



201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

CUIDADO: Apenas para distribuição fora dos EUA



Para uso em diagnóstico *in vitro* no NeuMoDx™ 288 Molecular System e NeuMoDx™ 96 Molecular System



Esta bula deve ser lida com atenção antes do uso do produto. Deve-se seguir as instruções indicadas na bula. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se houver quaisquer desvios das instruções contidas na bula. Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx™ 288 Molecular System; P/N 40600108. Para obter instruções detalhadas, consulte o Manual do operador do NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317



USO PREVISTO

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

O NeuMoDx BKV Quant Assay tem como objetivo auxiliar no diagnóstico e monitoramento da infecção causada pelo vírus BK em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos de coleta de sangue estéreis contendo EDTA como agente anticoagulante ou em tubos de preparação de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT) pode ser usado para a preparação de plasma, enquanto o soro deve ser coletado em tubos de coleta ou em tubos de separação de soro (Serum Separation Tubes, SST). Para testar um espécime de urina, uma amostra de urina deve ser colhida em um coletor de urina padrão sem conservantes ou aditivos. Para preparar o teste, um tubo de espécime primário ou secundário, contendo plasma/soro ou urina, que seja compatível com o NeuMoDx™ System, deve ser carregado no NeuMoDx™ System usando um transportador de tubos de espécime designado para iniciar o processamento automatizado. Para espécimes de plasma/soro, uma alíquota de 550 µL da amostra deve ser misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 do instrumento ou, alternativamente, uma alíquota de 100 µL da amostra de plasma/soro deve ser misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Para amostras de urina, uma alíquota de 550 µL da amostra deve ser misturada com NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 do instrumento. O NeuMoDx™ executa automaticamente todas as etapas necessárias para extrair o ácido nucleico alvo, preparar o DNA isolado para amplificação por PCR em tempo real e, se presentes, detectar os produtos de amplificação. O NeuMoDx™ BKV Quant Assay inclui um controle de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) de DNA para ajudar a monitorar a presença de possíveis substâncias inibidoras e falhas do reagente ou do NeuMoDx™ System que podem acontecer durante os processos de extração e amplificação.

O poliovírus BK (BKV) é um membro da família Polyomaviridae de vírus de DNA de fita dupla (double-stranded DNA, dsDNA). O BKV causa uma infecção comum na infância sem sequelas clínicas importantes e mais de 80% dos adultos são soropositivos para o BKV.¹ A infecção primária com esse vírus dsDNA é geralmente assintomática e ocorre na infância. Os sintomas mais comuns, quando observados, são febre e infecção não específica das vias aéreas superiores.² Após a ocorrência da infecção primária, o vírus pode permanecer latente em muitos locais, principalmente nos rins. A transmissão pode ocorrer por meio da exposição a fluidos corporais. Em estados de imunodeficiência celular relativa ou absoluta, o vírus pode ser reativado e causar a doença.²

A quantificação da carga viral baseada em PCR no plasma/soro e em urina é a ferramenta clínica padrão para monitorar a reativação do BKV. Estudos reportando resultados quantitativos de PCR para BKV demonstram uma correlação positiva entre cargas virais mais altas e uma maior probabilidade de desenvolver nefropatia associada ao BKV (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN).¹ Outras ferramentas clínicas usadas para descrever agregados de BKV na urina é a microscopia eletrônica, que identifica agregados tridimensionais de BKV. No entanto, o ensaio não é viável para a prática clínica de rotina devido ao custo e à disponibilidade limitada da microscopia eletrônica.¹

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay no NeuMoDx™ System utiliza NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, NeuMoDx™ BKV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 e reagentes de uso geral NeuMoDx™ para realizar a análise. A temperatura de armazenamento dos reagentes deve ficar entre 15 e 30 °C.

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

Os NeuMoDx™ Systems usam uma combinação de calor, enzima lítica e reagentes de extração para realizar automaticamente a lise celular, extração de DNA e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos liberados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx™ Cartridge, onde os componentes não ligados e não DNA são retirados por lavagem através do NeuMoDx™ Wash Reagent e o DNA ligado é eluído usando o NeuMoDx™ Release Reagent. Os NeuMoDx™ Systems então usam o DNA eluído para reidratar os reagentes de amplificação Sentinel CH liofilizados patenteados (tecnologia STAT-NAT®) que contêm todos os elementos necessários para a amplificação por PCR dos alvos específicos de BKV e 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 detecção das sequências de controle e de DNA alvo (se presentes) ocorrem na câmara de PCR do NeuMoDx™ Cartridge. O NeuMoDx™ Cartridge também foi projetado para conter o amplicon decorrente da PCR em tempo real, eliminando essencialmente o risco de contaminação pós-amplificação.

Os alvos amplificados são detectados em tempo real utilizando química de sonda de hidrólise (comumente referida como química TaqMan®), com a utilização de moléculas de sonda fluorogênicas de oligonucleotídeos específicas dos amplicons para seus respectivos alvos.

As sondas TaqMan® consistem em um fluoróforo covalentemente ligado à extremidade 5' da sonda de oligonucleotídeo 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 de energia por ressonância de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

As sondas TaqMan® são projetadas de modo a hibridizar dentro de uma região de DNA amplificada por um conjunto específico de iniciadores. À medida que a Taq DNA polimerase expande o iniciador e sintetiza a nova cadeia, a atividade exonuclease de 5' a 3' da Taq DNA polimerase degrada a sonda que foi hibridizada com o modelo. A degradação da sonda libera o fluoróforo e provoca a perda de proximidade com o supressor, superando assim o efeito de supressão devido à FRET e permitindo a detecção do fluoróforo por fluorescência. O sinal fluorescente resultante detectado no termociclador de PCR quantitativa do NeuMoDx™ System é diretamente proporcional ao fluoróforo liberado e pode ser correlacionado à quantidade de DNA alvo presente.³

Sondas TaqMan® marcadas com fluoróforos na extremidade 5' e supressores na extremidade 3' são usadas para detectar DNA de BKV e DNA de SPC1. O software NeuMoDx™ 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 reporta um resultado final: POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINADO)/UNRESOLVED (NÃO RESOLVIDO)/NO RESULT (SEM RESULTADO). Se o 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
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR liofilizados contendo sondas e iniciadores TaqMan® específicos para BKV, além de sondas e iniciadores TaqMan® específicos para SPC1.</i>	6	16	96

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

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

Instrumentação necessária

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip é para uso em diagnóstico *in vitro* apenas com NeuMoDx™.
- Leia todas as instruções contidas na bula do kit antes de realizar o teste.
- 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.
- Não misture reagentes para amplificação de outros kits comerciais.
- Não reutilize.
- Mantenha todas as NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips protegidas da luz e da umidade em seus envelopes de alumínio.
- Uma calibração de teste válida (gerada pelo processamento de calibradores altos e baixos do NeuMoDx™ BKV Calibrators Kit REF 800600) deve estar disponível antes que possam ser criados resultados de teste para amostras clínicas.
- É necessário processar o NeuMoDx™ BKV External Controls Kit (REF 900601) a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime depende do tamanho do tubo, do transportador de espécimes e do fluxo de trabalho de obtenção do volume de espécime, conforme definido abaixo. Volumes inferiores ao mínimo especificado poderão resultar em um erro "Quantity Not Sufficient" (Quantidade insuficiente).
- A realização de um ensaio de BKV em espécimes armazenados em temperaturas inadequadas ou que ultrapassem os prazos de armazenamento especificados pode produzir resultados inválidos ou errôneos quando se utiliza a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Evite a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. Recomenda-se o uso de pipetas de transferência descartáveis, estéreis e livres de DNase em caso de utilização de tubos de espécime secundários. Use uma pipeta nova para cada espécime.
- Para evitar contaminação, não manuseie ou destrua qualquer NeuMoDx™ Cartridge pós-amplificação. Não recupere 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) em nenhuma circunstância. O NeuMoDx™ Cartridge foi projetado para evitar contaminação.
- Nos casos em que também sejam realizados testes de PCR em tubo aberto pelo laboratório, é necessário ter especial cuidado para que a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, os consumíveis e reagentes adicionais necessários para a testagem, o equipamento de proteção individual, como luvas e batas de laboratório, e o NeuMoDx™ System não sejam contaminados.
- Devem ser usadas luvas de nitrila limpas e sem talco ao manusear reagentes e consumíveis NeuMoDx™. Deve-se ter especial cuidado para não tocar na superfície superior do NeuMoDx™ Cartridge, na superfície do selo de papel alumínio da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ou da NeuMoDx™ Extraction Plate ou na superfície superior do recipiente do NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 e 5; o manuseio dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- São fornecidas fichas de dados de segurança (FDS) para cada reagente (conforme aplicável) em www.neumodx.com/client-resources.
- Uma barra vertical na margem do texto indica mudanças em relação à versão anterior das instruções de uso.
- 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 em OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁴, Biosafety Level 2⁵, ou outras práticas de biossegurança apropriadas^{6,7}, para materiais que contenham ou se suspeite que contenham agentes infecciosos.
- Descarte os reagentes não utilizados e resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, federais, regionais, estaduais e locais.
- Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais.
- Assim como acontece com outros testes, resultados negativos não excluem infecção por BKV.

ARMAZENAMENTO, MANUSEIO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips permanecem estáveis na embalagem primária entre 15 e 30 °C até a data de validade indicada no rótulo do produto.
- Uma NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip carregada no NeuMoDx™ System permanece estável por 32 dias; o software do NeuMoDx™ System solicitará a remoção das tiras de teste que tenham estado em uso no NeuMoDx™ System por mais de 32 dias e será necessário abrir (extrair as tiras da bolsa) e carregar novas NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips no NeuMoDx System. Não remova o papel alumínio da tira durante o carregamento no NeuMoDx System.
- Os calibradores e controles NeuMoDx™ não são infecciosos, mas devem ser descartados nos resíduos de risco biológico do laboratório após o uso, pois eles conterão material alvo após o processamento no sistema que pode causar contaminação se não for adequadamente manuseado.

COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

1. Manuseie todos os espécimes como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.
2. Não congele sangue total ou espécimes de plasma/soro armazenados em tubos primários.
3. Para preparar espécimes de plasma, o sangue total deve ser colhido em tubos estéreis usando EDTA como anticoagulante. Os espécimes de soro devem ser preparados em tubos separadores de soro. As amostras de urina devem ser colhidas em tubos ou coletores estéreis. Siga as instruções do fabricante do tubo de coleta de espécime.

4. Sangue total colhido nos dispositivos listados acima pode ser armazenado e/ou transportado por até 24 horas a temperaturas entre 2 e 8 °C antes da preparação do plasma/soro. A preparação de amostras deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
5. O armazenamento em temperatura ambiente de urina recém-colhida e não processada deve ser evitado, uma vez que o pH baixo e o alto teor de ureia desnaturam rapidamente o DNA, especialmente a 25 °C e acima.
6. Os espécimes de plasma/soro e urina preparados podem ser armazenadas no NeuMoDx[™] System por até 24 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados como alíquotas secundárias.
7. Os espécimes de plasma/soro e urina preparados devem ser armazenados a uma temperatura entre 2 e 8 °C por um máximo de 8 dias antes da testagem e por um máximo de 24 horas em temperatura ambiente.
8. Os espécimes preparados podem ser armazenados a < -20 °C por até 8 semanas para plasma, e por até 2 semanas para soro, pré-processamento; as amostras de plasma e soro não devem ser submetidas a mais de 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas:
 - 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. Uma vez processadas, as amostras de urina podem ser armazenadas a uma temperatura entre 2 e 8 °C.
10. Se os espécimes forem expedidos, eles devem ser embalados e rotulados de acordo com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
11. Identifique os espécimes de forma clara e indique que eles são para testes de BKV.
12. Avance para a seção *Preparação para teste*.

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

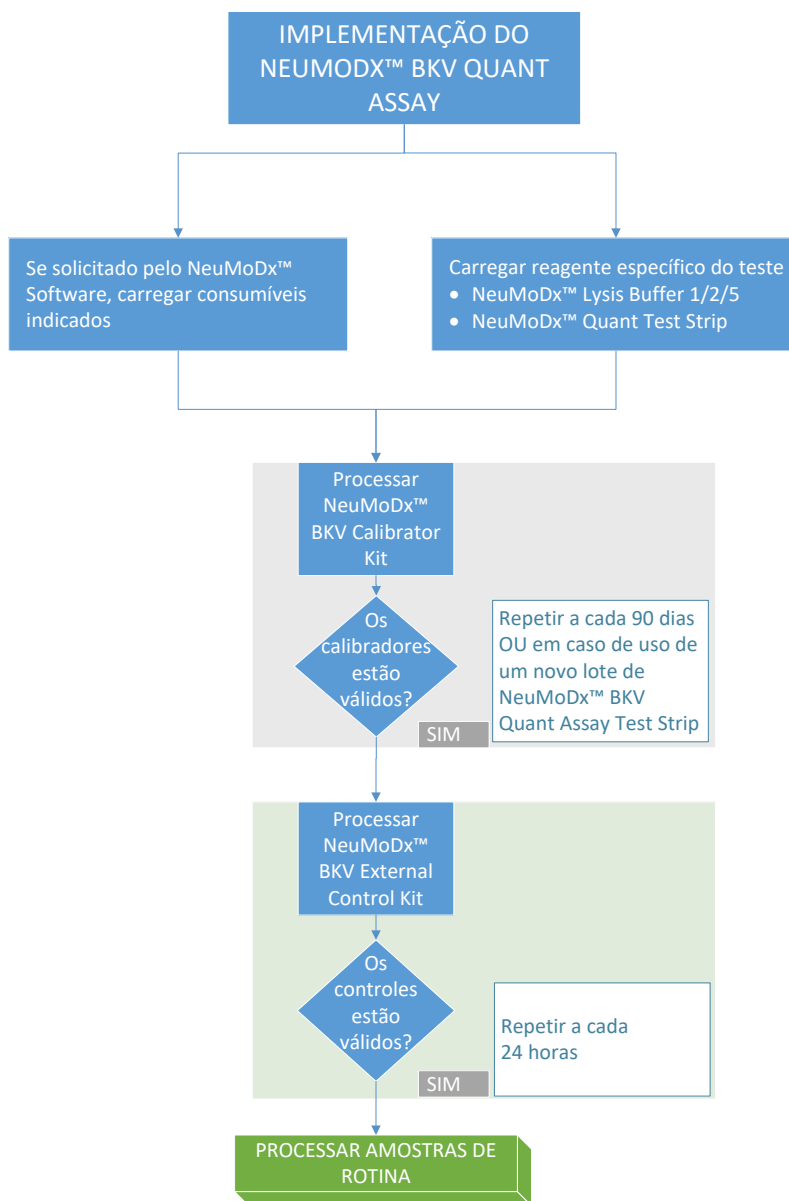


Figura 1: Fluxo de trabalho de implementação do NeuMoDx BKV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação para teste

Para amostras de plasma/soro, o NeuMoDx BKV 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 volume de espécime: fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL ou fluxo de trabalho de processamento de espécime de 100 µL. As amostras de urina são executadas usando apenas o fluxo de trabalho de volume de espécime de 550 µL.

1. Aplique uma etiqueta de código de barras de espécime a 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 tubo de espécime de 32 tubos após centrifugação, conforme orientação do fabricante.
2. Se estiver testando o espécime de plasma/soro no tubo de coleta primário, coloque o tubo com código de barras em um transportador de tubos de espécime e certifique-se de que a tampa seja removida antes de carregá-lo no NeuMoDx System. Os volumes mínimos **acima** da camada de gel/leucoplaquetária são definidos abaixo e serão alcançados se os espécimes forem colhidos e processados de acordo com as instruções do fabricante do tubo. O desempenho não é garantido para espécimes colhidos incorretamente.

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

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

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

Operação do NeuMoDx System

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

1. Carregue o pedido de teste no NeuMoDx System de acordo com o espécime e o tipo de tubo desejados:
 - O volume de espécime de 550 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma**" (Plasma), "**Serum**" (Soro) ou "**Urine**" (Urina)
 - O volume de espécime de 100 µL é testado definindo-se o tipo de espécime como "**Plasma2**" (Plasma2) ou "**Serum2**" (Soro2)
 - Se não for definido no pedido de teste, o espécime de **Plasma** (Plasma) em um **Secondary Tube** (Tubo secundário) será definido como padrão.
2. Recorte as bolsas de alumínio de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips no ponto indicado pelas marcas laterais.
3. Retire as tiras das bolsas imediatamente antes de usar.

4. Antes de abrir as bolsas, certifique-se sempre que estão bem seladas e que o sachê dessecante ainda está dentro delas. Use apenas embalagens não danificadas.
5. Descarte as bolsas de alumínio e o seu conteúdo se o sachê dessecante mudar de laranja para verde.
6. Preencha um ou mais transportadores de tiras de teste do NeuMoDx™ System com NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips e utilize a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx™ System.
7. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, adicione os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx™ System e utilize a tela sensível ao toque para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx™ System.
8. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, reponha NeuMoDx™ Wash Reagent e NeuMoDx™ Release Reagent, esvazie os resíduos de preparação, o recipiente de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 288 Molecular System), a lixeira de resíduos de ponteiros (apenas NeuMoDx 96 Molecular System) ou a lixeira de resíduos de risco biológico (apenas NeuMoDx 96 Molecular System), conforme apropriado.
9. Se solicitado pelo software do NeuMoDx™ System, processe os Calibrators (REF 800600) e/ou os External Controls (REF 900601) conforme necessário. Mais informações sobre calibradores e controles podem ser encontradas na seção *Processamento de resultados*.
10. Carregue o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controle em um transportador de 32 tubos padrão e certifique-se de que as tampas sejam removidas de todos os tubos.
11. Coloque o transportador de tubos de espécime em qualquer posição aberta da prateleira de autocarregamento e utilize a tela sensível ao toque para carregar o transportador no NeuMoDx™ System. Isso iniciará o processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s), desde que um pedido de teste válido exista no sistema.

LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip só pode ser utilizada em NeuMoDx™ Systems.
- O desempenho da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma e soro preparados a partir do sangue total e colhidos com EDTA como anticoagulante, e para espécimes de urina; o uso da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip com outros tipos de espécimes clínicos não foi avaliado e as características de desempenho do teste são desconhecidas para outros tipos de espécimes.
- Um pequeno aumento no limite de detecção e no limite inferior de quantificação do NeuMoDx BKV Quant Assay foi observado ao usar o fluxo de trabalho de volume de espécime de 100 µL.
- O NeuMoDx BKV Quant Assay não deve ser usado com amostras heparinizadas.
- Visto que a detecção de BKV depende do número de organismos presentes na amostra, a confiabilidade dos resultados depende da coleta, do manuseio e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e controles externos devem ser processados conforme recomendado nas bulas e conforme solicitado pelo software do NeuMoDx™ System antes do processamento de amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados errôneos devido a problemas de coleta, manuseio, armazenamento, erro técnico ou mistura de tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer falsos resultados negativos porque o número de partículas virais na amostra está abaixo do limite de detecção do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx™ System está limitada a pessoal com treinamento para utilizar o NeuMoDx™ System.
- Se ambos os alvos de BKV 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.
- Se o resultado do NeuMoDx™ BKV Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver além dos limites de quantificação, o NeuMoDx™ System relatará se o BKV detectado estava abaixo do limite inferior de quantificação (LIdQ) ou acima do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o BKV detectado estiver abaixo do LIdQ, o NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser repetido (se desejado) com outra alíquota do espécime.
- Se o BKV detectado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. Recomenda-se uma diluição de 1:1000 em plasma negativo para BKV ou em Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). A concentração do espécime original pode ser calculada da seguinte forma:
$$\text{Concentração do espécime original} = \log_{10} (\text{fator de diluição}) + \text{concentração reportada da amostra diluída}.$$
- A presença ocasional de inibidores da PCR em plasma/soro ou urina pode resultar em um erro de quantificação do sistema; caso isso ocorra, recomenda-se repetir o teste com o mesmo espécime diluído em Basematrix a 1:10 ou 1:100.
- Um resultado positivo não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo é indicativo da presença de DNA de BKV.
- Eliminações ou mutações nas regiões conservadas que são alvo do NeuMoDx™ BKV Quant Assay podem afetar a detecção ou originar um resultado errôneo ao utilizar a NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay devem ser utilizados como um complemento às observações clínicas e outras informações à disposição do médico; o teste não se destina a diagnosticar infecção.

- É recomendável aplicar boas práticas de laboratório, incluindo a troca de luvas entre o manuseio de espécimes de pacientes para evitar contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

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

Os resultados do NeuMoDx™ BKV 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 do NeuMoDx™ BKV (BKV Assay Definition File, BKV ADF). Um resultado do NeuMoDx™ BKV Quant Assay pode ser reportado como Negative (Negativo), Positive (Positivo) com uma concentração de BKV 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 amostra. Os resultados são relatados com base no algoritmo de decisão, resumido abaixo na *Tabela 1*.

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

Resultado	BKV	Controle de processo de amostra (SPC1)	Interpretação do resultado
Positive (Positivo) com concentração relatada	Amplified (Amplificado) 1,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 550 µL)* 2,3 ≤ [BKV] ≤ 8,0 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 100 µL)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA de BKV detectado dentro do intervalo quantitativo
Positive (Positivo), acima do limite superior de quantificação [L_{SdQ}]	Amplified (Amplificado) [BKV] > 8,0 log ₁₀ UI/mL	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA de BKV detectado acima do intervalo quantitativo
Positive (Positivo), abaixo do limite inferior de quantificação [L_{IdQ}]	Amplified (Amplificado) [BKV] < 1,3 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 550 µL)* [BKV] < 2,3 log ₁₀ UI/mL (fluxo de trabalho de 100 µL)*	Amplified (Amplificado) ou Not Amplified (Não amplificado)	DNA de BKV detectado abaixo do intervalo quantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (Não amplificado)	Amplified (Amplificado)	DNA de BKV 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 Completed (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 Errors Noted (Não amplificado, Nenhum erro de sistema detectado)		Todos os resultados do alvo foram inválidos; testar novamente a amostra†

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

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

Cálculo do teste

1. Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx™ BKV Quant Assay, a concentração de DNA de BKV nas amostras é calculada usando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração e o volume de espécime.
 - a. O coeficiente de calibração é calculado com base nos resultados do NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit processado para estabelecer a validade da curva-padrão, para um lote em particular do NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, em um NeuMoDx™ System específico.
 - b. O coeficiente de calibração é integrado na determinação final da concentração de DNA de BKV.
 - c. O software do NeuMoDx System considera o volume de entrada de espécime ao determinar a concentração de DNA de BKV por mL de espécime.
2. Os resultados do NeuMoDx™ BKV Quant Assay são relatados em log₁₀ UI/mL.
3. A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 1º padrão internacional da OMS para o vírus BK (BKV) (14/212)⁹.

Calibração de teste

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

Calibradores

1. Os NeuMoDx™ BKV Calibrators são fornecidos em um kit (REF 800600) e são compostos por um pellet seco de DNA sintético de BKV.
2. É necessário processar um conjunto de calibradores de BKV com cada novo lote de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips, se for carregado um novo arquivo de definições de ensaio de BKV no NeuMoDx™ System, se o conjunto atual de calibradores estiver fora do prazo de validade (definido em 90 dias) ou no caso de o software do NeuMoDx™ System ter sido modificado.
3. 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 até que os calibradores tenham sido processados com êxito.
4. Se for necessário processar um novo conjunto de calibradores de BKV, leia todas as instruções contidas na bula do NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit antes de realizar o teste.
5. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a) É necessário processar um conjunto de dois calibradores (alto e baixo) para estabelecer a validade.
 - b) Para gerar resultados válidos, pelo menos 2 das 3 réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de $3 \log_{10}$ UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de $5 \log_{10}$ UI/mL.
 - c) Um coeficiente de calibração é calculado para levar em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste; este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final de BKV.
6. Se um ou ambos os calibradores falharem 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.

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. São fornecidos BKV External Controls pela NeuMoDx Molecular, Inc. no BKV External Control Kit (REF900601). Os controles positivos contêm um pellet seco de DNA sintético de BKV.
2. Os controles externos positivos e negativos precisam ser processados uma vez a cada 24 horas. Se não houver um conjunto de controles externos válidos, o software do NeuMoDx™ System solicitará ao usuário que processe esses controles antes de poderem ser relatados resultados da amostra.
3. Se precisar de controles externos, prepare os controles positivo e negativo conforme indicado na bula do NeuMoDx BKV External Control Kit antes de realizar o teste.
4. Usando a tela sensível ao toque e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira de autocarregamento, carregue os frascos de controle positivo e negativo no NeuMoDx™ System. O NeuMoDx™ System reconhecerá o código de barras e começará a processar os tubos de espécime, a menos que não estejam disponíveis reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. A validade dos controles externos será avaliada pelo NeuMoDx™ System com base no resultado esperado. O controle positivo deve fornecer um resultado Positive (Positivo) para BKV e o controle negativo deve fornecer um resultado Negative (Negativo) para BKV.
6. Os resultados discrepantes de controles externos devem ser gerenciados da seguinte forma:
 - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controle negativo indica um problema de contaminação do espécime.
 - b) Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controle positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c) Em qualquer um dos casos acima, ou no caso de um resultado Indeterminate (Indeterminado, IND) ou No Result (Sem resultado, NR), repita o(s) NeuMoDx™ BKV External Control(s) com um novo frasco do(s) controle(s) que falharam o teste de validação.
 - d) Se o NeuMoDx™ BKV External Control positivo continuar a relatar um resultado Negative (Negativo), entre em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx™.
 - e) Se o NeuMoDx™ BKV External Control negativo continuar a relatar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a reposição de TODOS os reagentes e consumíveis antes de entrar em contato com o atendimento ao cliente da NeuMoDx™.

Controles (internos) de processo de amostra

Um controle de processo de amostra (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 iniciadores e sonda específicos para o SPC1 em cada uma das NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, que permitem a detecção da presença de SPC1 em conjunto com o DNA de BKV alvo (se presente) via PCR em tempo real multiplex. A detecção de amplificação do SPC1 permite que o software do NeuMoDx™ System monitore a eficácia dos processos de extração de DNA e de amplificação por PCR.

Resultados inválidos

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

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

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

Se um NeuMoDx BKV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não produzir resultados válidos e o processamento da amostra for cancelado antes da conclusão, será reportado como No Result (Sem resultado, NR). Caso seja reportado um resultado NR (Sem resultado), é recomendável repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de detecção¹²

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

Tabela 2: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx BKV Quant Assay (Plasma/Soro 550 µL e urina)

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

Tabela 3: Taxas de detecção positiva para determinação do LdD do NeuMoDx BKV Quant Assay (Plasma/Soro 100 µL)

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

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

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

O limite inferior de quantificação (LidQ) e o limite superior de quantificação (LSdQ) são definidos como o nível de alvo mais baixo e o nível de alvo mais alto em que > 95% de detecção é alcançada e o TAE ≤ 1,0. Para determinar o LidQ e o LSdQ, o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) foi calculado para cada um dos níveis de alvo de BKV que mostraram reportar detecção > 95%. O TAE é definido da seguinte forma:

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

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 para os 5 níveis de espécimes de plasma/soro de BKV ou urina utilizados no estudo de LidQ/LSdQ são mostrados na *Tabela 4* e na 5. Com base neste conjunto de dados e no LdD previamente determinado, o LidQ e o LSdQ foram determinados como sendo de 20 UI/mL (1,3 log₁₀ UI/mL) e 7,58x10⁷ UI/mL (aqui arredondado para 8 log₁₀ UI/mL), respectivamente para Plasma/Soro 550 µL e Urina, e 200 UI/mL (2,3 log₁₀ UI/mL) para Plasma/Soro 100 µL.

Tabela 4: LSdQ e LidQ da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, com tendência e TAE (Plasma/Soro 550 µL e urina)

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [log ₁₀ UI/mL]	Plasma/Soro 550 µL					Urina				
		Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Detecção (%)	DP	Tendência	TAE	Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Detecção (%)	DP	Tendência	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,05	0,23	8	100	0,09	0,10	0,29
50	1,70	1,80	100	0,18	0,10	0,46	1,84	100	0,22	0,14	0,59
20	1,30	1,56	100	0,25	0,26	0,76	1,66	100	0,29	0,36	0,93
10	1,00	1,46	85	0,27	0,46	1,01	1,41	85%	0,41	0,41	1,22
5	0,30	1,27	39	0,48	0,97	1,92	1,31	38%	0,52	1,01	2,04

Tabela 5: LSdQ e LidQ da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, com tendência e TAE (Plasma/Soro 100 µL)

Conc. de alvo [UI/mL]	Conc. de alvo [log ₁₀ UI/mL]	Plasma/Soro 100 µL				
		Conc. média [log ₁₀ UI/mL]	Detecção (%)	DP	Tendência	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Com base nos resultados desses estudos, o LdD e o LidQ do NeuMoDx™ BKV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 20 UI/mL (1,3 log₁₀ UI/mL) para plasma/soro e urina com o fluxo de trabalho de 550 µL e 200 UI/mL (2,30 log₁₀ UI/mL) para plasma/soro ao usar o fluxo de trabalho de 100 µL. O LSdQ para todos os tipos de espécimes é de 7,58x10⁷ UI/mL (8 log₁₀ UI/mL).

Linearidade¹³

A linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi estabelecida em plasma/soro e urina pela preparação de uma série de diluições utilizando BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 1º padrão internacional da OMS para o vírus BK (BKV) (14/212)⁹. Foram criadas 11 diluições seriais de BKV Synthetic Plasmid preparadas em Basematrix 53 negativo para BKV ou em pool de urina humana negativa para BKV para abranger uma faixa de concentração de 7,88–1,58 log₁₀ UI/mL para plasma/soro 550 µL e urina, e uma faixa de concentração de 6,88–2,88 log₁₀ UI/mL para plasma/soro 100 µL.

As concentrações do ensaio de BKV relatadas pelo NeuMoDx™ System em comparação com os valores esperados são apresentadas na *Figura 2, 3* e na 4.

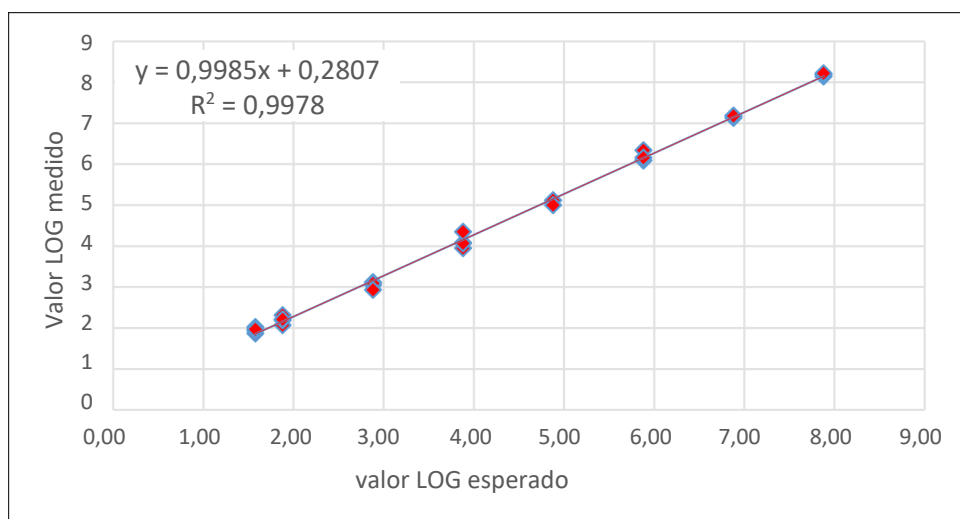


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx™ BKV Quant Assay para plasma/soro (fluxo de trabalho de 550 µL)

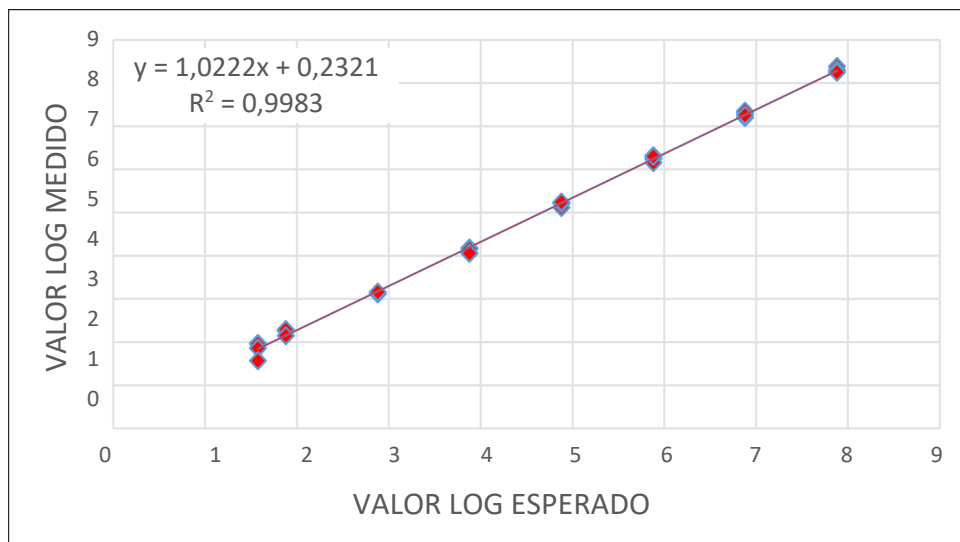


Figura 3: Linearidade do NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip para espécimes de urina

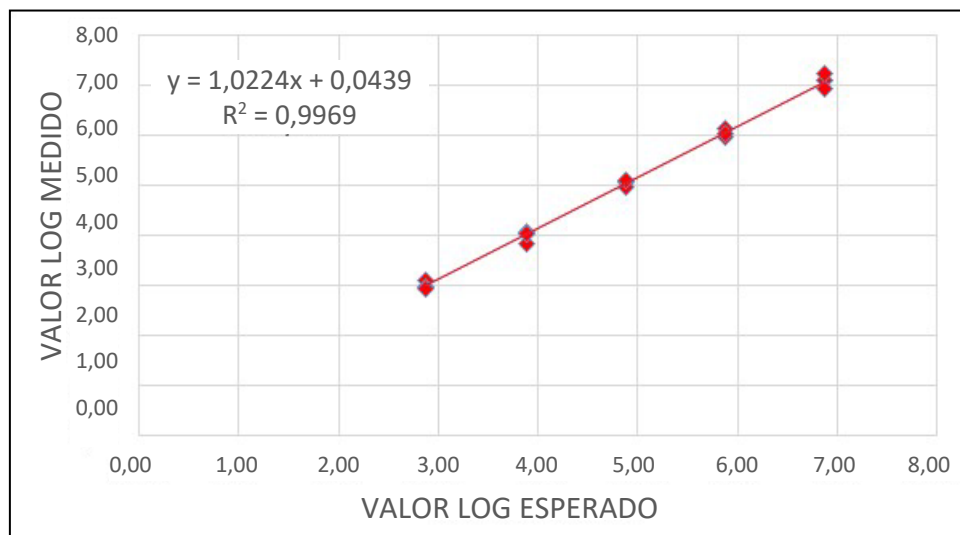


Figura 4: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip para plasma/soro (fluxo de trabalho de 100 µL)

Linearidade entre genótipos¹⁶

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

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

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

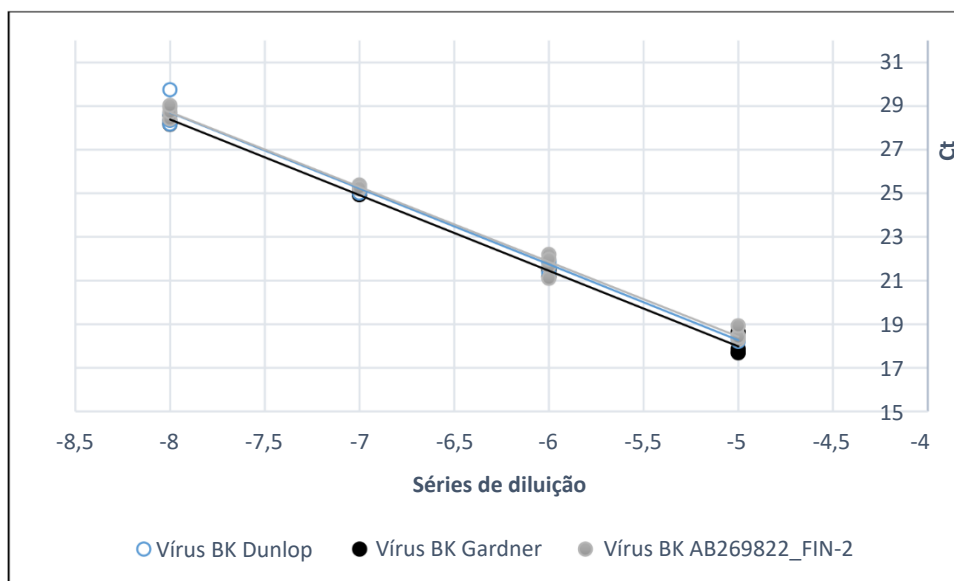


Figura 5: Linearidade da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip entre genótipos

Especificidade analítica – Reatividade cruzada ^{10,11}

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 22 organismos normalmente encontrados em espécimes de plasma/soro ou urina, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao BKV quanto à reatividade cruzada. Os organismos foram preparados em pools de 5–6 organismos e testados em alta concentração. Os organismos testados são mostrados na *Tabela 7*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

Tabela 7: Patógenos utilizados para demonstrar a especificidade analítica

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

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

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para o teste de reatividade cruzada listados acima na *Tabela 7*. Plasma negativo para BKV foi enriquecido com os organismos em pools de 5–6; estes pools foram depois enriquecidos com alvo de BKV a uma concentração de 4 log₁₀ UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença desses organismos apatogênicos, tal como indicado pelo desvio mínimo da quantificação em relação a espécimes de controle que não continham qualquer agente interferente.

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

O NeuMoDx™ BKV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas em espécimes clínicos de plasma/soro ou urina de BKV. Entre elas, havia níveis anormalmente elevados de componentes de sangue ou urina, bem como medicamentos antivirais comuns, que são classificados na *Tabela 8*. Cada uma das substâncias foi adicionada a urina humana ou Basematrix 53 com testagem negativa para BKV, enriquecida com 3 log₁₀ UI/mL de BKV, e as amostras foram analisadas quanto a interferência. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação a amostras de controle enriquecidas com o mesmo nível de BKV são reportadas na *Tabela 9*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx™ BKV Quant Assay.

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

Pool	Nome do medicamento	Classificação
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednisona	IMUNOSSUPRESSOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaxima	ANTIBIÓTICO
	Micofenolato mofetil	IMUNOSSUPRESSOR
Pool 2	Vancomicina	ANTIBIÓTICO
	Tacrolimus	IMUNOSSUPRESSOR
	Famotidina	ANTI-HISTAMÍNICO
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomida	IMUNOSSUPRESSOR

Tabela 9: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenos (Plasma/Soro)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Triglicérides 500 mg/dL	3,09	0,16
Bilirrubina conjugada (0,25 g/L)	3,09	0,16
Bilirrubina não conjugada (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Albumina (58,7 g/L)	3,12	0,13
Hemoglobina (2,9 g/L)	3,02	0,23
Endógenos (Urina)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Urobilinogênio (> 2 mg/dL)	3,74	-0,09
Glicose (1.000 mg/dL)	4,00	0,04
Urina pH 4	3,75	0,29
Urina pH 10	3,77	0,27
Leucócitos (1E5 células/mL)	3,68	-0,06
Sangue 7%	3,42	-0,32
Proteína (albumina > 100 mg/dL)	3,96	0,08
Pó de talco	3,92	0,12
Exógenos (Medicamentos)	Conc. média	Tendência
	log ₁₀ UI/mL	log ₁₀ UI/mL
Pool 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Micofenolato mofetil	4,04	-0,06
Pool 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	4,07	-0,09

Repetibilidade e precisão intralaboratorial¹⁴

A precisão da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada com a testagem de 2 réplicas de um painel de 5 membros de espécimes de BKV preparadas com plasmídeo de BKV duas vezes ao dia, usando um NeuMoDx™ 96 System por 20 dias. As precisões intraensaio e intradiária foram caracterizadas e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo de $\leq 0,30 \log_{10}$ UI/mL. Foi demonstrada uma precisão excelente entre dias e processamentos, tal como apresentado na *Tabela 10*. A precisão entre operadores não foi caracterizada, pois o operador não desempenha um papel significativo no processamento de amostras utilizando o NeuMoDx™ System.

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

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

Reprodutibilidade lote a lote¹⁴

A reprodutibilidade lote a lote da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada usando três lotes diferentes de NeuMoDx™ BKV Quant Test Strips. Um painel de 5 membros de BKV preparado com plasmídeo de BKV foi usado para avaliar o desempenho em um NeuMoDx™ 96 Molecular System em 3 processamentos separados. Foi analisada a variação intralote e entre lotes e os resultados, expressos como tendência de quantificação absoluta entre lotes, são apresentados na *Tabela 11*. A tendência geral máxima foi de $0,27 \log_{10}$ UI/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre lotes, uma vez que a quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância.

Tabela 11: Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx BKV Quant Assay

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

Reprodutibilidade instrumento a instrumento¹⁴

A reprodutibilidade instrumento a instrumento da NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip foi determinada usando três sistemas diferentes (dois NeuMoDx™ 288 Molecular System e um NeuMoDx™ 96 Molecular System). Um painel de 5 membros de BKV preparado com plasmídeo de BKV foi utilizado para avaliar o desempenho. O teste foi realizado em paralelo nos sistemas por 5 dias. As variações intradiária e entre sistemas foram caracterizadas e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo de $\leq 0,30 \log_{10}$ UI/mL. A equivalência de desempenho foi demonstrada entre sistemas, uma vez que o DP na quantificação de todos os membros do painel se encontrava dentro da especificação de tolerância (*Tabela 12*).

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

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

REFERÊNCIAS

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

MARCAS COMERCIAIS

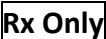













NeuMoDx™ é uma marca comercial da NeuMoDx Molecular, Inc.

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

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

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

SÍMBOLOS

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



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

www.sentinel diagnostics.com



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

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

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

Patente: www.neumodx.com/patents