

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

CUIDADO: Apenas para exportação dos EUA

IVD Para utilização em diagnóstico *in vitro* no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System

Para obter mais informações sobre atualizações do folheto informativo, aceder a: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 288 Molecular System; p/n 40600108
Para obter instruções detalhadas, consultar o Manual do Operador NeuMoDx 96 Molecular System; p/n 40600317

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O NeuMoDx EBV Quant Assay é um teste *in vitro* automatizado de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação de ADN do vírus Epstein-Barr humano (EBV) em plasma. O NeuMoDx EBV Quant Assay implementado no NeuMoDx 288 Molecular System e no NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Systems) integra a extração automatizada de ADN para isolar o ácido nucleico-alvo do plasma e da reação em cadeia da polimerase (Polymerase Chain Reaction, PCR) em tempo real tendo como alvo duas regiões altamente conservadas do genoma do vírus Epstein-Barr.

O NeuMoDx EBV Quant Assay destina-se a ser utilizado para a deteção e quantificação *in vitro* de ADN do vírus Epstein-Barr em espécimes de plasma humano recém-colhidos e congelados utilizando o NeuMoDx 288 Molecular System e o NeuMoDx 96 Molecular System. O NeuMoDx EBV Assay destina-se a ser utilizado no diagnóstico e na monitorização de infeções por EBV. O ensaio pode ser utilizado para medir os níveis de ADN do EBV para avaliar a resposta ao tratamento antiviral. Este ensaio destina-se a ser utilizado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores de laboratório do progresso da doença para a gestão e monitorização clínicas da infeção por EBV. O ensaio não se destina a ser utilizado como teste de rastreamento para a presença do EBV no sangue ou em produtos sanguíneos.

RESUMO E EXPLICAÇÃO

O sangue total humano colhido em tubos de colheita de sangue estéreis contendo EDTA como agente anticoagulante pode ser utilizado para a preparação de plasma. Para iniciar o teste, o plasma num tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System é colocado num transportador de tubos de espécime e carregado na mesa de trabalho do NeuMoDx System. Por cada espécime, uma alíquota de 250 µL da amostra de plasma é misturada com o NeuMoDx Lysis Buffer 5 e o NeuMoDx System desempenha automaticamente todos os passos necessários para extrair o ácido nucleico-alvo, preparar o ADN isolado para a amplificação PCR em tempo real e, se presentes, amplificar e detetar os produtos de amplificação (duas regiões altamente conservadas no genoma do EBV). O NeuMoDx EBV 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 e falhas do reagente ou do NeuMoDx System que podem acontecer durante o processo de extração e amplificação.

O EBV é um vírus comum de ADN de cadeia dupla da família de vírus de herpes humano que infeta pessoas de todas as idades. Estima-se que uma percentagem > 90% dos indivíduos em todo o mundo esteja ou tenha sido infetada com o EBV.¹ O EBV é propagado através de fluidos corporais como saliva, sangue, sêmen e transplante de órgãos. Muitas pessoas são infetadas com EBV na infância. Estes indivíduos, embora infetados por EBV, são geralmente assintomáticos. As pessoas imunocomprometidas podem desenvolver sintomas e complicações mais graves com a infeção por EBV. A infeção latente por EBV apresenta maior risco para pacientes transplantados. As doenças linfoproliferativas pós-transplante (DLPT) incluem formação de tumores associados ao EBV em células B devido ao efeito de agentes imunossupressores no controlo imunitário do EBV, uma das causas mais significativas de morbilidade e mortalidade em pacientes submetidos a transplante de qualquer órgão.²

A utilização da monitorização da carga viral do EBV facilita o diagnóstico e a gestão da DLPT associada ao EBV. No entanto, a deteção do ácido nucleico do EBV no sangue não é suficiente para o diagnóstico da DLPT associada ao EBV. O teste de ácidos nucleicos (Nucleic Acid Testing, NAT) apenas deve ser utilizado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores de laboratório da progressão da doença para a gestão e monitorização clínicas dos pacientes infetados por EBV. Apesar de as diretrizes atuais para a gestão e tratamento de infeções por EBV em indivíduos imunocomprometidos serem ambíguas em termos de *quando* iniciar a terapia antiviral, todas requerem uma monitorização constante da carga viral assim que a terapia antiviral é iniciada, de forma a ajudar a mitigar os graves efeitos secundários dos medicamentos em tais populações.^{3,4}

PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O NeuMoDx EBV Quant Assay no NeuMoDx System utiliza NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 e reagentes de utilização geral NeuMoDx para realizar a análise. O NeuMoDx EBV Quant Assay combina extração de ADN automatizada, amplificação e deteção por PCR em tempo real. Os espécimes de sangue total são colhidos em tubos EDTA para a preparação de plasma. O espécime de plasma, num tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System, é colocado num transportador de tubos de espécime e carregado na mesa de trabalho do NeuMoDx System para processamento. Não é necessária intervenção adicional do operador.

Os NeuMoDx Systems utilizam uma combinação de calor, enzimas líticas e reagentes de extração para desempenhar automaticamente a lise celular, a extração de ADN e a remoção de inibidores. Os ácidos nucleicos libertados são capturados por partículas paramagnéticas. As partículas, com os ácidos nucleicos ligados, são carregadas no NeuMoDx Cartridge, onde os componentes não ADN e não ligados são retirados por lavagem através do NeuMoDx Wash Reagent e o ADN ligado é eluído utilizando o NeuMoDx Release Reagent. Os NeuMoDx Systems utilizam então o ADN eluído para reidratar reagentes de amplificação NeuDry™ patenteados que contêm todos os elementos necessários para amplificação por PCR dos alvos específicos do EBV e SPC1. Após a reconstituição dos reagentes de PCR NeuDry, o NeuMoDx System dispensa a mistura preparada e pronta para PCR no NeuMoDx Cartridge. A amplificação e deteção de seqüências 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.

O NeuMoDx EBV Quant Assay tem como alvo duas regiões altamente conservadas (BALF5 e BXFL1) no genoma do EBV. A conceção de duplo alvo reduz o risco de falso-negativos em caso de mutação, aumentando assim a robustez do ensaio. Os 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 de 5' da sonda de oligonucleotídeos e num supressor na extremidade de 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 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 de 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 provoca a perda de proximidade com o supressor, ultrapassando assim o efeito de supressão devido ao FRET e permitindo a deteção de fluorescência do fluoróforo. O sinal de fluorescência resultante detetado é diretamente proporcional ao fluoróforo libertado e pode ser correlacionado com a quantidade de ADN alvo presente.

Uma sonda TaqMan marcada com um fluoróforo (490/521 nm) na extremidade 5', e um supressor de fluorescência na extremidade 3', é utilizada para detetar ADN do EBV. Para a deteção do SPC1, a sonda TaqMan é marcada com um marcador fluorescente alternativo (535/556 nm) na extremidade 5' e um supressor de fluorescência na extremidade 3'. 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 (POSITIVE [POSITIVO]/NEGATIVE [NEGATIVO]/INDETERMINATE [INDETERMINADO]/UNRESOLVED [NÃO RESOLVIDO]). Se um resultado for POSITIVE (POSITIVO), o software do NeuMoDx System também fornece um valor quantitativo associado à amostra ou comunica se a concentração calculada estiver fora dos limites de quantificação.

REAGENTES/CONSUMÍVEIS

Material fornecido

REF	Conteúdo	Testes por unidade	Testes por embalagem
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Reagentes de PCR secos contendo iniciadores e sonda TaqMan específicos de EBV e SPC1.</i>	16	96

Materiais adicionais 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>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Conjuntos de utilização única de calibradores altos e baixos de EBV para estabelecer a validade da curva-padrão</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Conjuntos de utilização única de controlos positivos e negativos de EBV para estabelecer a validade diária do NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) com filtros
235905	Pontas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) com filtros

Instrumentos necessários

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

AVISOS E PRECAUÇÕES

- O NeuMoDx EBV Quant Assay destina-se apenas para utilização em diagnóstico *in vitro* com NeuMoDx Systems.
- Os espécimes devem ser sempre manuseados como se fossem infecciosos e de acordo com os procedimentos laboratoriais de segurança, tal como os descritos na publicação Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ e no documento M29-A4⁶ do CLSI.
- Um resultado positivo indica a presença de ADN de EBV.

- A utilização do NeuMoDx EBV Quant Assay está limitada a pessoal qualificado na utilização do NeuMoDx System e no manuseamento de materiais infecciosos.
- 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.
- Deve estar disponível uma calibração de teste válida (gerada através do processamento de calibradores altos e baixos NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]) antes de os resultados de teste poderem ser criados para as amostras clínicas.
- É necessário processar NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] a cada 24 horas ao longo da testagem com o NeuMoDx EBV Quant Assay.
- O volume mínimo de espécime de alíquotas secundárias depende do tamanho do tubo/transportador de tubos de espécime, tal como 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 sempre a contaminação microbiana e por desoxirribonuclease (DNase) de todos os reagentes e consumíveis. 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 EBV 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 EBV Quant Test Strip ou da NeuMoDx Extraction Plate ou na parte superior da superfície do recipiente do NeuMoDx Lysis Buffer 5; o manuseamento dos consumíveis e dos reagentes deve ser feito tocando apenas nas superfícies laterais.
- Estão disponíveis mediante solicitação as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDS).
- 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.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos de acordo com os regulamentos nacionais, regionais e locais.

ARMAZENAMENTO, TRATAMENTO E ESTABILIDADE DO PRODUTO

- As NeuMoDx EBV Quant Test Strips permanecem estáveis dentro da embalagem primária até à data de validade indicada na etiqueta do produto, quando armazenadas a temperaturas entre 18 e 23 °C.
- Não utilizar consumíveis ou reagentes após a data de validade indicada.
- Não utilizar qualquer produto de teste se a embalagem primária ou secundária tiver danos visíveis.
- Não carregue novamente qualquer produto de teste que tenha sido previamente carregado noutra NeuMoDx System.
- Uma vez carregada, a NeuMoDx EBV Quant Test Strip pode permanecer a bordo do NeuMoDx System durante 14 dias. O prazo de validade restante de tiras de teste carregadas é controlado pelo software e comunicado ao utilizador em tempo real. O sistema irá solicitar a remoção das tiras de teste que tenham sido utilizadas para além do período permitido.
- Apesar de os NeuMoDx EBV Calibrators e os NeuMoDx EBV External Controls não serem infecciosos, devem ser descartados no recipiente de resíduos de risco biológico do laboratório após a utilização para reduzir o risco de contaminação pelo ácido nucleico-alvo neles contido.

COLHEITA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIMES

Manuseie todos os espécimes como se fossem passíveis de transmitir agentes infecciosos.

- Não congele espécimes de sangue total ou quaisquer outros armazenados em tubos primários.
- 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.
- O sangue total colhido nos dispositivos listados acima deve ser armazenado e/ou transportado até 24 horas a temperaturas entre 2 °C e 25 °C, antes da preparação do plasma. A preparação do plasma deve ser realizada de acordo com as instruções do fabricante.
- Os espécimes de plasma preparados podem permanecer no NeuMoDx System até 8 horas antes do processamento. Se for necessário tempo adicional de armazenamento, é recomendado que os espécimes sejam refrigerados ou congelados.
- Os espécimes de plasma preparados devem ser armazenados a temperaturas entre 2 e 8 °C até 7 dias antes do teste e durante um máximo de 8 horas à temperatura ambiente.

- Os espécimes de plasma preparados podem ser armazenados a uma temperatura < -20 °C até 8 semanas para plasma pré-processamento; as amostras de plasma não devem ser sujeitas a mais do que 2 ciclos de congelamento/descongelamento antes de serem utilizadas.
 - Se as amostras estiverem congeladas, permitir que descongelem à temperatura ambiente (15–30 °C); agitar para gerar uma amostra uniformemente distribuída.
 - Assim que as amostras congeladas estiverem descongeladas, o teste deverá ocorrer num espaço de 8 horas.
- Se os espécimes forem expedidos, estes devem ser embalados e etiquetados em conformidade com os regulamentos nacionais e/ou internacionais aplicáveis.
- Etiquetar claramente os espécimes e indicar que são para testes de EBV.
- Avançar para a secção Preparação para teste.

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

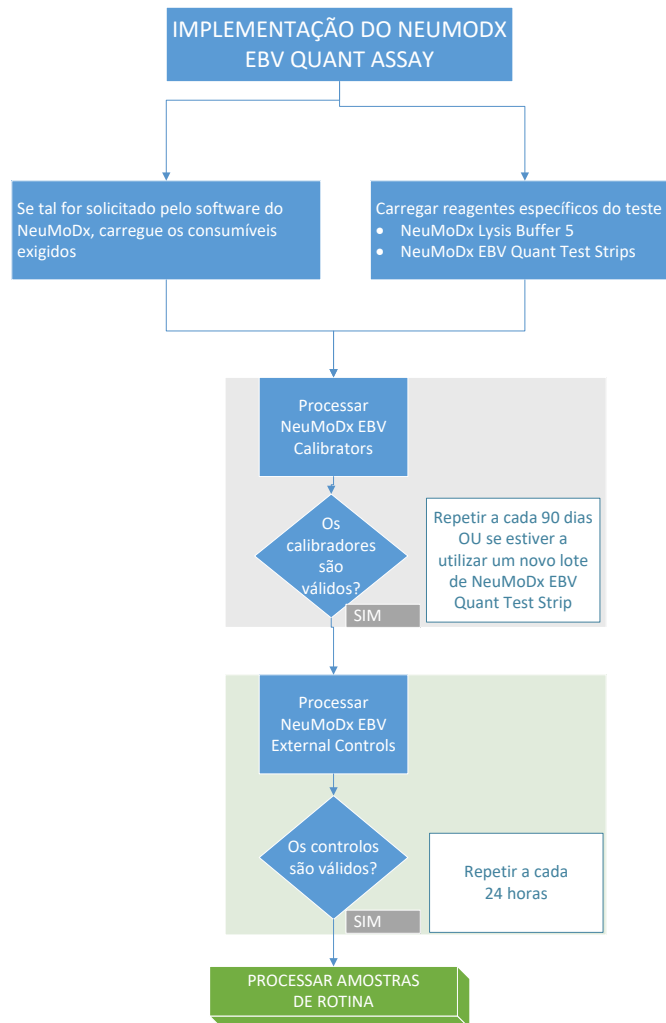


Figura 1: Fluxo de trabalho da implementação do NeuMoDx EBV Quant Assay

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Preparação para teste

1. Aplicar a etiqueta de código de barras de espécime a um tubo de espécime compatível com o NeuMoDx System.
2. Transferir uma alíquota do plasma para um tubo de espécime com código de barras compatível com o NeuMoDx System conforme os volumes definidos abaixo:
 - Transportador de tubos de espécime (32 tubos): 11–14 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento ≥ 400 mL
 - Transportador de tubos de espécime (24 tubos): 14,5–18 mm de diâmetro e 60–120 mm de altura, volume mínimo de enchimento ≥ 850 mL

Operação do NeuMoDx System

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

1. Preencher um ou mais transportadores de tiras de teste NeuMoDx System com a(s) NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) de tiras de teste no NeuMoDx System.
2. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, adicionar os consumíveis necessários aos transportadores de consumíveis do NeuMoDx System e utilizar o ecrã tátil para carregar o(s) transportador(es) no NeuMoDx System.
3. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, substituir o NeuMoDx Wash Reagent, o NeuMoDx Release Reagent e esvaziar os resíduos de iniciação ou o recipiente de resíduos de risco biológico, conforme apropriado.
4. Se tal for solicitado pelo software do NeuMoDx System, processar os Calibrators [REF 800500] e/ou os External Controls [REF 900501] conforme necessário. Podem ser encontradas mais informações acerca dos calibradores e controlos na secção *Processamento de resultados*.
5. Carregar o(s) tubo(s) de espécime/calibrador/controlo num transportador padrão de 32 tubos e certificar-se de que as tampas foram removidas de todos os tubos de espécime.
6. Colocar o transportador de tubos de espécime em qualquer posição aberta da prateleira do carregador automático e utilizar o ecrã tátil para carregar o transportador no NeuMoDx System. Isto dará início ao processamento dos espécimes carregados para o(s) teste(s) identificado(s).

LIMITAÇÕES

- A NeuMoDx EBV Quant Test Strip apenas pode ser utilizada nos NeuMoDx Systems.
- O desempenho da NeuMoDx EBV Quant Test Strip foi estabelecido para espécimes de plasma preparados a partir de sangue total colhido com EDTA como anticoagulante. A utilização da NeuMoDx EBV Quant Test Strip com outros tipos de espécimes clínicos não foi avaliada e as características de desempenho do teste são desconhecidas com outros tipos de espécimes.
- Como a deteção de EBV está dependente do número de vírus presente na amostra, os resultados fiáveis dependem da colheita, do manuseamento e do armazenamento adequados do espécime.
- Os calibradores e controlos externos devem ser processados conforme recomendado nos folhetos informativos e conforme solicitado pelo software do NeuMoDx System, antes do processamento das amostras clínicas de rotina.
- Podem ocorrer resultados erróneos devido à colheita, ao manuseamento e ao armazenamento inadequados dos espécimes, a erros técnicos ou à identificação incorreta de tubos de espécime. Além disso, podem ocorrer falsos resultados negativos devido ao facto de o número de partículas virais presente na amostra estar abaixo do limite de deteção do NeuMoDx EBV Quant Assay.
- A operação do NeuMoDx System apenas pode ser realizada por pessoal com formação para utilizar o NeuMoDx System.
- Se os alvos EBV e SPC1 não forem amplificados, é comunicado um resultado inválido (Indeterminate [Indeterminado] ou Unresolved [Não resolvido]) e o teste deverá ser repetido.
- Se o resultado do NeuMoDx EBV Quant Assay for Positive (Positivo), mas o valor de quantificação estiver para além dos limites de quantificação, o NeuMoDx System irá comunicar se o EBV detetado está *abaixo* do limite inferior de quantificação (LIdQ) ou *acima* do limite superior de quantificação (LSdQ).
- Se o EBV detetado estiver abaixo do LIdQ, o NeuMoDx EBV Quant Assay pode ser repetido (se pretendido) com outra alíquota do espécime.
- Se o EBV detetado estiver acima do LSdQ, o NeuMoDx EBV Quant Assay pode ser repetido com uma alíquota diluída do espécime original. É recomendada uma diluição de 1:100 ou 1:1000 em plasma negativo para EBV ou Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). O sistema irá calcular automaticamente a concentração do espécime original da seguinte forma: Concentração original do espécime = Log_{10} (fator de diluição) + 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 infeção viral ativa. Em vez disso, um resultado positivo pressupõe a presença de ADN do vírus Epstein-Barr.
- Embora a possibilidade seja muito baixa, eliminações ou mutações em ambas as regiões conservadas do genoma do EBV visadas pelo NeuMoDx EBV Quant Assay podem afetar a deteção ou originar um resultado erróneo ao utilizar a NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Os resultados do NeuMoDx EBV 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, de forma a evitar a contaminação.

PROCESSAMENTO DE RESULTADOS

Os resultados disponíveis podem ser visualizados ou impressos a partir do separador "Results" (Resultados) na janela Results (Resultados) do ecrã tátil do NeuMoDx System.

Os resultados do NeuMoDx EBV 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 EBV (EBV Assay Definition File, EBV ADF). Um resultado do NeuMoDx EBV Quant Assay pode ser reportado como Negative (Negativo), Positive with a reported EBV concentration (Positivo com uma concentração de EBV declarada), Positive above ULoQ (Positivo acima do LSdQ), Positive below LLoQ (Positivo abaixo do LIdQ), Indeterminate (Indeterminado) ou Unresolved (Não resolvido), de acordo com o estado de amplificação do alvo e do controlo de processo de amostra. Os resultados são comunicados com base no algoritmo de decisão indicado na *Tabela 1*.

Tabela 1: Algoritmo de decisão do NeuMoDx EBV Quant Assay

Resultado	EBV	Controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1)
Positive (Positivo)	[2 ≤ Ct ≤ 9 AND (E) EPR > 2 AND (E) EP ≥ 1500] OR (ou) [9 ≤ Ct ≤ 38 AND (E) EP ≥ 1500]	N/D
Positive, above Upper Limit of Quantitation [ULoQ] (Positivo, acima do limite superior de quantificação [LSdQ]) (Log ₁₀ UI/mL)	[CONC] > 8,0 Log ₁₀ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/D
Positive, below Lower Limit of Quantitation [LLoQ] (Positivo, abaixo do limite inferior de quantificação [LIdQ]) (Log ₁₀ UI/mL)	[CONC] < 2,3 Log ₁₀ UI/mL, NO QUANT (SEM QUANT.)	N/D
Negative (Negativo)	N/A (N/D) OR (OU) [2 ≤ Ct < 9 AND (E) EPR ≤ 2] OR (ou) [9 ≤ Ct ≤ 38 AND (E) EP < 1500] OR (OU) Ct > 38	AMPLIFIED (AMPLIFICADA) (29 ≤ Ct ≤ 35) and (e) EP ≥ 2000
Indeterminate (Indeterminado)	NOT AMPLIFIED/ Systems Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Erros de sistema observados)	
Unresolved (Não resolvido)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (NÃO AMPLIFICADO/Nenhum erro de sistema observado)	

EP = Fluorescência de ponto final (depois da correção da linha de base); EPR = Relação de fluorescência de ponto final; Ct = Limiar do ciclo; Quant = quantidade calculada de EBV presente expressa em Log₁₀ UI/mL. Ver Cálculo do teste abaixo.

Cálculo do teste

1. Para amostras dentro do intervalo de quantificação do NeuMoDx EBV Quant Assay, a concentração de ADN do EBV nas amostras é calculada utilizando a curva-padrão armazenada em conjunto com o coeficiente de calibração.
 - a. O "coeficiente de calibração" é calculado com base nos resultados dos NeuMoDx EBV Calibrators processados para estabelecer a validade da curva-padrão para cada lote de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, num NeuMoDx System em particular.
 - b. O coeficiente de calibração é integrado automaticamente pelo sistema na determinação final da concentração de ADN do EBV.
2. Os resultados do NeuMoDx EBV Quant Assay são comunicados em Log₁₀ UI/mL.

3. A quantificação resultante das amostras desconhecidas é rastreável de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para o vírus Epstein-Barr para técnicas de amplificação de ácidos nucleicos.

Calibração de teste

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

Calibradores

1. Os NeuMoDx EBV Calibrators são fornecidos num kit [REF 800500] e contêm alvo EBV encapsulado não infeccioso preparado em Basematrix.
2. Um conjunto de calibradores de EBV precisa de ser processado com cada novo lote de NeuMoDx EBV Quant Test Strips, se for carregado um novo ficheiro de definição de ensaio de EBV 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 irá notificar o utilizador quando os calibradores precisarem de ser processados; um novo lote de tiras de teste não pode ser utilizado para teste até que os calibradores tenham sido processados com êxito.
4. A validade da calibração é estabelecida da seguinte forma:
 - a) É necessário processar um conjunto de dois calibradores (alto e baixo) de forma a estabelecer a validade.
 - b) Para gerar resultados válidos, pelo menos 2 das 3 réplicas devem originar resultados dentro dos parâmetros predefinidos. O alvo nominal do calibrador baixo é de 4 Log₁₀ UI/mL e o alvo nominal do calibrador alto é de 6 Log₁₀ UI/mL.
 - c) É calculado um coeficiente de calibração para ter em conta a variação esperada entre lotes de tiras de teste; este coeficiente de calibração é utilizado na determinação da concentração final de EBV.
5. Se um ou ambos os calibradores falharem na verificação de validade, repita o processamento do(s) calibrador(es) que falhou(falharam) utilizando um novo frasco. No caso de um calibrador falhar a validade, é possível repetir apenas o calibrador que falhou porque o sistema não necessita que o utilizador processe novamente ambos os calibradores.
6. Se o(s) calibrador(es) falhar(em) a verificação de validade uma segunda vez consecutiva, contactar a NeuMoDx Molecular, Inc.

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 materiais de controlo externo que contêm alvo EBV encapsulado não infeccioso em Basematrix para controlos positivos são fornecidos pela NeuMoDx Molecular, Inc. num kit que contém os NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
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 estes controlos sejam processados antes de os resultados da amostra poderem ser comunicados.
3. Se os controlos externos forem necessários, obter o conjunto de controlos externos do congelador e deixar os frascos descongelarem à temperatura ambiente (15–30 °C). Agitar suavemente para assegurar a homogeneidade.
4. Utilizando o ecrã tátil e um transportador de tubos de espécime colocado na prateleira do carregador automático, carregar os frascos de controlo positivo e negativo no NeuMoDx System. O NeuMoDx System irá reconhecer o código de barras e iniciar o processamento dos tubos de espécime, exceto quando não estiverem disponíveis os reagentes ou consumíveis necessários para o teste.
5. A validade dos controlos externos irá ser avaliada pelo NeuMoDx System de acordo com o resultado previsto. O controlo positivo deve fornecer um resultado EBV Positive (Positivo) e o controlo negativo um resultado EBV Negative (Negativo).
6. O tratamento de resultados discrepantes de controlos externos deve ser realizado da seguinte forma:
 - a) Um resultado de teste Positive (Positivo) para uma amostra de controlo negativo indica um problema de contaminação de espécimes.
 - b) Um resultado de teste Negative (Negativo) para uma amostra de controlo positivo pode indicar um problema relacionado com o reagente ou com o instrumento.
 - c) Em ambos os casos acima, repita o(s) NeuMoDx EBV External Control(s) com um frasco recém-descongelado do(s) controlo(s) que falhou(falharam) o teste de validade.
 - d) Se o NeuMoDx EBV External Control positivo continuar a comunicar um resultado Negative (Negativo), contactar o apoio ao cliente da NeuMoDx.
 - e) Se o NeuMoDx EBV External Control negativo continuar a comunicar um resultado Positive (Positivo), tente eliminar todas as potenciais fontes de contaminação, incluindo a substituição de TODOS os reagentes e consumíveis antes de contactar o apoio ao cliente da NeuMoDx.

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 PCR em tempo real com cada amostra. Estão também incluídos os iniciadores e a sonda específicos para o SPC1 em cada uma das NeuMoDx EBV Quant Test Strip, permitindo a deteção da presença do SPC1 em conjunto com o ADN alvo de EBV (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 PCR.

Se um NeuMoDx EBV Quant Assay realizado no NeuMoDx System não produzir um resultado válido, será comunicado como Indeterminate (Indeterminado, IND) ou Unresolved (Não resolvido, UNR) com base no tipo de erro que ocorreu.

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

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade analítica – Limite de deteção utilizando o padrão da OMS

A sensibilidade analítica do NeuMoDx EBV Quant Assay foi confirmada testando espécimes de plasma negativo para EBV enriquecidos com uma diluição baixa do 1.º padrão internacional da OMS para EBV para técnicas de amplificação de ácidos nucleicos. Este teste de confirmação foi realizado no limite de deteção (LdD) esperado do NeuMoDx EBV Quant Assay nos NeuMoDx Systems a 200 UI/mL. O LdD foi definido como o alvo mais baixo a ser detetado a uma taxa $\geq 95\%$. O estudo foi realizado em vários sistemas com lotes qualificados de reagentes NeuMoDx. As taxas de deteção estão descritas na *Tabela 2*.

Tabela 2: Determinação do LdD no NeuMoDx EBV Quant Assay; Taxa de deteção positiva para espécimes de plasma

Concentração do alvo [UI/mL]	PLASMA		
	Número de testes válidos	Número de positivos	Taxa de deteção
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Sensibilidade analítica – Limite inferior de quantificação (LIdQ)

O limite inferior de quantificação (LIdQ) é definido como o nível de alvo mais baixo a que uma deteção $> 95\%$ é alcançada e o erro analítico total (Total Analytical Error, TAE) é $\leq 1,0$. De forma a confirmar um LdD e LIdQ de 200 UI/mL para o ensaio de quantificação de EBV, foram utilizados os resultados do estudo da taxa de identificação para determinar o TAE. Este TAE calculado foi definido da seguinte forma:

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

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

Tabela 3: LIdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay com tendência e TAE

Conc. do alvo [UI/mL]	Conc. do alvo [Log_{10} UI/mL]	Plasma				
		Conc. média [Log_{10} UI/mL]	Deteção (%)	DP	Tendência	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Com base no resultado destes estudos, o LdD e o LIdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay foram ambos determinados como sendo de 200,0 UI/mL [2,30 Log_{10} UI/mL].

Linearidade e determinação do limite superior de quantificação (LSdQ)

A linearidade e o limite superior de quantificação (LSdQ) do NeuMoDx EBV Quant Assay foram estabelecidos em plasma, preparando uma série de diluições utilizando o alvo EBV encapsulado do NeuMoDx e o Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) com rastreabilidade estabelecida de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para EBV. Um painel de 10 membros foi preparado em plasma negativo para EBV agrupado em pools de forma a criar um painel que abrangesse um intervalo de concentração de 2,0–8,0 Log_{10} UI/mL. O LSdQ do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinado como sendo de 8,0 Log_{10} UI/mL. Foi preparado um painel de confirmação para avaliar a linearidade da curva-padrão, e as concentrações do ensaio EBV comunicadas pelo NeuMoDx System em comparação com os valores esperados são apresentadas na *Figura 2*.

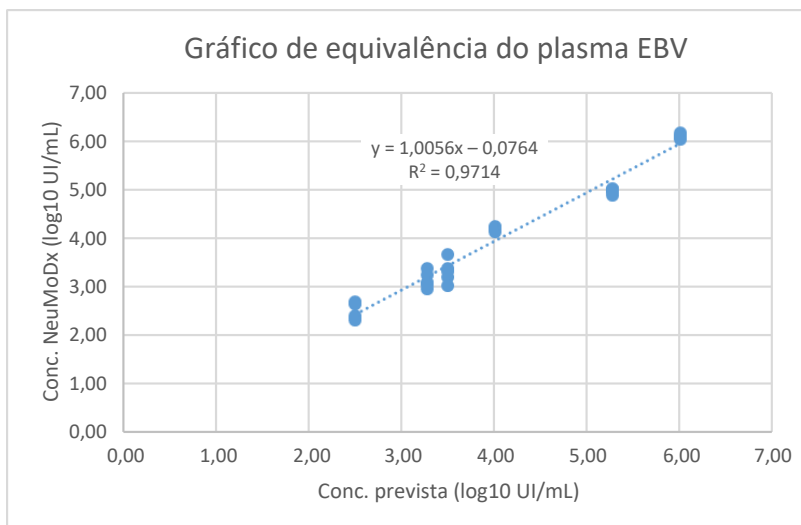


Figura 2: Linearidade do NeuMoDx EBV Quant Assay

Especificidade analítica – Reatividade cruzada

A especificidade analítica foi demonstrada através da análise de 35 organismos que podem ser encontrados em espécimes de sangue/plasma, assim como espécies filogeneticamente semelhantes ao EBV no que diz respeito à reatividade cruzada. Os organismos a concentrações elevadas foram preparados em pools de 5–6 organismos. Os organismos testados são apresentados na *Tabela 4*. Nenhuma reatividade cruzada foi observada com qualquer um dos organismos testados, confirmando uma especificidade analítica de 100% do NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabela 4: Patogénicos utilizados para demonstrar a especificidade analítica

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

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, organismos patogénicos

O NeuMoDx EBV Quant Assay foi avaliado quanto a interferência na presença de organismos não alvo utilizando os mesmos pools de organismos preparados para a análise de reatividade cruzada indicados acima na *Tabela 4*. O plasma negativo para EBV foi enriquecido com organismos agrupados em pools de 4–7; estes pools foram depois enriquecidos com alvo EBV a uma concentração de 3 Log₁₀ UI/mL. Nenhuma interferência significativa foi observada na presença destes organismos, tal como indicado pelo desvio mínimo da quantificação dos espécimes de controlo que não continham qualquer agente interferente.

Especificidade analítica – Substâncias interferentes, substâncias endógenas e exógenas

O NeuMoDx EBV Quant Assay foi avaliado na presença de substâncias endógenas e exógenas interferentes típicas, encontradas nos espécimes clínicos de plasma com EBV. Estas incluíam níveis anormalmente elevados de componentes sanguíneos, assim como medicamentos antivirais e imunossuppressores comuns, classificados na *Tabela 5*. Cada uma das substâncias foi adicionada ao plasma humano analisado negativo para EBV, enriquecido com 3 Log₁₀ UI/mL de EBV e as amostras foram analisadas em relação à interferência. Além disso, foi também testado plasma comum em estado de doença associada à infeção por EBV em relação a possíveis interferências. A concentração e a tendência médias de todas as substâncias testadas em relação a amostras de controlo enriquecidas com o mesmo nível de EBV são indicadas na *Tabela 6*. Nenhuma das substâncias endógenas e exógenas afetou a especificidade do NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabela 5: Teste de interferência – Agentes exógenos (classificação de medicamentos)

Pool	Nome do medicamento	Classificação	Pool	Nome do medicamento	Classificação
Pool 1	Azatioprina	Imunossupressor	Pool 4	Trimetoprima	Antibiótico
	Ciclosporina	Imunossupressor		Vancomicina	Antibiótico
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Tacrolimus	Imunossupressor
	Ganciclovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Imunossupressor
	Cloridrato de valganciclovir	Antiviral (EBV)		Clavulanato de potássio	Antibiótico
Pool 2	Prednisona	Corticosteroide/Imunossupressor	Pool 5	Famotidina	Antagonista do recetor de histamina
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiótico
	Cefotetan	Antibiótico (largo espectro)		Valaciclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxima	Antibiótico (largo espectro)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Fluconazol	Antifúngico		Ticarclina dissódica	Antibiótico
Pool 3	Micofenolato mofetil	Imunossupressor	Leflunomida	Imunossupressor	
	Micofenolato de sódio	Imunossupressor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirolimus/Rapamicina	Imunossupressor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

Tabela 6: Teste de interferência – Agentes endógenos e exógenos

Endógenas	Conc. média	Tendência
	Log ₁₀ UI/mL	Log ₁₀ UI/mL
Hemoglobina	3,20	0,23
Triglicéridos	3,15	0,28
Bilirrubina	3,48	-0,05
Albumina	3,2	0,22
Exógenos (medicamentos)	Conc. média	Tendência
	Log ₁₀ UI/mL	Log ₁₀ UI/mL
Pool 1: Azatioprina, Ciclosporina, Foscarnet, Ganciclovir, Cloridrato de valganciclovir	3,30	0,13
Pool 2: Prednisona, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxima, Fluconazol	3,22	0,21
Pool 3: Micofenolato mofetil, Micofenolato de sódio, Piperacilina, Sirolimus/Rapamicina, Tazobactam	3,36	0,07
Pool 4: Trimetoprim, Vancomicina, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanato de potássio	3,32	0,11
Pool 5: Famotidina, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilina dissódica, Leflunomida	3,47	-0,10
Estado de doença	Conc. média	Tendência
	Log ₁₀ UI/mL	Log ₁₀ UI/mL
Lúpus eritematoso sistémico (LES)	3,23	0,20
Anticorpo antinuclear (ANA)	3,33	0,10
Artrite reumatoide (AR)	3,19	0,24

Precisão intralaboratorial

A precisão do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinada testando 3 réplicas de um painel de 4 membros de espécimes de EBV preparados com EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) três vezes por dia, utilizando dois NeuMoDx 288 Systems e um NeuMoDx 96 System ao longo de dois dias. Foram caracterizadas as precisões intraensaio, intradiária e intrassistema e o desvio-padrão geral foi determinado como sendo $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$. Foi demonstrada uma precisão excelente entre sistemas, dias e ensaios, tal como apresentado na *Tabela 7*. 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 7: Precisão intralaboratorial – NeuMoDx EBV Quant Assay nos NeuMoDx Systems

Conc. do alvo EBV [$\text{Log}_{10} \text{ UI/mL}$]	Conc. média de EBV [$\text{Log}_{10} \text{ UI/mL}$]	DP intrassistema	DP intradiário	DP intraensaio	DP geral (intralaboratorial)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Reprodutibilidade lote a lote

A reprodutibilidade lote a lote do NeuMoDx EBV Quant Assay foi determinada avaliando três lotes dos principais reagentes (NeuMoDx EBV Quant Test Strip e Lysis Buffer 5), como parte do teste de qualificação (Qualification Testing, QT). Foi utilizado um painel de 4 membros de plasma positivo para EBV para avaliar o desempenho (*Tabela 8*). A variação intralote e entre lotes foi analisada e os resultados são apresentados nas *Tabelas 8–9*. A tendência geral máxima foi de $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ e o DP geral máximo foi de $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ para as NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. A tendência geral máxima foi de $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ e o DP geral máximo foi de $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$ para o NeuMoDx Lysis Buffer 5. 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 8: Reprodutibilidade lote a lote – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Conc. do alvo EBV [UI/mL]	Conc. média de EBV [$\text{Log}_{10} \text{ UI/mL}$]	N (Resultados válidos por lote)	Tendência	DP entre lotes	DP intralote	DP geral
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabela 9: Reprodutibilidade de lote para lote – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Conc. do alvo EBV [$\text{Log}_{10} \text{ UI/mL}$]	Conc. média de EBV [$\text{Log}_{10} \text{ UI/mL}$]	N (Resultados válidos por lote)	Tendência	DP entre lotes	DP intralote	DP geral
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Eficácia do controlo de processo de amostra

O controlo de processo de amostra (Sample Process Control 1, SPC1) está incluído no NeuMoDx EBV Quant Assay para comunicar falhas nos passos do processo ou inibição que afeta o desempenho do ensaio. Utilizando o NeuMoDx CMV Quant Assay como modelo, a eficácia do SPC1 foi testada para espécimes de plasma em condições representativas de falhas críticas nos passos do processo que podem potencialmente ocorrer durante o processamento de amostras e que *poderão não ser detetadas* pelos sensores de monitorização do desempenho do NeuMoDx System. Os espécimes positivos (a $3 \text{ Log}_{10} \text{ UI/mL}$) e os espécimes negativos para citomegalovírus foram contestados nas seguintes condições: presença do inibidor, sem fornecimento da solução de lavagem e sem expulsão da solução de lavagem. As ineficácias do processo que tiveram um efeito adverso na deteção/quantificação do alvo viral foram refletidas pelo desempenho do alvo de SPC1, tal como apresentado na *Tabela 10*. Em todos os casos testados, foi demonstrado que o controlo de processo de amostra monitorizou adequadamente as ineficácias do processo e a presença dos inibidores ou a ineficácia antecipada do processo não teve um efeito adverso significativo, quer na deteção do SPC1, quer na deteção e quantificação do alvo viral. Por este motivo, o SPC1 demonstrou ser bem-sucedido na monitorização eficaz do desempenho do ensaio no NeuMoDx System.

Tabela 10: Eficácia do controlo de processo de amostra para ADN viral em plasma*

Falha do passo do processo testada	Estado de amplificação do controlo de processo de amostra 1	Estado de amplificação do alvo CMV	Resultado do ensaio
Presence of Inhibitor (Presença do inibidor)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Delivered (Sem fornecimento da solução de lavagem)	Not Amplified (Não amplificado)	Not Amplified (Não amplificado)	Unresolved (Não resolvido)
No Wash Blowout (Sem expulsão da solução de lavagem)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive with Quantitation within 0.3 Log ₁₀ IU/mL of Control (Positivo com quantificação dentro de 0,3 log ₁₀ UI/mL do controlo)

*O citomegalovírus (CMV) presente em espécimes de plasma foi utilizado como sistema modelo para a avaliação da eficácia do controlo de processo de amostra.

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada para espécimes de plasma foi determinada processando alternadamente amostras altamente positivas e negativas de um vírus de ADN semelhante que circula na corrente sanguínea, o citomegalovírus (CMV). Foram realizados três conjuntos de testes com este padrão com um total de 108 réplicas de plasma negativo para CMV e 108 réplicas de plasma enriquecido com CMV a 6,0 Log₁₀ UI/mL. Todas as 108 réplicas do espécime negativo foram comunicadas como negativas, o que demonstra que não houve contaminação cruzada durante o processamento de amostras de plasma no NeuMoDx System.

Equivalência da matriz de espécimes

O teste foi realizado para demonstrar a equivalência entre espécimes recém-colhidos e congelados de plasma, utilizando um vírus semelhante que circula na corrente sanguínea, o CMV, como modelo. Os espécimes recém-colhidos foram mantidos a 4 °C até serem enriquecidos com três níveis de CMV e testados em relação à equivalência. Em seguida, as amostras foram congeladas durante um período mínimo de 24 horas a -20 °C. Depois deste período de armazenamento congelado, os espécimes foram descongelados e novamente testados. Os resultados dos espécimes recém-colhidos vs. congelados foram comparados em relação à equivalência através de uma análise de regressão. Os dados demonstraram uma equivalência excelente entre espécimes recém-colhidos e congelados de plasma com uma inclinação de 1,0 e tendência (intersecção) muito baixa, tal como apresentado na *Tabela 11* abaixo.

Tabela 11: Equivalência da matriz de espécimes

Requisito de parâmetro	EDTA recém-colhido vs. congelado
Inclinação [0,9–1,1]	1,000
Intersecção < 0,5 Log ₁₀ UI/mL	0,020
valor $p > 0,05$	0,631

Caracterização do desempenho quantitativo

O desempenho quantitativo do NeuMoDx EBV Quant Assay foi caracterizado processando dois painéis comerciais de verificação de EBV da AcroMatrix e da Exact Diagnostics (rastreadores de acordo com o 1.º padrão internacional da OMS para EBV) nos NeuMoDx Molecular Systems.

Foi obtida uma excelente correlação entre o NeuMoDx EBV Quant Assay e os dois painéis comerciais de verificação de EBV (*Figura 3*), quando analisados com o método de regressão de Deming (*Figura 3A*) ou de Passing-Bablok (*Figura 3B*).

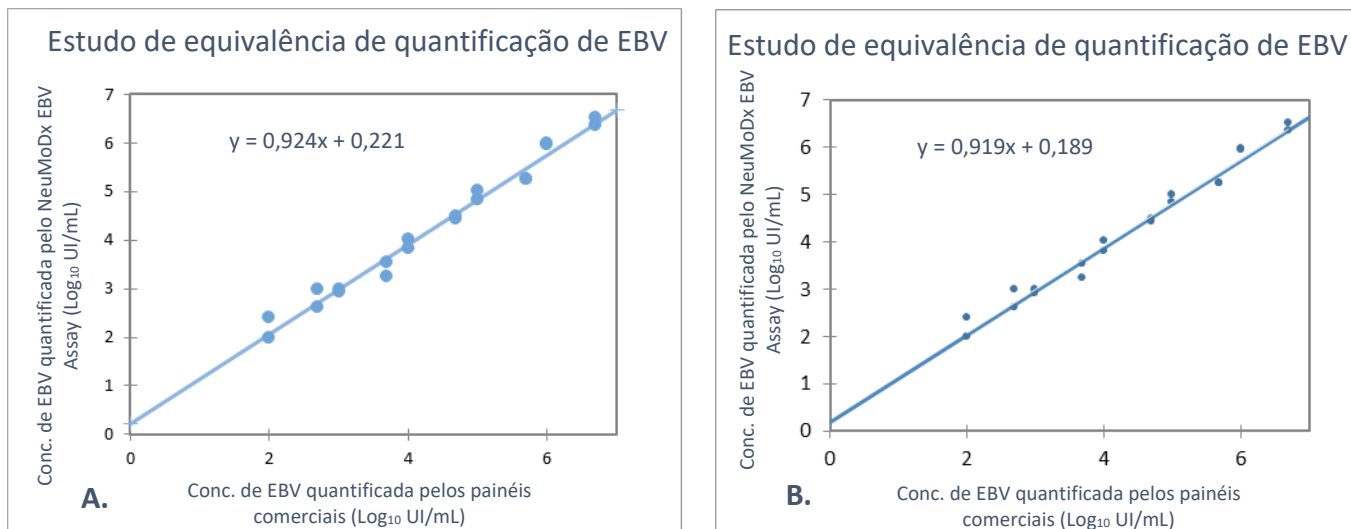


Figura 3. Gráfico de equivalência entre os painéis de verificação da AcroMetrix e Exact Diagnostics e o NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Análise de regressão linear utilizando o método de Deming. B. Análise de regressão linear utilizando o método de Passing-Bablok.

A qualidade do ajuste de regressão de Deming é ilustrada pelo coeficiente de inclinação geral de 0,92 e uma intersecção (tendência) de 0,22, demonstrando que os resultados de concentração obtidos entre o NeuMoDx EBV Quant Assay e os painéis de verificação de EBV estão correlacionados com uma tendência aceitável. O ajuste linear de Passing-Bablok também apoia a importância da correlação entre os resultados obtidos do NeuMoDx EBV Quant Assay e dos painéis de verificação de EBV com um coeficiente de inclinação geral de 0,92 e uma intersecção (tendência) de 0,19. O valor *p* da análise de Passing-Bablok foi calculado como sendo de 0,40.

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

Análise de Deming		Análise de Passing-Bablok	
Intersecção	Coefficiente de inclinação	Intersecção	Coefficiente de inclinação
0,22	0,92	0,19	0,92
IC de 95% (-0,11 a 0,55)	IC de 95% (0,86 a 0,99)	IC de 95% (-0,08 a 0,41)	IC de 95% (0,87 a 0,99)

REFERÊNCIAS

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIAIS


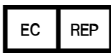








NeuMoDx[™] é uma marca comercial da NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry[™] é uma marca comercial da NeuMoDx Molecular, Inc.

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

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

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
Rx only	Sujeito a receita médica
	Fabricante
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
REF	Número de catálogo
LOT	Código de lote
	Data de validade
	Limite de temperatura
	Limitação de humidade
	Não reutilizar
	Contém o suficiente para <n> testes
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Riscos biológicos
CE	Marcação CE



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

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Países Baixos



Assistência técnica/relatórios de vigilância: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents