita a execução antes de entrar em contato com a Assistência técnica da QIAGEN.
6. Se os Controles Externos não fornecerem os resultados esperados, será necessário repetir um conjunto de controles positivos e negativos. Os resultados da amostra não serão relatados se os controles não fornecerem os resultados esperados.
7. †O NeuMoDx System está equipado com capacidade de reexecução/repetição automática que o usuário pode escolher usar para garantir que um resultado INVALID (Inválido) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.

#### Controles (internos) de processamento de amostra

Um controle de processo de amostras (Sample Process Control, SPC1) exógeno está integrado na NeuMoDx Extraction Plate e passa por todo o processo de extração de ácido nucleico e de amplificação por RT-PCR em tempo real com cada amostra/controle/calibrador. Os primers e a sonda específicos para o SPC1 estão incluídos em cada NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. O SPC1 controle de processo de amostras permite que o NeuMoDx System monitore a eficácia dos processos de extração de DNA e amplificação por RT-PCR.

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

##### SENSIBILIDADE ANALÍTICA – Limite de detecção

A sensibilidade analítica do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi caracterizada em duas etapas sequenciais: 1. Avaliação preliminar do limite de detecção (Limit of Detection, LdD) (análise Probit) seguida de 2. Confirmação de LdD. Na parte 1, espécimes negativos e uma série de diluições do 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS em plasma humano negativo para EBV foram testadas para determinar o LdD preliminar nos NeuMoDx Systems. O LdD preliminar foi definido como o nível de alvo mais baixo detectado a uma taxa de 95% conforme determinado por meio da análise Probit. Na parte 2, o LdD preliminar foi confirmado testando um painel artificial no nível do LdD. Ambos os estágios do estudo foram realizados ao longo de 3 dias em vários sistemas com vários lotes de reagentes NeuMoDx. Na parte 1, foram processadas um total de 144 réplicas em cada nível de diluição. As taxas de detecção estão indicadas na *Tabela 2*.

Tabela 2: Determinação de LdD preliminar da NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de alvo [ $\log_{10}$ UI/mL]	PLASMA		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
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%

O LdD do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 em plasma usando o 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS para EBV foi determinado como 29,3 UI/mL (1,47  $\log_{10}$  UI/mL) com 95% de intervalo de confiança (CI) de 24,4–37,1 IU/ mL, (1,39–1,57  $\log_{10}$  IU/mL) [Figura 1]. Este LdD foi confirmado posteriormente por análise de taxa de acerto que está representada na *Tabela 3*.

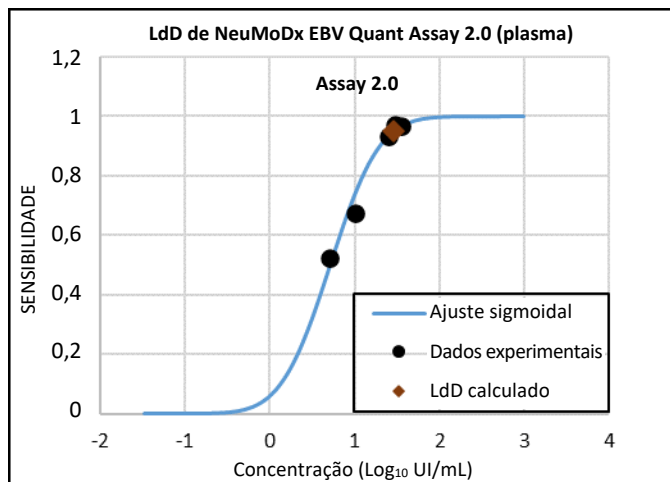


Figura 1: Análise Probit usada para determinar o LdD do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 em amostras de plasma

Tabela 3: Confirmação de LdD da NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Sistema	Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de alvo [log <sub>10</sub> UI/mL]	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Tudo			192	186	96,9%

Confirmou-se que o LdD para o Genótipo 2 (GT2) do EBV representa 29,3 UI/mL [1,47 Log<sub>10</sub> UI/mL], conforme determinado pela análise da taxa de acerto.

Com base no resultado de ambos os estudos, o LdD do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi determinado em 29,3 UI/mL [1,47 Log<sub>10</sub> UI/mL].

#### SENSIBILIDADE ANALÍTICA – Limite inferior de quantificação (LidQ)

O 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 ≤ 1,0. Para determinar o LidQ, o TAE foi calculado para cada um dos níveis de alvo de EBV que apresentaram uma detecção > 95% como parte do cálculo do LdD. O TAE é 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.

Os resultados compilados para os 5 níveis do 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS para espécimes de plasma de EBV utilizadas no estudo de LidQ são mostrados na Tabela 4. Com base neste conjunto de dados e no LoD determinado anteriormente, o LidQ foi determinado com sendo de 30,0 IU/mL (1,48 Log<sub>10</sub> UI/mL) e confirmado subsequentemente para o Genótipo 2 do EBV (GT2).



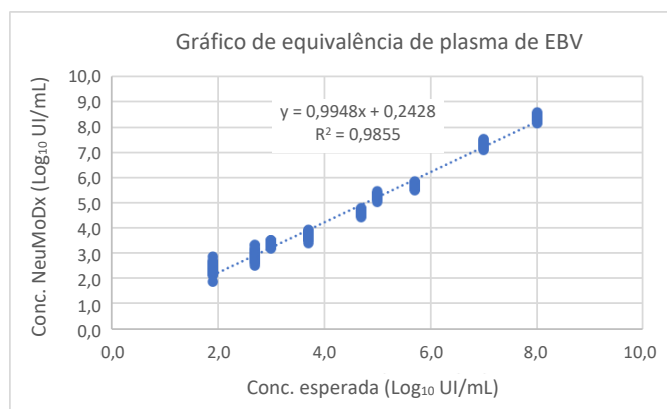
**Tabela 4:** LidQ do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 com tendência e TAE

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [log <sub>10</sub> UI/mL]	Plasma				
		Conc. média [log <sub>10</sub> UI/mL]	Taxa de detecção	DP	Tendência	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

Com base no resultado desses estudos, o LdD da NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi determinado como 29,3 IU/mL (1,47 log<sub>10</sub> UI/mL) e o LidQ foi determinado como sendo 30,0 IU/mL [1,48 log<sub>10</sub> 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 2.0 foram estabelecidos no plasma preparando uma série de diluição usando o 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS para EBV, além de dois padrões secundários: o alvo de EBV encapsulado do NeuMoDx e a cultura de EBV da ATCC (ATCC, Manassas, VA) com rastreabilidade estabelecida para o 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS para EBV, estabelecidos para todos os padrões secundários antes do teste. 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 1,48–8,0 Log<sub>10</sub> UI/mL. O LSdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi determinado como sendo de 8,0 Log<sub>10</sub> 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 2.0

#### Linearidade do Genótipo 2 (GT2) do EBV

A linearidade do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 por meio do genótipo 2 do EBV (GT2) foi caracterizada testando onze concentrações diferentes de EBV GT2, com rastreabilidade estabelecida para o 1<sup>o</sup> Padrão Internacional da OMS para EBV, preparado em plasma EBV negativo agrupado em pool. O estudo foi realizado testando 36 réplicas em 11 concentrações em 2 NeuMoDx Systems e 3 lotes de EBV Quant Test Strips 2.0. A linearidade do genótipo 2 (GT2) do EBV é apresentada na *Tabela 5* e na *Figura 3*.

**Tabela 5:** Linearidade do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para o Genótipo 2 do EBV

Genótipo	Equação de linearidade		R <sup>2</sup>
	y = Quantificação do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0	x = Quantificação esperada	
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$		0,9761

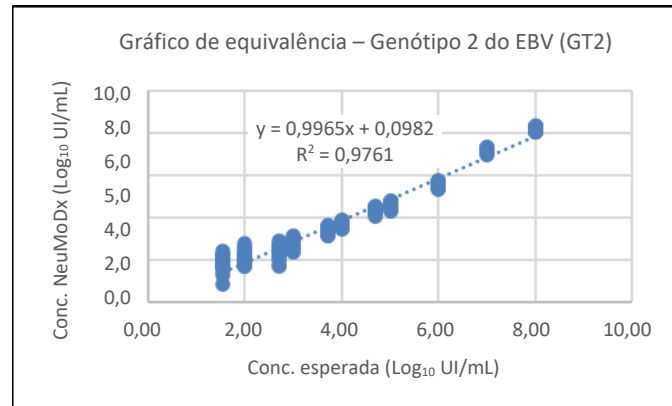


Figura 3: Linearidade do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 para o Genótipo 2 do EBV

### Especificidade analítica – Reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada por meio da análise de 36 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 mostrados na *Tabela 6*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando 100% de especificidade analítica do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Tabela 6: Patógenos utilizados 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	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

### Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais

O NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi avaliado quanto à interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para a análise de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 6*. O plasma negativo para EBV foi enriquecido com os organismos em pools de 4–7; tais pools foram depois enriquecidos com alvo de EBV a uma concentração de 90 UI/mL [1,95 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 2.0 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 imunossuppressores comuns, classificados na *Tabela 7*. Cada substância foi adicionada ao plasma humano selecionado negativo para EBV misturado com EBV a 90 UI/mL [1,95 Log<sub>10</sub> UI/mL], e as amostras foram analisadas quanto à interferência comparando a concentração relatada com o controle positivo. 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 às amostras de controle enriquecidas com o mesmo nível de EBV são relatadas na *Tabela 8*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabela 7:** 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		Ticarcilina dissódica	Antibiótico
Pool 3	Micofenolato mofetil	Imunossupressor	Leflunomida	Imunossupressor	
	Micofenolato de sódio	Imunossupressor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirolimus/Rapamicina	Imunossupressor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

**Tabela 8:** Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos

Endógeno + Estado de doença	Conc. média	Tendência
	Log <sub>10</sub> UI/mL	Log <sub>10</sub> UI/mL
Hemoglobina	2,19	0,32
Triglicérides	1,90	0,02
Bilirrubina	2,12	0,24
Albumina	1,95	0,07
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	2,08	0,20
Anticorpo antinuclear (AAN)	2,36	0,48
Artrite reumatoide (AR)	1,89	0,01
Controle positivo	1,88	Não aplicável
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	2,19	0,09
Pool 2: Prednisona, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxima, Fluconazol	2,11	0,01
Pool 3: Micofenolato mofetil, Micofenolato de sódio, Piperacilina, Sirolimus/Rapamicina, Tazobactam	2,16	0,06
Pool 4: Trimetoprima, Vancomicina, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanato de potássio	2,24	0,14
Pool 5: Famotidina, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilina dissódica, Leflunomida	2,26	0,16
Controle positivo	2,10	Não aplicável

### Precisão intralaboratorial

A precisão da NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi determinada testando 3 réplicas de um painel de 6 membros de espécimes de EBV preparados com NeuMoDx EBV Positive Control e cultura de EBV (ATCC, Manassas, VA) duas vezes por dia, usando dois NeuMoDx 288 Systems e dois NeuMoDx 96 System ao longo de 12 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema, e o desvio-padrão global foi determinado como sendo  $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ . Demonstrou-se uma precisão excelente entre sistemas, dias e ensaios, tal como apresentado na *Tabela 9*. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System.

**Tabela 9:** Precisão intralaboratorial – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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
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

### Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade de lote a lote do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 foi determinada pela avaliação de 3 lotes de NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 como parte do estudo de Precisão Intralaboratorial. Utilizou-se um painel de 6 membros de plasma positivo para EBV para avaliar o desempenho (Tabela 10). Os resultados gerados entre os lotes foram analisados e apresentados na Tabela 10. A tendência máxima foi de 0,29 Log<sub>10</sub> UI/mL e o DP máximo foi de 0,18 Log<sub>10</sub> UI/mL para NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. 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 10:** Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Conc. esperada (Log <sub>10</sub> UI/mL)	Lote 1			Lote 2			Lote 3		
	Conc. méd. (Log <sub>10</sub> UI/mL)	DP Conc. Log	Tendência abs.	Conc. méd. (Log <sub>10</sub> UI/mL)	DP Conc. Log	Tendência abs.	Conc. Méd. (Log <sub>10</sub> UI/mL)	DP Conc. Log	Tendência 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

### 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 2.0 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 ineficiências 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 11. Em todos os casos testados, foi demonstrado que o controle de processo de amostra monitorou adequadamente as ineficiências do processo e a presença de inibidores ou a ineficiência 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 11:** Eficácia do controle de processo de amostra para DNA viral em plasma\*

Falha de etapa do processo testada	Estado de amplificação do controle de processo de amostra 1	Estado de amplificação do alvo de CVM	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 de 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 pelo processamento alternado de amostras altamente positivas e negativas de EBV. Cinco conjuntos de tais testes de titulação cruzada foram realizados com um total de 60 réplicas de plasma EBV-negativo e 60 réplicas de um plasma de EBV misturado a 6,0 Log<sub>10</sub> UI/mL em ambos os NeuMoDx 288 e 96 Molecular Systems. Entre ambos os tipos de sistemas, todas as 120 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-colhidas 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. As amostras foram congeladas durante um mínimo de 24 horas a -20 °C. Após este período de armazenamento congelado, os espécimes foram descongelados e novamente testados. 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 12* abaixo.

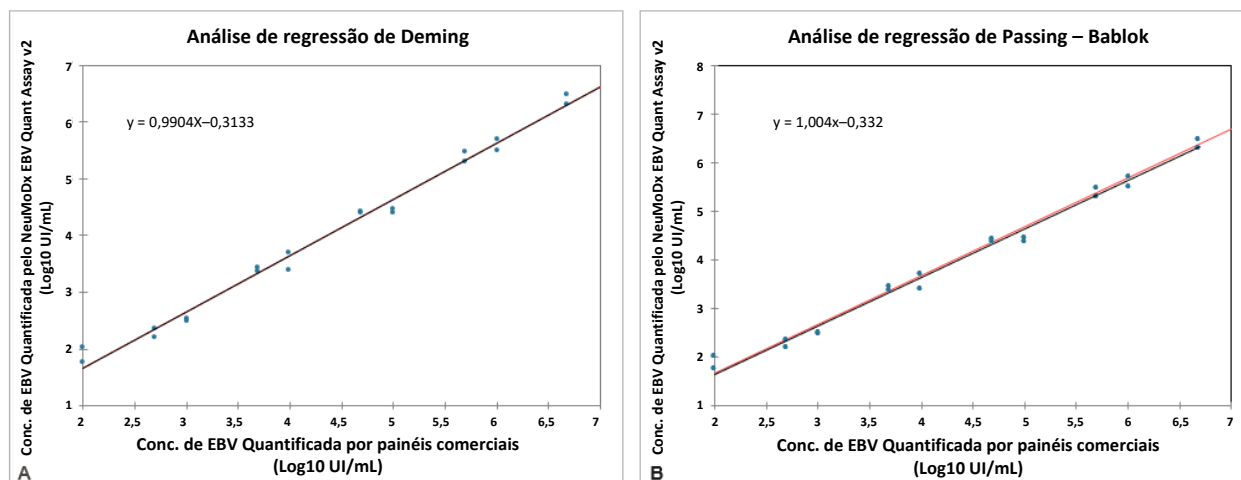
**Tabela 12:** Equivalência da matriz de espécimes

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 <i>p</i> > 0,05	0,631

## Caracterização do desempenho quantitativo

O desempenho quantitativo do NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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.

Obteve-se uma excelente correlação entre o NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 e os dois painéis comerciais de verificação de EBV (*Figura 4*) quando analisados com o método de regressão de Deming (*Figura 4A*) ou de Passing-Bablok (*Figura 4B*).


**Figura 4.** Gráfico de equivalência entre painéis de verificação AcroMetrix 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 0,990 e uma interseção (tendência) de -0,313, demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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 2.0 e dos painéis de verificação de EBV com um coeficiente de declive geral de 1,004 e uma interseção (tendência) de -0,332. O valor *p* da análise de Passing-Bablok foi calculado como sendo de 0,988.

**Tabela 13:** 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
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95% CI (-0,620, -0,007)	IC de 95% (0,928, 1,053)	IC de 95% (-0,548, -0,116)	IC de 95% (0,950, 1,047)

## 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. 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
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 COMERCIAIS

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



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

Seracare® é uma marca comercial da Seracare Life Sciences, Inc.

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

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

## LEGENDA DE SÍMBOLOS

<b>R only</b>	Sujeito a prescrição médica		Contém o suficiente para <n> testes
	Fabricante		Consultar as instruções de uso
<b>IVD</b>	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Cuidado
<b>EC REP</b>	Representante autorizado na Comunidade Europeia		Perigo para a saúde
<b>REF</b>	Número de catálogo	<b>CE</b>	Marca CE
<b>LOT</b>	Código de lote	<b>CONT</b>	Contém
	Prazo de validade		Contém material biológico de origem animal
	Limite de temperatura	<b>Boric acid</b>	Ácido bórico
	Não reutilizar		



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



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)

