

**202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 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™ HSV 1/2 Quant Assay é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação e diferenciação de ADN do vírus do herpes simples tipo 1 (Human alphaherpesvirus 1, HSV-1) e/ou de ADN do vírus do herpes simples tipo 2 (Human alphaherpesvirus 2, HSV-2) em plasma EDTA proveniente de pacientes transplantados imunocomprometidos^{1,2}.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, conforme executado no NeuMoDx™ 288 Molecular System e no NeuMoDx™ 96 Molecular System, integra a extração de ADN automatizada para isolar ácidos nucleicos-alvo do espécime e da PCR em tempo real, tendo como alvo duas regiões altamente conservadas dos genomas de HSV-1 e HSV-2.

O ensaio destina-se a ser utilizado como auxílio na monitorização dos níveis de ADN de HSV-1 e/ou HSV-2 em plasma EDTA. Este ensaio destina-se a ser utilizado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores de laboratório da progressão da doença para a gestão e monitorização clínicas de infeções por HSV-1 e/ou HSV-2.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não se destina a ser utilizado como teste de rastreamento para a presença de ADN de HSV-1/HSV-2 no sangue ou em produtos sanguíneos.

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay destina-se à utilização por pessoal de laboratórios clínicos qualificado especificamente formado e treinado nas técnicas de procedimentos de diagnóstico *in vitro* e PCR em tempo real e/ou em NeuMoDx™ Molecular Systems. O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não se destina a autoteste ou utilização em locais de prestação de cuidados.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos de colheita de sangue estéreis contendo EDTA como agente anticoagulante ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser utilizado para a preparação de plasma. Para iniciar o teste, o plasma num tubo de espécime 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.

Uma alíquota de 550 µL do espécime de plasma é misturada com o NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, e o NeuMoDx™ System desempenha automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o ADN isolado para amplificação PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detetar os produtos de amplificação. O NeuMoDx™ HSV 1/2 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 o processo de extração e amplificação.

O HSV-1 e o HSV-2 são infeções comuns em todo o mundo. Nos Estados Unidos, a seroprevalência de HSV-1 e HSV-2 é 58% e 17%, respetivamente. A transmissão destes vírus ocorre por contacto direto com pele infetada ou secreções infetadas. A transmissão pode ocorrer durante períodos de excreção viral subclínica quando os sintomas estão ausentes^{3,4}.

Em adultos imunocompetentes, tanto o HSV-1 como o HSV-2 causam uma variedade de infeções primárias que envolvem superfícies mucocutâneas. As síndromes sobrepõem-se, mas a HSV-1 normalmente causa herpes labial e na boca, enquanto a HSV-2 causa doença anogenital. Ambas as síndromes são caracterizadas por vesículas com úlceras dolorosas na pele e nas membranas mucosas da região afetada. Após a infeção primária, o HSV-1 e o HSV-2 estabelecem infeções latentes de neurónios de gânglios sensoriais. A reativação de vírus latentes provoca doenças mucocutâneas recorrentes. Doença grave por HSV-1 ou HSV-2 é incomum em adultos imunocompetentes. Contudo, podem ocorrer algumas síndromes neurológicas importantes, incluindo paralisia de Bell, meningite e encefalite, que estão associadas com morbidade e mortalidade significativas se não forem tratadas rapidamente. Pacientes imunocomprometidos com doença por HSV desenvolvem geralmente uma das síndromes mucocutâneas descritas acima, resultantes da reativação de infeções latentes^{3,4,5}.

Os indivíduos imunocomprometidos também têm risco de extensão local da doença (por ex., esofagite por HSV) e de infeção disseminada. A infeção por HSV disseminada com o envolvimento de órgãos viscerais não-contíguos está associada a uma mortalidade muito elevada, especialmente com hepatite por HSV^{3,4,5}.

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no NeuMoDx™ System utiliza a NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, os NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, os NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, o NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 e reagentes de utilização geral NeuMoDx™ para realizar a análise. O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay combina extração de ADN automatizada, amplificação e deteção por PCR em tempo real. Os espécimes de plasma em tubos de espécimes primários ou secundários compatíveis com o NeuMoDx™ System são colocados num transportador de tubos de espécime que, em seguida, é 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 microesferas de afinidade magnética. As microesferas, com a ligação de ácidos nucleicos, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge onde 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. Os NeuMoDx™ Systems utilizam então o ADN eluído para reidratar os reagentes de amplificação secos/congelados proprietários da SENTINEL CH S.p.A que contém todos os elementos necessários para a amplificação de PCR dos alvos específicos de HSV-1/HSV-2 e do alvo de SPC1. Após a reconstituição dos reagentes de PCR liofilizados, o NeuMoDx™ System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR no NeuMoDx™ Cartridge. A amplificação e a deteção das sequências de ADN de controlo e alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR do NeuMoDx™ Cartridge. O NeuMoDx™ Cartridge foi também concebido para conter o amplicão decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação após a amplificação.

Os alvos genómicos para NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip são, respetivamente, genes US6 e UL45 para o vírus HSV-1 e genes US6 e UL30 para o vírus HSV-2. Estes alvos amplificados são detetados em tempo real utilizando química de sondas de hidrólise (habitualmente referida como química TaqMan®), utilizando moléculas de sonda fluorogénica de oligonucleotídeos específicas dos amplicões para os respetivos alvos. As sondas TaqMan® consistem num fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeos e a 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 polimerase Taq de ADN expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease 5' a 3' da polimerase Taq de ADN 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 presente⁶.

As sondas TaqMan® marcadas com fluoróforos na extremidade 5' e supressores na extremidade 3' são utilizadas para detetar ADN do HSV-1, do HSV-2 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 ou comunica se a concentração calculada estiver fora do intervalo linear.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos/congelados que contêm sondas e iniciadores TaqMan® específicos para HSV-1, sondas e iniciadores TaqMan® específicos para HSV-2, para além de sonda e iniciadores TaqMan® específicos para SPC1.</i>	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>
800900	NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators <i>Conjuntos de utilização única de calibradores secos altos e baixos de HSV-1 e HSV-2 para estabelecer a curva-padrão.</i>
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls <i>Conjuntos de utilização única de controlos positivos secos e controlos negativos de HSV-1 e HSV-2 para estabelecer a validade diária do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
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

Para obter detalhes sobre os reagentes e consumíveis consulte o folheto informativo relacionado

Instrumentos necessários

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) ou **NeuMoDx™ 96 Molecular System** (REF 500200).
Versão 1.9.2.6 ou superior do **software do NeuMoDx System**.

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip destina-se apenas para 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™ HSV 1/2 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 dos NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators (REF 800900), antes de os resultados de teste poderem ser gerados para as amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls (REF 900901) a cada 24 horas ao longo da testagem com a NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do volume de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar num erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- A utilização de espécimes armazenados a temperaturas inadequadas ou para além dos períodos de armazenamento especificados poderá produzir resultados inválidos ou erróneos.
- 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 contentor de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ou do recipiente de resíduos de risco biológico (NeuMoDx™ 96 Molecular System) em quaisquer circunstâncias. 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™ HSV 1/2 Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para 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, sem pó e limpas durante o manuseio de reagentes e consumíveis 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™ HSV 1/2 Quant Test Strip ou da NeuMoDx™ Extraction Plate ou na parte superior da superfície do recipiente do NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; 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) para 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 do folheto informativo.
- 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 na norma da OSHA sobre agentes patogénicos transmitidos pelo sangue⁷. O nível de biossegurança 2^ª ou outras práticas de biossegurança adequadas^{9,10} devem ser utilizadas para materiais que contenham ou que se suspeite que contenham agentes infecciosos.
- Eliminar reagentes não utilizados e resíduos em conformidade com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais. Siga as recomendações nas fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS).

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx™ HSV 1/2 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™ HSV 1/2 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™ HSV 1/2 Quant Test Strips no NeuMoDx™ System. Não remova a película de alumínio da tira ao carregar no transportador de tiras de teste.
- Os calibradores e controlos NeuMoDx™ HSV 1/2 não são infecciosos, mas devem ser descartados no recipiente/contentor de resíduos de risco biológico depois de serem utilizados porque terão material-alvo 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 congele espécimes de sangue total ou de plasma em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis, utilizando EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante do tubo para 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. A preparação das amostras deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.

5. O plasma preparado pode ser armazenado 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.
6. Os espécimes de plasma 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.
7. Os espécimes preparados podem ser armazenados a uma temperatura <-20 °C até 8 semanas antes do processamento; as amostras de plasma não devem ser sujeitas a mais do que 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas:
 - a. Se as amostras estiverem congeladas, permita que descongelem à temperatura ambiente (15–30 °C) antes de testar; agite para gerar uma amostra uniformemente distribuída.
 - b. Assim que as amostras congeladas estiverem descongeladas, o teste deverá ocorrer num espaço de 24 horas.
8. Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e etiquetados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
9. Etiquete claramente os espécimes e indique que são para testes de HSV-1 e/ou HSV-2.
10. Avance para a secção *Preparação para teste*.

O processo geral para implementação do NeuMoDx[™] HSV 1/2 Quant Assay está resumido abaixo na *Figura 1*.

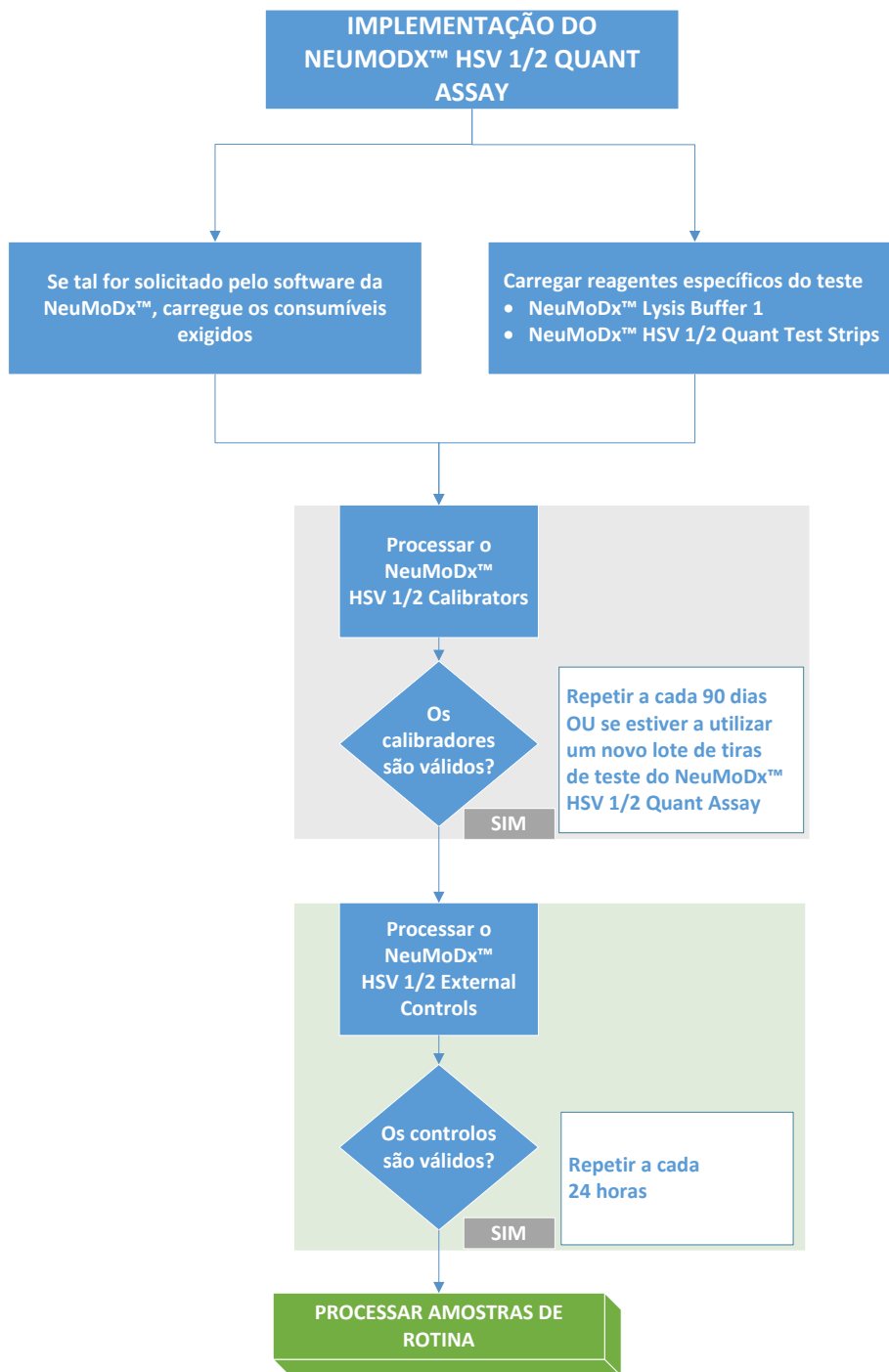


Figura 1: Fluxo de trabalho da implementação do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste

Para amostras de plasma, o NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser processado diretamente a partir de tubos de colheita de sangue primários ou de alíquotas de espécimes em tubos secundários.

1. Aplicar uma etiqueta de código de barras num 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 adequado, após a centrifugação, conforme indicado pelo fabricante.
2. Se estiver a testar o espécime de plasma 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.
3. Para amostras de 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
Transportador de tubos de espécime de 32 tubos	Diâmetro entre 11–14 mm e altura entre 60–120 mm	750 µL
Transportador de tubos de espécime de 24 tubos	Diâmetro entre 14,5-18 mm e altura entre 60–120 mm	1100 µL
Transportador de tubos de espécime de baixo volume	Tubo de microcentrifuga com base cônica de 1,5 mL	650 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 tipo de tubo desejado.
2. Corte as bolsas de alumínio da NeuMoDx™ HSV 1/2 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 bolsas 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 NeuMoDx™ System com a(s) NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip(s) e utilize o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) 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 o(s) transportador(es) no NeuMoDx™ System.
8. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, substitua 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 adequado.
9. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, processe os calibradores (REF 800900) e/ou os controlos externos (REF 900901), conforme necessário. Podem ser encontradas mais informações acerca dos calibradores e controlos na secção Processamento de resultados.
10. Carregue o(s) tubo(s) de 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(s) transportador(es) de tubos de espécime na prateleira do carregador automático e utilize o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) 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™ HSV 1/2 Quant Test Strip apenas pode ser utilizada em NeuMoDx™ Systems.
- O desempenho da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante. A utilização da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip com outros tipos de espécimes não foi avaliada e as características de desempenho do teste são desconhecidas com outros tipos de espécimes.
- O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay não deve ser utilizado com amostras humanas heparinizadas.
- Uma vez que a detecção de ADN de HSV-1 e/ou HSV-2 está dependente do número de organismos presentes na amostra, os resultados fiáveis dependem da colheita, do tratamento e armazenamento adequados do espécime.
- 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 detecção do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx™ System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx™ System.
- Se os alvos HSV-1, HSV-2 e SPC1 não forem amplificados, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se ocorrer um erro do sistema antes da conclusão do processamento de amostras, será comunicado "No Result" (Sem resultados) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver para além dos limites de quantificação, o NeuMoDx™ System irá comunicar se o ADN de HSV-1 e/ou HSV-2 detetado está abaixo do limite inferior de quantificação (LlQ) ou acima do limite superior de quantificação (LsQ).
- Se o ADN de HSV-1 e/ou HSV-2 detetado estiver acima do LsQ, o NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição a 1:100 ou 1:1000 em plasma negativo para ADN de HSV-1 e HSV-2 ou Basematrix 53 Diluente (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). O sistema irá calcular automaticamente a concentração do espécime original da seguinte forma: Concentração original do espécime = $\text{Log}_{10}(\text{fator de diluição}) + \text{concentração indicada da amostra diluída}$, desde que o fator de diluição tenha sido corretamente selecionado no software antes da repetição.
- A presença ocasional dos inibidores de PCR em plasma pode resultar num erro de quantificação do sistema; se isto ocorrer, é recomendável repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. Contudo, um resultado positivo indica a presença de ADN de HSV-1 e/ou HSV-2.
- As eliminações ou mutações nas regiões conservadas que são o alvo do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay podem afetar a detecção ou originar um resultado erróneo ao utilizar a NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay podem 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 para 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™ HSV 1/2 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 NeuMoDx™ HSV 1/2 (versão 4.0.0 do HSV 1/2 Assay Definition File, HSV 1/2 ADF). Um resultado do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pode ser comunicado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de HSV-1 e/ou HSV-2 comunicada, Positive (Positivo) acima do LsQ, Positive (Positivo) abaixo do LlQ, 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 processamento de resultados do ADF, resumido na *Tabela 1 abaixo*.

Os resultados da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.

Tabela 1: Resumo da interpretação de resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Resultado	HSV-1/HSV-2	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)	Interpretação de resultados
Positive (Positivo) com concentração comunicada	Amplified (Amplificado) $2,05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-1 detetado dentro do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) $1,78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6,0 \log_{10}$ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-2 detetado dentro do intervalo quantitativo

Resultado	HSV-1/HSV-2	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)	Interpretação de resultados
Positivo (Positivo) acima do limite superior de quantificação (LSdQ)	Amplified (Amplificado) [HSV-1] > 6,0 log ₁₀ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-1 detetado acima do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) [HSV-2] > 6,0 log ₁₀ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-2 detetado acima do intervalo quantitativo
Positivo (Positivo) abaixo do limite inferior de quantificação (LIdQ)	Amplified (Amplificado) [HSV-1] < 2,05 log ₁₀ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-1 detetado abaixo do intervalo quantitativo
	Amplified (Amplificado) [HSV-2] < 1,78 log ₁₀ cópias/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	ADN do HSV-2 detetado abaixo do intervalo quantitativo
Negative* (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	ADN de HSV-1/HSV-2 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 (Sem resultados)	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†

*Tal como com outros testes, os resultados negativos não excluem a infeção por HSV-1 e/ou HSV-2.

†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/NR/UNR é reprocessado automaticamente para minimizar atrasos na comunicação de resultados.

Cálculo do teste

- Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, a concentração de ADN de HSV-1 e de HSV-2 nas amostras é calculada utilizando as curvas-padrão armazenadas relativas em conjunto com os coeficientes de calibração.
 - O coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão para um lote específico da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, num NeuMoDx™ System em particular, para cada alvo.
 - O coeficiente de calibração está integrado na determinação final da concentração de ADN do HSV-1 e de ADN do HSV-2.
- Os resultados do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay são comunicados em Log₁₀ cópias/mL e cópias/mL.
- A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o EDX HSV-1 Verification Panel e o HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), ambos quantificados por PCR de gotícula digital (digital droplet PCR, ddPCR).

Calibração de teste

É necessária uma calibração válida com base na curva-padrão para quantificar o ADN do HSV-1 e/ou ADN do HSV-2 presente nos espécimes. Para gerar resultados válidos, deve ser concluída uma calibração de teste para o HSV-1 e para o HSV-2 utilizando os calibradores fornecidos pela NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibradores

- Os NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators são fornecidos num kit (REF 800900) e são constituídos por um pellet seco de ADN sintético de HSV-1 e HSV-2 e por um tampão específico.
- Um conjunto de calibradores de HSV-1/HSV-2 necessita de ser processado com cada novo lote de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips, se for carregado um novo ficheiro de definição de ensaio HSV-1/HSV-2 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.
- 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.
- Se for necessário processar um novo conjunto de calibradores de HSV-1/HSV-2, consulte as instruções presentes no folheto informativo do NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators antes de realizar o teste.
- A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - É necessário gerar dois coeficientes de calibração, um para o HSV-1 e outro para o HSV-2, processando um conjunto de dois calibradores para cada alvo – alto e baixo – para estabelecer a validade para cada curva.

- 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 3,12 log₁₀ cópias/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de 5,12 log₁₀ cópias/mL para ambos os conjuntos de calibrador HSV-1 e HSV-2.
 - 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 HSV-1 e/ou HSV-2.
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.
 7. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a verificação de validade uma segunda vez consecutiva, contacte a assistência técnica da QIAGEN.

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 HSV-1/HSV-2 External Controls (REF 900901) são fornecidos pela NeuMoDx™. Os controlos positivos contêm um pellet seco de ADN sintético de HSV-1 e HSV-2. O controlo negativo é tampão.
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 de HSV 1/2 External Controls, 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 controlos positivo e negativo no NeuMoDx™ System. O NeuMoDx™ System irá reconhecer o código de barras e iniciar o processamento dos tubos de controlo externos, 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 de acordo com o resultado previsto. O controlo positivo deve fornecer um resultado Positive (Positivo) para HSV-1 e HSV-2 e o controlo negativo um resultado Negative (Negativo) para HSV-1 e HSV-2.
6. O tratamento de resultados discrepantes de controlos externos deve ser realizado da seguinte forma:
 - a. A comunicação de um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controlo negativo indica um problema de contaminação de espécimes e os procedimentos de controlo de qualidade do laboratório necessitam de ser examinados para encontrar a causa principal. Certifique-se de que utiliza áreas separadas para preparação de amostras, manuseamento do controlo e configuração de PCR em tempo real. Consulte o *Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System ou do NeuMoDx 96 Molecular System* para obter dicas adicionais sobre resolução de problemas.
 - 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 No Result (Sem resultados, NR), Unresolved (Não resolvido, UNR) ou Indeterminate (Indeterminado, IND), repita o(s) controlo(s) falhado(s) com um frasco recém-preparado dos controlos que falharam o teste de validade.
 - d. Se NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls positivos continuarem a comunicar um resultado Negative (Negativo), contacte a assistência técnica da QIAGEN.
 - e. Se NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls negativos continuarem a comunicar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a substituição de TODOS os reagentes, antes de contactar a assistência técnica da QIAGEN.
7. Se os Controlos externos não fornecem os resultados esperados, é necessário repetir um conjunto de controlos positivos e negativos. As amostras não serão processadas até um conjunto válido de controlo externo ser processado pelo sistema. Caso as amostras estejam em processamento enquanto os controlos externos expiram, o sistema irá solicitar a execução de um conjunto válido de controlo externo. Se o conjunto de controlo externo não gerar resultados válidos, os resultados de amostra não serão comunicados.

Controlos (internos) do 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/controlo/calibrador. Estão incluídos os iniciadores e a sonda específicos do SPC1 em cada uma das NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips, permitindo a deteção da presença do SPC1 em conjunto com o ADN alvo de HSV-1 e HSV-2 (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 de PCR.

Resultados inválidos

Se um NeuMoDx™ HSV 1/2 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. O teste deve ser repetido para obter um resultado válido.

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

Será comunicado um resultado No Result (Sem resultados) no caso de ser detetado um erro do NeuMoDx System e o processamento de amostras for interrompido. Recomenda-se repetir o teste caso seja comunicado um resultado No Result (Sem resultados).

Caso nenhum alvo seja detetado e não haja amplificação do ADN de HSV-1, ADN de HSV-2 ou do SPC1, o que indica uma possível falha do reagente ou presença de inibidores, será comunicado um resultado UNR. 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 (consulte a secção de limitações para obter instruções adicionais).

Consulte o Manual do operador do NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) ou o Manual do utilizador do operador do NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) para obter uma lista dos códigos de erro que podem ser associados a resultados inválidos.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO^{11,12,16}

Sensibilidade analítica – Limite de deteção¹³

A sensibilidade analítica do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi caracterizada através da análise de uma série de diluições do EDX HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) e do HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), em amostras de plasma negativas para HSV-1/HSV-2, para determinar o limite de deteção (LdD) nos NeuMoDx™ Systems. 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%. 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 estão descritas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Taxas de deteção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Concentração do alvo [cópias/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção	Concentração do alvo [cópias/mL]	Concentração do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção
160	2,20	42	40	95,24%	100	2,00	42	41	97,62%
100	2,00	42	40	95,24%	60	1,78	41	39	95,12%
80	1,90	42	35	83,33%	40	1,60	42	40	95,24%
40	1,60	38	26	68,42%	20	1,30	42	27	64,29%
NEG	0,00	20	0	0%	NEG	0,00	24	0	0%

O LdD do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi determinado por análise de estilo Probit como sendo 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) (intervalo de confiança de 95%: 93,5 a 133,7 cópias/mL) para HSV-1 e 56 cópias/mL (1,75 log₁₀ cópias/mL) (intervalo de confiança de 95%: 44,7 a 66,2 cópias/mL) para HSV-2.

A concentração de LdD (114 cópias/mL) de HSV-1 foi confirmada por análise da taxa de identificação em isolados de diferentes áreas geográficas: Ásia, Europa, África e América do Norte (Tabela 3).

Tabela 3: Análise da taxa de identificação em diferentes isolados geográficos de HSV-1 que confirma o limite inferior de deteção. Nível de concentração testado: 114 cópias/mL.

Isolado da área geográfica	Testes válidos	Amostras detetadas	Taxa de deteção
América do Norte	24	24	100
Europa	24	24	100
Ásia	24	24	100
África	24	24	100

Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LIdQ) e Limite superior de quantificação (LSdQ)¹³

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 deteção >95% é atingida e o TAE é ≤1,0. Para determinar o LIdQ e o LSdQ, o erro analítico total (total analytical error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis do alvo de HSV-1 e HSV-2 que apresentaram uma deteção >95% no teste de limite de deteção. O TAE é definido da seguinte forma:

$$TAE = |\text{Bias}| + 2 * SD [\text{Estatística de Westgard}]$$

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 do HSV-1/HSV-2, utilizados no estudo de LIdQ/LSdQ, são apresentados nas Tabelas 4 e 5. Com base neste conjunto de dados e no LIdQ anteriormente determinado, o LIdQ e o LSdQ foram determinados como sendo de 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) e 1,26 x 10⁶ cópias/mL (neste caso, aproximado a 6 log₁₀ cópias/mL) para HSV-1, e 60 cópias/mL (1,78 log₁₀ cópias/mL) e 1,19 x 10⁶ cópias/mL (neste caso, aproximado a 6 log₁₀ cópias/mL) para HSV-2.

Tabela 4: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; LSdQ e LIdQ do HSV-1, com tendência e TAE

Conc. do alvo [cópias/mL]	Conc. do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
1,26 x 10 ⁶	6,10	6,10	100	0,22	0,10	0,54
160	2,20	2,46	95,24	0,26	0,25	0,78
100	2,00	2,37	95,24	0,31	0,37	0,98
80	1,90	2,33	83,33	0,29	0,42	1,01
40	1,60	2,25	68,42	0,38	0,65	1,41

Tabela 5: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; LSdQ e LIdQ do HSV-2, com tendência e TAE

Conc. do alvo [cópias/mL]	Conc. do alvo [log ₁₀ cópias/mL]	Conc. média [log ₁₀ cópias/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
1,19 x 10 ⁶	6,08	5,95	100	0,07	0,13	0,27
100	2,00	2,29	97,62%	0,20	0,29	0,69
60	1,78	2,21	95,12%	0,21	0,43	0,84
40	1,60	2,21	95,24%	0,21	0,61	1,02
20	1,30	2,00	64,29%	0,27	0,69	1,24

Com base no resultado destes estudos, o LIdQ no NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi determinado como sendo 114 cópias/mL (2,05 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-1 e 60 cópias/mL (1,78 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-2. O LSdQ para todos os tipos de espécime é 1,26 x 10⁶ cópias/mL (6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-1 e 1,19 x 10⁶ cópias/mL (6 log₁₀ cópias/mL) para o HSV-2.

Linearidade¹⁴

A linearidade da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi estabelecida em plasma preparando uma série de diluições, utilizando o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) e o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Oito (8) diluições em série dos painéis de HSV-1/HSV-2, preparadas em plasma humano negativo para HSV-1/HSV-2, foram criadas para abranger um intervalo de concentração de 6–2 log₁₀ cópias/mL. As concentrações do ensaio HSV-1/HSV-2 reportadas pelo NeuMoDx™ System em comparação com os valores esperados são apresentadas nas Figuras 2 e 3.

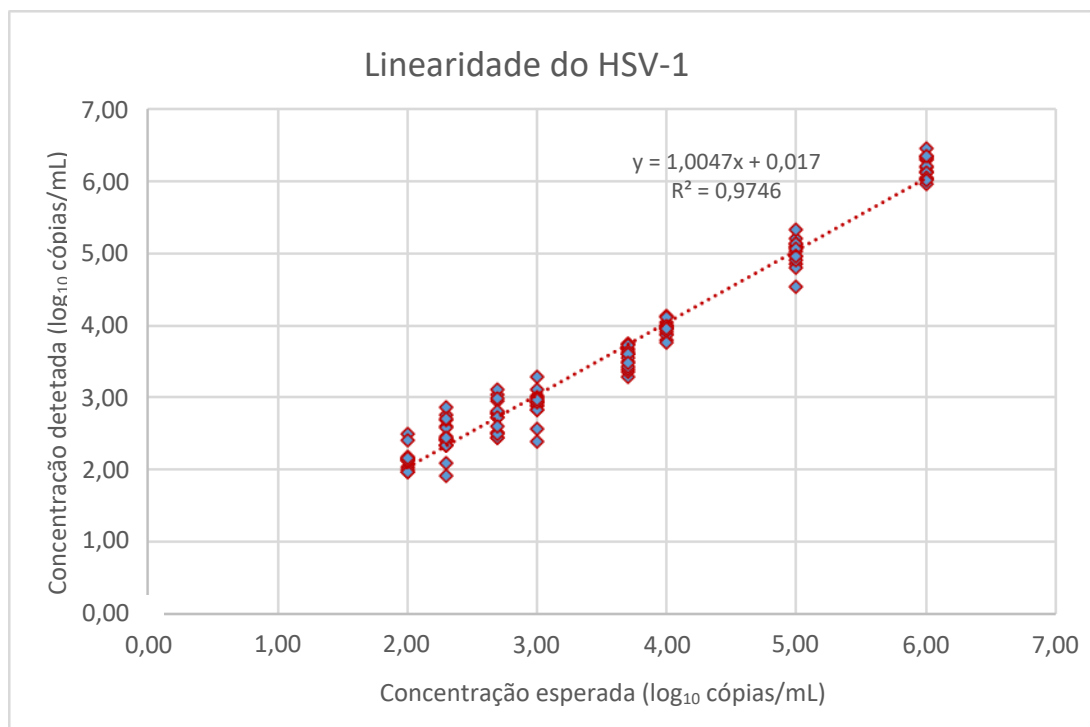


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para HSV-1

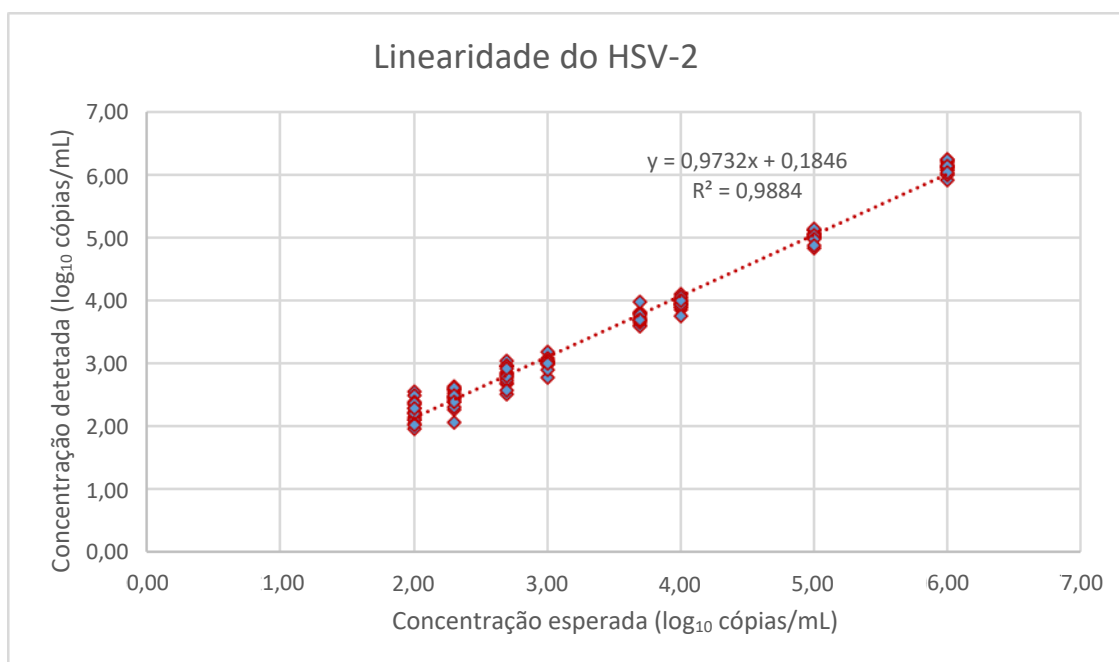


Figura 3: Linearidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para HSV-2

Especificidade analítica – Reatividade cruzada^{11, 12}

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 22 organismos habitualmente presentes em espécimes de plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao HSV-1 e HSV-2 no que diz respeito à reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5/6 organismos e testados com uma concentração elevada. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 6*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabela 6: Patógenicos utilizados para demonstrar a especificidade analítica

Organismos não alvo					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Vírus da imunodeficiência humana 1	Vírus da hepatite B	Adenovírus tipo 5	Vírus Epstein-Barr	Vírus varicela-zoster	Enterovírus 68
Vírus BK	Vírus herpes humano tipo 6	Vírus herpes humano tipo 8	Citomegalovírus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	Vírus JC	SV40	Vírus da imunodeficiência humana 2		

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos comensais^{11, 12}

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi avaliado quanto à interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para a análise de reatividade cruzada indicados acima na *Tabela 6*. O plasma negativo para HSV-1/HSV-2 foi enriquecido com organismos agrupados em pools de 4-7 e também com HSV-1/HSV-2 alvo a uma concentração de 2,47 log₁₀ cópias/mL (300 cópias/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^{11, 12}

O NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas nos espécimes clínicos de plasma com HSV-1/HSV-2. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais comuns, classificados na *Tabela 7*. Cada uma das substâncias foi adicionada a Basematrix 53 analisado negativo para HSV-1/HSV-2, enriquecido com 2,47 log₁₀ cópias/mL (300 cópias/mL) de HSV-1/HSV-2 e as amostras foram analisadas em relação à interferência. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação a amostras de controlo enriquecidas com o mesmo nível de HSV-1/HSV-2 são indicadas na *Tabela 8*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabela 7: 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 8: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenos (plasma)	HSV-1		HSV-2	
	Conc. média	Tendência	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
Triglicéridos (500 mg/dL)	3,04	-0,19	2,51	0,07
Bilirrubina conjugada (0,25 g/L)	3,18	-0,18	2,72	0,15
Bilirrubina não conjugada (0,25 g/L)	3,62	-0,27	2,53	0,24
Albumina (58,7 g/L)	2,88	-0,14	1,99	0,01
Hemoglobina (2,9 g/L)	2,8	-0,07	2,69	-0,01
Exógenos (medicamentos)	Conc. média	Tendência	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL	log ₁₀ cópias/mL
	Pool 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Micofenolato mofetil	2,16	0,33	2,18
Pool 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	2,53	0,32	2,44	0,56

Repetibilidade e precisão intralaboratorial¹⁵

A precisão da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada testando 2 réplicas de um painel de 3 membros de espécimes de HSV-1/HSV-2 preparados com plasmídeo de HSV-1 ou HSV-2 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 cópias/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente entre dias e ensaios, tal como apresentado na *Tabela 9*. 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 9: Precisão intralaboratorial – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no NeuMoDx™ System 96

Amostra	DP de repetibilidade (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre ensaios (log ₁₀ cópias/mL)	DP intradiário (log ₁₀ cópias/mL)	Entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP geral (intralaboratorial) (log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
5,5 log ₁₀ cópias/mL	0,18	0,00	0,18	0,10	0,20
4,5 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,10	0,19	0,00	0,19
3,0 log ₁₀ cópias/mL	0,19	0,09	0,21	0,10	0,23
HSV-2					
5,7 log ₁₀ cópias/mL	0,14	0,05	0,15	0,07	0,16
4,7 log ₁₀ cópias/mL	0,11	0,00	0,11	0,07	0,13
3,1 log ₁₀ cópias/mL	0,16	0,13	0,20	0,00	0,20

Reprodutibilidade de lote para lote¹⁵

A reprodutibilidade de lote para lote da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada utilizando três lotes diferentes de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips. Um painel de 4 membros de HSV-1 e HSV-2 preparado com o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) ou o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) foi utilizado para avaliar o desempenho num NeuMoDx™ 96 Molecular System em 5 ensaios individuais. A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados, expressos como um desvio-padrão entre lotes, estão apresentados na *Tabela 10*. O desvio-padrão máximo mais elevado foi de 0,26 log₁₀ cópias/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre lotes, uma vez que o desvio-padrão de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância (DP de reprodutibilidade ≤0,3 log₁₀ cópias/mL).

Tabela 10: Reprodutibilidade de lote para lote – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Amostra	DP de repetibilidade (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP intralote (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre lotes (log ₁₀ cópias/mL)	DP de reprodutibilidade (log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
1,26 x 10 ⁵ cópias/mL	0,12	0,22	0,25	0,00	0,25
1,26 x 10 ⁴ cópias/mL	0,16	0,19	0,25	0,00	0,25
300 cópias/mL	0,18	0,17	0,25	0,00	0,25
HSV-2					
1,26 x 10 ⁵ cópias/mL	0,13	0,12	0,17	0,00	0,18
1,26 x 10 ⁴ cópias/mL	0,77	0,10	0,13	0,00	0,13
300 cópias/mL	0,21	0,12	0,24	0,00	0,24

Reprodutibilidade de instrumento para instrumento¹⁵

A reprodutibilidade de instrumento para instrumento da NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip foi determinada utilizando três sistemas diferentes (um NeuMoDx™ 288 Molecular System e dois NeuMoDx™ 96 Molecular Systems). Um painel de 4 membros de HSV-1/HSV-2 preparado com o HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) ou o EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) foi utilizado para avaliar o desempenho. O teste foi efetuado nos sistemas durante 5 dias. Foram caracterizadas as variações intradiária e entre sistemas, e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo ≤0,30 log₁₀ cópias/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 11).

Tabela 11: Reprodutibilidade de instrumento para instrumento – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Amostra	DP de repetibilidade (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre dias (log ₁₀ cópias/mL)	DP intrassistema (log ₁₀ cópias/mL)	DP entre sistemas (log ₁₀ cópias/mL)	DP de reprodutibilidade (log ₁₀ cópias/mL)
HSV-1					
1,26 x 10 ⁵ cópias/mL	0,25	0,04	0,26	0,13	0,29
1,26 x 10 ⁴ cópias/mL	0,26	0,08	0,28	0,07	0,28
300 cópias/mL	0,19	0,08	0,21	0,08	0,23
HSV-2					
1,26 x 10 ⁵ cópias/mL	0,15	0,16	0,22	0,00	0,22
1,26 x 10 ⁴ cópias/mL	0,14	0,18	0,23	0,08	0,24
300 cópias/mL	0,14	0,20	0,25	0,00	0,25

REFERÊNCIAS

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Lee, D.H., Zuckerman, R.A., AST Infectious Diseases Community of Practice, 2019. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant 33, e13526. <https://doi.org/10.1111/ctr.13526>
3. Reid GE, Lynch JP 3rd, Weigt S, Sayah D, Belperio JA, Grim SA, Clark NM. Herpesvirus Respiratory Infections in Immunocompromised Patients: Epidemiology, Management, and Outcomes. Semin Respir Crit Care Med. 2016 Aug;37(4):603-30. doi: 10.1055/s-0036-1584793. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27486740; PMCID: PMC7171758.
4. Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Ortega-Quijano D, Burgos-Blasco P, Pindado-Ortega C, Bea-Ardebol S. A case of atypical disseminated herpes simplex virus 1 with hepatitis in a liver transplant recipient: the need for dermatologic evaluation. Dermatol Online J. 2020 Feb 15;26(2):13030/qt3k90n5s9. PMID: 32239894.
5. Rostamzadeh Khameneh Z, Sepehrvand N, Taghizadeh-Afshari A, Motazakker M, Ghafari A, Masudi S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2 in kidney transplant recipients: a single-center experience. Iran J Kidney Dis. 2010 Apr;4(2):158-61. PMID: 20404429.
6. Navarro E, Serrano-Heras G et al. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. 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>
7. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
8. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
9. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
10. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
11. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
12. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
13. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
14. 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.
15. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
16. 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.

SeraCare® é uma marca comercial registrada da SeraCare Life Sciences, Inc.

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
	Utilização apenas mediante 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)
Assistência técnica: support.qiagen.com
Relatórios de vigilância: support.qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents