

REF 201300 NeuMoDx™ HBV 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

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 HBV Quant Assay é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro* automatizado destinado à quantificação de DNA do vírus da hepatite B (HBV) em espécimes de plasma e soro humanos para genótipos A a H de HBV de indivíduos infectados com o HBV. O NeuMoDx HBV 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 (qPCR) em tempo real tendo como alvo sequências altamente conservadas do genoma viral da hepatite B.

O NeuMoDx HBV Quant Assay destina-se a ser usado como auxílio no tratamento de pacientes com infecções pelo HBV. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay devem ser interpretados dentro do contexto de todos os achados clínicos e laboratoriais relevantes. O NeuMoDx HBV Quant Assay não se destina a ser usado como um teste de triagem de sangue ou produtos sanguíneos nem como ferramenta de diagnóstico para diagnosticar o estado clínico da infecção pelo HBV.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Para a preparação do plasma, é possível usar sangue total humano coletado em tubos de coleta de sangue estéreis com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou ácido-citrato-dextrose (ACD) como agentes anticoagulantes ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), enquanto o soro deve ser coletado em tubos de coleta de soro ou tubos de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Na preparação para os testes, o plasma ou o soro em um tubo de espécime secundário ou o sangue fracionado em um tubo de espécime primário compatível com o NeuMoDx System é carregado no NeuMoDx System usando um transportador de tubos de espécime designado. Para cada espécime, uma alíquota da amostra de plasma ou soro 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 HBV na região altamente conservada que codifica a proteína X e a proteína preC). O NeuMoDx HBV 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 os processos de extração e amplificação.

O vírus da hepatite B (HBV) é o agente causador de infecção hepática por hepatite B e é um problema de saúde global. A hepatite B pode causar hepatite aguda ou pode evoluir para uma condição crônica, resultando em cirrose ou câncer de fígado. O risco de desenvolvimento de uma condição crônica está principalmente relacionado à idade; se o vírus for transmitido ao nascimento, há uma probabilidade > 90% de que uma condição crônica se desenvolva, enquanto um adulto infectado tem uma probabilidade de 2–6% de desenvolver uma condição crônica.¹ O HBV é transmitido por contato de sangue com uma pessoa infectada, por transmissão sexual, ao compartilhar agulhas com uma pessoa infectada no uso de drogas intravenosas ou por transmissão vertical da mãe para o bebê durante o parto. Nos Estados Unidos, aproximadamente 850.000 pessoas vivem com a infecção pelo HBV, com a maioria das novas infecções resultantes da transmissão sexual ou do uso de drogas injetáveis.² Na África e no Pacífico Ocidental, sabe-se que cerca de 5% da população está infectada. Em todo o mundo em 2015, a infecção pelo HBV causou 885.000 mortes, principalmente por cirrose ou carcinoma hepatocelular.³ Existe uma vacina que é 95% eficaz na prevenção da infecção pelo HBV, resultando assim em menos casos diagnosticados a cada ano.⁴

O atual padrão de prudência para tratar a infecção pelo HBV é a terapia antiviral, que requer um monitoramento constante para garantir que o tratamento progrida conforme desejado. O monitoramento da terapia usando o NeuMoDx HBV Quant Assay pode fornecer aos médicos as informações necessárias para ajudar a tratar os pacientes com infecções pelo HBV.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx HBV Quant Assay combina extração de DNA automatizada com amplificação e detecção por PCR em tempo real. Espécimes de sangue total são coletados em tubos com EDTA, ACD ou PPT para a preparação de plasma e/ou em tubos SST para a preparação de soro. O espécime de sangue primário (fracionado) ou uma alíquota de plasma/soro em um tubo de espécime secundário compatível é identificado com código de barras e colocado no NeuMoDx System. O NeuMoDx System aspira automaticamente uma alíquota do plasma/soro para misturar com NeuMoDx Lysis Buffer 1 e com os agentes contidos na NeuMoDx Extraction Plate para iniciar o processamento. O NeuMoDx System automatiza e integra extração e concentração de DNA, preparação de reagentes e amplificação/detecção de ácido nucleico das sequências-alvo usando PCR em tempo real. O controle de processo de amostras (Sample Process Control 1, SPC1) incluído ajuda a monitorar a presença de substâncias inibidoras e falhas de sistema, processos ou reagentes. Não é necessária qualquer intervenção do operador uma vez que o espécime estiver carregado no NeuMoDx System.

O NeuMoDx System usa uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para efetuar automaticamente a lise, a extração de DNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com ácido nucleico ligado, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os elementos não ligados são retirados por lavagem usando NeuMoDx Wash Reagent. O DNA ligado é, em seguida, eluído usando NeuMoDx Release Reagent. O NeuMoDx System usa o DNA eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados contendo todos os elementos necessários para a amplificação dos alvos específicos de HBV e SPC1. Isso permite a amplificação e a detecção simultâneas das sequências de DNA dos alvos e do controle. Após a reconstituição dos reagentes de PCR secos, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada pronta para PCR em uma câmara de PCR (por espécime) do NeuMoDx Cartridge. A amplificação e a detecção das sequências de DNA do controle e dos alvos (se presentes) ocorrem na câmara de PCR. O NeuMoDx Cartridge foi projetado para conter o amplicon decorrente da PCR em tempo real, eliminando praticamente o risco de contaminação pós-amplificação.

Os alvos amplificados são detectados em tempo real usando química de sondas de hidrólise (comumente chamada de química TaqMan®) com 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 está intacta, o fluoróforo e o supressor estão próximos, permitindo 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 sua proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a detecção do 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 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 DNA de HBV. 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]/NO RESULT [SEM RESULTADO]). Se um resultado for positivo e a concentração calculada estiver dentro dos limites de quantificação, o software do NeuMoDx System também fornece um valor quantitativo associado à amostra.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF.	Conteúdo	Unidades por embalagem	Testes por unidade	Testes por embalagem
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos contendo sonda e primers TaqMan específicos de HBV e SPC1</i>	6	16	96

Material necessário, mas não fornecido (disponibilizados separadamente pela NeuMoDx)

REF.	Conteúdo
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica e controles de processo de amostras secas</i>
800100 ou 800102	NeuMoDx HBV Calibrators <i>Conjuntos de uso único de calibradores altos e baixos de HBV para estabelecer a validade da curva de calibração</i>
900101 ou 900102	NeuMoDx HBV External Controls <i>Conjuntos de uso único de controles positivos e negativos</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Ponteiras Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Ponteiras Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros

Instrumentos necessários

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx HBV 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 HBV Calibrators) deve estar disponível antes que possam ser gerados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx HBV External Controls a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx HBV Quant Assay.

- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do processamento do volume de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar em um erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- O uso de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou além dos prazos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou errôneos.
- Evite 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 ao usar tubos secundários. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx Cartridge pós-amplificação. Sob nenhuma circunstância recolha os NeuMoDx Cartridges do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ou da lixeira de resíduos de risco biológico (NeuMoDx 96 Molecular System). O NeuMoDx Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Caso o laboratório também realize testes de PCR em tubo aberto, é necessário ter cuidado para garantir que a NeuMoDx HBV Quant Test Strip, os outros consumíveis e reagentes necessários para os testes, o equipamento de proteção individual, como luvas e jalecos, 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 HBV Quant Test Strip e 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.
- As fichas de dados de segurança (FDS) de cada reagente (conforme aplicável) estão disponíveis em www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lave muito bem as mãos após realizar o teste.
- Não pipete com a boca. Não fume, beba ou coma em áreas onde estão sendo manuseados espécimes ou reagentes.
- Sempre manuseie os espécimes como se fossem infecciosos e de acordo com procedimentos laboratoriais de segurança como os descritos na publicação *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ e no Documento M29-A4 do CLSI.⁶
- Descarte os reagentes não usados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Não reutilizar.



ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx HBV Quant Test Strips permanecem estáveis em sua embalagem primária até a data de validade indicada no rótulo do produto quando armazenadas a uma temperatura entre 4 e 28 °C.
- Não use consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não use qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária apresentar danos visíveis.
- Não carregue novamente nenhum produto de teste que tenha sido carregado anteriormente em outro NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx HBV Quant Test Strip pode permanecer dentro do NeuMoDx System por 62 dias. A vida útil restante das tiras de teste carregadas é controlada pelo software e informada ao usuário em tempo real. O sistema solicitará a remoção das tiras de teste que tiverem sido usadas além do prazo permitido.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes, calibradores e controles 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 de preparo e armazenamento do fabricante do tubo de coleta de espécimes.
4. Para preparar espécimes de soro, o sangue total deve ser coletado em tubos SST. Siga as instruções de preparo e armazenamento do fabricante do tubo de coleta de espécimes.
5. Os espécimes podem ser testados em tubos de coleta primários ou tubos de espécime secundários. Recomendado para testes em tubos primários:
 - a. Espécimes de plasma: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) ou BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Espécimes de soro: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) ou BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Os espécimes preparados podem ser armazenados no NeuMoDx System por até 8 horas para plasma e 24 horas para soro 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 preparados devem ser armazenados entre 2 e 8 °C por no máximo 7 dias antes dos testes e por no máximo 8 horas para plasma e 24 horas para soro à temperatura ambiente.

8. Os espécimes preparados podem ser armazenados a ≤ -20 °C por até 4 semanas (soro) ou 6 meses (plasma) antes do processamento; os espécimes congelados não devem ser submetidos a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento para plasma e 4 ciclos de congelamento/descongelamento para soro 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 24 horas.
 - c. Não é recomendável congelar o plasma/soro em tubos de coleta primários.
9. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
10. Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de HBV.
11. Avance para a seção *Preparação para teste*.

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

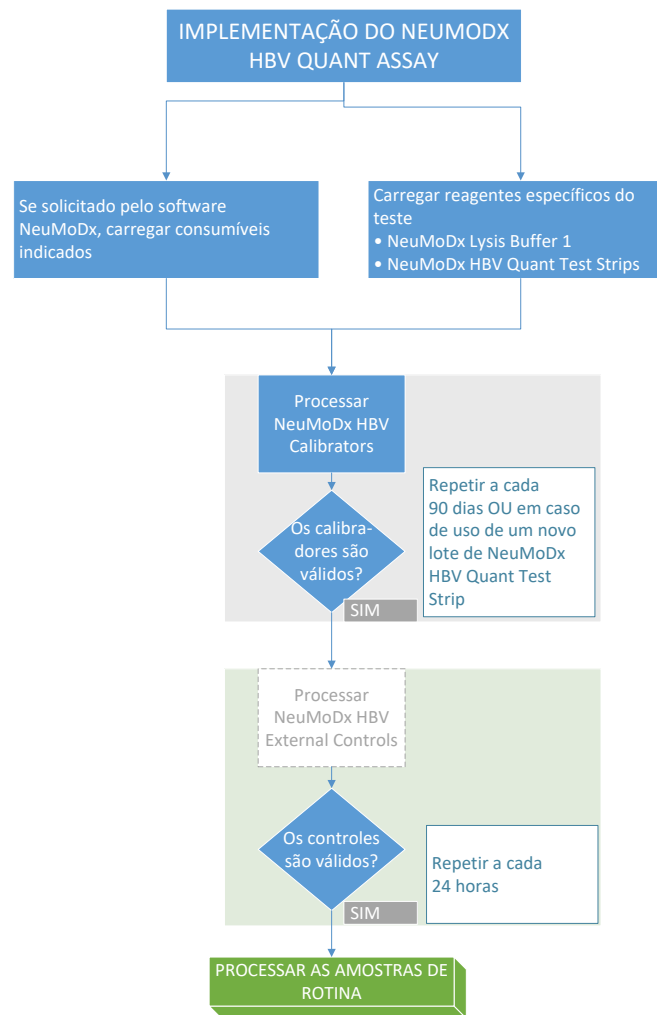


Figura 1: Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx HBV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação para teste

O NeuMoDx HBV Quant Assay pode ser executado diretamente a partir de tubos de coleta de sangue primários ou de alíquotas de espécime em tubos secundários. O processamento pode ser executado usando um dos dois fluxos de trabalho de processamento de volumes de espécimes: fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL ou fluxo de trabalho de processamento de espécime de 200 µL. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime em um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System. O tubo de coleta de sangue primário pode ser etiquetado e colocado diretamente em um transportador de tubos de espécime de 32 tubos após centrifugação, conforme orientação do fabricante. Alternativamente, uma alíquota do plasma/soro pode ser transferida para um tubo secundário para processamento no NeuMoDx System.
2. Se estiver testando o espécime no tubo de coleta primário, coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover a tampa antes de carregar no NeuMoDx System. Os volumes mínimos *acima* da camada de gel/leucoplaquetária são definidos abaixo e serão atendidos se os espécimes forem coletados e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. O desempenho não é garantido para espécimes coletados inadequadamente.

Tipo de tubo	Volume mínimo de espécime necessário	
	Fluxo de trabalho de 550 µL	Fluxo de trabalho de 200 µL
SST – 3,5 mL	1550 µL	1200 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1450 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2200 µL
K ₂ EDTA/Soro – 4,0 mL	1050 µL	700 µL
K ₂ EDTA/Soro – 6,0 mL	1250 µL	900 µL
K ₂ EDTA/Soro – 10,0 mL	1600 µL	1250 µL

3. Se estiver usando um tubo secundário, transfira uma alíquota do plasma/soro 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 200 µL
Transportador de tubos de espécime de 32 tubos	11–14 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	700 µL	400 µL
Transportador de tubos de espécime de 24 tubos	14,5–18 mm de diâmetro por 60–120 mm de altura	1100 µL	800 µL
Transportador de tubos de espécime de baixo volume	Tubo para microcentrifuga com fundo cônico de 1,5 mL	650 µL	300 µL

Operação dos NeuMoDx Systems

Para obter instruções detalhadas, consulte os Manuais do operador dos NeuMoDx 288 e 96 Molecular Systems (nº de ref. 40600108 e 40600317)

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o fluxo de trabalho de volume de processamento de espécime e o tipo de tubo de espécime desejados:
 - O volume de espécime de 550 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma**" (Plasma) ou "**Serum**" (Soro)
 - O volume de espécime de 200 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma2**" (Plasma 2) ou "**Serum2**" (Soro 2)
 - Se não estiver definido no pedido de teste, o tipo de espécime **Plasma** (Plasma) em um **Secondary Tube** (Tubo secundário) será usado como padrão
2. Preencha um ou mais NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) com NeuMoDx HBV Quant Test Strip(s) e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.

3. 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.
4. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, reponha NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent e esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiros (somente NeuMoDx 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (somente NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
5. Se solicitado pelo software do NeuMoDx System, processe NeuMoDx HBV Calibrators e/ou NeuMoDx HBV External Controls. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
6. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controle em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de remover as tampas de todos os tubos.
7. Coloque o(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira de autocarregamento e use a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System. Isso iniciará o processamento dos espécimes carregados para os testes identificados, desde que haja um pedido de teste válido no sistema.

LIMITAÇÕES

1. A NeuMoDx HBV Quant Test Strip somente pode ser usada em NeuMoDx Systems.
2. O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados com EDTA/ACD como anticoagulantes ou espécimes de soro preparados em tubos separadores de soro. O uso da NeuMoDx HBV Quant Test Strip com outras fontes não foi avaliado e as características de desempenho são desconhecidas com outros tipos de espécime.
3. O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi estabelecido para testes em tubos primários usando BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube e BD Vacutainer SST Tube.
4. Um pequeno aumento no limite de detecção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay foi observado ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.
5. O NeuMoDx HBV Quant Assay somente é usado para fins de monitoramento quantitativo. Ele não deve ser usado para detecção qualitativa.
6. O NeuMoDx HBV Quant Assay não deve ser usado com amostras humanas heparinizadas.
7. Visto que a detecção de HBV depende do número de partículas de DNA-alvo presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
8. Os NeuMoDx HBV Calibrators e os NeuMoDx HBV External Controls devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos quando solicitado pelo software do NeuMoDx System antes do processamento de amostras clínicas de rotina.
9. Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou confusão com os 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 HBV Quant Assay.
10. A operação do NeuMoDx System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx System.
11. Se ambos os alvos de HBV e de SPC1 não forem amplificados, é relatado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sem resultado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
12. Se o resultado do NeuMoDx HBV Quant Assay for Positivo (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx System relatará se o HBV detectado estava *abaixo* do limite inferior de quantificação (LlDQ) ou *acima* do limite superior de quantificação (LsDQ).
13. Se o HBV detectado estiver *abaixo* do LlDQ, o ensaio pode ser repetido (se desejado) com outra alíquota do espécime.
14. Se o HBV detectado estiver acima do LsDQ, o NeuMoDx HBV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:1.000 em plasma negativo para HBV ou Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:

$$\text{concentração do espécime original} = \log_{10}(\text{fator de diluição}) + \text{concentração relatada da amostra diluída}.$$
15. A presença ocasional de inibidores de PCR no plasma pode resultar em um erro de quantificação do sistema. Se isso ocorrer, é recomendado repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
16. Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo pressupõe a presença de DNA do vírus da hepatite B.
17. Exclusões ou mutações nas regiões conservadas que são alvo do NeuMoDx HBV Quant Assay podem afetar a detecção ou levar a um resultado errôneo usando a NeuMoDx HBV Quant Test Strip.

18. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay devem ser usados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o ensaio não se destina a diagnosticar infecção.
19. 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 HBV 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 HBV (HBV Assay Definition File, HBV ADF) da NeuMoDx. Um resultado pode ser relatado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de HBV relatada, Positive (Positivo) acima do L_{SdQ}, Positive (Positivo) abaixo do L_{IdQ}, Indeterminate (Indeterminado, IND), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou No Result (Sem resultado, NR), 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 do ADF, resumido abaixo na *Tabela 1*.

Tabela 1: Resumo do algoritmo de decisão do HBV Quant Assay

RESULTADO	Alvo de HBV	Controle de processo de amostras (SPC1)	Interpretação do resultado
Positive (Positivo) com concentração relatada	Amplified (Amplificado) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 200 μL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HBV detectado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) acima do L_{SdQ}	Amplified (Amplificado) [HBV] > 9,0 $\log_{10} \text{ UI/mL}$	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HBV detectado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo) abaixo do L_{IdQ}	Amplified (Amplificado) [HBV] < 0,9 $\log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 550 μL) [HBV] < 1,4 $\log_{10} \text{ UI/mL}$ (fluxo de trabalho de 200 μL)	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA do HBV detectado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	DNA do HBV não detectado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra concluído)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†
No Result* (Sem resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Não amplificado, Erro de sistema detectado, Processamento da amostra cancelado)		O processamento da amostra foi cancelado; testar novamente a amostra†
Unresolved (Não resolvido)	Not Amplified, No System Error Detected (Não amplificado, Nenhum erro de sistema detectado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

*O sinalizador No Result (Sem resultado) somente é relatado nas versões 1.8 e superiores do software do NeuMoDx System.

†O NeuMoDx System está equipado com capacidade de reexecução/repetição automática que o usuário final pode escolher usar para garantir que um resultado IND (Indeterminado)/UNR (Não resolvido)/NR (Sem resultado) seja reprocessado automaticamente para minimizar atrasos no relato de resultados.

Cálculo do teste

1. Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay, a concentração de DNA do HBV nas amostras é calculada usando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - a. Um coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx HBV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão de um determinado lote da NeuMoDx HBV Quant Test Strip em um NeuMoDx System específico.
 - b. O coeficiente de calibração é integrado na determinação final da concentração de DNA do HBV.
 - c. O software do NeuMoDx System considera o volume de entrada de espécime ao determinar a concentração de DNA do HBV por mL de espécime.
2. Os resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay são relatados em $\log_{10} \text{ UI/mL}$.
3. A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 4º Padrão Internacional da OMS para HBV.

Calibração de teste

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

Calibradores

1. É necessário processar um conjunto de NeuMoDx HBV Calibrators com cada novo lote de NeuMoDx HBV Quant Test Strips, se um novo arquivo de definições de ensaio de HBV 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.
2. O software do NeuMoDx System notificará o usuário quando os calibradores precisarem ser processados. Não é possível usar um novo lote de tiras de teste para testes até que os calibradores tenham sido processados com sucesso.
3. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a) É necessário processar um conjunto de dois calibradores, um (1) alto e um (1) baixo, para estabelecer a validade.
 - b) Pelo menos duas (2) das três (3) réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de $3,7 \log_{10}$ UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de $5,7 \log_{10}$ UI/mL.
 - c) É calculado um coeficiente de calibração para levar em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste. Este coeficiente de calibração é usado na determinação da concentração final do HBV.
4. 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.
5. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a validação consecutivamente, 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. É necessário processar controles externos positivos e negativos a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx HBV Quant Assay. Se não houver um conjunto de resultados de controles externos válido, o software do NeuMoDx System solicitará que o usuário processe os controles antes de ser possível relatar resultados de amostras.
2. 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 HBV e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para HBV.
3. 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, ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado, IND) ou No Result (Sem resultado, NR), repita os NeuMoDx HBV External Controls com novos frascos do(s) controle(s) que falharam o teste de validação.
 - d) Se o NeuMoDx HBV External Control positivo continuar relatando um resultado Negative (Negativo), entre em contato com a assistência técnica da NeuMoDx.
 - e) Se o NeuMoDx HBV 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 a assistência técnica 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 HBV Quant Test Strip, que permitem a detecção do SPC1 com o DNA-alvo do HBV (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 HBV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido após a conclusão do processamento de amostras, ele será relatado como Indeterminate (Indeterminado, IND), No Result (Sem resultado, NR) 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 HBV na ausência de erros de sistema, o que indica uma possível falha de reagentes ou a presença de inibidores. Caso um resultado UNR (Não resolvido) seja relatado, um primeiro passo recomendável é repetir o teste. Se a repetição do teste falhar, é possível usar uma diluição do espécime para mitigar os efeitos de qualquer inibição da amostra.

Se um NeuMoDx HBV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não gerar um resultado válido e o processamento de amostras for cancelado antes da conclusão, ele será relatado como No Result (Sem resultado, NR). Caso seja relatado um resultado NR (Sem resultado), é recomendável repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de detecção usando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx HBV Quant Assay foi caracterizada através da testagem de espécimes negativos e uma série de diluições do 4º Padrão Internacional da OMS em plasma e soro humanos negativos triados 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. Os estudos foram realizados ao longo de 3 dias em vários NeuMoDx Systems com vários lotes de reagentes NeuMoDx. Foi realizado um estudo adicional para confirmar o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL. As taxas de detecção de ambos os estudos são apresentadas na *Tabela 2*.

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

	Concentração de alvo [UI/mL]	Concentração de alvo [\log_{10} UI/mL]	PLASMA			SORO		
			Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de detecção
550 µL	20	1,30	108	108	100%	107	107	100%
	10	1	108	107	99%	108	104	96%
	5	0,70	108	98	91%	108	95	88%
	2,5	0,40	108	97	90%	108	72	67%
	1,25	0,10	108	73	68%	108	44	42%
	NEG	N/A	108	0	0%	107	0	0%
200 µL	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

Determinou-se que o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay para o Genótipo A do HBV (4º Padrão Internacional da OMS) em plasma é de 5,2 UI/mL (IC de 95% de 4,1–7,6 UI/mL) [(0,72 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% de 0,61–0,88 \log_{10} UI/mL)] usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL (*Figura 2*). Determinou-se que o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de soro é de 8,0 UI/mL (IC de 95% de 6,5–10,8 UI/mL) [(0,9 \log_{10} UI/mL) (IC de 95% de 0,8–1,0 \log_{10} UI/mL)] usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL (*Figura 2*).

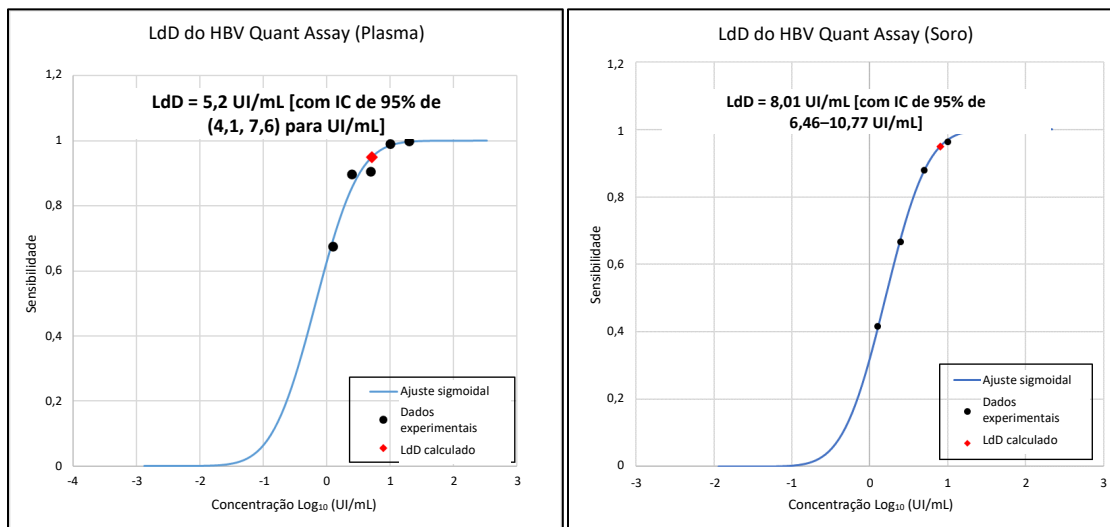


Figura 2: Análise Probit usada para determinar o LdD do NeuMoDx HBV Quant Assay; plasma (à esquerda) e soro (à direita)

Sensibilidade analítica – Limite de quantificação – Limite inferior de quantificação (LidQ) usando o padrão da OMS

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 HBV 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 HBV usados no estudo de LidQ usando o 4º Padrão Internacional da OMS são apresentados na *Tabela 3*. Determinou-se que o LidQ para o 4º Padrão Internacional da OMS em plasma usando o NeuMoDx HBV Quant Assay (fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL) é de 5,5 UI/mL (0,74 log₁₀ UI/mL). Foi realizado um estudo separado para confirmar o LidQ ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL e esses resultados demonstraram um LidQ de 25 UI/mL, que também é apresentado na *Tabela 3*.

Determinou-se que o LidQ do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de soro é de 6,0 UI/mL usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL e 25 UI/mL para o fluxo de trabalho de volume de espécime de baixo volume (200 µL), conforme apresentado na *Tabela 3*.

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

	Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [log ₁₀ UI/mL]	Plasma				Soro					
			Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE	Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
550 µL	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 µL	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Sensibilidade analítica – LdD e LidQ entre genótipos do HBV

O LdD foi inicialmente estabelecido para o Genótipo A (4º Padrão Internacional da OMS) e depois foram realizados testes adicionais em torno do LdD estabelecido usando cada um dos outros 7 genótipos. Foram testadas trinta e seis (36) réplicas em níveis correspondentes a 2X, 1X e 0,5X o limite superior do IC de 95% do LdD (~7 UI/mL) com o NeuMoDx HBV Quant Assay usando plasma com o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL. A taxa de porcentagem positiva para cada genótipo em cada um desses níveis testados foi tabelada e usada para calcular o LdD usando uma análise Probit.

O erro analítico total nesses níveis testados também foi calculado. O nível mais baixo com detecção positiva de 95% e TAE calculado de ≤ 1,0 foi novamente considerado o LidQ para o genótipo. Entre genótipos, determinou-se que o limite de detecção do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de plasma usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL é de 6,2 UI/mL (0,79 log₁₀ UI/mL) e que o LidQ é de 7,6 UI/mL (0,88 log₁₀ UI/mL), conforme apresentado na *Tabela 4*.

Tabela 4. Genótipos do HBV testados em plasma usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL

GENÓTIPO	LdD [UI/mL]	LidQ [UI/mL]
Genótipo A	5,2	5,2
Genótipo B	6,2	6,2
Genótipo C	3,5	6,2
Genótipo D	5,2	5,7
Genótipo E	3,5	3,5
Genótipo F	5,1	6,2
Genótipo G	3,5	3,5
Genótipo H	5,2	7,6

Com base nos resultados desses estudos, a NeuMoDx declara que o NeuMoDx HBV Quant Assay em **plasma e soro** tem um **LdD e LidQ de 25 UI/mL (1,4 log₁₀ UI/mL)** usando o **fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL**.

A NeuMoDx declara que o NeuMoDx HBV Quant Assay em **plasma e soro** tem um **LdD e LidQ de 8,0 UI/mL (0,9 log₁₀ UI/mL)** usando o **fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL**.

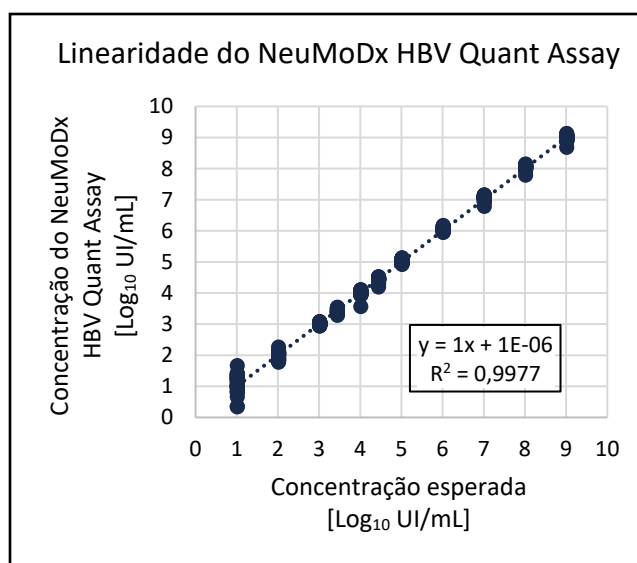
Sensibilidade analítica – Linearidade e determinação do limite superior de quantificação (LSdQ)

A linearidade e o limite superior de quantificação (LSdQ) do NeuMoDx HBV Quant Assay foram estabelecidos em plasma preparando uma série de diluições usando uma amostra clínica de HBV alta positiva (Access Biologicals, Vista, CA) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 4º Padrão Internacional da OMS. Um painel de 11 membros foi preparado em plasma negativo para HBV agrupado em pools a fim de criar um painel de testes que abrangesse um intervalo de concentração de 9,02–1,02 log₁₀ UI/mL. O painel de testes foi processado com 6 réplicas em cada nível em 2 NeuMoDx Systems e 3 lotes de reagentes críticos. O NeuMoDx HBV Quant Assay demonstrou a capacidade de quantificar o HBV no intervalo linear de 8 log₁₀ (incluindo pontos críticos de decisão médica) com um desvio de ±0,22 log₁₀ UI/mL. Não foram obtidos benefícios significativos usando ajustes de regressão de 2ª e 3ª ordem. Determinou-se que o LSdQ usando os dados deste estudo é de 9,02 log₁₀ UI/mL [*Tabela 5 e Figura 3*].

Tabela 5: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay (avaliada com o Genótipo A)

Conc. de alvo (UI/mL)	Conc. de alvo (log ₁₀ UI/mL)	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Desvio padrão	Tendência	Ajuste linear previsto	Desvio em relação ao ajuste não linear
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05E+06*	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

*Pontos próximos do LdD de decisão médica


Figura 3: Intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay em plasma

Foi realizado um estudo subsequente para demonstrar a equivalência de matriz e a análise comparou os resultados quantitativos de HBV da NeuMoDx para amostras preparadas em plasma e soro usando dois modelos de ajuste de regressão diferentes, incluindo a ferramenta de regressão do MS Excel e Passing-Bablok. Os resultados mostraram uma forte correlação representada por valores de declive e interseção muito próximos a 1,00 e 0,00 respectivamente e um valor de R² de 0,99 (ferramenta de regressão do MS Excel) ou um valor p de 0,270 (Passing-Bablok). As concentrações do HBV Quant Assay relatadas pelo NeuMoDx System para a matriz de plasma em comparação com amostras de soro correspondentes são apresentadas na *Figura 4*.

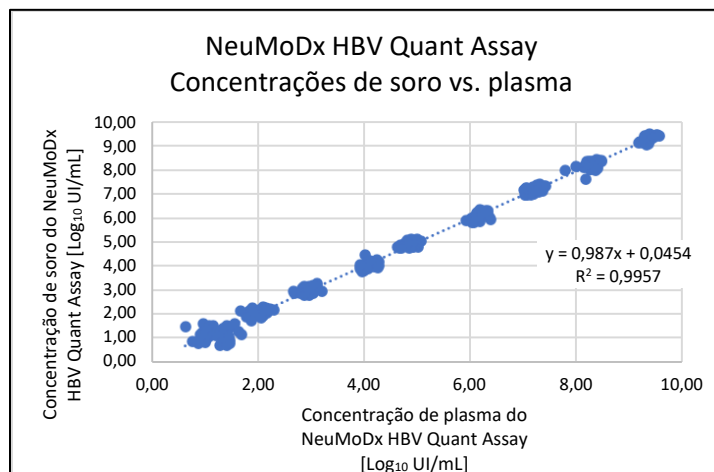


Figura 4: Intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay entre matrizes

A linearidade e o LSdQ foram então confirmados para o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL em um intervalo de 9,31–1,71 log₁₀ UI/mL. Foram realizadas comparações de equivalência entre as concentrações relatadas pelo software do NeuMoDx para os fluxos de trabalho de 200 µL e 550 µL. As análises de regressão de Deming e de Passing-Bablok demonstraram uma excelente correlação e um declive próximo a 1 e intercepções mínimas (tendência) das concentrações relatadas para amostras de plasma e soro em todo o intervalo linear. Uma comparação de Bland e Altman da concentração relatada para o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL com a concentração média relatada para os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL demonstrou uma tendência mínima, atribuindo exatidão ao algoritmo usado para gerar resultados do fluxo de trabalho de 200 µL. Além disso, uma regressão linear simples comparando a concentração esperada com a concentração relatada para o fluxo de trabalho de 200 µL apresentou um declive próximo a 1, demonstrando excelente correlação [Figura 5]. Juntas, essas comparações demonstram quantificação exata do HBV em todo o intervalo linear do NeuMoDx HBV Quant Assay usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL.

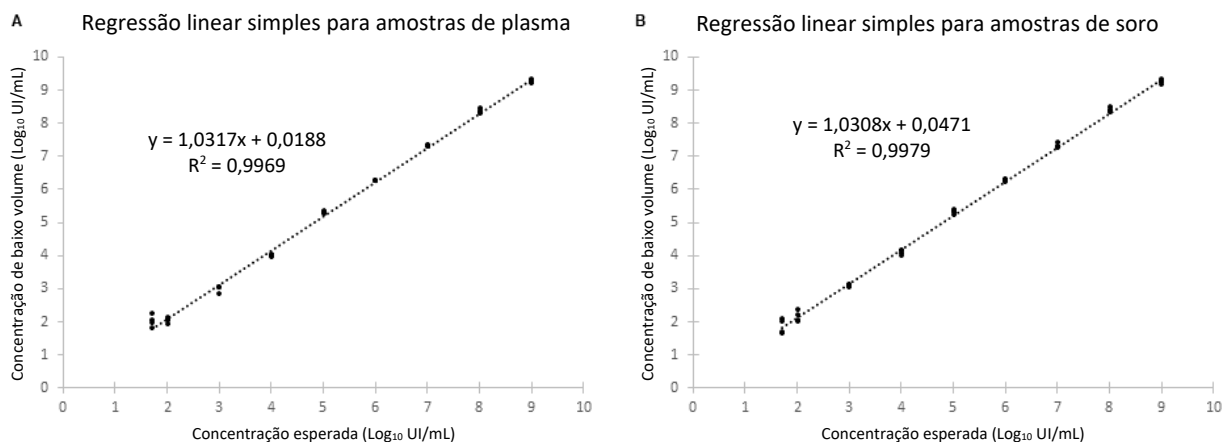


Figura 5: Relação linear entre as concentrações esperadas e relatadas pela NeuMoDx para o fluxo de trabalho de 200 µL em a) plasma e b) soro

Linearidade entre genótipos

A linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay em espécimes de plasma para os genótipos do HBV foi caracterizada testando pelo menos quatro (4) concentrações diferentes de cada genótipo do HBV preparadas em plasma negativo para HBV agrupado em pools. Os níveis testados de alvo do HBV neste estudo dependiam da concentração do espécime original e, portanto, variavam entre os diferentes genótipos. O estudo foi realizado com cada genótipo usando 6 réplicas em cada nível. A linearidade entre os genótipos do HBV é apresentada na Tabela 6 e na Figura 6.

