

**201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip****CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA**Para utilização em diagnóstico *in vitro* no NeuMoDx™ 288 e NeuMoDx™ 96 Molecular System*Este folheto informativo deve ser cuidadosamente lido antes da utilização do produto. As instruções do folheto informativo devem ser seguidas em conformidade.**A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto informativo não forem seguidas.**Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108**Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do operador do NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317***UTILIZAÇÃO PREVISTA**

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos automatizado e *in vitro*, destinado à identificação e quantificação de ADN do vírus BK (BK Virus, BKV) em amostras extraídas de urina e soro/plasma humano. O NeuMoDx BKV Assay implementado no NeuMoDx™ 288 Molecular System e no NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ Systems) integra a extração de ADN automatizada para isolar o ácido nucleico alvo do espécime e a reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) em tempo real, tendo como alvo as sequências no genoma do BKV.

O NeuMoDx BKV Quant Assay, em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais, destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico e monitorização de infeções pelo vírus BK.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos estéreis para colheita de sangue que contém EDTA como agente anticoagulante ou em tubos para preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser utilizado na preparação do plasma, enquanto o soro deve ser colhido em tubos de colheita ou de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Para testar um espécime de urina, uma amostra de urina é colhida num copo padrão para colheita de urina sem conservantes ou aditivos. Para preparar o teste, o plasma/soro ou urina num tubo de espécimes primário ou secundário compatível com o NeuMoDx™ System é carregado no NeuMoDx™ System, utilizando um transportador de tubos de espécime designado para iniciar o processamento automatizado. Para espécimes de plasma/soro, uma alíquota de 550 µL da amostra é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 do instrumento ou, alternativamente, uma alíquota de 100 µL da amostra de plasma/soro é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Para amostras de urina, uma alíquota de 550 µL da amostra é misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 do instrumento. O NeuMoDx™ System realiza automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico alvo, preparar o isolado de ADN para a amplificação por PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detetar produtos de amplificação. O NeuMoDx™ BKV Quant Assay inclui um controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) de ADN para ajudar a monitorizar a presença de possíveis substâncias inibidoras, assim como falhas do reagente ou do NeuMoDx™ System que podem acontecer durante os processos de extração e amplificação.

O poliomavírus BK (BK Polyomavirus, BKV) é um membro da família Polyomaviridae dos vírus de ADN de cadeia dupla (double-stranded DNA, dsDNA). O BKV provoca uma infeção comum na infância sem grandes sequelas clínicas e >80% dos adultos são seropositivos para o BKV.¹ A infeção primária por este vírus dsDNA é normalmente assintomática e ocorre na infância. Os sintomas mais comuns, quando observados, são febre e infeções do trato respiratório superior não específicas.² Após a infeção primária, o vírus pode permanecer latente em muitos órgãos, sobretudo nos rins. A transmissão pode ocorrer através da exposição a fluidos corporais. Em estados de imunodeficiência celular absoluta ou relativa, o vírus pode ser reativado e causar doença.²

A quantificação da carga viral baseada em PCR no plasma/soro e na urina é a ferramenta clínica padrão para monitorizar a reativação do BKV. Os estudos que reportam resultados de PCR para BKV quantitativo demonstram uma correlação positiva entre cargas virais mais elevadas e o aumento da probabilidade de desenvolver nefropatia associada ao BKV (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN)¹. Outra ferramenta clínica utilizada para descrever agregados de BKV na urina é a microscopia de eletrões, que emite agregados de BKV tridimensionais. Contudo, o ensaio não é viável para práticas clínicas de rotina, devido ao custo e à disponibilidade limitada da microscopia de eletrões.¹

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay no NeuMoDx™ System utiliza a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, o NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, o NeuMoDx™ BKV External Control Kit, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 e reagentes de utilização geral da NeuMoDx™ para realizar a análise. A temperatura de armazenamento dos reagentes situa-se entre +15 e +30 °C.

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay combina a extração, amplificação e deteção automatizadas de ADN por meio de PCR em tempo real. Os espécimes de urina ou de plasma/soro em tubos de espécimes primários ou secundários compatíveis com o NeuMoDx™ System são colocados num transportador de tubos de espécime que é, em seguida, carregado no NeuMoDx™ System para processamento. Não é necessária intervenção adicional do operador.

Os NeuMoDx™ Systems utilizam uma combinação de calor, enzimas líticas e reagentes de extração para desempenhar automaticamente a lise celular, a extração de ADN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com a ligação de ácidos nucleicos, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge, onde os componentes não ADN e não ligados são retirados por lavagem através do NeuMoDx™ Wash Reagent e o ADN ligado é eluído utilizando o NeuMoDx™ Release Reagent. Em seguida, os NeuMoDx™ Systems utilizam o ADN eluído para reidratar os reagentes de amplificação congelados/secos patenteados da Sentinel CH (tecnologia STAT-NAT[®]) que contém todos os elementos necessários para a amplificação por PCR dos alvos específicos do BKV e do SPC1. Depois da reconstituição dos reagentes de PCR liofilizados, o NeuMoDx™ System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR para o NeuMoDx™ Cartridge. A amplificação e a deteção das sequências-alvo e de controlo de ADN (se presentes) ocorrem na zona da câmara de PCR do NeuMoDx™ Cartridge. O NeuMoDx™ Cartridge também foi concebido para conter o amplificação decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos amplificados são detetados em tempo real utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referidas como química TaqMan®), utilizando moléculas de sonda fluorogénica de oligonucleotídeos específicas dos amplicões dos respetivos alvos.

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

As sondas TaqMan® foram concebidas de forma a hibridizar dentro de uma região de ADN amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a Taq DNA polimerase expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda liberta o fluoróforo e quebra a proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido ao FRET e permitindo a deteção da fluorescência do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante, detetado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx™ System, é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de ADN alvo presente.³

As sondas TaqMan® marcadas com fluoróforos na extremidade 5' e supressores na extremidade 3' são utilizadas para detetar ADN do BKV e do SPC1. O software do NeuMoDx™ System monitoriza o sinal fluorescente emitido pelas sondas TaqMan no final de cada ciclo de amplificação. Quando a amplificação estiver concluída, o software do NeuMoDx™ System analisa os dados e comunica um resultado final (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]/NO RESULT [SEM RESULTADOS]). Se um resultado for positivo e a concentração calculada se encontrar dentro dos limites de quantificação, o software do NeuMoDx System fornece também um valor quantitativo associado à amostra.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos/congelados que contêm sondas e iniciadores TaqMan® específicos para BKV para além de sonda e iniciadores TaqMan® específicos para SPC1.</i>	6	16	96

Reagentes e consumíveis necessários, mas não fornecidos (disponibilizados em separado pela NeuMoDx)

REF	Conteúdo
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzimas líticas e controlos de processo de amostra secos</i>
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit <i>Conjuntos de utilização única de calibradores secos altos e baixos de BKV para estabelecer a validade da curva-padrão</i>
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit <i>Conjuntos de utilização única de controlos positivos secos e controlos negativos de BKV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx BKV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400500	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400900	NeuMoDx™ Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Pontas Hamilton CO-RE (300 µL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE (1000 µL) com filtros

Instrumentos necessários

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip destina-se apenas à utilização em diagnóstico *in vitro* com os NeuMoDx™ Systems.
- Ler todas as instruções no folheto informativo do kit antes de realizar o teste.
- Não utilizar os reagentes ou consumíveis depois da data de validade indicada.

- Não utilizar quaisquer reagentes que tenham o selo de segurança aberto ou cuja embalagem tenha sido danificada ao chegar ao destino.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes cuja bolsa protetora tenha sido aberta ou danificada ao chegar ao destino.
- Não misturar reagentes de outros kits comerciais para amplificação.
- Não reutilizar.
- Manter todas as NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips protegidas da luz e humidade nos seus envelopes de alumínio.
- Deve estar disponível uma calibração de teste válida (gerada através do processamento de calibradores altos e baixos do NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit [REF 800600]) antes de os resultados de teste poderem ser gerados para as amostras clínicas.
- O NeuMoDx™ BKV External Control Kit (REF 900601) deve ser processado a cada 24 horas ao longo dos testes com o NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do fluxo de trabalho de volume de espécime, tal como definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- Realizar um ensaio BKV em espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou para além do tempo de armazenamento especificado pode produzir resultados inválidos ou erróneos, ao utilizar a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Evitar a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Se forem utilizados tubos secundários de espécimes, é recomendada a utilização de pipetas de transferência descartáveis estéreis e isentas de DNase. Utilizar uma nova pipeta para cada espécime.
- Para evitar a contaminação, não manusear nem destruir um NeuMoDx™ Cartridge após a amplificação. Não recuperar NeuMoDx™ Cartridges do conteúdo de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 96 Molecular System) em nenhuma circunstância. O NeuMoDx™ Cartridge foi concebido para prevenir a contaminação.
- Nos casos em que são também realizados em laboratório testes de PCR em tubo aberto, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para o teste, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx™ System não sejam contaminados.
- Devem ser utilizadas luvas de nitrilo limpas sem pó durante o manuseamento de reagentes e consumíveis da NeuMoDx™. É necessário ter especial cuidado para não tocar na parte superior da superfície do NeuMoDx™ Cartridge, na superfície da película de alumínio da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ou da NeuMoDx™ Extraction Plate ou na parte superior da superfície dos recipientes de NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 e 5; o manuseamento dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- São fornecidas fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS) com cada reagente (conforme aplicável), em www.neumodx.com/client-resources.
- Uma barra vertical na margem do texto indica alterações em comparação com a versão anterior das instruções de utilização.
- Lavar muito bem as mãos depois de realizar o teste.
- Não pipetar com a boca. Não fumar, beber ou comer em áreas onde estiverem a ser manuseados espécimes ou reagentes.
- Manusear sempre os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais seguros, tal como os descritos nas normas da OSHA sobre agentes patogénicos transmitidos pelo sangue⁴, nível de biossegurança 2⁵ ou seguir outras práticas de biossegurança aplicáveis^{6,7} para utilizar materiais que contêm ou que se suspeita conterem agentes infecciosos.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.
- Tal como com outros testes, os resultados negativos não excluem a infeção por BKV.

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips são estáveis dentro da embalagem primária a temperaturas entre 15 e 30 °C até à data de validade indicada na etiqueta do produto.
- Uma NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip carregada no NeuMoDx™ System é estável durante 32 dias; o software do NeuMoDx™ System irá solicitar a remoção das tiras de teste que foram utilizadas e estão dentro do NeuMoDx™ System há mais de 32 dias, devendo ser abertas (retire as tiras da embalagem) e carregadas novas NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips no NeuMoDx System. Não remova a película de alumínio da tira durante o carregamento da mesma no NeuMoDx System.
- Os calibradores e controlos NeuMoDx™ não são infecciosos, mas devem ser descartados no recipiente de resíduos de risco biológico do laboratório depois de serem utilizados, pois terão material-alvo depois do processamento no sistema que pode provocar contaminação se não for manuseado de forma adequada.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congelar espécimes de sangue total ou de plasma/soro em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis, utilizando EDTA como anticoagulante. Os espécimes de soro devem ser preparados em tubos de separação de soro. As amostras de urina devem ser colhidas em tubos ou copos estéreis. Seguir as instruções do fabricante do tubo de colheita de espécimes.
4. O sangue total colhido nos dispositivos listados acima deve ser armazenado e/ou transportado até 24 horas a temperaturas entre 2 °C e 8 °C, antes da preparação do plasma/soro. A preparação das amostras deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
5. O armazenamento à temperatura ambiente de urina fresca não processada deve ser minimizado, dado que o baixo pH e o elevado teor de ureia desnaturam rapidamente o ADN, especialmente a uma temperatura de 25 °C e superior.

6. Os espécimes de urina e de plasma/soro preparados podem ser armazenados no NeuMoDx™ System até 24 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
7. Os espécimes de plasma/soro e urina preparados devem ser armazenados a temperaturas entre 2 e 8 °C até 8 dias antes do teste e durante um máximo de 24 horas à temperatura ambiente.
8. Os espécimes preparados podem ser armazenados a uma temperatura < -20 °C até 8 semanas no caso do plasma e até 2 semanas no caso do soro, antes do processamento; nem as amostras de plasma nem as amostras de soro devem ser sujeitas a mais do que 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas:
 - a. Se as amostras estiverem congeladas, permitir que descongelem à temperatura ambiente (15–30 °C); agitar para gerar uma amostra uniformemente distribuída.
 - b. Assim que as amostras congeladas estiverem descongeladas, o teste deverá ocorrer num espaço de 24 horas.
 - c. Não é recomendado o congelamento de plasma/soro em tubos de colheita primários.
9. Uma vez processadas, as amostras de urina podem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C.
10. Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e rotulados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
11. Etiquetar claramente os espécimes e indicar que são para testes de BKV.
12. Avançar para a secção *Preparação para teste*.

O processo geral para implementação do NeuMoDx™ BKV Quant Assay está resumido abaixo na *Figura 1*.

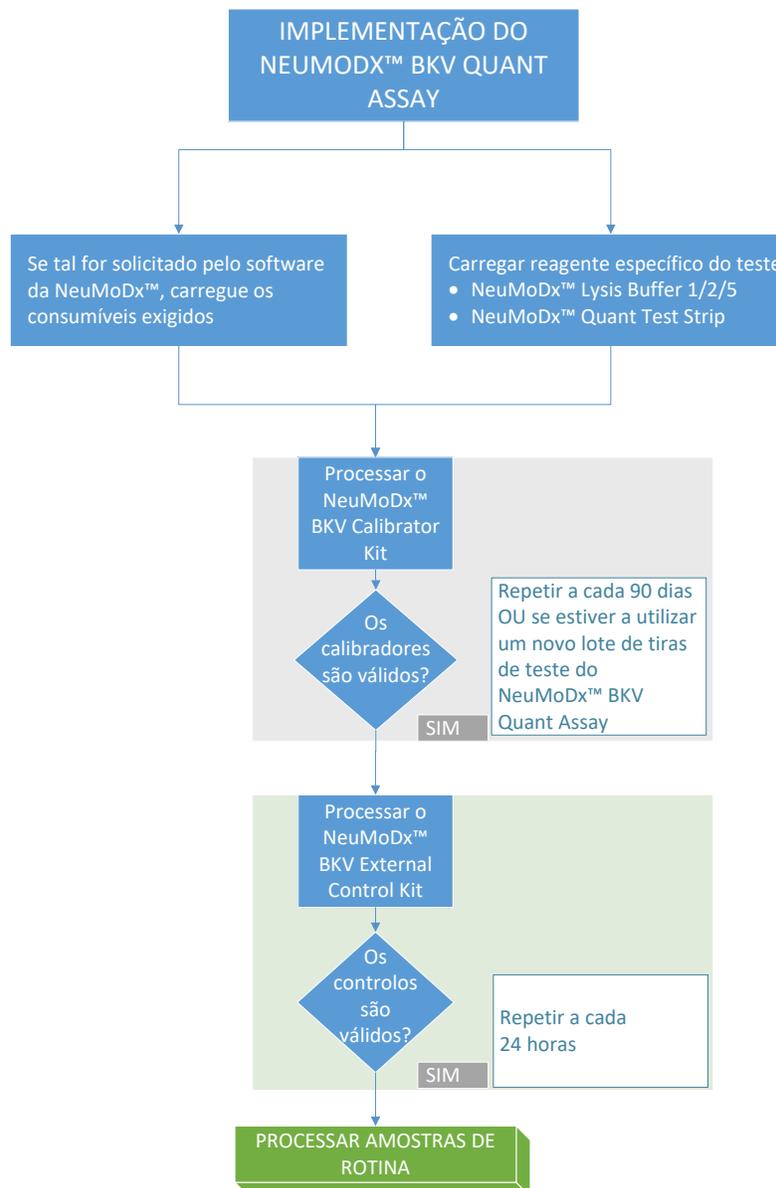


Figura 1: Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx BKV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste

Para amostras de plasma/soro, o NeuMoDx BKV Quant Assay pode ser processado diretamente a partir de tubos de colheita de sangue primários ou de alíquotas de espécimes em tubos secundários. O processamento pode ser executado utilizando um de dois fluxos de trabalho de processamento de volume de espécime – fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL ou fluxo de trabalho de processamento de espécimes de 100 µL. As amostras de urina são executadas utilizando apenas o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL.

1. Aplique a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx™ System. O tubo de colheita de sangue primário pode ser etiquetado e colocado diretamente num transportador de tubos de espécime de 32 tubos, após a centrifugação, conforme indicado pelo fabricante.
2. Se estiver a testar o espécime de plasma/soro no tubo de colheita primário, coloque o tubo com código de barras num transportador de tubos de espécime e certifique-se de que a tampa foi removida antes de o carregar no NeuMoDx System. Os volumes mínimos **acima** da camada de gel/leucoplaquetária estão descritos abaixo e serão cumpridos se os espécimes forem colhidos e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. Não é garantido o desempenho em espécimes colhidos de forma desadequada.

Colheita de sangue Tipo de tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
	Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 100 µL
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/Soro – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/Soro – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/Soro – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. Para amostras de urina ou amostras de soro/plasma num tubo secundário, transfira uma alíquota do espécime para o tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System, de acordo com os volumes definidos abaixo:

Transportador de tubos de espécime	Tamanho do tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
		Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 100 µL (Apenas plasma/soro)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 32 tubos)	Diâmetro de 11 a 14 mm e altura de 60 a 120 mm	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de 24 tubos)	Diâmetro de 14,5 a 18 mm e altura de 60 a 120 mm	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Transportador de tubos de espécime de baixo volume)	Tubo de microcentrífuga com base cônica de 1,5 mL	650 µL	250 µL

Operação do NeuMoDx System

Para obter instruções detalhadas, consultar os Manuais do Operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System e do 96 Molecular System (p/n 40600108 e 40600317)

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o espécime e o tipo de tubo desejados:
 - É testado um volume de espécime de 550 µL, definindo o tipo de espécime como "Plasma", "Serum" (Soro) ou "Urine" (Urina)
 - É testado um volume de espécime de 100 µL, definindo o tipo de espécime como "Plasma2" ou "Serum2" (Soro2)
 - Caso não seja definido no pedido de teste, será utilizado o tipo de espécime **Plasma** num **Secondary Tube** (Tubo secundário) como predefinição.
2. Corte as bolsas de alumínio da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip nas zonas indicadas pelos entalhes laterais.
3. Remova as tiras das bolsas imediatamente antes da utilização.
4. Antes de utilizar as bolsas, certifique-se sempre de que estão bem seladas e de que a saqueta dessecante ainda está no seu interior. Utilize apenas embalagens não danificadas.

5. Elimine as bolsas de alumínio e o seu conteúdo se a cor da saqueta dessecante passar de cor de laranja a verde.
6. Preencha um ou mais transportadores de tiras de teste do NeuMoDx™ System com a(s) NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip(s) e utilize o ecrã tátil para carregar os transportadores de tiras de teste no NeuMoDx™ System.
7. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, adicione os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx™ System e utilize o ecrã tátil para carregar os transportadores no NeuMoDx™ System.
8. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, reponha o NeuMoDx™ Wash Reagent e o NeuMoDx™ Release Reagent e esvazie os resíduos de iniciação, o contentor de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), o recipiente de resíduos de pontas (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
9. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, processe os Calibrators (REF 800600) e/ou os External Controls (REF 900601), conforme necessário. Podem ser encontradas mais informações acerca dos calibradores e dos controlos na secção *Processamento de resultados*.
10. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controlo num transportador de tubos padrão de 32 tubos e certifique-se de que as tampas foram removidas de todos os tubos.
11. Coloque o transportador de tubos de espécime em qualquer posição livre na prateleira do carregador automático e utilize o ecrã tátil para carregar o transportador no NeuMoDx™ System. Tal irá iniciar o processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s), desde que esteja presente no sistema um pedido de teste válido.

LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx™ Systems.
- O desempenho da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma e soro, preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante, e para espécimes de urina; a utilização do NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip com outros tipos de espécimes clínicos não foi avaliada e as características de desempenho do teste são desconhecidas para outros tipos de espécimes.
- Foi observado um pequeno aumento no limite de deteção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx BKV Quant Assay ao utilizar um fluxo de trabalho de volume de espécime de 100 µL.
- O NeuMoDx BKV Quant Assay não deve ser utilizado com amostras humanas heparinizadas.
- Uma vez que a deteção de BKV está dependente do número de organismos presentes na amostra, os resultados fiáveis dependem da colheita, do manuseamento e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e os controlos externos devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos e, se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, antes do processamento das amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento e ao armazenamento inadequados de espécimes, a erros técnicos ou à mistura de tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer resultados falso-negativos devido ao facto de o número de partículas virais presentes na amostra estar abaixo do limite de deteção do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx™ System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx™ System.
- Se o alvo do BKV e o alvo de SPC1 não amplificarem, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultados] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx™ BKV Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver para além dos limites de quantificação, o NeuMoDx™ System irá comunicar se o BKV detetado está abaixo do limite inferior de quantificação (LidQ) ou acima do limite superior de quantificação (LsdQ).
- Se o BKV detetado estiver abaixo do LidQ, o NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser repetido (se pretendido) com outra alíquota do espécime.
- Se o BKV detetado estiver acima do LsdQ, o NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:1000 em plasma negativo para BKV ou BaseMatrix 53 Diluent (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:
$$\text{Concentração do espécime original} = \log_{10}(\text{fator de diluição}) + \text{concentração comunicada da amostra diluída.}$$
- A presença ocasional dos inibidores de PCR em plasma/soro ou urina podem resultar num Erro de quantificação do sistema; se isto ocorrer, é recomendável que repita 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 ADN de BKV.
- Deleções ou mutações nas regiões conservadas que são o alvo do NeuMoDx™ BKV Quant Assay podem afetar a deteção ou originar um resultado erróneo ao utilizar a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay devem ser utilizados como complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não foi concebido para o diagnóstico da infeção.
- São recomendadas boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseamento de espécimes de pacientes, de forma a evitar a contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos no separador "Results" (Resultados), na janela Results (Resultados), no ecrã tátil do NeuMoDx™ System.

Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay são gerados automaticamente pelo software do NeuMoDx™ System, utilizando o algoritmo de decisão e os parâmetros de processamento de resultados especificados no ficheiro de definição de ensaio do BKV (BKV Assay Definition File, BKV ADF) da NeuMoDx™. Um resultado do NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de BKV comunicada, Positive (Positivo) acima do L_{SdQ}, Positive (Positivo) abaixo do L_{IdQ}, Indeterminate (Indeterminado) (IND), Unresolved (Não resolvido) (UNR) ou No Result (Sem Resultados) (NR), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controlo de processo da amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão resumido abaixo na *Tabela 1*.

Tabela 1: Resumo do algoritmo de decisão do NeuMoDx BKV Quant Assay

Resultado	BKV	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)	Interpretação de resultados
Positive (Positivo) com concentração comunicada	Amplified (Amplificado) $1,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL)* $2,3 \leq [BKV] \leq 8,0 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 100 μL)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do BKV detetado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) acima do limite superior de quantificação (L_{SdQ})	Amplified (Amplificado) [BKV] > 8,0 $\log_{10} \text{ UI/mL}$	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do BKV detetado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) abaixo do limite inferior de quantificação (L_{IdQ})	Amplified (Amplificado) [BKV] < 1,3 $\log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL)* [BKV] < 2,3 $\log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 100 μL)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do BKV detetado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	ADN do BKV não detetado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Não amplificado, Erro do sistema detetado, Processamento de amostras completo)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†
No Result (Nenhum resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Não amplificado, Erro do sistema detetado, Processamento de amostras interrompido)		O processamento de amostras foi interrompido; testar novamente a amostra†
Unresolved (Não resolvido)	Not Amplified, No System Error Detected (Não amplificado, Nenhum erro do sistema detetado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

*O fluxo de trabalho de 550 μL é utilizado com espécimes de plasma/soro e urina. O fluxo de trabalho de 100 μL é utilizado apenas com espécimes de plasma/soro.

†O NeuMoDx System está equipado com a capacidade automática Rerun (Reexecutar)/Repeat (Repetir), que o utilizador final pode optar por utilizar para assegurar que um resultado IND (Indeterminado)/NR (Sem resultados)/UNR (Não resolvido) é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx™ BKV Quant Assay, a concentração de ADN do BKV nas amostras é calculada utilizando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - O coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados do NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit processado para estabelecer a validade da curva-padrão de um lote específico de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, num determinado NeuMoDx™ System.
 - O coeficiente de calibração está integrado na determinação final da concentração de ADN do BKV.
 - O software do NeuMoDx contabiliza o volume de entrada do espécime ao determinar a concentração de ADN do BKV por mL de espécime.
- Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay são comunicados em $\log_{10} \text{ UI/mL}$.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para o vírus BK (BK Virus, BKV) (14/212)⁹.

Calibração de teste

É necessária uma calibração válida com base na curva-padrão para quantificar o ADN do BKV presente nos espécimes. Para gerar resultados válidos, deve ser concluída uma calibração de teste utilizando os calibradores fornecidos pela NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibradores

1. Os NeuMoDx™ BKV Calibrators são fornecidos num kit (REF 800600) e são constituídos por um pellet seco de ADN sintético de BKV.
2. Um conjunto de calibradores de BKV necessita de ser processado com cada novo lote de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, se for carregado um novo ficheiro de definição de ensaio BKV no NeuMoDx™ System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (definido atualmente em 90 dias) ou se o software do NeuMoDx™ System tiver sido modificado.
3. O software do NeuMoDx™ System irá notificar o utilizador quando for necessário processar os calibradores; um novo lote de tiras de teste não pode ser utilizado em testes até que os calibradores tenham sido processados com êxito.
4. Se for necessário processar um novo conjunto de calibradores de BKV, consulte as instruções presentes no folheto informativo do NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit antes de realizar o teste.
5. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a) É necessário processar um conjunto de dois calibradores (alto e baixo) de forma a 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) É calculado um coeficiente de calibração para ter em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste; este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final de BKV.
6. Se um ou ambos os calibradores falharem na verificação de validade, repita o processamento dos calibradores que falharam utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a verificação de validade, é possível repetir o calibrador que falhou, pois o sistema não necessita que o utilizador execute novamente ambos os calibradores.

Controlo de qualidade

Os regulamentos locais geralmente especificam que o laboratório é responsável pelos procedimentos de controlo que monitorizam o rigor e precisão de todo o processo analítico e deve estabelecer o número, tipo e frequência dos materiais de controlo do teste, utilizando especificações verificadas de desempenho para um sistema de teste aprovado e não modificado.

Controlos externos

1. Os BKV External Controls são fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc. no BKV External Control Kit (REF 900601). Os controlos positivos são constituídos por um pellet seco de ADN sintético de BKV.
2. Os controlos positivos e negativos externos precisam de ser processados uma vez a cada 24 horas. Se não existir um conjunto válido de controlos externos, o software do NeuMoDx™ System irá solicitar ao utilizador que processe esses controlos antes de poderem ser comunicados os resultados da amostra.
3. Se forem necessários controlos externos, prepare os controlos positivos e negativos, conforme indicado no folheto informativo do NeuMoDx BKV External Control Kit, antes de realizar o teste.
4. Utilizando o ecrã tátil e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira do carregador automático, carregue os frascos de controlo positivo e negativo no NeuMoDx™ System. O NeuMoDx™ System irá reconhecer o código de barras e iniciar o processamento dos tubos de espécime, exceto quando não estiverem disponíveis os reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. A validade dos controlos externos irá ser avaliada pelo NeuMoDx™ System com base no resultado esperado. O controlo positivo deve fornecer um resultado BKV Positive (BKV positivo) e o controlo negativo um resultado de BKV Negative (BKV negativo).
6. O tratamento de resultados discrepantes de controlos externos deve ser realizado da seguinte forma:
 - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controlo negativo indica um problema de contaminação de espécimes.
 - b) Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controlo positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c) Em ambos os casos acima ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado) (IND) ou No Result (Sem resultados) (NR), repita os NeuMoDx™ BKV External Controls com um novo frasco do controlo ou controlos que falharam o teste de validade.
 - d) Se um NeuMoDx™ BKV External Control positivo continuar a comunicar um resultado Negative (Negativo), contacte o apoio ao cliente da NeuMoDx™.
 - e) Se um NeuMoDx™ BKV External Control negativo continuar a comunicar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a substituição de TODOS os reagentes antes de contactar o apoio ao cliente da NeuMoDx™.

Controlos (internos) de processo de amostra

Um controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) exógeno está integrado na NeuMoDx™ Extraction Plate e passa por todo o processo de extração do ácido nucleico e de amplificação por PCR em tempo real com cada amostra. Estão também incluídos os iniciadores e a sonda específicos do SPC1 em cada uma das NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, permitindo a deteção da presença do SPC1 em conjunto com o ADN alvo de BKV (se presente) via PCR em tempo real multiplex. A deteção da amplificação do SPC1 permite que o software do NeuMoDx™ System monitorize a eficácia dos processos de extração de ADN e de amplificação por PCR.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx™ BKV Quant Assay realizado no NeuMoDx™ System falhar na produção de um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado) (IND), No Result (Sem resultados) (NR) ou Unresolved (Não resolvido) (UNR) com base no tipo de erro que ocorreu.

Caso seja detetado um erro do NeuMoDx™ System durante o processamento da amostra, será comunicado um resultado IND (Indeterminado). Caso seja comunicado um resultado IND (Indeterminado), recomenda-se realizar um novo teste.

Será comunicado um resultado UNR (Não resolvido) se não for detetada uma amplificação válida do SPC1 ou do ADN do BKV, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Como primeiro passo, pode ser realizado um novo teste no caso de ser comunicado um resultado UNR (Não resolvido). Se o novo teste falhar, pode ser utilizado um espécime diluído para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

Se um NeuMoDx BKV Quant Assay efetuado no NeuMoDx System falhar na produção de um resultado válido e o processamento da amostra for abortado antes da conclusão, será comunicado como No Result (Sem resultados) (NR). Caso seja comunicado um resultado NR (Sem resultados), recomenda-se realizar um novo teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de deteção¹²

A sensibilidade analítica do NeuMoDx™ BKV Quant Assay foi caracterizada através da análise de uma série de diluições do EDX BKV Verification Panel (Exact Diagnostics), calibrado de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para o vírus BK (BKV) (14/212)⁹, em amostras de plasma/soro e urina negativas para BKV, para determinar o limite de deteção (LdD) nos NeuMoDx Systems. Para amostras de plasma/soro (550 µL) e urina, o LdD foi definido como o nível de alvo mais próximo, determinado de forma experimental, acima da concentração determinada pela análise de estilo Probit com um intervalo de confiança (IC) de 95%. Para plasma/soro (100 µL), uma única concentração de amostra de 200 UI/mL foi investigada através da análise da taxa de identificação e validada para o LdD se a taxa de deteção fosse superior a 95%. O estudo foi realizado ao longo de 3 dias, em diversos sistemas, com vários lotes de reagentes da NeuMoDx™. Cada sistema processou 42 réplicas em cada nível de diluição (amostras positivas) e 8 réplicas de amostras negativas por dia. As taxas de deteção são descritas na *Tabela 2 e 3*.

Tabela 2: Taxas de deteção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx BKV Quant Assay (plasma/soro [550 µL] e urina)

Concentração do alvo [UI/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ UI/mL]	Fluxo de trabalho de 550 µL para PLASMA/SORO			URINA		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção
50	1,70	41	41	100%	41	41	100%
20	1,30	42	42	100%	40	39	98%
10	1,00	41	35	85%	41	31	76%
5	0,30	41	16	39%	41	12	29%
NEG	0,00	20	0	0%	24	0	0%

Tabela 3: Taxas de deteção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx BKV Quant Assay (100 µL de plasma/soro)

Concentração do alvo [UI/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ UI/mL]	Fluxo de trabalho de 100 µL para PLASMA/SORO		
		Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção
200	2,30	89	88	99%

O LdD do NeuMoDx™ BKV Quant Assay para plasma/soro (fluxo de trabalho de 550 µL) foi determinado como sendo de 20 UI/mL (1,3 log₁₀ UI/mL) com um intervalo de confiança (IC) de 95% para 11,03; para urina, o LdD foi determinado como sendo de 20,0 UI/mL (1,3 log₁₀ UI/mL) com um intervalo de confiança (IC) de 95% para 13,09; para plasma/soro (fluxo de trabalho de 100 µL) o LdD foi determinado como sendo de 200 UI/mL (2,3 log₁₀ UI/mL).

Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LidQ) e Limite superior de quantificação (LSdQ)¹²

O limite inferior de quantificação (LidQ) e o limite superior de quantificação (LSdQ) são definidos como o nível de alvo mais baixo e o nível de alvo mais alto a que uma detecção >95% é atingida e o TAE é $\leq 1,0$. De forma a determinar o LidQ e o LSdQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis do alvo de BKV que apresentaram uma detecção >95%. O TAE é definido da seguinte forma:

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

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

Os resultados compilados para os 5 níveis dos espécimes de plasma/soro ou urina do BKV, utilizados no estudo de LidQ/LSdQ, são apresentados na *Tabela 4 e 5*. Com base neste conjunto de dados e no LdD anteriormente determinado, o LidQ e o LSdQ foram determinados como sendo de 20 UI/mL ($1,3 \log_{10}$ UI/mL) e $7,58 \times 10^7$ UI/mL (neste caso, aproximado a $8 \log_{10}$ UI/mL), para plasma/soro (550 μ L) e urina, respetivamente, e 200 UI/mL ($2,3 \log_{10}$ UI/mL) para plasma/soro (100 μ L).

Tabela 4: LidQ e LSdQ da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, com tendência e TAE (plasma/soro [550 μ L] e urina)

Conc. do alvo [UI/mL]	Conc. do alvo [\log_{10} UI/mL]	Plasma/soro (550 μ L)					Urina				
		Conc. média [\log_{10} UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE	Conc. média [\log_{10} UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
$7,58 \times 10^7$	8	8	100	0,09	0,05	0,23	8	100	0,09	0,10	0,29
50	1,70	1,80	100	0,18	0,10	0,46	1,84	100	0,22	0,14	0,59
20	1,30	1,56	100	0,25	0,26	0,76	1,66	100	0,29	0,36	0,93
10	1,00	1,46	85	0,27	0,46	1,01	1,41	85%	0,41	0,41	1,22
5	0,30	1,27	39	0,48	0,97	1,92	1,31	38%	0,52	1,01	2,04

Tabela 5: LidQ e LSdQ da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, com tendência e TAE (plasma/soro [100 μ L])

Conc. do alvo [UI/mL]	Conc. do alvo [\log_{10} UI/mL]	Plasma/soro (100 μ L)				
		Conc. média [\log_{10} UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
$7,58 \times 10^7$	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Com base nos resultados destes estudos, o LdD e o LidQ do NeuMoDx™ BKV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 20 UI/mL ($1,3 \log_{10}$ UI/mL) para plasma/soro e urina com o fluxo de trabalho de 550 μ L e 200 UI/mL ($2,3 \log_{10}$ UI/mL) para plasma/soro ao utilizar o fluxo de trabalho de 100 μ L. O LSdQ para todos os tipos de espécimes é de $7,58 \times 10^7$ UI/mL ($8 \log_{10}$ UI/mL).

Linearidade ¹³

A linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi estabelecida em plasma/soro e urina através da preparação de uma série de diluições, utilizando o BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para o vírus BK (BKV) (14/212)⁹. Foram criadas 11 diluições em série do BKV Synthetic Plasmid, preparadas em BaseMatrix 53 negativo para BKV ou urina humana negativa para BKV agrupada em pools, para abranger um intervalo de concentração de 7,88–1,58 log₁₀ UI/mL para plasma/soro (550 µL) e urina e um intervalo de concentração de 6,88–2,88 log₁₀ UI/mL para plasma/soro (100 µL). As concentrações do ensaio BKV comunicadas pelo NeuMoDx™ System em comparação com os valores esperados são apresentadas nas Figuras 2, 3 e 4.

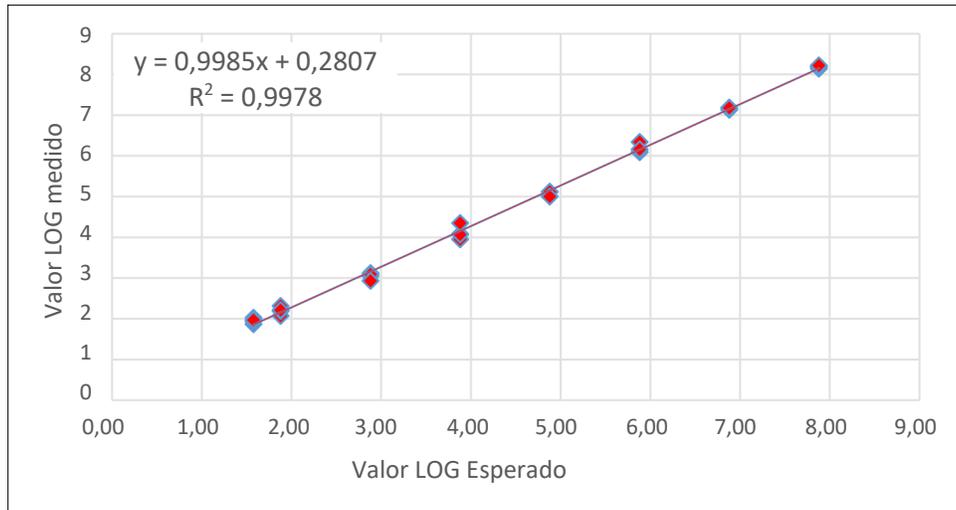


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx™ BKV Quant Assay para plasma/soro (fluxo de trabalho de 550 µL)

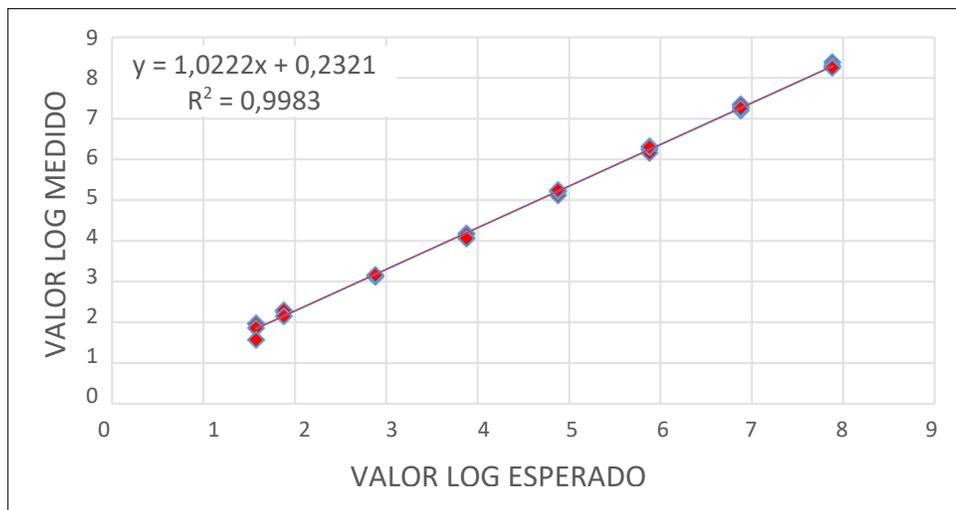


Figura 3: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip para espécimes de urina

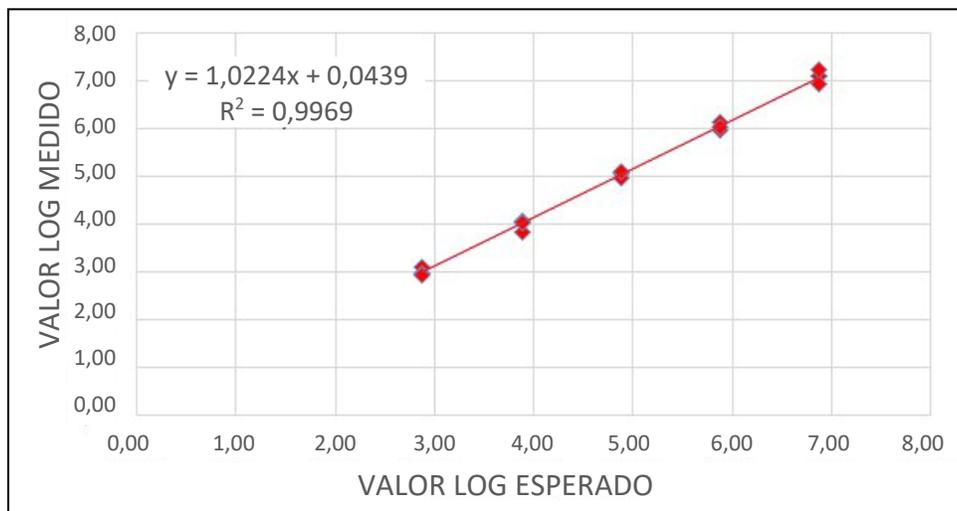


Figura 4: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip para plasma/soro (fluxo de trabalho de 100 µL)

Linearidade entre genótipos¹⁶

A linearidade do NeuMoDx BKV Quant Assay em três genótipos do BKV (vírus BK Dunlop, vírus BK Gardner, vírus BK AB269822_FIN-2) foi caracterizada testando quatro concentrações diferentes de cada genótipo do BKV, preparadas em BaseMatrix 53 negativo para BKV. O genótipo S72390 do vírus BK não apresenta polimorfismos na região-alvo do gene abrangida pela NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip. O estudo foi realizado testando 4 réplicas de cada um dos 3 genótipos em 6 concentrações (série de diluições de 10 vezes). A linearidade entre os três genótipos do BKV é apresentada na *Tabela 6* e na *Figura 5*.

Tabela 6: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade y = Ct do ensaio de BKV da NeuMoDx x = Série de diluições	R ²
Vírus BK Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
Vírus BK Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
Vírus BK AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947

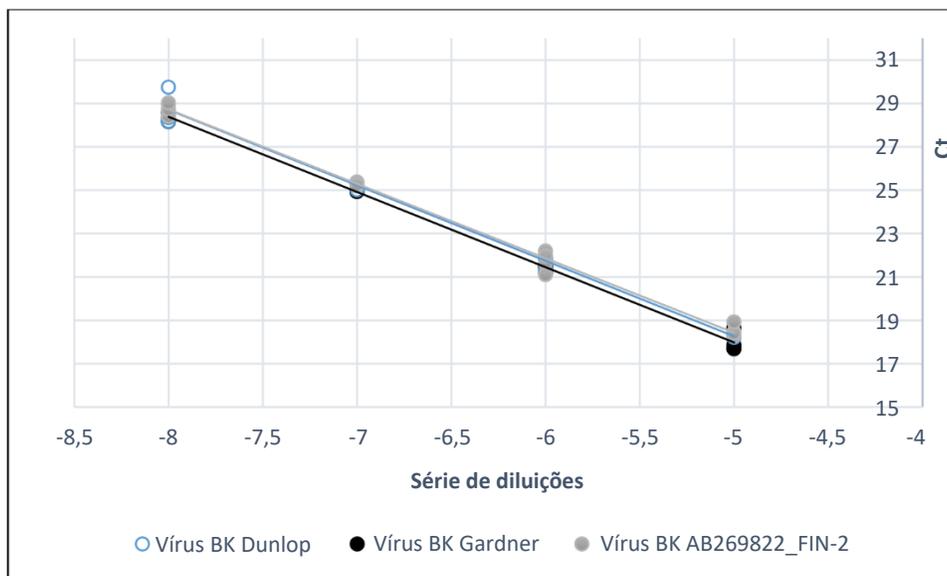


Figura 5: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip entre genótipos

Especificidade analítica – Reatividade cruzada^{10,11}

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 22 organismos habitualmente presentes em espécimes de plasma/soro e urina, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao BKV no que diz respeito à reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5–6 organismos e testados a uma elevada concentração. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 7*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabela 7: Patógenos utilizados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Vírus da hepatite B	Adenovírus tipo 5	Vírus Epstein-Barr	Vírus varicela-zoster	Vírus da hepatite C
Vírus do herpes simples tipo 1	Vírus do herpes simples tipo 2	Vírus herpes humano tipo 6	Vírus herpes humano tipo 7	Vírus herpes humano tipo 8	Vírus da imunodeficiência humana 1
Vírus da imunodeficiência humana 2	Vírus JC	SV40	<i>Citomegalovírus</i>		

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos patogénicos^{10,11}

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay foi avaliado em relação à interferência na presença de organismos não alvo, utilizando os mesmos pools de organismos preparados para o teste de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 7*. O plasma negativo para BKV foi enriquecido com organismos agrupados em pools de 5–6 e também com BKV alvo a uma concentração de 4 log₁₀ UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença destes organismos comensais, tal como indicado pelo desvio mínimo de quantificação dos espécimes de controlo que não continham qualquer agente interferente.

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, substâncias endógenas e exógenas^{10,11}

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas nos espécimes clínicos de plasma/soro ou urina com BKV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos ou de urina, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 8*. Cada uma das substâncias foi adicionada a BaseMatrix 53 negativo para BKV analisado ou urina humana enriquecida com 3 log₁₀ UI/mL de BKV e as amostras foram analisadas em relação à interferência. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação às amostras de controlo enriquecidas com o mesmo nível de BKV são comunicadas na *Tabela 9*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabela 8: Teste de interferência – Agentes exógenos (classificação de medicamentos)

Pool	Nome do medicamento	Classificação
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednisona	IMUNOSSUPRESSOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaxima	ANTIBIÓTICO
	Micofenolato mofetil	IMUNOSSUPRESSOR
Pool 2	Vancomicina	ANTIBIÓTICO
	Tacrolimus	IMUNOSSUPRESSOR
	Famotidina	ANTAGONISTA DE HISTAMINA
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomida	IMUNOSSUPRESSOR

Tabela 9: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenos (plasma/soro)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Triglicéridos 500 mg/dL	3,09	0,16
Bilirrubina conjugada (0,25 g/L)	3,09	0,16
Bilirrubina não conjugada (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Albumina (58,7 g/L)	3,12	0,13
Hemoglobina (2,9 g/L)	3,02	0,23
Endógenos (urina)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Urobilinogénio (>2 mg/dL)	3,74	-0,09
Glicose (1000 mg/dL)	4,00	0,04
Urina pH 4	3,75	0,29
Urina pH 10	3,77	0,27
Leucócitos (1E5 células/mL)	3,68	-0,06
Sangue 7%	3,42	-0,32
Proteína (albumina >100 mg/dL)	3,96	0,08
Pó de talco	3,92	0,12
Exógenos (medicamentos)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Micofenolato mofetil	4,04	-0,06
Pool 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	4,07	-0,09

Repetibilidade e precisão intralaboratorial¹⁴

A precisão da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada testando 2 réplicas de um painel de 5 membros de espécimes de BKV preparados com plasmídeo de BKV duas vezes por dia, utilizando um NeuMoDx™ 96 System ao longo de 20 dias. Foram caracterizadas as precisões no dia e no ensaio e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo de $\leq 0,30$ log₁₀ UI/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente em todos os dias e ensaios, tal como é apresentado na *Tabela 10*. A precisão entre operadores não foi determinada, uma vez que o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx™ System.

Tabela 10: Precisão intralaboratorial – NeuMoDx BKV Quant Assay nos NeuMoDx Systems

Amostra	DP intradiário (log ₁₀ UI/mL)	DP entre dias (log ₁₀ UI/mL)	DP intraensaio (log ₁₀ UI/mL)	DP entre ensaios (log ₁₀ UI/mL)	DP intralaboratorial (log ₁₀ UI/mL)
Espécime de plasma/soro (entrada de 550 µl)					
RISppHIGH	0,10	0,08	0,10	0,01	0,13
RISppMIDDLE	0,14	0,10	0,11	0,06	0,17
RISppMLOW	0,22	0,12	0,21	0,02	0,25
RISppLOW	0,21	0,03	0,18	0,10	0,21
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina					
RISpuHIGH	0,16	0,10	0,11	0,12	0,20
RISpuMIDDLE	0,21	0,09	0,16	0,13	0,23
RISpuMLOW	0,14	0,12	0,13	0,02	0,18
RISpuLOW	0,29	0,05	0,25	0,13	0,30
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Reprodutibilidade de lote para lote¹⁴

A reprodutibilidade de lote para lote da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada utilizando três lotes diferentes de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Um painel de 5 membros de BKV preparado com plasmídeo de BKV foi utilizado para avaliar o desempenho num NeuMoDx™ 96 Molecular System em 3 ensaios individuais. A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados foram expressos como uma tendência de quantificação absoluta entre lotes, apresentada na *Tabela 11*. A tendência geral máxima foi de 0,27 log₁₀ UI/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância.

Tabela 11: Reprodutibilidade de lote para lote – NeuMoDx BKV Quant Assay

Amostra	Tendência absoluta entre o lote 1 e o lote 2 (log ₁₀ UI/mL)	Tendência absoluta entre o lote 1 e o lote 3 (log ₁₀ UI/mL)	Tendência absoluta entre o lote 2 e o lote 3 (log ₁₀ UI/mL)
Espécime de plasma/soro (550 µL)			
7 log ₁₀ UI/mL	0,05	0,10	0,05
4 log ₁₀ UI/mL	0,02	0,03	0,05
3 log ₁₀ UI/mL	0,20	0,05	0,15
2 log ₁₀ UI/mL	0,02	0,24	0,26
0 log ₁₀ UI/mL	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina (550 µL)			
7 log ₁₀ UI/mL	0,09	0,27	0,19
4 log ₁₀ UI/mL	0,25	0,06	0,19
3 log ₁₀ UI/mL	0,06	0,08	0,14
2 log ₁₀ UI/mL	0,03	0,11	0,14
0 log ₁₀ UI/mL	0,00	0,00	0,00

Reprodutibilidade de instrumento para instrumento¹⁴

A reprodutibilidade de instrumento para instrumento da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada utilizando três sistemas diferentes (dois NeuMoDx™ 288 Molecular Systems e um NeuMoDx™ 96 Molecular System). Foi utilizado um painel de 5 membros do BKV preparado com plasmídeo de BKV para avaliar o desempenho. O teste foi efetuado em paralelo nos sistemas durante 5 dias. Foram caracterizadas as variações no dia e entre sistemas e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo ≤0,30 log₁₀ UI/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre sistemas, uma vez que o DP na quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância (*Tabela 12*).

Tabela 12: Reprodutibilidade de instrumento para instrumento – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Amostra	DP da repetibilidade (log ₁₀ UI/mL)	DP entre dias (log ₁₀ UI/mL)	DP intrainstrumento (log ₁₀ UI/mL)	DP entre instrumentos (log ₁₀ UI/mL)	DP da reprodutibilidade (log ₁₀ UI/mL)
Espécime de plasma/soro (entrada de 550 µl)					
RISppHIGH	0,10	0,05	0,11	0,06	0,12
RISppMIDDLE	0,13	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppMLOW	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
RISppLOW	0,12	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Espécime de urina					
RISpuHIGH	0,11	0,05	0,12	0,06	0,14
RISpuMIDDLE	0,10	0,01	0,10	0,05	0,11
RISpuMLOW	0,09	0,04	0,10	0,07	0,12
RISpuLOW	0,15	0,02	0,15	0,05	0,16
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

REFERÊNCIAS

1. Ambalathingal R, Francis R S *et al.*. 2017. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev* 30(2):503-528.
2. Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. 2001 *Clin Infect Dis.* 15;33(2):191-202.
3. Navarro E, Serrano-Heras G *et al.*. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. *Clin Chim Acta.*15;439:231-50.
4. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
5. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
6. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
7. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
9. Sheila Govind, Jason Hockley, Clare Morris, Neil Almond, Collaborative Study Group. 2019. The Development and Establishment of the 1st WHO BKV International Standard for Nucleic Acid Based Techniques. *Biologicals*; 60:75-84.
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
13. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

MARCAS COMERCIAIS

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

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

STAT-NAT® é uma marca comercial registrada da SENTINEL CH. S.p.A.

Todos os outros nomes de produto, marcas comerciais e marcas comerciais registradas que possam ser referidos neste documento pertencem aos seus respectivos proprietários.

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Sujeito a receita médica
	Fabricante
	Distribuidor
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado, consultar a documentação fornecida
	Limites de temperatura
	Manter seco
	Não reutilizar
	Não expor à luz
	Contém o suficiente para <n> testes
	Prazo de validade



SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Milano, Italy

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
techsupport@neumodx.com

Relatórios de vigilância: www.neumodx.com/contact-us

Patente: www.neumodx.com/patents