

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**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 ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: 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 es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* automatizada para la cuantificación de ADN del virus de Epstein-Barr (EBV) humano en plasma. El NeuMoDx EBV Quant Assay implementado en el NeuMoDx 288 Molecular System y en el NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]) incorpora la extracción automatizada de ADN para aislar el ácido nucleico diana del plasma y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) inmediata que trata dos regiones altamente conservadas en el genoma del virus de Epstein-Barr.

El NeuMoDx EBV Quant Assay está diseñado para la detección y la cuantificación *in vitro* de ADN del virus de Epstein-Barr en muestras frescas y congeladas de plasma humano con el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System. El NeuMoDx EBV Assay está diseñado para utilizarse en el diagnóstico y la supervisión de las infecciones por EBV. El ensayo se puede usar para medir los niveles de ADN de EBV a fin de evaluar la respuesta al tratamiento antivírico. 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 EBV en sangre o en hemoderivados.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sangre completa humana 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 250 µl de muestra de plasma con el NeuMoDx Lysis Buffer 5 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 incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) de ADN para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitorias, y de fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse 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.¹ 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, PTLT) 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.²

El uso de supervisión de la carga vírica de EBV facilita el diagnóstico y el tratamiento de PTLT asociados con el EBV. Sin embargo, la detección de ácido nucleico de EBV en sangre no es suficiente para el diagnóstico de PTLT asociados con el EBV. Las pruebas de ácidos nucleicos (Nucleic Acid Testing, NAT) solo deben emplearse junto con el cuadro clínico inicial y otros marcadores de laboratorio de progresión de la enfermedad para el tratamiento clínico y la supervisión de pacientes infectados por EBV. Si bien las directrices actuales para la gestión y el tratamiento de las infecciones por EBV en personas inmunodeprimidas son ambiguas en cuanto a *cuándo* iniciar el tratamiento antivírico, todas ellas requieren una supervisión constante de la carga vírica una vez que se inicie el tratamiento antivírico para ayudar a mitigar los efectos secundarios graves de los medicamentos en dichas poblaciones.^{3,4}

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx EBV Quant Assay en el NeuMoDx System utiliza la NeuMoDx EBV Quant Test Strip, los NeuMoDx EBV Calibrators, los NeuMoDx EBV External Controls, el NeuMoDx Lysis Buffer 5 y los reactivos de uso general NeuMoDx para realizar el análisis. El NeuMoDx EBV Quant Assay 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 partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, 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 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 actúa en dos regiones altamente conservadas, BALF5 y BXFL1, en el genoma del EBV. El diseño de doble analito reduce el riesgo de falsos negativos en caso de mutación 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 ADN polimerasa 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 (490/521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ADN de EBV. Para la detección del SPC1, la sonda TaqMan se etiqueta con un colorante fluorescente alternativo (535/556 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], 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 de los límites de cuantificación.

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Reactivos secos para RCP que contienen cebadores y sondas TaqMan específicos para EBV y SPC1.</i>	16	96

Materiales adicionales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secas</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Conjuntos de calibradores altos y bajos de EBV de un solo uso para establecer la validez de la curva estándar</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Conjuntos de controles positivos y negativos de EBV de un solo uso para establecer la validez diaria del NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

Instrumentos necesarios

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

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El NeuMoDx EBV Quant Assay es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems exclusivamente.
- Las muestras se deben tratar siempre como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ y en el documento M29-A4 del CLSI.⁶
- Un resultado positivo es indicativo de la presencia de ADN de EBV.
- El rendimiento del NeuMoDx EBV Quant Assay se limita al uso por parte del personal formado en el uso del NeuMoDx System y en la manipulación de materiales infecciosos.

- 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 800500]) disponible para que puedan generarse resultados de la prueba para muestras clínicas.
- Los NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] se deben procesar cada 24 horas a lo largo del análisis con el NeuMoDx EBV Quant Assay.
- El volumen mínimo de la muestra de las alícuotas secundarias depende del tamaño del tubo o del soporte del tubo de muestras, tal y como se define a continuación. 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 siempre la contaminación de todos los reactivos y consumibles con microbios y desoxirribonucleasa. Se recomienda utilizar pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables. 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, 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 o de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del recipiente de NeuMoDx Lysis Buffer 5; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar superficies laterales.
- Las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) están disponibles bajo petición.
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx EBV Quant Test Strips 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 18 a 23 °C.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 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.
- Aunque los NeuMoDx EBV Calibrators y los NeuMoDx EBV External Controls no son infecciosos, deben desecharse en los desechos con riesgo biológico del laboratorio después del uso como desechos con riesgo biológico para reducir el riesgo de contaminación mediante el ácido nucleico diana contenido.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

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

- No congele la sangre completa ni ninguna muestra almacenada en los tubos primarios.
- 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.
- La sangre completa 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.
- 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.
- 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.

- Las muestras preparadas de plasma pueden almacenarse a una temperatura $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante un máximo de 8 semanas para el plasma antes del procesamiento; las muestras de plasma no deben someterse a más de 2 ciclos de congelación/descongelación antes del uso.
 - 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.
 - Una vez que las muestras congeladas se han descongelado, la prueba debe realizarse dentro de las 8 horas posteriores.
- Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
- Etiquete claramente las muestras e indique que son para análisis del EBV.
- Continúe con la sección Preparación de las pruebas.

El proceso general para la implementación del NeuMoDx EBV Quant Assay se resume a continuación en la *Figura 1*.

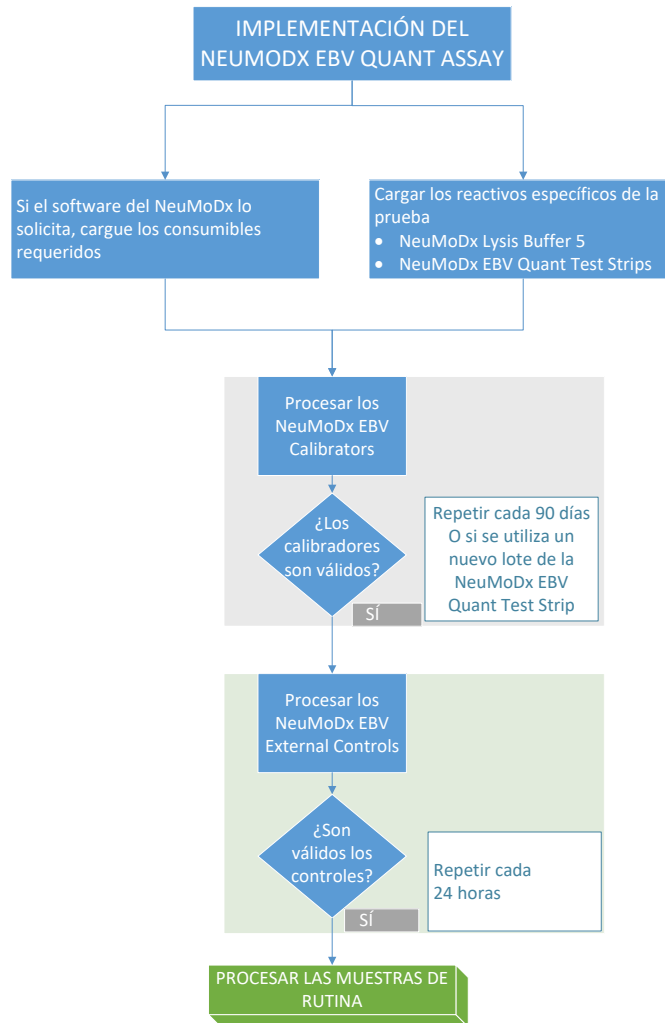


Figura 1: Flujo de trabajo de la implementación del NeuMoDx EBV Quant Assay

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.
2. Transfiera una alícuota del plasma al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System, en función de los volúmenes que se definen a continuación:

- Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo \geq 400 ml
- Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo \geq 850 ml

Funcionamiento del NeuMoDx System

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

1. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx System Test Strip con las NeuMoDx EBV Quant Test Strips 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 el software del NeuMoDx System lo solicita, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent, el NeuMoDx Release Reagent y vacíe los residuos de cebado o el recipiente para desechos con riesgo biológico, según corresponda.
4. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, procese los Calibrators [REF 800500] y/o los External Controls [REF 900501] 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/calibrador/control en un soporte estándar de 32 tubos y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos de muestras.
6. Coloque el soporte de tubos de muestras en cualquier posición abierta en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System. De este modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para las pruebas identificadas.

LIMITACIONES

- La NeuMoDx EBV Quant Test Strip solo puede utilizarse en NeuMoDx Systems.
- Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx EBV Quant Test Strip 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 con otros tipos de muestras clínicas y se desconocen las características del rendimiento de la prueba para otros tipos de muestras.
- Dado que la detección del EBV depende del número de virus presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de la muestra.
- Los calibradores y controles externos deben procesarse según lo recomendado en los prospectos y según lo indicado por el software del NeuMoDx System antes del procesamiento de muestras clínicas de rutina.
- 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 la identificación incorrecta de los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx EBV Quant Assay.
- El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
- Si tanto la diana del EBV como la diana del SPC1 no se amplifican, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
- Si el resultado del NeuMoDx EBV Quant Assay es Positive (Positivo), pero el valor de cuantificación supera los límites de la cuantificación, el NeuMoDx System informará si el EBV detectado estaba *por debajo* del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) o *por arriba* del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- En caso de que el EBV detectado estuviera por debajo del LLoQ, el NeuMoDx EBV Quant Assay puede repetirse, si se desea, con otra alícuota de la muestra.
- En caso de que el EBV detectado estuviera por arriba del ULoQ, el NeuMoDx EBV Quant Assay 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.
- La presencia ocasional 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.
- Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de infección vírica activa. Más bien, un resultado positivo puede indicar la presencia de ADN del virus de Epstein-Barr.
- Si bien la posibilidad es muy baja, la delección o mutación en las regiones conservadas de genoma de EBV a las que se dirige el NeuMoDx EBV Quant Assay puede afectar la detección o conducir a un resultado erróneo con la NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Los resultados del NeuMoDx EBV Quant Assay 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.
- 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 utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo de NeuMoDx EBV (EBV Assay Definition File, CMV ADF). Un resultado del NeuMoDx EBV Quant Assay puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo) con una concentración de EBV notificada, Positive (Positivo) por arriba del ULoQ, Positive (Positivo) por debajo del LLoQ, Indeterminate (Indeterminado) o Unresolved (No resuelto) en función del estado de amplificación del analito y el control del procesamiento de muestras. En la *Tabla 1* se notifican los resultados en función del algoritmo de decisión.

Tabla 1: Algoritmo de decisión del NeuMoDx EBV Quant Assay

Resultado	EBV	Control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivo)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND } (Y) \text{ EPR} > 2 \text{ AND } (Y) \text{ EP} \geq 1500]$ OR (O) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (Y) \text{ EP} \geq 1500]$	N/A (N/D)
Positive (Positivo), por arriba del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) (Log_{10} UI/ml)	[CONC] (CONCEN.) > 8,0 Log_{10} UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT)	N/A (N/D)
Positive (Positivo), por debajo del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) (Log_{10} UI/ml)	[CONC] (CONCEN.) < 2,3 Log_{10} UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT)	N/A (N/D)
Negative (Negativo)	N/A (N/D) OR (O) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (Y) \text{ EPR} \leq 2]$ OR (O) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (Y) \text{ EP} < 1500]$ OR (O) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) ($29 \leq Ct \leq 35$) and (y) $\text{EP} \geq 2000$
Indeterminate (Indeterminado)	NOT AMPLIFIED/ Systems Errors Noted (No amplificado/errores del sistema observados)	
Unresolved (No resuelto)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (No amplificado/sin errores del sistema observados)	

EP = End Point Fluorescence (fluorescencia final) (después de la corrección de la línea base); EPR = End Point Fluorescence Ratio (cociente de fluorescencia final); C_t = Cycling Threshold (umbral de ciclo);

Quant = cantidad calculada de EBV presente expresada en Log_{10} UI/ml. Consulte Cálculo de la prueba a continuación.

Cálculo de la prueba

- En el caso de las muestras comprendidas dentro del intervalo de cuantificación del NeuMoDx EBV Quant Assay, la concentración de ADN de EBV en las muestras se calcula usando la curva estándar guardada junto con el coeficiente de calibración.
 - 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 Strips, en un NeuMoDx System específico.
 - El sistema incorpora automáticamente el coeficiente de calibración en la determinación final de la concentración del ADN de EBV.
- Los resultados del NeuMoDx EBV Quant Assay se indican en Log_{10} UI/ml.
- La cuantificación resultante de las muestras desconocidas concuerda con el 1.^{er} estándar internacional de la OMS para el virus de Epstein-Barr para las técnicas de amplificación de ácido nucleico.

Calibración de prueba

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.

Calibradores

- Los NeuMoDx EBV Calibrators se proporcionan en un kit [REF 800500] y contienen analito de EBV encapsulado no infeccioso preparado en Basematrix.
- Se debe procesar un conjunto de calibradores del EBV con cada lote nuevo de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, 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.
- 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:
 - a) Es preciso procesar un conjunto de dos calibradores, alto y bajo, para establecer la validez.
 - b) 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 4 Log₁₀ UI/ml y el del calibrador alto es 6 Log₁₀ UI/ml.
 - c) 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 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 un 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 NeuMoDx Molecular, Inc.

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. NeuMoDx Molecular, Inc. proporciona los materiales de control externo, que contienen el analito de EBV encapsulado y no infeccioso en Basematrix para controles positivos, en un kit que contiene los NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
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.
3. Si se requieren controles externos, retire un conjunto de controles externos del congelador y deje que los viales se descongelen a temperatura ambiente (15-30 °C). Agite en vórtex suavemente para garantizar la homogeneidad.
4. Con la pantalla táctil y un soporte de tubos de muestras colocado en el estante del cargador automático, cargue los viales de control positivo y negativo en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los tubos de muestras a menos que los reactivos o los consumibles necesarios para el análisis no estén disponibles.
5. El NeuMoDx System evaluará la validez de los controles externos en función del resultado esperado. El control positivo debe proporcionar un resultado Positivo (Positivo) para EBV y el control negativo debe proporcionar un resultado Negative (Negativo) para EBV.
6. La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
 - a) El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo indica que existe un problema de contaminación de la muestra.
 - b) El resultado Negative (Negativo) de una prueba notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el instrumento.
 - c) En cualquiera de los casos anteriores, repita los NeuMoDx EBV External Control(s) no aprobados con un vial recién descongelado de los controles que no superaron la prueba de validez.
 - d) Si el NeuMoDx EBV External Control positivo sigue notificando un resultado Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de NeuMoDx.
 - e) Si el NeuMoDx EBV External Control negativo sigue notificando un resultado Positivo (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir TODOS los reactivos y consumibles antes de ponerse en contacto con el servicio de atención al cliente de NeuMoDx.

Controles (internos) de proceso de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate y se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RCP inmediata con cada muestra. La sonda y los cebadores específicos para el SPC1 también se incluyen en cada NeuMoDx EBV Quant Test Strip, lo que permite detectar la presencia del SPC1 junto con el ADN del EBV diana (si está presente) mediante RCP múltiple inmediata. La detección de la amplificación del SPC1 permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ADN y amplificación por RCP.

Si un NeuMoDx EBV Quant Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado, IND) o Unresolved (No resuelto, UNR) en función del tipo de error que se haya presentado.

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

Se notificará un resultado UNR (No resuelto) si no se detecta ninguna amplificación válida del ADN del EBV ni del SPC1, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. En caso de que se notifique un resultado UNR (No resuelto), se puede repetir la prueba como primer paso. Si una nueva prueba falla, puede utilizarse una muestra diluida para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: límite de detección con el estándar de la OMS

La sensibilidad analítica del NeuMoDx EBV Quant Assay se confirmó mediante el análisis de muestras de plasma negativas para EBV a las que se añadió una dilución baja del 1.^{er} estándar internacional de la OMS para EBV para técnicas de amplificación de ácido nucleico. Esta prueba de confirmación se realizó en el límite de detección (Limit of Detection, LoD) esperado del NeuMoDx EBV Quant Assay en los NeuMoDx Systems a 200 UI/ml. El LoD se definió como el nivel de diana más bajo que se detectará en una tasa de ≥ 95 %. El estudio se realizó en diferentes sistemas con lotes de reactivos NeuMoDx calificados. Las tasas de detección se muestran en la *Tabla 2*.

Tabla 2: Determinación de LoD de NeuMoDx EBV Quant Assay; tasa de detección positiva para muestras de plasma

Concentración de analitos [UI/ml]	PLASMA		
	Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

Sensibilidad analítica: límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

El límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) se define como el nivel de 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 confirmar 200 UI/ml como LoD y LLoQ para el EBV Quant Assay, se usaron los resultados del estudio de tasa de éxito para determinar el TAE. Este TAE calculado se definió como:

$$\text{TAE} = \text{sesgo} + 2 \cdot \text{SD} \text{ [Estadística Westgard]}$$

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.

Tabla 3: LLoQ del NeuMoDx EBV Quant Assay, con el sesgo y el TAE

Conc. deseada [UI/ml]	Conc. deseada [\log_{10} UI/ml]	Plasma				
		Conc. media [\log_{10} UI/ml]	Detección (%)	SD	Sesgo	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Según el resultado de estos estudios, se determinó que el LoD y el LLoQ del NeuMoDx EBV Quant Assay eran de 200,0 UI/ml [$2,30 \log_{10}$ 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 se determinaron en plasma preparando una serie de diluciones con el analito de EBV encapsulado NeuMoDx y Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) con una concordancia establecida con el 1.^{er} estándar internacional de la OMS para EBV. 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 $2,0$ - $8,0 \log_{10}$ UI/ml. Se determinó que el ULoQ del NeuMoDx EBV Quant Assay era 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*.

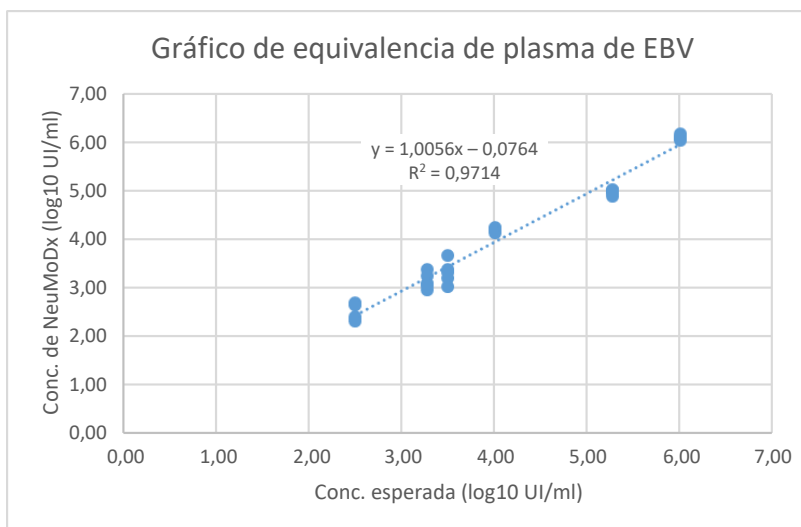


Figura 2: Linealidad del NeuMoDx EBV Quant Assay

Especificidad analítica: reactividad cruzada

La especificidad analítica se mostró mediante el análisis de 35 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 4*. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos analizados, lo que confirma una especificidad analítica del 100 % del NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabla 4: 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	HIV 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	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de la hepatitis B	Virus del papiloma humano 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Especificidad analítica: sustancias causantes de interferencias, microorganismos comensales

Se evaluó el NeuMoDx EBV Quant Assay para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana utilizando los mismos grupos de microorganismos que aquellos preparados para evaluar la reactividad cruzada que aparecen arriba en la *Tabla 4*. Al plasma negativo para el EBV se le añadieron los microorganismos distribuidos en grupos de 4-7; a estos grupos también se añadió analito de EBV a una concentración de 3 Log₁₀ 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 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 5*. Cada sustancia se añadió a plasma humano negativo cribado para el EBV al que se añadió 3 Log₁₀ UI/ml de EBV y las muestras se analizaron para detectar interferencias. 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 a las que se añadió EBV del mismo nivel se informan en la *Tabla 6*. Ninguna de las sustancias endógenas y exógenas influyó en la especificidad del NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabla 5: 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 6: Análisis de interferencias: agentes exógenos y endógenos

Endógena	Conc. media	Sesgo
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Hemoglobina	3,20	0,23
Triglicéridos	3,15	0,28
Bilirrubina	3,48	-0,05
Albúmina	3,2	0,22
Exógenos (fármacos)	Conc. media	Sesgo
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Grupo 1: Azatioprina, ciclosporina, foscarnet, ganciclovir, clorhidrato de valganciclovir	3,30	0,13
Grupo 2: Prednisona, cidofovir, cefotetan, cefotaxima, fluconazol	3,22	0,21
Grupo 3: Micofenolato mofetilo, micofenolato de sodio, piperacilina, sirolimus/rapamicina, tazobactam	3,36	0,07
Grupo 4: Trimetoprima, vancomicina, tacrolimus, everolimus, clavulanato de potasio	3,32	0,11
Grupo 5: Famotidina, sulfametoxazol, letermovir, valaciclovir, ticarcilina disódica, leflunomida	3,47	-0,10
Estado de la enfermedad	Conc. media	Sesgo
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Lupus eritematoso sistémico (LES)	3,23	0,20
Anticuerpo antinuclear (ANA)	3,33	0,10
Artritis reumatoide (AR)	3,19	0,24

Precisión en el laboratorio

Se determinó la precisión del NeuMoDx EBV Quant Assay analizando 3 copias de un panel de 4 componentes de las muestras de EBV preparadas con EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) tres veces por día, utilizando dos NeuMoDx 288 Systems y un NeuMoDx 96 System durante dos 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 $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$. Se mostró una excelente precisión entre los sistemas, días y series, como se muestra en la *Tabla 7*. 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 7: Precisión en el laboratorio: NeuMoDx EBV Quant Assay 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	Global (dentro del laboratorio)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Reproducibilidad entre lotes

Se determinó la reproducibilidad entre lotes del NeuMoDx EBV Quant Assay al evaluar tres lotes de reactivos clave: NeuMoDx EBV Quant Test Strips y Lysis Buffer 5, como parte de las pruebas de cualificación (Qualification Testing, QT). Se usó un panel de 4 componentes de plasma positivo para EBV para evaluar el rendimiento (*Tabla 8*). Se analizó la variabilidad dentro del mismo lote y entre lotes distintos y los resultados se presentan en las *tablas 8-9*. El sesgo máximo total fue de $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ y la SD máxima total fue de $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ para las NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. El sesgo máximo total fue de $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ y la SD máxima total fue de $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ para el NeuMoDx Lysis Buffer 5. 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 8: Reproducibilidad entre lotes: NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Conc. deseada de EBV [UI/ml]	Conc. media de EBV [log ₁₀ UI/ml]	N (Resultados válidos por lote)	Sesgo	SD entre lotes	SD dentro del lote	SD general
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabla 9: Reproducibilidad entre lotes: NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Conc. deseada de EBV [log ₁₀ UI/ml]	Conc. media de EBV [log ₁₀ UI/ml]	N (Resultados válidos por lote)	Sesgo	SD entre lotes	SD dentro del lote	SD general
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

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 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 $3 \text{ log}_{10} \text{ UI/ml}$) 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 10*. 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 10: 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 un virus de ADN de transmisión hemática similar, citomegalovirus (CMV). Se utilizaron tres conjuntos de dichas pruebas estilo tablero de ajedrez con un total de 108 réplicas de plasma negativo para CMV y 108 réplicas de un plasma de CMV añadido en 6,0 Log₁₀ UI/ml. Las 108 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 el NeuMoDx System.

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. A continuación, se congelaron las muestras 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 11a* continuación.

Tabla 11: 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 <i>p</i> >0,05	0,631

Caracterización del rendimiento de cuantificación

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

Se obtuvo una excelente correlación entre el NeuMoDx EBV Quant Assay y los dos paneles de verificación de EBV comerciales (*Figura 3*) al analizarlos con el método de regresión de Deming (*Figura 3A*) o método Passing-Bablok (*Figura 3B*).

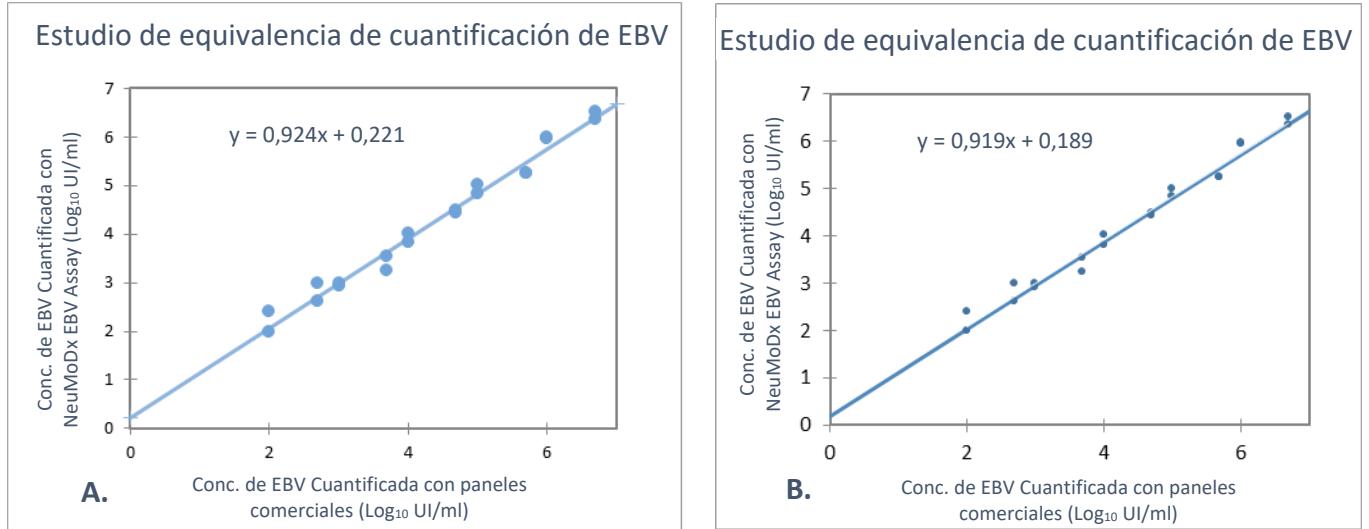


Figura 3. Gráfico de equivalencia entre paneles de verificación AcroMetrix y Exact Diagnostics y NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Análisis de regresión lineal con el método Deming. B. Análisis de regresión lineal con el método Passing-Bablok.

La calidad del ajuste de regresión de Deming se indica mediante un coeficiente de pendiente total de 0,92 y una intersección (sesgo) de 0,22, lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx EBV Quant Assay 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 y los paneles de verificación EBV con un coeficiente de pendiente total de 0,92 y una intersección (sesgo) de 0,19. Se calculó que el valor *p* del análisis de Passing-Bablok fue de 0,40.

Tabla 12: 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
0,22	0,92	0,19	0,92
IC del 95 % (-0,11; 0,55)	IC del 95 % (0,86; 0,99)	IC del 95 % (-0,08; 0,41)	IC del 95 % (0,87; 0,99)

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

MARCAS COMERCIALES











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

NeuDry™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, 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.

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
Rx only	Solo para uso prescriptivo
	Fabricante
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
REF	Número de referencia
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura
	Limitación de humedad
	No reutilizar
	Contenido suficiente para <n> pruebas
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Riesgos biológicos
CE	Marca CE



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

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



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



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents