

**REF** 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA

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

O NeuMoDx CMV Quant Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* automatizado destinado à quantificação de DNA do citomegalovírus (CMV) em espécimes de plasma humano para os genótipos gB1 a gB4 do CMV de indivíduos infectados com o CMV. O NeuMoDx CMV Quant Assay, implementado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System[s]), incorpora extração automatizada de DNA para isolar o ácido nucleico-alvo do espécime e reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) em tempo real tendo como alvo as sequências altamente conservadas do genoma do citomegalovírus.

O NeuMoDx CMV Quant Assay destina-se à quantificação *in vitro* de DNA de citomegalovírus (CMV) em espécimes de plasma humano frescos e congelados usando os NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular Systems. Este ensaio destina-se a ser usado em conjunto com um quadro clínico e outros marcadores laboratoriais do progresso da doença a fim de monitorar e gerenciar a infecção por CMV. O ensaio não deve ser usado como teste de rastreio da presença de CMV no sangue ou produtos sanguíneos.

**RESUMO E EXPLICAÇÃO**

Para a preparação do plasma, é possível usar sangue total humano coletado em tubos de coleta de sangue estéreis com EDTA ou ACD como agente anticoagulante. Na preparação para os testes, o plasma, em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, é carregado no NeuMoDx System usando um transportador de tubos de espécime designado para iniciar o processamento. 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 a amplificação por PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detectar os produtos da amplificação (seções do genoma-alvo do CMV em regiões altamente conservadas). O NeuMoDx CMV Quant Assay inclui um controle de processo de amostras (Sample Process Control 1, SPC1) de DNA para ajudar a monitorar a presença de potenciais substâncias inibidoras e de falhas do NeuMoDx System ou dos reagentes que podem ocorrer durante o processo de extração e amplificação.

O CMV é um vírus de DNA de cadeia dupla comum da família dos vírus herpes humanos que infecta pessoas de todas as idades. Estima-se que aos 40 anos, mais da metade da população terá sido infectada com CMV.<sup>1</sup> O CMV se propaga através de fluidos corporais, tais como a saliva, urina, sangue, lágrimas, sêmen e leite materno. Indivíduos imunocompetentes infectados por CMV normalmente são assintomáticos, porém a infecção pelo vírus pode ser grave em bebês e em pessoas com sistemas imunológicos debilitados. Mulheres grávidas podem transmitir o CMV para seus filhos em gestação e causar infecção congênita por CMV, que pode resultar em perda auditiva entre outros atrasos no desenvolvimento e na motricidade. O CMV é um patógeno grave para pacientes imunocomprometidos, incluindo receptores de transplante de órgãos sólidos, receptores de transplante de células hematopoiéticas, pacientes infectados com HIV e pacientes tratados com medicamentos imunomoduladores.<sup>2</sup> O monitoramento da carga viral de CMV é usado principalmente nessas populações imunocomprometidas, nas quais o CMV causa várias morbidades, incluindo pneumonia, doença do trato gastrointestinal, hepatite e encefalite, bem como um aumento da probabilidade de rejeição de órgãos e outras infecções oportunistas.

O diagnóstico da infecção por CMV não é baseado somente em testes de ácidos nucleicos (Nucleic Acid Testing, NAT); os testes NAT são usados como complemento aos testes de antígenos, que envolvem a coloração de leucócitos polimorfonucleares (PMNs) da proteína estruturalmente precoce da matriz inferior do CMV, bem como outros sintomas que o paciente possa estar apresentando. Os testes de carga viral de CMV são usados rotineiramente para determinar o momento em que é necessário aplicar terapia antiviral, bem como para monitorar a eficácia da terapia.<sup>3</sup> Embora as diretrizes atuais para o gerenciamento e o tratamento de infecções por CMV em indivíduos imunocomprometidos sejam ambíguas em relação ao momento de iniciar a terapia antiviral, todas elas requerem um monitoramento constante da carga viral assim que a terapia antiviral é iniciada para auxiliar na mitigação de efeitos colaterais graves dos medicamentos nessas populações.

**PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO**

O NeuMoDx CMV Quant Assay no NeuMoDx System utiliza NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 e reagentes de uso geral NeuMoDx para realizar a análise. O NeuMoDx CMV Quant Assay combina extração de DNA automatizada com amplificação e detecção por PCR em tempo real. Para o preparo do plasma, os espécimes de sangue total são coletados em tubos com EDTA ou ACD. O espécime de plasma, em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, é colocado em um transportador de tubos de espécime, que por sua vez é carregado no NeuMoDx System para o 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 partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os componentes não ligados e não DNA são retirados por lavagem usando NeuMoDx Wash Reagent e o DNA ligado é eluído usando NeuMoDx Release Reagent. Em seguida, os NeuMoDx Systems 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 CMV 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.

Os alvos amplificadas são detectados em tempo real por meio da química de sondas de hidrólise (comumente chamada de química TaqMan®) usando moléculas de sonda fluorogênica de oligonucleotídeos específicas dos amplicons dos respectivos alvos.

As sondas TaqMan consistem em um fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeos e um supressor na extremidade 3'. Enquanto a sonda estiver intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, fazendo com que a molécula supressora suprima a fluorescência emitida pelo fluoróforo via transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan foram projetadas para anelarem-se dentro de uma região do DNA amplificada por um conjunto específico de primers. À medida que a Taq DNA polimerase expande o primer e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que se anelou ao modelo. A degradação da sonda libera o fluoróforo e quebra a proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido a transferência de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) e permitindo a detecção da fluorescência emitida pelo fluoróforo. O sinal fluorescente resultante detectado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx System 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 o DNA do CMV. 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 final (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]). Se o resultado for POSITIVE (POSITIVO), o software do NeuMoDx System também fornece um valor quantitativo associado à amostra ou relata se a concentração calculada está dentro dos limites de quantificação.

### REAGENTES/CONSUMÍVEIS

#### Material fornecido

REF.	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> <i>Reagentes de PCR secos contendo sondas e primers TaqMan específicos para CMV e sonda e primers TaqMan específicos para SPC1.</i>	16	96

#### Reagentes e consumíveis necessários, mas não fornecidos (disponibilizados separadamente pela NeuMoDx)

REF.	Conteúdo
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica e controles de processo de amostras secas</i>
800400	<b>NeuMoDx CMV Calibrators</b> <i>Conjuntos de uso único de calibradores altos e baixos de CMV para estabelecer a validade da curva-padrão</i>
900401	<b>NeuMoDx CMV External Controls</b> <i>Conjuntos de uso único de controles positivos e negativos de CMV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
400400	<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>Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros</b>
235905	<b>Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros</b>

#### Instrumentos necessários

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

### AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip é destinada para uso em diagnóstico *in vitro* exclusivamente 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 calibradores altos e baixos dos NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]) deve estar disponível antes que possam ser gerados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx CMV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime é de 1 mL de plasma em EDTA/ACD ao usar o transportador de 32 tubos; um volume inferior a 1 mL pode resultar em um erro do NeuMoDx System.
- A realização de um ensaio de CMV em espécimes armazenados em temperaturas inadequadas ou que ultrapassem os prazos de armazenamento especificados pode produzir resultados inválidos ou errôneos quando se utiliza a NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Evite sempre a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. É recomendado o uso de pipetas de transferência descartáveis estéreis e livres de DNase. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx Cartridge pós-amplificação. Sob nenhuma circunstância recolha os NeuMoDx Cartridges do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou da lixeira de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System). O NeuMoDx Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Nos casos em que também sejam realizados testes de PCR em tubo aberto pelo laboratório, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx CMV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para a testagem, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx System não sejam contaminados.
- É necessário usar luvas nitrílicas sem talco e limpas ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx. É necessário ter cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx CMV Quant Test Strip ou da NeuMoDx Extraction Plate ou na superfície superior do NeuMoDx Lysis Buffer 1; os consumíveis e reagentes devem ser manuseados tocando somente nas superfícies laterais.
- Estão disponíveis fichas de dados de segurança (FDS) mediante solicitação.
- Lave muito bem as mãos após realizar o teste.
- Não pipete com a boca. Não fume, beba ou coma em áreas onde estão sendo manuseados espécimes ou reagentes.
- 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>
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.

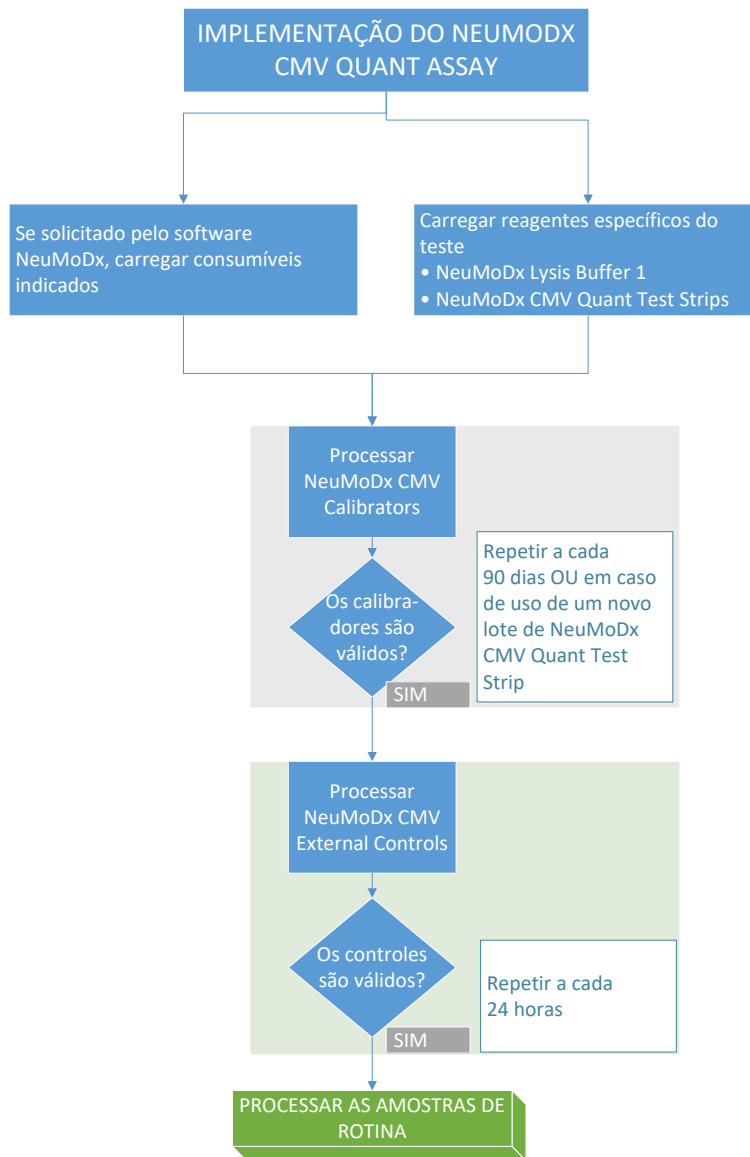
### ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- Todos os reagentes e consumíveis NeuMoDx (com exceção dos controles externos e calibradores) permanecem estáveis em sua embalagem primária entre 18 e 23 °C até a data de validade indicada no rótulo do produto.
- Uma NeuMoDx CMV Quant Test Strip carregada no NeuMoDx System permanece estável por 14 dias; o software do NeuMoDx System solicitará a remoção das tiras de teste que tenham estado em uso dentro do NeuMoDx System por mais de 14 dias e será necessário abrir novas NeuMoDx CMV Quant Test Strips e carregá-las no NeuMoDx System.
- Os calibradores e controles NeuMoDx não são infecciosos, mas devem ser descartados com os resíduos de risco biológico após o uso, pois conterão material do alvo após o processamento no sistema que pode causar contaminação se não for manuseado corretamente.

### COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congele sangue total ou quaisquer outros espécimes armazenados em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser coletado em tubos estéreis usando EDTA ou ACD como anticoagulantes. Siga as instruções do fabricante do tubo de coleta de espécime.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Os espécimes de plasma preparados podem ser armazenados a  $\leq -20$  °C por até 26 semanas antes do processamento; as amostras de plasma não devem ser submetidas a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes do uso.
  - a. Se as amostras forem congeladas, deixe-as descongelar completamente em temperatura ambiente (15–30 °C); agite-as para que fiquem uniformemente distribuídas.
  - b. Assim que as amostras forem descongeladas, a testagem deve ocorrer no prazo de 8 horas.
8. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
9. Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de CMV.
10. Avance para a seção *Preparação para teste*.

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



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

## INSTRUÇÕES DE USO

### Preparação para teste

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.
2. Usando uma pipeta de transferência, transfira  $\geq 1$  mL de plasma para o tubo (secundário) de espécime com código de barras se estiver usando o transportador de 32 tubos ou  $> 2$  mL se estiver usando o transportador de 24 tubos. É necessário ter cuidado para não transferir nenhum coágulo da amostra de plasma para o tubo de espécime. Use uma pipeta de transferência diferente para cada espécime.
3. O tubo secundário deve satisfazer as seguintes especificações de tubos compatíveis com o NeuMoDx System, com base no transportador de tubos de espécime usado para o processamento.
  - Transportador de 32 tubos: entre 11 mm e 14 mm de diâmetro e entre 60 mm e 120 mm de altura
  - Transportador de 24 tubos: entre 14,5 mm e 18 mm de diâmetro e entre 60 mm e 120 mm de altura

### 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 NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) com NeuMoDx CMV Quant Test Strip(s) e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
2. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicione os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
3. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, reponha NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent e esvazie os resíduos de preparação ou o recipiente de resíduos de risco biológico conforme apropriado.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, processe os Calibrators [REF 800400] e/ou os External Controls [REF 900401] conforme necessário. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
5. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controle em um transportador de 32 tubos padrão e certifique-se de que as tampas sejam removidas de todos os tubos de espécime.
6. Coloque o transportador de tubos de espécime em qualquer posição aberta da prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o transportador no NeuMoDx System. Isso dará início ao processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s).

### LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip somente pode ser usada em NeuMoDx Systems.
- O desempenho da NeuMoDx CMV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total coletado com EDTA/ACD como anticoagulante; o uso da NeuMoDx CMV Quant Test Strip com outros tipos de espécime clínico não foi avaliado e as características de desempenho do teste são desconhecidas com outros tipos de espécime.
- Visto que a detecção de CMV depende do número de organismos presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e controles externos devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos e conforme solicitado pelo software do NeuMoDx System antes do processamento de amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão entre tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido a uma quantidade de partículas virais na amostra inferior ao limite de detecção do NeuMoDx CMV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx System.
- Se ambos os alvos de CMV e de SPC1 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx CMV Quant Assay for Positivo (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx System relatará se o CMV detectado estava *abaixo* do limite inferior de quantificação (LIdQ) ou *acima* do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o CMV detectado estiver abaixo do LIdQ, o NeuMoDx CMV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com outra alíquota do espécime.
- Se o CMV detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx CMV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:100 ou 1:1.000 em plasma negativo para CMV ou em Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:

$$\text{Concentração do espécime original} = \log_{10} (\text{fator de diluição}) + \text{concentração relatada da amostra diluída.}$$

- A presença ocasional de inibidores da PCR em plasma pode resultar em um erro de quantificação do sistema; caso isso ocorra, recomenda-se repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de DNA de citomegalovírus.
- Exclusões ou mutações nas regiões conservadas que são alvo do NeuMoDx CMV Quant Assay podem afetar a detecção ou levar a um resultado errôneo usando a NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx CMV Quant Assay devem ser usados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não se destina a diagnosticar infecção.
- É recomendável aplicar boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseio de espécimes de pacientes para evitar contaminação.

### PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos na guia "Results" (Resultados) da janela "Results" (Resultados) na tela sensível ao toque do NeuMoDx System.

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

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

Resultado	CMV	Controle de processo de amostras (SPC1)
Positive (Positivo)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND } (E) \text{ EPR} > 2 \text{ AND } (E) \text{ EP} \geq 1500]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (E) \text{ EP} \geq 1500]$	N/A
Positive (Positivo), acima do limite superior de quantificação [LSdQ] ( $\log_{10}$ UI/mL)	$[\text{CONC}] > 8,0 \log_{10} \text{ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)}$	N/A
Positive (Positivo), abaixo do limite inferior de quantificação [LidQ] ( $\log_{10}$ UI/mL)	$[\text{CONC}] < 1,3 \log_{10} \text{ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)}$	N/A
Negative (Negativo)	N/A OR (OU) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (E) \text{ EPR} \leq 2]$ OR (OU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (E) \text{ EP} < 1500]$ OR (OU) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) ( $28 \leq Ct \leq 34$ ) e $\text{EP} \geq 2000$
Indeterminate (Indeterminado)	NOT AMPLIFIED/Systems Errors Noted (Não amplificado/Erros de sistema observados)	
Unresolved (Não resolvido)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (Não amplificado/Nenhum erro de sistema detectado)	

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

#### Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx CMV Quant Assay, a concentração de DNA do CMV 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 CMV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão de um determinado lote da NeuMoDx CMV Quant Test Strip em um NeuMoDx System específico.
  - O coeficiente de calibração é integrado na determinação final da concentração de DNA do CMV.
- Os resultados do NeuMoDx CMV Quant Assay são relatados em  $\log_{10}$  UI/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 1º Padrão Internacional da OMS para CMV.

#### Calibração de teste

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

#### Calibradores externos

- Os NeuMoDx CMV Calibrators são fornecidos em um kit [REF 800400] e contém alvo de CMV encapsulado não infeccioso preparado em Basematrix.
- É necessário processar um conjunto de calibradores de CMV com cada novo lote de NeuMoDx CMV Quant Test Strips, se um novo arquivo de definições de ensaio de CMV for carregado no NeuMoDx System, se o conjunto de calibradores atual estiver fora do período de validade (atualmente definido como 90 dias) ou se o software do NeuMoDx System for modificado.
- O software do NeuMoDx System notificará o usuário quando os calibradores precisarem ser processados; não é possível usar um novo lote de tiras nos testes antes de os calibradores terem 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.

- b) Para gerar resultados válidos, pelo menos 2 das 3 réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de  $3 \log_{10}$  UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de  $5 \log_{10}$  UI/mL.
  - c) Um coeficiente de calibração é calculado para levar em conta a variação esperada entre os lotes de tiras de teste; esse coeficiente de calibração é usado na determinação da concentração final de CMV.
5. Se um ou ambos os calibradores falharem a validação, repita o processamento do(s) calibrador(es) com falha utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a validação, é possível repetir apenas o calibrador que falhou, pois o sistema não exige que o usuário processe ambos os calibradores novamente.
  6. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação por duas vezes consecutivas, entre em contato com a NeuMoDx Molecular, Inc.

### Controle de qualidade

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

### Controles externos

1. Os materiais de controle externo, que contêm alvo de CMV encapsulado não infeccioso em Basematrix para controles positivos, são fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc. em um kit contendo os NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401].
2. É necessário processar controles externos negativos e positivos uma vez a cada 24 horas. Se não houver um conjunto de controles externos válido, o software do NeuMoDx System solicitará que o usuário processe esses controles antes de ser possível relatar resultados de amostras.
3. Se forem necessários controles externos, retire o conjunto de controles externos do congelador e deixe os frascos descongelarem à temperatura ambiente (15–30 °C) até que estejam completamente descongelados. Agite suavemente para garantir homogeneidade.
4. Usando a tela sensível ao toque e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira de autocarregamento, carregue os frascos de controle positivo e negativo no NeuMoDx System. O NeuMoDx System reconhecerá o código de barras e começará a processar os tubos de espécime, a menos que não estejam disponíveis reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. A validade dos controles externos será avaliada pelo NeuMoDx System com base no resultado esperado. O controle positivo deve fornecer um resultado Positive (Positivo) para CMV e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para CMV.
6. Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
  - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controle negativo indica um problema de contaminação do espécime.
  - b) Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
  - c) Em qualquer um dos casos acima, repita o(s) NeuMoDx CMV External Control(s) com falha com um frasco recém-descongelado do(s) controle(s) que falharam o teste de validação.
  - d) Se o NeuMoDx CMV External Control positivo continuar relatando um resultado Negative (Negativo), entre em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx.
  - e) Se o NeuMoDx CMV External Control negativo continuar relatando um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as fontes de potencial contaminação, incluindo a reposição de TODOS os reagentes, antes de entrar em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx.

### Controles (internos) de processo de amostras

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

### Resultados inválidos

Se um NeuMoDx CMV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido, ele será relatado como Indeterminate (Indeterminado, IND) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro ocorrido.

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

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



### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

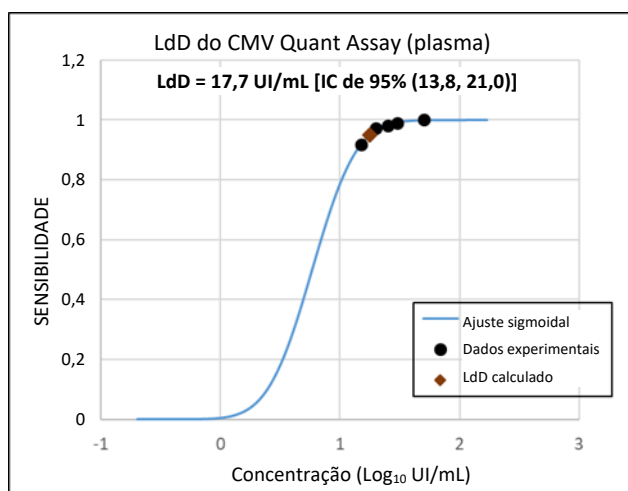
#### Sensibilidade analítica – Limite de detecção usando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx CMV Quant Assay foi caracterizada através da testagem de espécimes negativos e uma série de diluições do 1º Padrão Internacional da OMS em plasma humano negativo triado para determinar o limite de detecção (LdD) nos NeuMoDx Systems. O LdD foi definido como o nível de alvo mais baixo detectado a uma taxa de 95% conforme determinado através da análise Probit. O estudo foi realizado ao longo de 3 dias em vários sistemas com vários lotes de reagentes NeuMoDx. Cada sistema processou 18 réplicas em cada nível de diluição por dia. As taxas de detecção estão indicadas na *Tabela 2*.

**Tabela 2:** Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx CMV Quant Assay

Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de alvo [ $\log_{10}$ UI/mL]	PLASMA		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
50	1,70	108	108	100,0%
30	1,48	108	107	99,1%
25	1,40	108	106	98,1%
20	1,30	108	105	97,2%
15	1,18	108	99	91,7%
NEG	---	108	0	0,0%

O LdD do NeuMoDx CMV Quant Assay em plasma para a variante gB1 foi determinado como sendo de 17,7 UI/mL (1,25  $\log_{10}$  UI/mL) com um intervalo de confiança de 95% (IC) de 13,8–21,0 UI/mL, (1,14–1,32  $\log_{10}$  UI/mL) [Figura 2]. O LdD entre genótipos é de 20,0 UI/mL (1,30  $\log_{10}$  UI/mL) conforme determinado através da análise de taxa de identificação.



**Figura 2:** Análise Probit usada para determinar o LdD do NeuMoDx CMV Quant Assay em amostras de plasma

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

O limite inferior de quantificação (LidQ) é definido como o nível de alvo mais baixo no qual uma detecção > 95% é obtida e o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) é  $\leq 1,0$ . Para determinar o LidQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis de alvo de CMV que apresentaram uma detecção > 95% como parte do cálculo do LdD. O TAE é definido da seguinte forma:

$$\text{TAE} = \text{tendência} + 2 \cdot \text{DP} \quad (\text{Estatística de Westgard})$$

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 dos 5 níveis de espécimes de plasma de CMV (variante gB1) usados no estudo de LidQ são apresentados na *Tabela 3*. Com base nesse conjunto de dados e no LdD determinado anteriormente, o LidQ foi determinado como sendo de 20,0 UI/mL (1,30  $\log_{10}$  UI/mL) e confirmado entre os genótipos.



**Tabela 3:** LidQ do NeuMoDx CMV Quant Assay, com tendência e TAE

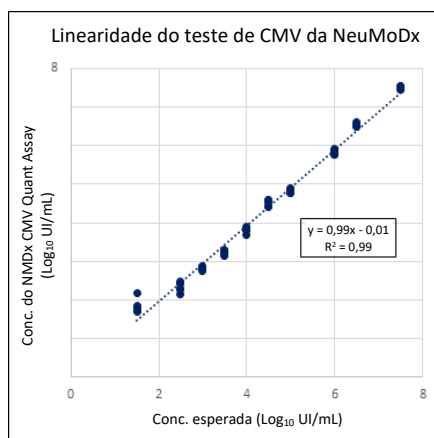
Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [log <sub>10</sub> UI/mL]	Plasma				
		Conc. média [log <sub>10</sub> UI/mL]	Deteção (%)	DP	Ten dência	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Com base no resultado desses estudos, o LdD e o LidQ do NeuMoDx CMV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 20,0 UI/mL [1,30 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 CMV Quant Assay foram estabelecidos em plasma preparando uma série de diluições

usando o alvo de CMV encapsulado da NeuMoDx e Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 1º Padrão Internacional da OMS. Um painel de 9 membros foi preparado em plasma negativo para CMV agrupado em pools a fim de criar um painel que abrangesse um intervalo de concentração de 8–1,7 log<sub>10</sub> UI/mL. O LSdQ do NeuMoDx CMV Quant Assay foi determinado como sendo de 8,0 log<sub>10</sub> UI/mL. As concentrações do ensaio de CMV relacionadas pelo NeuMoDx System em comparação com os valores esperados são apresentadas na *Figura 3*.



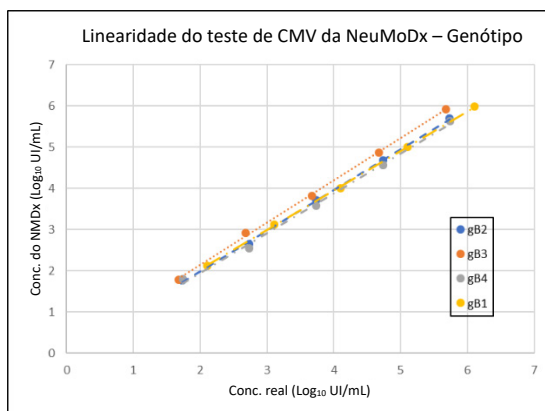
**Figura 3:** Linearidade do NeuMoDx CMV Quant Assay

### Linearidade entre genótipos

A linearidade do NeuMoDx CMV Quant Assay em quatro genótipos de CMV (gB1, gB2, gB3 and gB4) foi caracterizada testando cinco concentrações diferentes de cada genótipo de CMV preparadas em plasma negativo para CMV agrupado em pools. Os níveis de alvos de CMV testados nesse estudo dependiam da concentração do espécime original e, portanto, variaram entre os diferentes genótipos. O estudo foi realizado testando 6 réplicas de cada um dos 4 genótipos em 5 concentrações. A linearidade entre quatro genótipos de CMV é apresentada na *Tabela 4* e na *Figura 4*.

**Tabela 4:** Linearidade do NeuMoDx CMV Quant Assay entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade y = Quantificação do NeuMoDx CMV Assay x = Quantificação esperada	R <sup>2</sup>
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



**Figura 4:** Linearidade do NeuMoDx CMV Quant Assay entre genótipos

### Especificidade analítica – Reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 35 organismos normalmente encontrados em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao CMV quanto a reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5–6 organismos e testados em alta concentração. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 5*. Não foi observada reatividade cruzada com nenhum dos organismos testados, confirmando a especificidade analítica de 100% do NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabela 5:** Patógenos usados para demonstrar a especificidade analítica

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

### Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais

O NeuMoDx CMV Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo usando os mesmos pools de organismos preparados para os testes de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 5*. Plasma negativo para CMV foi misturado com os organismos agrupados em pools de 4–7 e também com o alvo de CMV a uma concentração de 3 log<sub>10</sub> UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença desses organismos comensais, conforme indicado pelo desvio mínimo da quantificação em relação a espécimes de controle que não continham agentes interferentes.

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

O NeuMoDx CMV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias interferentes exógenas e endógenas tipicamente encontradas em espécimes clínicos de plasma de CMV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 6*. Cada uma das substâncias foi adicionada a plasma humano triado negativo para CMV misturado com 3 log<sub>10</sub> UI/mL de CMV e as amostras foram analisadas quanto a interferência. Além disso, foi também analisado plasma em estado de doença comum associada a infecção por CMV quanto a possível interferência. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em comparação com amostras de controle misturadas com o mesmo nível de CMV são relatadas na *Tabela 7*. Nenhuma das substâncias exógenas e endógenas afetou a especificidade do NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabela 6: 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 (CMV)		Everolimus	Imunossupressor
	Cloridrato de valganciclovir	Antiviral (CMV)		Clavulanato de potássio	Antibiótico
Pool 2	Prednisona	Corticosteroide/Imunossupressor	Pool 5	Famotidina	Antagonista do receptor de histamina
	Cidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfametoxazol	Antibiótico
	Cefotetan	Antibiótico (amplo espectro)		Valaciclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxima	Antibiótico (amplo espectro)		Letermovir	Antiviral (CMV)
	Fluconazol	Antifúngico		Ticarclina dissódica	Antibiótico
Pool 3	Micofenolato mofetil	Imunossupressor	Leflunomida	Imunossupressor	
	Micofenolato de sódio	Imunossupressor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirrolimus/Rapamicina	Imunossupressor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

**Tabela 7: Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos**

Endógenos	Conc. média	Tendência
	log <sub>10</sub> UI/mL	log <sub>10</sub> UI/mL
Hemoglobina	2,97	0,07
Triglicérides	3,03	0,13
Bilirrubina	3,01	0,11
Albumina	2,88	-0,02
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	2,88	-0,02
Pool 2: Prednisona, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxima, Fluconazol	2,91	0,01
Pool 3: Micofenolato mofetil, Micofenolato de sódio, Piperacilina, Sirrolimus/Rapamicina, Tazobactam	2,98	0,08
Pool 4: Trimetoprima, Vancomicina, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanato de potássio	3,05	0,15
Pool 5: Famotidina, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilina dissódica, Leflunomida	2,87	-0,03
Estado de doença	Conc. média	Tendência
	log <sub>10</sub> UI/mL	log <sub>10</sub> UI/mL
Anticorpo antinuclear (AAN)	2,90	0,00
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	3,04	0,14
Artrite reumatoide	2,99	0,09

### Precisão intralaboratorial

A precisão do NeuMoDx CMV Quant Assay foi determinada testando 3 réplicas de um painel de 4 membros de espécimes de CMV preparados com Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) duas vezes por dia, usando dois NeuMoDx 288 Systems e um 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  $\leq 0,15 \log_{10}$  UI/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente entre sistemas, dias ou execuções, conforme apresentado na *Tabela 8*. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System.

**Tabela 8:** Precisão intralaboratorial – NeuMoDx CMV Quant Assay em NeuMoDx Systems

Conc. de alvo de CMV [ $\log_{10}$ UI/mL]	Conc. média de CMV [ $\log_{10}$ UI/mL]	DP intrassistema	DP intradiário	DP intraensaio	DP (intralaboratorial) geral
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

### Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade lote a lote do NeuMoDx CMV Quant Assay foi determinada usando três lotes diferentes dos principais reagentes – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates e NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Um painel de 4 membros de CMV preparado com Exact CMV Control foi usado para avaliar o desempenho. Os testes foram realizados usando três lotes dos reagentes em três sistemas ao longo de 6 dias. A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados são apresentados na *Tabela 9*. A tendência global máxima foi de  $0,12 \log_{10}$  UI/mL e o DP global máximo foi de  $0,39 \log_{10}$  UI/mL. Foi demonstrada equivalência de desempenho entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel estava dentro das especificações de tolerância.

**Tabela 9:** Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx CMV Quant Assay

Conc. de alvo de CMV [ $\log_{10}$ UI/mL]	Conc. média de CMV [ $\log_{10}$ UI/mL]	N (Resultados válidos por lote)	Tendência	DP entre lotes	DP intralote	DP global
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

### Eficácia do controle

O controle de processo de amostras 1 (Sample Process Control 1, SPC1) está incluído no NeuMoDx CMV Quant Assay para reportar falhas nas etapas do processo ou inibição que afeta o desempenho do ensaio. A eficácia foi testada em condições representativas de falhas críticas nas etapas do processo que poderiam potencialmente ocorrer durante o processamento das amostras e *podem não ser detectadas* pelos sensores de monitoramento de desempenho do NeuMoDx System. Os espécimes positivos (a  $3 \log_{10}$  UI/mL) e negativos foram contestados na presença de um controle nas seguintes condições: presença de inibidor, sem aplicação de solução de lavagem e sem expulsão da solução de lavagem. As ineficiências do processo que tiveram um efeito adverso na detecção/quantificação de CMV foram refletidas pelo desempenho do alvo de SPC1, conforme apresentado na *Tabela 10*. Em todos os casos testados, foi demonstrado que ou o controle de processo de amostras monitorou as ineficiências do processo e a presença de inibidores adequadamente ou a ineficiência prevista do processo não teve um efeito adverso significativo na detecção do SPC1 nem na detecção e quantificação de CMV. Por este motivo, o SPC1 demonstrou ser bem-sucedido na monitorização eficaz do desempenho do ensaio no NeuMoDx System.

**Tabela 10:** Eficácia do controle de processo de amostras

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

### Taxa de resultados válidos

Uma análise retrospectiva dos dados obtidos durante a avaliação de desempenho do NeuMoDx CMV Assay nos NeuMoDx Systems foi usada para determinar o percentual de resultados válidos. Os resultados de teste válidos são relatados como Positive (Positivo) ou Negative (Negativo); os resultados de teste inválidos podem ser relatados ou como Indeterminate (Indeterminado, IND) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no estado de amplificação do alvo e do controle de processo de amostras. Uma determinação IND (Indeterminado) é normalmente causada por um erro do instrumento que leva a uma falha na amplificação do alvo e/ou do controle de processo interno. Uma determinação UNR (Não resolvido) é atribuída a amostras quando tanto o alvo como o controle de processo interno não são amplificados quando não é detectada uma falha do instrumento. Foram incluídos 1.100 resultados individuais do NeuMoDx CMV Quant Assay na análise retrospectiva, incluindo dados obtidos com os NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Systems. A taxa de UNR (Não resolvido) foi determinada como sendo de 0,91% (10/1100) e a taxa de IND (Indeterminado) foi determinada como sendo de 0,36% (4/1100), satisfazendo assim os critérios de aceitação da análise. Desta forma, foi concluído que a taxa de resultados válidos do NeuMoDx CMV Assay nos NeuMoDx Systems foi de 98,7% com um IC de 95% de (97,9–99,2).

### Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada do NeuMoDx CMV Quant Assay foi determinada testando três conjuntos de espécimes de CMV incluindo espécimes alto positivos e negativos alternados. No total, isso envolveu a testagem de 108 réplicas de plasma negativo para CMV e de 108 réplicas de um plasma misturado com CMV a 6,0 log<sub>10</sub> UI/mL. Todas as 108 réplicas do espécime negativo foram relatadas como negativas, demonstrando a ausência de contaminação cruzada durante o processamento das amostras no NeuMoDx System.

### Equivalência da matriz de espécimes

Foram realizados testes para demonstrar a equivalência da matriz de espécimes entre sangue total coletado em tubos de coleta com ácido etilendiaminotetracético (EDTA) e com ácido-citrato-dextrose (ACD) para o preparo do plasma. Testes adicionais foram realizados para determinar a equivalência entre espécimes de plasma frescos e congelados (coletados nos dois tipos de tubo). Os espécimes recém-colhidos foram mantidos a 4°C até serem enriquecidos com três níveis de CMV e testados em relação à equivalência. Em seguida, as amostras foram congeladas por no mínimo 24 horas a -20 °C. Após esse período de armazenamento congelado, os espécimes foram descongelados e testados novamente. Os resultados dos espécimes de plasma frescos vs. congelados e dos espécimes em EDTA vs. ACD foram comparados quanto à sua equivalência por meio de uma análise de regressão. Os dados demonstraram uma equivalência excelente entre espécimes de plasma em EDTA e ACD e entre espécimes de plasma frescos e congelados, com declives entre 0,02 e 1,0 e uma tendência (interseção) muito baixa, conforme apresentado na *Tabela 11* abaixo.

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

Requisito de parâmetro	ACD vs K2EDTA		Frescos vs congelados	
	Fresco	Congelado	ACD	EDTA
Declive [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Interseção [ $< 0,5 \log_{10}$ UI/mL]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
Valor $p > 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

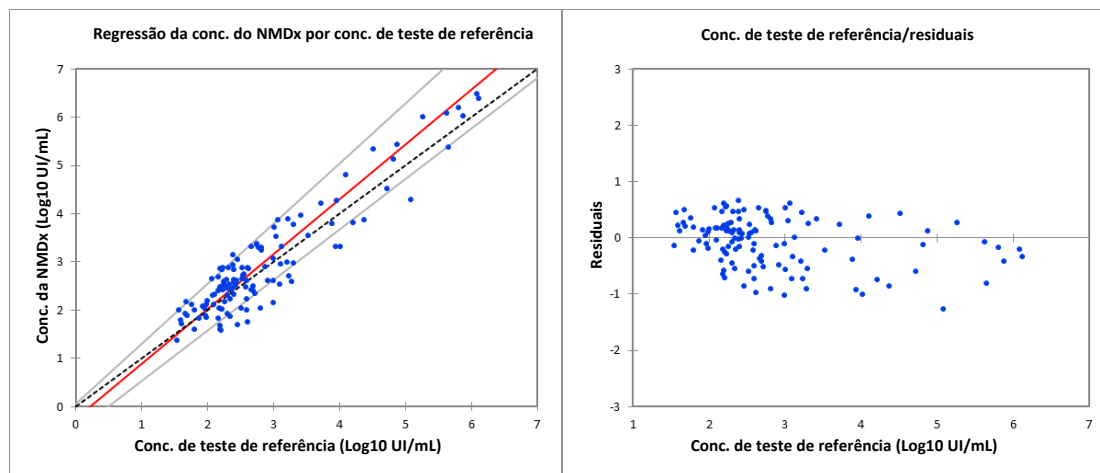
### Comparação de métodos clínicos

O desempenho quantitativo do NeuMoDx CMV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE testando espécimes clínicos não diluídos de pacientes infectados com CMV. Os testes foram realizados internamente na NeuMoDx através de um estudo simples cego de espécimes clínicos residuais desidentificados obtidos de quatro laboratórios de referência externos. No total, 284 espécimes de plasma foram processados usando o NeuMoDx CMV Quant Assay de forma cega (simples) em vários NeuMoDx Molecular Systems.

Os erros de processamento e de sistema obtidos nos NeuMoDx Molecular Systems foram mínimos e satisfizeram os critérios. No total, 3 resultados Indeterminate (Indeterminado, IND) foram obtidos para as amostras, resultando em uma taxa de IND (Indeterminado) inicial global de 1% com IC de 95% (0,27–3,32%). Não havia volume suficiente para reprocessar esses 3 espécimes no fluxo de trabalho normal. Inicialmente, foram obtidos 10 resultados Unresolved (Não resolvido, UNR), porém, seguindo o procedimento recomendado do CMV Quant Assay de preparar uma diluição 1:10 em Basematrix para resultados UNR (Não resolvido), foram obtidos resultados válidos após a repetição dos testes de todas as 10 amostras UNR (Não resolvido) diluídas adequadamente. Assim, a taxa total de erros de processamento foi de 1,06% com IC de 95% (0,27%–3,3%) devido aos resultados Indeterminate (Indeterminado) que não puderam ser testados novamente por causa do volume insuficiente.

Houve 4 amostras que geraram um sinalizador Quantitation Error (Erro de quantificação) e 3 das 4 puderam ser testadas novamente de acordo com o procedimento recomendado usando uma diluição 1:10 da amostra em Basematrix a fim de obter um resultado quantitativo válido. Dos 283 resultados válidos obtidos no estudo, 129 amostras foram relatadas como Positive (Positivo) pelo NeuMoDx CMV Assay, com os valores de concentração correspondentes atribuídos pelos testes de referência. Para seis dessas amostras, o teste de referência relatou que cinco estavam abaixo do LIdQ e uma estava acima do LSdQ; assim, um total de 123 amostras teve valores de concentração correspondentes atribuídos pelo NeuMoDx CMV Quant Assay e pelos testes de referência CE-IVD, que foram usados para a análise de correlação quantitativa. Foram usadas análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok para estabelecer a correlação entre os valores de concentração do NeuMoDx CMV Assay e os valores relatados pelos testes de referência.

Foram gerados gráficos de equivalência para representar a correlação entre as concentrações do NeuMoDx CMV Quant Assay e os valores de concentração dos testes de referência para todas as amostras testadas usando o ajuste de regressão de Deming e o ajuste de Passing-Bablok, apresentados na *Figura 5*.



**Figura 5:** Gráficos de equivalência (*à esquerda*) e residual (*à direita*) – Análise cumulativa (em ambos os NeuMoDx Systems) dos resultados do NeuMoDx CMV Quant Assay em comparação com resultados de teste de referência de TODAS as amostras com base na análise de regressão de Passing-Bablok.

A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada por um coeficiente de declive de 1,1 com um IC de 95% de (1,0–1,2) e uma interseção (tendência) de -0,18 com um IC de 95% de (-0,39, 0,03), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx CMV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável. A qualidade do ajuste linear de Passing-Bablok é ilustrada por um coeficiente de declive de 1,1 com um IC de 95% de (1,0, 1,2) e uma interseção (tendência) de -0,24 com um IC de 95% de (-0,51, 0,06), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx CMV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável, conforme mostrado na *Tabela 12*.

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

Análise de Deming		Análise de Passing-Bablok	
Interseção	Coefficiente de declive	Interseção	Coefficiente de declive
-0,18	1,1	-0,24	1,1
IC de 95% (-0,39, 0,03)	IC de 95% (1,0, 1,2)	IC de 95% (-0,51, 0,06)	IC de 95% (1,0, 1,2)

### REFERÊNCIAS

1. Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
2. Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
3. A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> 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











NeuMoDx™ é uma marca da NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ é uma marca da NeuMoDx Molecular, Inc.

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

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

### SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
<b>Rx only</b>	Sujeito a prescrição médica
	Fabricante
<b>IVD</b>	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
<b>REF</b>	Número de catálogo
<b>LOT</b>	Código de lote
	Prazo de validade
	Limite de temperatura
	Limite de umidade
	Não reutilizar
	Contém o suficiente para $<n>$ testes
	Consultar as instruções de uso
	Cuidado
	Riscos biológicos
<b>CE</b>	Marca CE

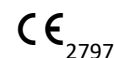


NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108, EUA

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



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



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

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