Tabela 6: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay entre genótipos

Genótipo	Equação de linearidade y = Quantificação do NeuMoDx HBV Quant Assay x = Quantificação esperada	R ²
A	$y = 1x + 1E-06$	0,9977
B	$y = 1,0129x - 0,0964$	0,9975
C	$y = 1,0250x - 0,0898$	0,998
D	$y = 1,0379x - 0,0896$	0,9975
E	$y = 1,0182x - 0,096$	0,9956
F	$y = 0,9736x + 0,276$	0,9906
G	$y = 1,0547x - 0,0835$	0,9813

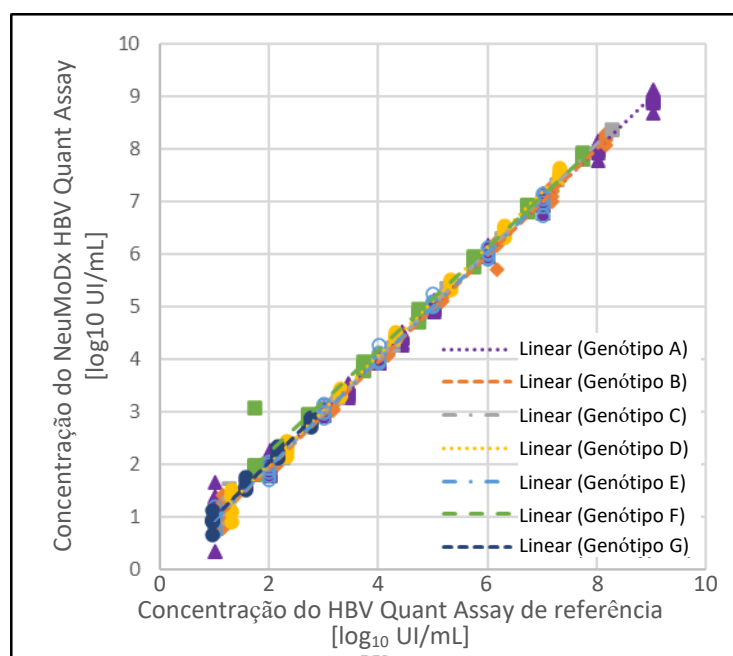


Figura 6: Linearidade do NeuMoDx HBV Quant Assay entre genótipos

Especificidade analítica e reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 32 organismos normalmente encontrados em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao HBV quanto a reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 4 e 6 organismos e testados em alta concentração. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 7*. Não foi observada reatividade cruzada com nenhum dos organismos testados, confirmando a especificidade analítica de 100% do NeuMoDx HBV Quant Assay.

Tabela 7: Patógenos usados para demonstrar a especificidade analítica – Reatividade cruzada

Adenovírus 2	Dengue V1	Hepatite A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Febre amarela
Adenovírus 5	Dengue V2	Hepatite C	HPV 18	Influenza A	Vírus Zika
Vírus Banzi	Dengue V3	Vírus herpes humano 6a	HSV1	Parvo B19	
Vírus BK	Dengue V4	Vírus herpes humano 8	HSV 2	Rubéola	
Citomegalovírus	Vírus Epstein-Barr	HIV 1	HTLV 1	Encefalite de St. Louis	
VZV	Vírus Vaccinia	HIV 2	HTLV 2	Vírus do Nilo Ocidental	

Substâncias interferentes – Organismos comensais

O NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo usando os mesmos pools de organismos que os preparados para testar a especificidade analítica. Os organismos foram testados individualmente ou agrupados em pools de 4–6 organismos em plasma negativo para HBV analisado e misturados com controles de HBV a uma concentração de 3,7 log₁₀ 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 [Tabela 8].

Tabela 8: Testes de interferência – Organismos comensais

Organismos não alvo	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Grupo 1 [Vírus BK, citomegalovírus, vírus Epstein-Barr, vírus herpes humano 6a, vírus herpes humano 8]	3,51	0,10
Grupo 2 [Adenovírus 2, adenovírus 5, dengue V2, dengue V3, dengue V4]	3,38	0,22
Grupo 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), febre amarela, vírus Zika]	3,62	0,06
Grupo 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, dengue V1]	3,57	0,04
Grupo 5 [Encefalite de St. Louis, VZV, vírus Vaccinia, vírus do Nilo Ocidental]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Vírus Banzi	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubéola	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Substâncias interferentes – Substâncias endógenas e exógenas

O desempenho da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi avaliado na presença de substâncias interferentes exógenas e endógenas tipicamente encontradas em espécimes clínicos de plasma de HBV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 9*. Cada uma das substâncias endógenas e exógenas listadas abaixo na *Tabela 10* foi adicionada a plasma humano triado negativo para HBV misturado com 3,7 log₁₀ UI/mL de HBV e os dados foram observados quanto a interferência. Além disso, foi também analisado plasma em estado de doença comum associada a infecção por hepatite B quanto a possível interferência.

Tabela 9: Testes de interferência – Agentes exógenos (classificações de medicamentos)

Pool	Medicamento	Classificação
1	Zidovudina (ZDV)	Inibidor da transcriptase reversa
	Saquinavir	Inibidor da protease do HIV
	Ritonavir	Inibidor da protease do HIV
	Claritromicina	Antibiótico
	Interferon alfa-2a	Modulador imunológico
	Interferon alfa-2b	Modulador imunológico
2	Sulfato de abacavir	Inibidor da transcriptase reversa
	Amprenavir	Inibidor de protease
	Ribavirin	Modulador imunológico
	Entecavir	Antiviral contra o HBV
	Fluoxetina	Antidepressivo SSRI
	Cloridrato de valaciclovir	Antiviral
3	Tenofovir desoproxila	Antiviral contra o HBV/HIV
	Lamivudina	Antiviral contra o HBV/HIV
	Ganciclovir	Antiviral contra o CMV
	Valganciclovir	Antiviral contra o CMV
	Nevirapina	Inibidor da transcriptase reversa
4	Efavirenz	Inibidor da transcriptase reversa
	Lopinavir	Inibidor de protease
	Enfuvirtida	Inibidor da fusão do HIV
	Ciprofloxacino	Antibiótico
	Paroxetina	Antidepressivo SSRI
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azitromicina	Antibiótico
	Sulfato de indinavir	Inibidor da protease do HIV
	Sertralina	Antidepressivo SSRI

Tabela 10: Testes de interferência – Agentes exógenos e endógenos

Endógenos	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Hemoglobina	3,50	0,20
Triglicérides	3,51	0,09
Bilirrubina	3,56	0,13
Albumina	3,51	0,17
Exógenos (Medicamentos)	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Pool 1: Zidovudina (ZDV), saquinavir, ritonavir, claritromicina, interferon alfa-2a, interferon alfa-2b	3,58	0,08
Pool 2: Sulfato de abacavir, amprenavir, ribavirina, entecavir, fluoxetina, cloridrato de valaciclovir	3,56	0,04
Pool 3: Tenofovir desoproxila, lamivudina, ganciclovir, valganciclovir, nevirapina	3,59	0,06
Pool 4: Efavirenz, lopinavir, enfuvirtida, ciprofloxacina, paroxetina,	3,60	0,07
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), azitromicina, sulfato de indinavir, sertralina	3,56	0,19
Estado de doença	Conc. média (log ₁₀ UI/mL)	Tendência (log ₁₀ UI/mL)
Anticorpo antinuclear (AAN)	3,61	0,10
Lúpus eritematoso sistêmico (LES)	3,63	0,10
Artrite reumatoide (AR)	3,57	0,09
Anticorpos contra o HCV	3,58	0,07
Anticorpos contra o HBV	3,64	0,11
Cirrose alcoólica	3,68	0,15
Fator reumatoide (FR)	3,63	0,10
Esteatohepatite não alcoólica (EHNA)	3,49	0,06

Precisão intralaboratorial

A precisão da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi determinada com a testagem de um painel de 8 membros de espécimes de HBV abrangendo os genótipos A e C usando três NeuMoDx Systems por 12 dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema, e o desvio-padrão global foi determinado como sendo $\leq 0,22 \log_{10} \text{ UI/mL}$. A precisão entre operadores não foi determinada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx System. Os resultados da precisão intralaboratorial são apresentados na *Tabela 11*.

Tabela 11: Resultados do estudo de precisão intralaboratorial

MEMBRO DO PAINEL	CONC. DE ALVO [Log ₁₀ UI/mL]	CONC. MÉDIA [Log ₁₀ UI/mL]	N	Tendência	DP intraensaio	DP intradário	DP intrassistema	DP global
Genótipo A	7,75	7,89	36	0,14	0,06	0,07	0,07	0,07
	5,75	5,83	36	0,11	0,07	0,10	0,10	0,10
	3,75	3,70	36	0,11	0,11	0,13	0,15	0,15
	1,75	1,54	36	0,23	0,16	0,22	0,22	0,22
Genótipo C	6,27	6,23	36	0,10	0,08	0,09	0,10	0,10
	4,27	4,18	36	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10
	3,27	3,14	36	0,09	0,08	0,12	0,12	0,12
	2,27	2,08	36	0,12	0,12	0,15	0,16	0,16

Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade lote a lote da NeuMoDx HBV Quant Test Strip foi determinada usando três lotes diferentes dos principais reagentes – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate e NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Um painel de 8 membros dos genótipos A e C do HBV foi usado para avaliar o desempenho. Os testes foram realizados usando três lotes dos reagentes em três NeuMoDx Systems ao longo de 6 dias. Foi analisada a variação intralote e entre lotes. A tendência global máxima foi de 0,12 log₁₀ UI/mL e o DP global máximo foi de 0,24 log₁₀ UI/mL. Não foram encontradas diferenças significativas no desempenho entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel estava dentro das especificações de tolerância. Os resultados da reprodutibilidade lote a lote são apresentados abaixo na *Tabela 12*.

Tabela 12: Resultados do estudo de reprodutibilidade lote a lote

MEMBRO DO PAINEL	CONC. DE ALVO [log ₁₀ UI/mL]	CONC. MÉDIA [log ₁₀ UI/mL]	N	Tendência	DP intralote	DP entre lotes	DP global
Genótipo A	8,02	7,99	36	0,03	0,15	0,09	0,17
	6,02	5,96	36	0,06	0,17	0,06	0,18
	4,02	3,90	36	0,12	0,14	0,09	0,17
	2,02	1,92	36	0,10	0,21	0,12	0,24
Genótipo C	6,27	6,32	36	0,05	0,06	0,08	0,10
	4,27	4,31	36	0,04	0,22	0,09	0,24
	3,27	3,30	36	0,03	0,20	0,07	0,21
	2,27	2,32	36	0,05	0,13	0,13	0,18

Eficácia do controle

A eficácia do SPC1 incluído no NeuMoDx HBV Quant Assay para relatar quaisquer falhas nas etapas do processo ou inibição que afete o desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliada usando dois genótipos comuns do HBV (A e C). As condições testadas são 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. A eficácia do SPC1 foi avaliada pela simulação de tais condições de falha. As ineficiências do processo que tiveram um efeito adverso na detecção/quantificação do HBV foram refletidas pelo desempenho do alvo de SPC1 (presença de inibidor e ausência de etapa de lavagem). Para as condições sob as quais a amplificação do SPC1 não foi afetada, também foi demonstrado que o alvo do HBV foi amplificado dentro de uma quantificação relatada de 0,2 log₁₀ UI/mL das amostras de controle.

Tabela 13: Eficácia do controle de processo de amostras

Falha nas etapas do processo testada	Estado de amplificação do controle de processo de amostras	Estado de amplificação do alvo de HBV	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 0,2 Log ₁₀ UI/mL do controle

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada do NeuMoDx HBV Quant Assay foi determinada testando três conjuntos de espécimes de HBV incluindo espécimes alto positivos e negativos alternados. No total, isso envolveu a testagem de 144 réplicas de um espécime de plasma humano com EDTA normal e negativo para HBV e de 144 réplicas de um espécime de HBV de alto título a 8,0 log₁₀ UI/mL. Todas as 144 réplicas do espécime negativo foram 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 resultados equivalentes com espécimes de plasma coletados em tubos de coleta com ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e com ácido-citrato-dextrose (ACD). Além disso, foram realizados testes para demonstrar a equivalência entre espécimes frescos e congelados. Foram coletados quarenta espécimes de doadores individuais, provenientes da BioIVT, em tubos de coleta com EDTA e com ACD. Essas amostras frescas foram misturadas com quatro níveis do genótipo A ou C do HBV e testadas quanto a equivalência. As amostras foram então congeladas por um mínimo de 24 horas, descongeladas e novamente testadas. Foi demonstrada excelente equivalência entre espécimes frescos e congelados e os espécimes com EDTA e com ACD por meio de análise de regressão.

Tabela 14: Análise de regressão dos resultados de equivalência entre espécimes

Parâmetro [critérios de aceitação]	Frescos vs congelados	ACD vs K2EDTA
Declive [0,9–1,1]	1,002	0,996
Interseção [$< 0,5$]	-0,031	0,018
Coefficiente de determinação [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Foram realizados testes adicionais para demonstrar a equivalência do desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay usando espécimes em tubos de coleta primários vs secundários. Foram processados primeiro painéis de espécimes de doadores negativos para HBV misturados com alvo de HBV (AccuPlex™ HBV Control) a partir dos tubos de espécime primários. O plasma remanescente de cada espécime foi aliquoteado em um tubo de espécime secundário e reprocessado. Não foram encontradas diferenças significativas nos resultados relatados entre o processamento de tubos de espécime primários e secundários.

A equivalência do desempenho do NeuMoDx HBV Quant Assay em espécimes de soro frescos vs. congelados também foi avaliada usando um painel de espécimes de soro de doador individuais e frescos misturados com HBV a concentrações que abrangem o intervalo linear do ensaio. Após o processamento dos espécimes frescos, as amostras de soro foram congeladas por pelo menos 24 horas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. As amostras congeladas foram então descongeladas e novamente testadas. A equivalência linear entre amostras idênticas frescas e congeladas foi avaliada usando as análises de regressão de Passing-Bablok e de Deming. O valor p da regressão de Passing-Bablok de 0,329 (superior a 0,05) e o coeficiente de correlação da regressão de Deming de 0,989 demonstram excelente equivalência entre as amostras processadas frescas e as previamente congeladas. A tendência entre o estado fresco e congelado foi determinada por Bland-Altman como sendo um valor extremamente insignificante de $-0,002\text{ log}_{10}\text{ UI/mL}$ e demonstra ainda a equivalência do processamento de espécimes frescos vs. congelados. Por último, a correlação entre as concentrações de HBV relatadas pelo sistema e as concentrações esperadas para amostras frescas e congeladas foi determinada por meio de uma regressão linear simples com valores de R^2 relatados de 0,991 e 0,985, respectivamente.

Estabilidade do espécime

Os espécimes de plasma e soro com EDTA negativos para HBV foram misturados com HBV a $3,7\text{ log}_{10}\text{ UI/mL}$ e testados em diferentes pontos de tempo enquanto armazenados dentro do NeuMoDx System – imediatamente (tempo 0), após 4 horas, após 8 horas e após 24 horas. Não foram observadas diferenças significativas no desempenho entre os pontos de tempo, indicando que um espécime pode estar carregado no NeuMoDx System por até 24 horas sem qualquer impacto no desempenho do ensaio.

Também foram realizados testes semelhantes com espécimes de plasma e soro armazenados em um refrigerador de laboratório (entre $2\text{ a }8\text{ }^{\circ}\text{C}$) por até 7 dias antes dos testes e não foram observadas diferenças significativas no desempenho.

Por fim, espécimes armazenados a $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por até 6 meses (plasma) e até 4 meses (soro) antes do processamento foram testados e não demonstraram diferenças significativas em relação aos espécimes frescos. O ciclo de congelamento/descongelamento foi repetido e novamente não demonstrou qualquer alteração no desempenho após 2 ciclos de congelamento/descongelamento (plasma) ou 4 ciclos de congelamento/descongelamento (soro).

Correlação de métodos

Espécimes de plasma

O desempenho qualitativo e quantitativo do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE testando espécimes clínicos de plasma não diluídos de pacientes infectados com HBV. Os testes foram realizados internamente na NeuMoDx através de um estudo simples cego usando espécimes clínicos obtidos de três laboratórios de referência independentes. Os resultados de um total de 308 amostras positivas e negativas para HBV foram compilados na análise qualitativa para calcular a sensibilidade e especificidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay. A análise qualitativa foi concluída incluindo e excluindo as amostras positivas abaixo do LIdQ, uma vez que a classificação dessas amostras baixas pode variar entre testes. Um total de 97 espécimes clínicos positivos para HBV dentro do intervalo linear comum a ambos os testes foi usado para gerar a regressão linear para definir o desempenho quantitativo. Além de proporcionar excelente sensibilidade e especificidade, a NeuMoDx HBV Quant Test Strip demonstrou excelente correlação quantitativa com o ensaio comparativo. Com base nesses resultados, a sensibilidade do NeuMoDx HBV Quant Assay foi estimada em 100% (IC de 96,4%–100%) e a especificidade foi estimada em 95,6% (IC de 91,9%–97,7%). Esses intervalos de confiança de 95% foram calculados usando o método de intervalo de confiança de 95% segundo o documento EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.⁶

Tabela 15: Métricas de sensibilidade e especificidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay para espécimes de plasma no NeuMoDx 288 Molecular System

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	103	205	308
SENSIBILIDADE = 100% IC de 95% de (96,4%–100%) ESPECIFICIDADE = 95,6% IC de 95% de (91,9%–97,7%)			

Tabela 16: Métricas de sensibilidade e especificidade clínicas do NeuMoDx HBV Quant Assay no NeuMoDx 288 Molecular System com amostras de plasma < LIdQ excluídas

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	99	201	300
SENSIBILIDADE = 100% IC de 95% de (96,3%–100%) ESPECIFICIDADE = 97,5% IC de 95% de (94,3%–98,9%)			

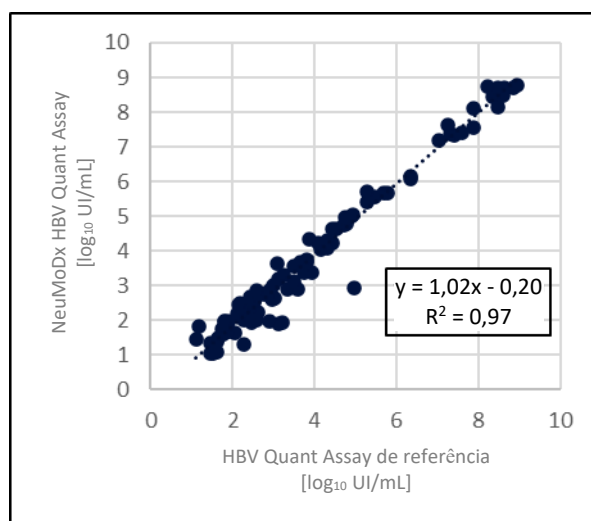


Figura 7: Estudo de correlação de métodos quantitativos usando o NeuMoDx HBV Quant Assay

Foram realizados testes adicionais no NeuMoDx 96 Molecular System usando 159 espécimes de plasma clínicos residuais. Tal como nos testes anteriores realizados no NeuMoDx 288, os resultados obtidos no NeuMoDx 96 foram comparados com os resultados relatados por ensaios aprovados pela FDA e/ou com marcação CE usados pelos laboratórios fornecedores para os testes de padrão de prudência. Os resultados, incluindo a tabela de verdade com a sensibilidade e especificidade clínicas, são apresentados com um IC de 95% na *Tabela 17*.

Tabela 17: Resumo de desempenho clínico – NeuMoDx HBV Quant Assay no NeuMoDx 96 Molecular System

	Ensaio de referência (POS)	Ensaio de referência (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
TOTAL	61	97	158
SENSIBILIDADE = 98% IC de 95% de (90%–100%) ESPECIFICIDADE = 98% IC de 95% de (92%–100%)			

Espécimes de soro

O desempenho quantitativo do NeuMoDx HBV Quant Assay foi avaliado em comparação com ensaios comparativos aprovados pela FDA/CE testando espécimes de soro positivos para HBV residuais desidentificados de pacientes infectados com HBV. Um total de 66 espécimes de soro clínicos positivos para HBV conhecidos obtidos de dois laboratórios de referência independentes foi testado usando o NeuMoDx HBV Quant Assay, internamente na NeuMoDx. Dos espécimes de soro positivos conhecidos testados, 58 foram identificados como resultados positivos, dos quais nove (9) resultados estavam abaixo do LIdQ e acima do LSdQ para o NeuMoDx HBV Quant Assay e/ou teste de referência. Um total de 49 espécimes clínicos positivos para HBV dentro do intervalo linear comum a ambos os testes foi usado para gerar a análise de regressão para definir o desempenho quantitativo.

Foram gerados gráficos de equivalência e residuais para representar a correlação entre as concentrações do NeuMoDx HBV Quant Assay e os valores de concentração dos testes de referência para todas as amostras testadas usando a análise de regressão de Deming e de Passing-Bablok, apresentados na Figura 8 e na Figura 9. A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada por um coeficiente de declive de 0,99 com um IC de 95% de (0,93–1,07) e uma interseção (tendência) de -0,22 com um IC de 95% de (-0,56, 0,12), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HBV 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 0,99 com um IC de 95% de (0,91, 1,06) e uma interseção (tendência) de -0,25 com um IC de 95% de (-0,48, 0,06), demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx HBV Quant Assay e os testes de referência estão altamente correlacionados e possuem uma tendência aceitável, conforme mostrado na Tabela 18.

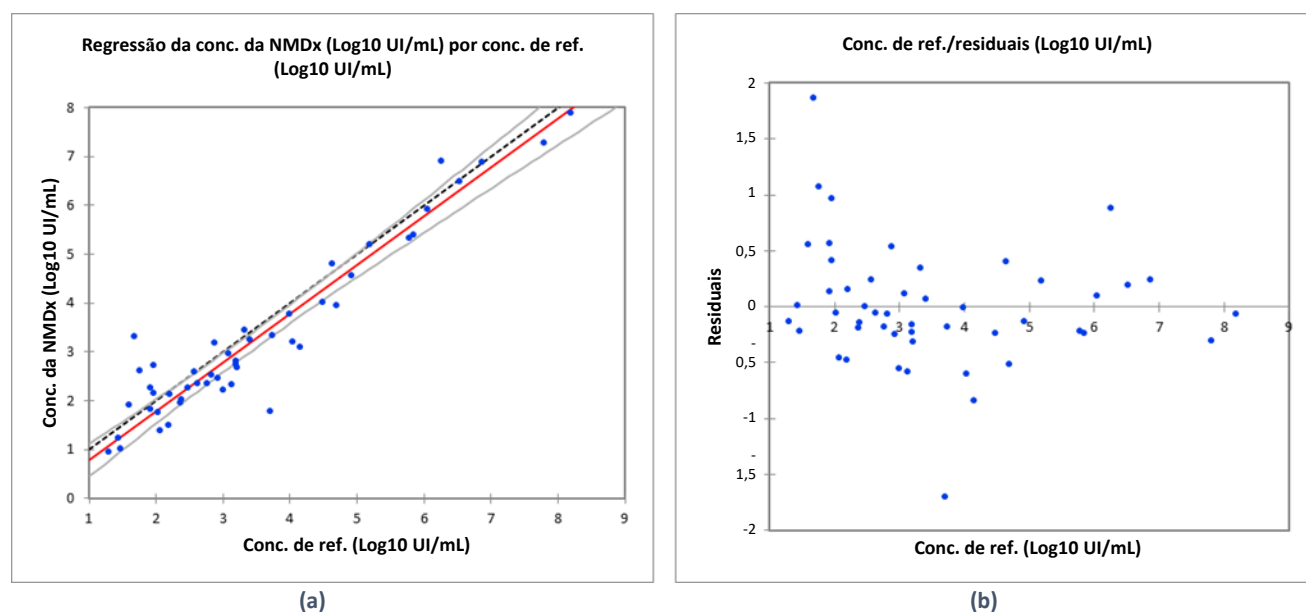


Figura 8: Gráficos de equivalência (a) e residuais (b) – Análise cumulativa dos resultados do NeuMoDx HBV Test vs. testes de referência – Análise de Deming.

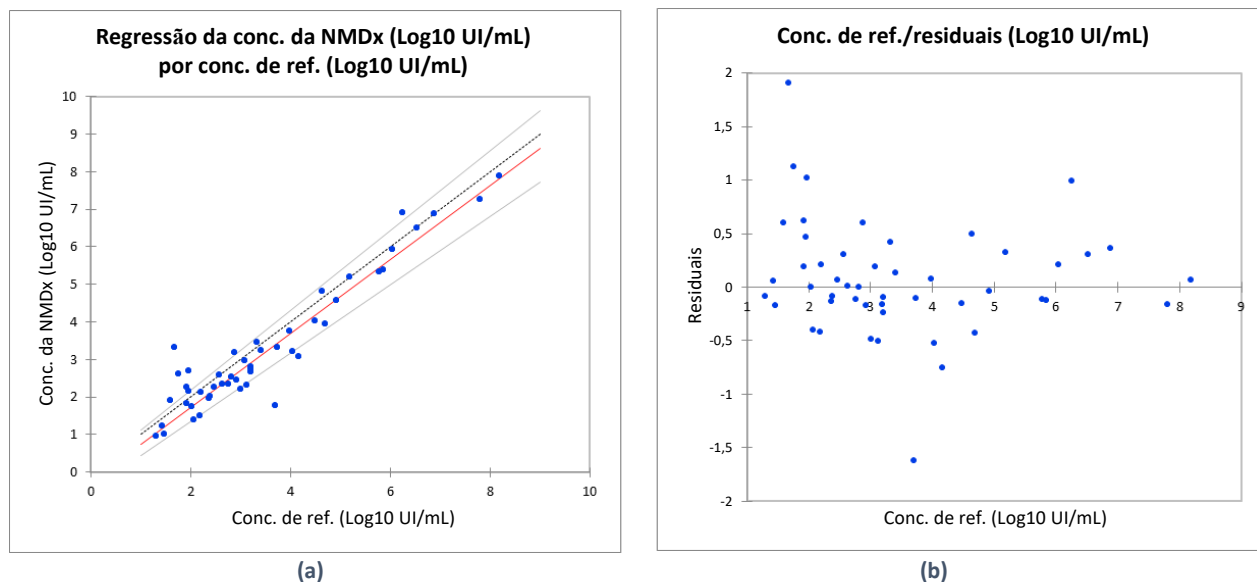


Figura 9: Gráficos de equivalência (a) e residuais (b) – Análise cumulativa dos resultados do NeuMoDx HBV Quant Assay vs. testes de referência – Análise de Passing-Bablok.

Tabela 18. Resumo da análise de regressão linear de Deming e de Passing-Bablok para espécimes de soro

Análise de Deming			Análise de Passing-Bablok		
Interseção	Coefficiente de declive	R2	Interseção	Coefficiente de declive	Valor p
-0,22 IC de 95% (-0,56, 0,12)	0,99 IC de 95% (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 IC de 95% (-0,48, 0,06)	0,99 IC de 95% (0,91, 1,06)	0,89

Testes de espécimes artificiais – Fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL

A correlação quantitativa entre os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL foi confirmada usando um painel que consistia em amostras individuais de plasma e soro negativas para HBV misturadas com quatro níveis conhecidos de material de controle de HBV, rastreáveis de acordo com o 4º Padrão Internacional da OMS para DNA do HBV para testes de ácido nucleico. Esses espécimes individuais de plasma e soro foram processados usando ambos os fluxos de trabalho de volume de espécime de 550 µL e 200 µL para um total de 288 testes realizados. As comparações de equivalência entre a concentração relatada pelo software do NeuMoDx para os fluxos de trabalho de volume de espécime de 200 µL e 550 µL com o painel artificial foram realizadas em uma base de amostra individual. A análise de regressão de Deming e de Passing-Bablok apresentou um declive de 0,985 e 0,998 com interseções de -0,001 e 0,053, respectivamente em plasma e 1,024 e 1,018 com interseções de 0,095 e 0,070, respectivamente em soro, demonstrando excelente concordância das quantificações do HBV entre os dois volumes de processamento. Uma comparação de Bland e Altman demonstrou uma tendência mínima entre os dois fluxos de trabalho. Além disso, as análises de regressão linear simples com a concentração esperada e a concentração relatada para o fluxo de trabalho de 200 µL apresentaram um declive de 1,047 e um coeficiente de correlação de 0,998 (plasma) e de 1,113 e 0,992 (soro), o que respalda ainda mais o excelente desempenho usando o fluxo de trabalho de volume de espécime de 200 µL para o NeuMoDx HBV Quant Assay. Os resultados desses estudos são resumidos abaixo na *Figura 10* e na *Figura 11*.

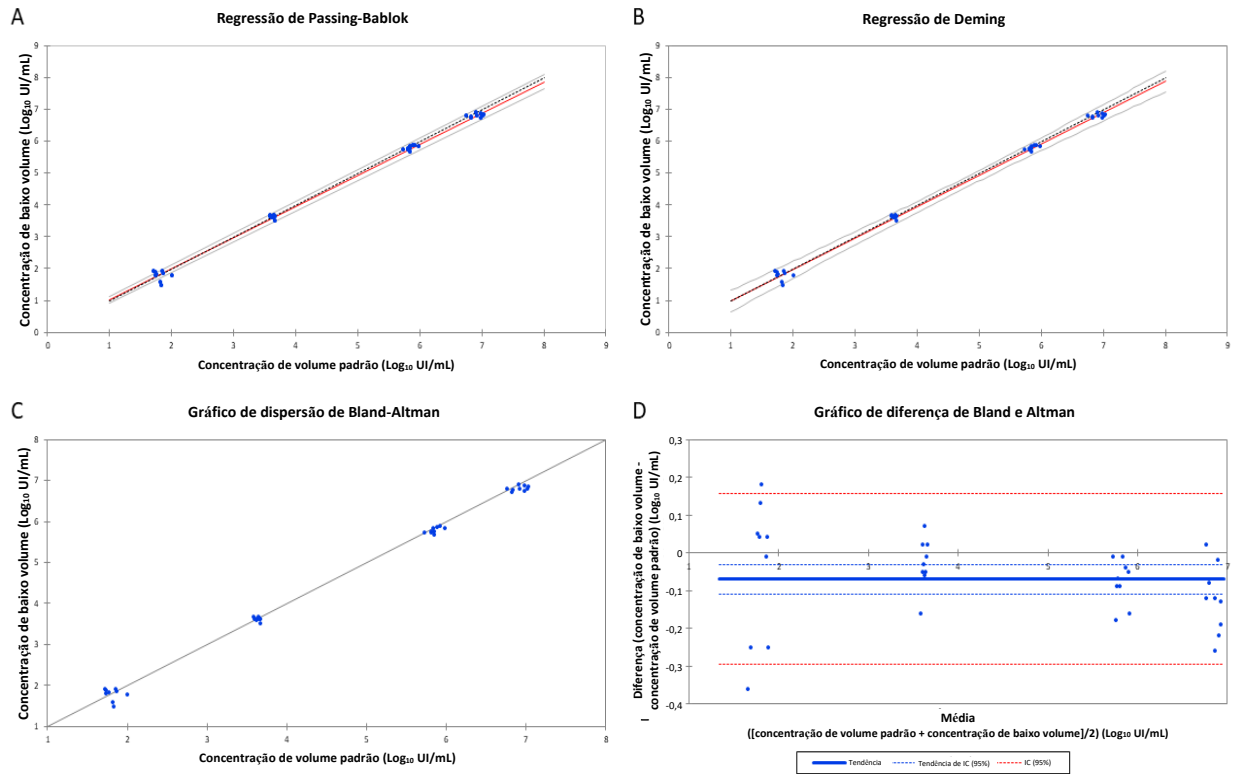


Figura 10: Comparações de gráficos de equivalência de concentrações relacionadas de baixo volume com concentrações relacionadas de volume de espécime padrão. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferença de Bland-Altman – Espécimes de plasma

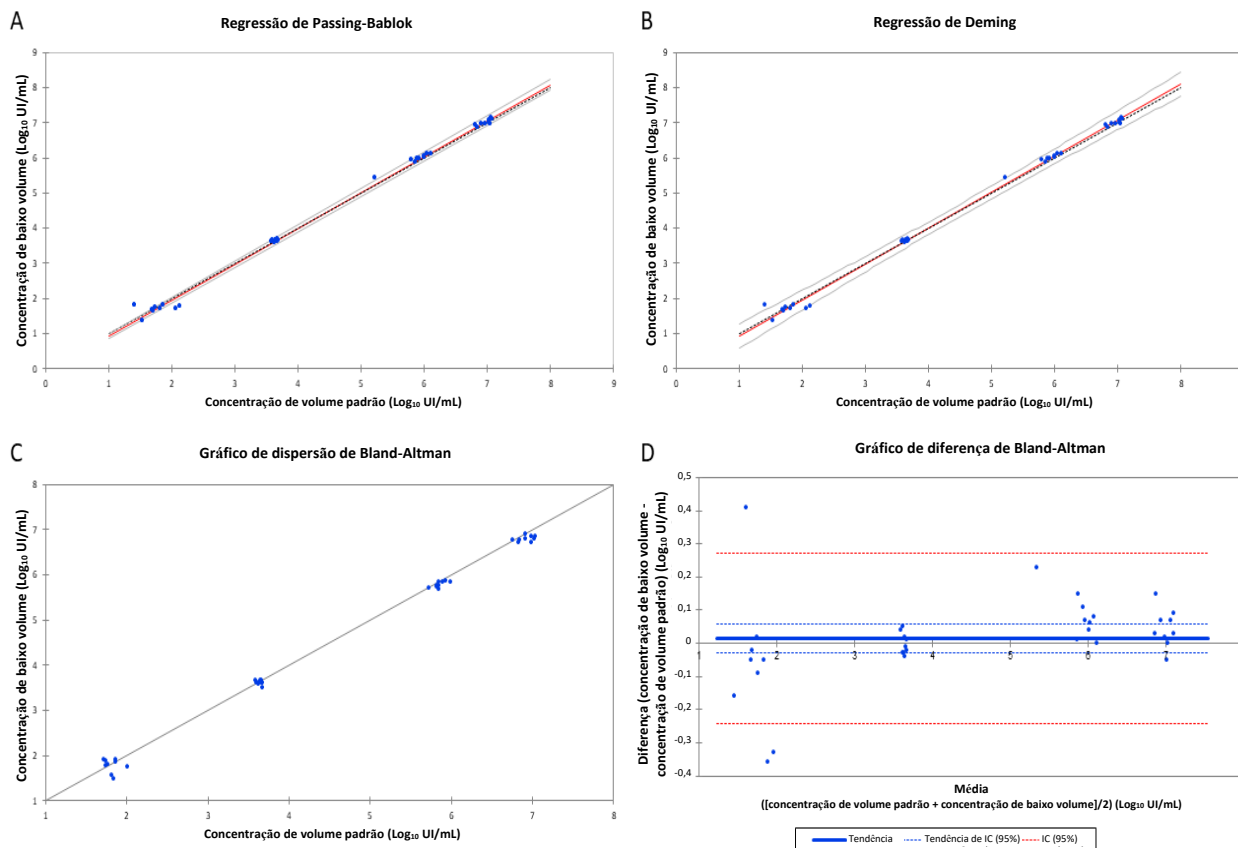


Figura 11: Comparações de gráficos de equivalência de concentrações relacionadas de baixo volume com concentrações relacionadas de volume de espécime padrão. A) Regressão de Passing-Bablok. B) Regressão de Deming. C) Gráfico de dispersão de Bland-Altman D) Gráfico de diferença de Bland-Altman – Espécimes de soro

REFERÊNCIAS










1. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. Andersson, Monique I et al. The Lancet Global Health, Volume 3, Issue 7, e358 - e359
2. Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67(No. RR-1):1–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>.
3. World Health Organization. Hepatitis B: fact sheet. April 2017. <http://www.who.int> (last accessed 20 November 2017)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS

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.

LEGENDA DE SÍMBOLOS

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

CE 2797

Suporte técnico/Informação de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents