

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**R only**

POZOR: Samo za izvoz v ZDA

IVD Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemoma NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular SystemsPosodobljena navodila najdete na: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 288 Molecular System; št. dela 40600108

Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo sistema NeuMoDx 96 Molecular System; št. dela 40600317

NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx EBV Quant Assay je avtomatiziran *in vitro* test amplifikacije nukleinske kisline za kvantifikacijo DNK človeškega virusa Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV) v plazmi. Test NeuMoDx EBV Quant Assay, implementiran v sistem NeuMoDx 288 Molecular System in NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) vključuje avtomatizirano ekstrakcijo DNK za izolacijo ciljne nukleinske kisline iz plazme in verižno reakcijo s polimerazo (Polymerase Chain Reaction, PCR) v realnem času, ki targetira dve visoko ohranjeni regiji v genomu virusa Epstein-Barr.

NeuMoDx EBV Quant Assay je namenjen za *in vitro* zaznavo in kvantifikacijo DNK virusa Epstein-Barr v svežih in zamrznjenih primerkih človeške plazme z uporabo sistemov NeuMoDx 288 in NeuMoDx 96 Molecular System. Test NeuMoDx EBV Assay je namenjen za uporabo pri diagnosticiranju in spremljanju okužb z EBV. Test se lahko uporablja za merjenje stopenj DNK EBV za oceno odziva na protivirusno zdravljenje. Ta test je namenjen uporabi skupaj s klinično predstavitvijo in drugimi laboratorijskimi označevalci napredka bolezni za klinično upravljanje in nadzor okužb z EBV. Test ni namenjen kot presejalni test za prisotnost EBV v krvi ali krvnih produktih.

POVZETEK IN RAZLAGA

Za pripravo plazme se lahko uporabi človeška polna kri, odvzeta v sterilne epruvete za odvzem krvi, ki vsebujejo EDTA kot antikoagulant. Za začetek testiranja se plazma v epruveti s primerki, združljivi s sistemom NeuMoDx System, položi v prenosnik za epruvete s primerki in naloži na delovno mizo sistema NeuMoDx System. Za vsak primerek se zmeša 250 µl alikvota vzorca plazme s pufrom NeuMoDx Lysis Buffer 5, sistem NeuMoDx System pa samodejno izvede vse korake, potrebne za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo s PCR v realnem času ter amplifikira in zazna produkte amplifikacije, če so prisotni (dve visoko ohranjeni regiji v genomu EBV). Test NeuMoDx EBV Quant Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) za DNK za lažje spremljanje prisotnosti morebitno inhibitornih snovi ter napak sistema NeuMoDx System ali reagentov, do katerih lahko pride med postopkoma ekstrakcije in amplifikacije.

EBV je običajen DNK virus z dvojno vijačnico iz družine človeških herpesvirusov, ki napadajo ljudi vseh starosti. Ocenjeno je, da je po svetu > 90 % posameznikov bilo ali je okuženih z EBV.¹ EBV se širi s telesnimi tekočinami, kot je slina, kri, seme in presaditve organov. Številni ljudje se z EBV okužijo v času otroštva. Ti posamezniki so običajno asimptomatski, čeprav so okuženi z EBV. Imunokompromitirani ljudje lahko razvijejo resnejše simptome s komplikacijami zaradi okužbe z EBV. Največje tveganje za paciente po presaditvi predstavlja latentna okužba z EBV. Popresaditvene limfoproliferativne motnje (Post-transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD) vključujejo tvorbo tumorjev zaradi EBV v B celicah zaradi učinka imunosupresivnih agentov na imunsko kontrolo EBV, enega najpomembnejših vzrokov morbidnosti in smrtnosti pri pacientih, ki so vključeni v kakršnokoli presaditev organa.²

Uporaba nadzora virusnega bremena EBV omogoča nadzor in upravljanje PTLD, povezanega z EBV. Vendar pa zaznava nukleinske kisline EBV v krvi ni zadostna diagnoza za PTLD, povezan z EBV. Za klinično upravljanje in nadzor pacientov, okuženih z EBV, se naj testiranje nukleinske kisline (Nucleic Acid Testing, NAT) uporablja samo skupaj s klinično prezentacijo in drugimi laboratorijskimi označevalci napredovanja bolezni. Medtem, ko so trenutne smernice za upravljanje in zdravljenje okužb z EBV pri imunokompromitiranih posameznikih dvoumne glede tega, *kdaj* začeti protivirusno terapijo, vse zahtevajo nadzor virusnega bremena enkrat, ko se protivirusna terapija prične, v pomoč pri lažšanju resnih stranskih učinkov zdravil v takih populacijah.^{3,4}

NAČELA POSTOPKA

Za izvedbo analize s testom NeuMoDx EBV Quant Assay na sistemu NeuMoDx System se uporablja testne trakove NeuMoDx EBV Quant Test Strip, kalibratorje NeuMoDx EBV Calibrators, zunanje kontrole NeuMoDx EBV External Controls, pufar NeuMoDx Lysis Buffer 5 in reagente NeuMoDx za splošno uporabo. NeuMoDx EBV Quant Assay združuje samodejno ekstrakcijo, amplifikacijo in zaznavo DNK s PCR v realnem času. Primerki polne krvi za pripravo plazme se odvajajo v epruvete z EDTA. Primerek plazme v epruveti s primerki, združljivi s sistemom NeuMoDx System, se za obdelavo vstavi v prenosnik za epruvete s primerki in naloži na delovno mizo sistema NeuMoDx System. Dodatno posredovanje upravljalca ni potrebno.

Sistemi NeuMoDx Systems za samodejno izvajanje lize celic, ekstrakcijo DNK in odstranjevanje inhibitorjev uporabljajo kombinacijo toplote, litičnih encimov in ekstrakcijskih reagentov. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezanimi nukleinskimi kislinami se vstavijo v kartušo NeuMoDx Cartridge, kjer so nevezane komponente, ki niso DNK, dodatno izprane z reagentom za izpiranje NeuMoDx Wash Reagent, vezana DNK pa se eluira z reagentom za sprostitvev NeuMoDx Release Reagent. Sistemi NeuMoDx System nato uporabijo izluženo DNK za rehidracijo lastniških reagentov za amplifikacijo NeuDry™, ki vsebujejo vse potrebne elemente za amplifikacijo PCR EBV tarč in SPC1. Pri rekonstituciji reagentov PCR NeuDry sistem NeuMoDx System izvrše mešanico, pripravljeno za PCR v NeuMoDx Cartridge. Amplifikacija in zaznava sekvenc DNK kontrole in tarče (če so prisotne) se izvede v komori PCR kartuše NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge je zasnovana tudi, da vsebuje amplikon po PCR v realnem času, ki posledično izloči tveganje kontaminacije po amplifikaciji.

Test NeuMoDx EBV Quant Assay cilja na dve visoko ohranjeni regiji v genomu EBV, BALF5 in BXFL1. Zasnova dvojne tarče zmanjša tveganje lažnih negativnih rezultatov v primeru mutacije in posledično poveča robustnost testa. Amplificirane tarče so zaznane v realnem času s kemijo v šobi za hidrolizo (splošno imenovano kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za njihove ustrezne tarče.

TaqMan šobe so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-koncu oligonukleotidne šobe in dušilec na 3'-koncu. Dokler je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec v bližini, zato molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Šobe TaqMan so zasnovane tako, da se prilegajo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNK Taq razširi primer in sintetizira novo verigo, aktivnost eksonukleaze v smeri 5' proti 3' koncu polimeraze Taq DNA degradira šobo, ki se prilega predlogi. Degradacija šobe sprosti fluorofor in oddalji dušilec ter tako premaga učinek dušenja zaradi Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) ter omogoči zaznavo fluorescenco v fluoroforu. Posledični zaznan fluorescentni signal je neposredno sorazmeren sproščenemu fluoroforu, ga je mogoče korelirati s količino prisotne ciljne DNK.

Šoba TaqMan, označena s fluoroforom (490/521 nm) na koncu 5', temnim dušilec na koncu 3' pa se uporablja za zaznavanje DNK EBV. Za zaznavanje SPC1 je šoba TaqMan označena z nadomestnim fluorescentnim barvilom (535/556 nm) na koncu 5' in s temnim dušilec na koncu 3'. Programska oprema sistema NeuMoDx System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je amplifikacija končana, programska oprema sistema NeuMoDx System analizira podatke in sporoči rezultat (POSITIVE (Pozitivno)/NEGATIVE (Negativno)/INDETERMINATE (Nedoločen)/UNRESOLVED (Nerešen)). Če je rezultat POSITIVE (POZITIVNO), programska oprema sistema NeuMoDx System prav tako prikaže kvantitativno vrednost, povezano z vzorcem oziroma sporoči, če je izračunana koncentracija izven meje kvantifikacije.

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Priloženi materiali

REF.	Vsebina	Testi na enoto	Testi na paket
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Posušeni reagenti PCR, ki vsebujejo šobo in primerje TaqMan, specifične za EBV in SPC1.</i>	16	96

Dodatni potrebni materiali, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Posušeni paramagnetni delci, litični encim in kontrole obdelave vzorca</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Kompleti visokih in nizkih kalibratorjev EBV za enkratno uporabo za določanje veljavnosti standardne krivulje</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Kompleti pozitivnih in negativnih kontrol EBV za enkratno uporabo za določanje dnevne veljavnosti testa NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Konice Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl) s filtri
235905	Konice Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) s filtri

Potrebni instrumenti

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ali **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

OPOZORILA IN VARNOSTNI UKREPI

- Test NeuMoDx EBV Quant Assay je namenjen samo za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx System.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, opisani v Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ in dokumentu CLSI M29-A4.⁶
- Pozitiven rezultat kaže na prisotnost DNK EBV.
- S testom NeuMoDx EBV Quant Assay lahko dela izključno samo osebje, ki je usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System in za ravnanje z kužnima materialima.
- Ne uporabljajte reagentov ali potrošnega materiala po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostni pečat prelomljen oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Veljavna testna kalibracija (ustvarjena z obdelavo visokih in nizkih kalibratorjev NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]) mora biti na voljo, preden je možno ustvariti rezultate testa za klinične vzorce.

- Zunanje kontrole NeuMoDx EBV External Control [REF 900501] je treba obdelati vsakih 24 ur med testiranjem s testom NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Minimalni volumen primerka sekundarnih alikvotov je odvisen od velikosti epruvete/prenosnika za epruvete s primerki, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Če so primerki shranjeni pri nepravilnih temperaturah ali dlje od navedenega obdobja shranjevanja, so rezultati lahko neveljavni ali napačni.
- Vedno preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (DNaza). Priporočena je uporaba sterilnih pipet za prenos brez Dnaze. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Kartuše NeuMoDx Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte oziroma je ne odlomite, da se izognete kontaminaciji. Kartuš NeuMoDx Cartridge v nobenem primeru ne odstranjujte iz zabojnikov za biološke odpadke (NeuMoDx 288 Molecular System) oziroma koša za biološke odpadke (NeuMoDx 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- Kadar laboratorij izvaja tudi teste PCR z odprtimi epruvetami, je treba zagotoviti, da NeuMoDx EBV Quant Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema, kot so rokavice in laboratorijskih plašči, ter sistem NeuMoDx System niso kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez pudra. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine kartuše NeuMoDx Cartridge, površine tesnilne folije traka NeuMoDx EBV Quant Test Strip ali ekstrakcijske plošče NeuMoDx Extraction Plate oziroma zgornje površine vsebnika puфра NeuMoDx Lysis Buffer 5; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) so na voljo na zahtevo.
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- Neuporabljene reagente in odpadke zavržite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

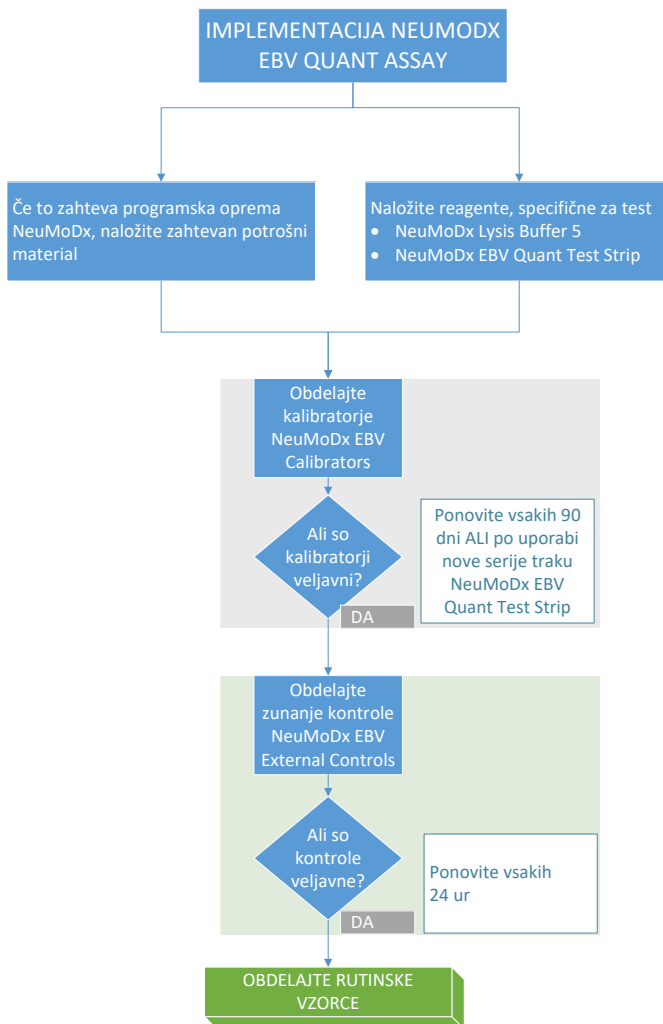
- Trakovi NeuMoDx EBV Quant Test Strip so stabilni v prvotni embalaži do navedenega roka uporabe na oznaki izdelka, ko je le-ta shranjen pri temperaturi od 18 do 23 °C.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala in reagentov po poteku roka uporabe.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, če je primarna ali sekundarna embalaža vidno poškodovana.
- Ne uporabljajte nobenih testnih izdelkov, ki so bili predhodno naloženi na drug sistem NeuMoDx System.
- Ko je naložen, lahko testni trak NeuMoDx EBV Quant Test Strip ostane v sistemu NeuMoDx System 14 dni. Programska oprema spremlja preostali rok uporabnosti naloženih testnih trakov in ga sporoča uporabniku v realnem času. Sistem bo pozval k odstranitvi testnega traku, ki je v uporabi dlje, kot je dovoljeno.
- Čeprav kalibratorji NeuMoDx EBV Calibrator in zunanje kontrole NeuMoDx EBV External Controls niso kužni, jih je treba po uporabi zavreči kot biološki odpadek v laboratoriju, da se zmanjša tveganje kontaminacije s ciljno nukleinsko kislino.

ZBIRANJE, TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

Z vsemi primerki ravnajte, kot da lahko prenašajo povzročitelje okužb.

- V primarnih epruvetah ne zamrzujte polne krvi ali katerikoli primerkov.
- Za pripravo primerkov plazme je treba polno kri odvzeti v sterilne epruvete z EDTA kot antikoagulantom. Upoštevajte navodila proizvajalca epruvet za odvzem primerkov.
- Polna kri, odvzeta v zgoraj navedenih napravah, je lahko pred pripravo plazme shranjena in/ali v transportu do 24 ur pri temperaturi 2 °C do 25 °C. Pripravo plazme je treba izvesti v skladu z navodili proizvajalca.
- Pripravljeni primerki plazme lahko ostanejo v sistemu NeuMoDx System do 8 ur pred pričetkom obdelave. Če je potrebno daljše obdobje shranjevanja, priporočamo, da primerke shranite v hladilniku ali zamrzovalniku.
- Pripravljeni primerki plazme so lahko shranjeni pri temperaturi med 2 in 8 °C največ 7 dni pred testiranjem ter največ 8 ur pri sobni temperaturi.
- Pripravljene primerke plazme je možno shraniti pri temperaturah < -20 °C do 8 tednov pred obdelavo; primerki plazme pred uporabo ne smejo biti podvrženi več kot 2 ciklom zamrzovanja/odtajanja.
 - Če so vzorci zamrznjeni, se morajo najprej popolnoma odtaliti pri sobni temperaturi (15–30 °C); zavrtite, da ustvarite enakomerno porazdeljen vzorec.
 - Ko so zamrznjeni vzorci odtajani, je testiranje treba izvesti v roku 8 ur.
- Če bodo primerki poslani, jih je treba zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi državnimi in/ali mednarodnimi predpisi.
- Primerke jasno označite in navedite, da so namenjeni za testiranje EBV.
- Nadaljujte na razdelek Priprava testa.

Celoten postopek za implementacijo testa NeuMoDx EBV Quant Assay je povzet v nadaljevanju na *sliki 1*.



Slika 1: Potek dela pri implementaciji testa NeuMoDx EBV Quant Assay

NAVODILA ZA UPORABO

Priprava testa

1. Oznako s črtno kodo primerka namestite na epruveto s primerkom, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System.
2. Alikvot plazme prenesite v epruveti s črtno kodo, ki je združljiv s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 32 epruvet): 11–14 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja ≥ 400 ml
 - Prenosnik za epruvete s primerki (za 24 epruvet): 14,5–18 mm premera ter 60–120 mm višine; minimalni volumen polnjenja ≥ 850 ml

Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte *Priročnik za uporabo sistemov NeuMoDx 288 in 96 Molecular Systems (št. dela 40600108 in 40600317)*

1. Enega ali več prenosnikov testnih trakov NeuMoDx System Test Strip Carrier napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx EBV Quant Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da jih naložite v sistem NeuMoDx System.
2. Če to zahteva programska oprema NeuMoDx System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala NeuMoDx System in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v NeuMoDx System.

3. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System, zamenjajte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, spraznite odpadke pri polnjenju ali zabojnik za biološke odpadke, kot je potrebno.
4. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System, obdelajte kalibratorje Calibrators [REF 800500] in/ali zunanje kontrole External Controls [REF 900501], kot je potrebno. Dodatne informacije glede kalibratorjev in kontrol so na voljo v razdelku *Obdelava rezultatov*.
5. Epruveta(e) s primerkom/kalibratorjem/kontrolo naložite v standardne prenosnike za 32 epruвет in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruвет s primerkom.
6. Prenosnik za epruvete s primerki postavite na katerikoli odprt položaj na polici samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v sistem NeuMoDx System. S tem se bo pričela obdelava naloženih primerkov za določen(e) test(e).

OMEJITVE

- Trak NeuMoDx EBV Quant Test Strip se lahko uporablja samo v sistemih NeuMoDx Systems.
- Delovanje traku NeuMoDx EBV Quant Test Strip je bilo potrjeno za primerke plazme, pripravljene iz polne krvi, ki je bila odvzeta z antikoagulantom EDTA. Uporaba NeuMoDx EBV Quant Test Strip z drugimi tipi kliničnih primerkov ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja tega testa za druge tipe primerkov niso znane.
- Ker je zaznava EBV odvisna od števila prisotnih virusov v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.
- Kalibratorji in zunanje kontrole morajo biti obdelani po priporočilih v priloženih navodilih in pred obdelavo rutinskih kliničnih vzorcev, če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx System.
- Do napačnih rezultatov lahko pride zaradi nepravilnega zbiranja primerkov, ravnanja, shranjevanja, tehnične napake ali zaradi napačne identifikacije epruвет s primerki. Poleg tega se lahko pojavijo lažni negativni vzorci, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznave testa NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Sistem NeuMoDx System lahko uporablja izključno osebe, ki je bilo usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx System.
- Če se ne amplificarajo niti tarče EBV niti tarče SPC1, bo javljen neveljaven rezultat (Indeterminate (Nedoločen) ali Unresolved (Nerešen)), test pa je treba ponoviti.
- Če je rezultat testa NeuMoDx EBV Quant Assay pozitiven, kvantifikacijska vrednost pa je pod mejo kvantifikacije, bo sistem NeuMoDx System javil, če je bil zaznan EBV *pod* spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ali *nad* zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Če je bil zaznan EBV pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), je možno test NeuMoDx EBV Quant Assay ponoviti (po želji) z drugim alikvotom primerka.
- V primeru, da je zaznan EBV nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), je možno test NeuMoDx EBV Quant Assay ponoviti z razredčenim alikvotom prvotnega primerka. Priporočeno je razmerje redčenja 1:100 ali 1:1000 v EBV-negativni plazmi ali v redčilu Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Sistem bo samodejno izračunal koncentracijo prvotnega primerka na naslednji način: Koncentracija prvotnega primerka = log10 (faktor redčenja) + javljena koncentracija razredčenega vzorca, če je bil pred ponovitvijo v programski opremi pravilno izbran faktor redčenja.
- Občasna prisotnost inhibitorjev PCR v plazmi lahko privede na napake pri kvantifikaciji sistema; če se to pojavi, priporočamo ponovitev testa z istim primerkom, ki je razredčen v redčilu Basematrix v razmerju 1:10 ali 1:100.
- Ni nujno, da pozitivni rezultat nakazuje prisotnost aktivno virusno okužbo. Pozitivni rezultat prej nakazuje prisotnost DNK virusa Epstein-Barr.
- Čeprav je možnost zelo majhna, lahko izbris ali mutacija v obeh ohranjenih regijah genoma EBV, ki je tarča NeuMoDx EBV Quant Assay, lahko pri uporabi NeuMoDx EBV Quant Test Strip vpliva na zaznalo oziroma privede do netočnih rezultatov.
- Rezultati testa NeuMoDx EBV Quant Assay se naj uporabljajo kot dodatek kliničnim opazovanjem in drugim podatkom, ki so na voljo zdravniku; test ni namenjen diagnozi okužbe.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

OBDELAVA REZULTATOV

Razpoložljive rezultate si je mogoče ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) v oknu Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx System.

Rezultate testa NeuMoDx EBV Quant Assay samodejno ustvari programska oprema sistema NeuMoDx System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx EBV Assay Definition File (EBV ADF). Rezultat testa NeuMoDx EBV Quant Assay je lahko Negative (Negativno), Positive (Pozitivno) s sporočeno koncentracijo EBV, Positive (Pozitivno) nad ULoQ, Positive (Pozitivno) pod LLoQ, Indeterminate (Nedoločen) ali Unresolved (Nerešen), na podlagi statusa amplifikacije tarče in nadzora obdelave vzorca. Rezultati so sporočeni na podlagi algoritma za določanje v *preglednici 1*.

Preglednica 1: Algoritem za odločanje v testu NeuMoDx EBV Quant Assay

Rezultat	EBV	Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitivno)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (IN) } EPR > 2 \text{ AND (IN) } EP \geq 1500]$ ALI $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (IN) } EP \geq 1500]$	Ni na voljo
Positive (Pozitivno), nad zgornjo mejo kvantifikacije [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (\log_{10} IE/ml)	[CONC] (KONC) $> 8,0 \log_{10}$ IE/ml, NO QUANT (NI KVANT.)	Ni na voljo
Positive (Pozitivno), pod spodnjo mejo kvantifikacije [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (\log_{10} IE/ml)	[CONC] (KONC) $< 2,3 \log_{10}$ IE/ml, NO QUANT (NI KVANT.)	Ni na voljo
Negative (Negativno)	N/A (ni na voljo) OR (ALI) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (IN) } EPR \leq 2]$ ALI $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (IN) } EP < 1500]$ OR (ALI) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICIRANO) ($29 \leq Ct \leq 35$) and (in) $EP \geq 2000$
Indeterminate (Nedoločen)	NOT AMPLIFIED /Systems Errors Noted (NI AMPLIFICIRANO/zabeležene napake sistema)	
Unresolved (Nerešeno)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NI AMPLIFICIRANO/ sistemske napake niso zabeležene)	

EP = End Point Fluorescence (fluorescenca na končni točki) (po popravku izhodišča); EPR = End Point Fluorescence Ratio (razmerje fluorescence na končni točki); C_t = Cycling Threshold (Mejna točka cikla);
Quant = izračunana količina prisotnega EBV, izražena v \log_{10} IE/ml. Glejte testno kalkuciacijo spodaj.

Testna kalkuciacija

- Za vzorce znotraj območja kvantifikacije testa NeuMoDx EBV Quant Assay je koncentracija DNK EBV v vzorcih izračunana z uporabo shranjene standardne krivulje, skupaj s koeficientom kalibracije.
 - »Koeficient kalibracije« se izračuna na podlagi rezultatov NeuMoDx EBV Calibrators, ki so obdelani za določanje veljavnosti standardne krivulje, za vsako serijo NeuMoDx EBV Quant Test Strips na specifičnem sistemu NeuMoDx System.
 - Sistem samodejno vključi koeficient kalibracije pri končnem določanju koncentracije DNK EBV.
- Rezultati testa NeuMoDx EBV Quant Assay so izraženi v \log_{10} IE/ml.
- Posledična kvantifikacija neznanih vzorcev je sledljiva do 1. Mednarodnega standarda WHO za Epstein-Barr virus za tehnike amplifikacije nukleinske kisline.

Testna kalibracija

Za kvantifikacijo DNK EBV v primerkih je potrebna veljavna kalibracija, ki temelji na standardni krivulji. Za ustvarjanje veljavnih rezultatov je potrebno dokončati testno kalibracijo z uporabo kalibratorjev, ki jih zagotavlja podjetje NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorji

- Kalibratorji NeuMoDx EBV Calibrators so na voljo v kompletu [REF 800500] in vsebujejo nekužne tarče EBV v kapsulah, ki so pripravljene v razredčilu Basematrix.
- Komplet kalibratorjev EBV je potrebno obdelati z vsako novo serijo NeuMoDx EBV Quant Test Strips, če je v sistemu NeuMoDx System naložena nova definicijska datoteka testa EBV, če je trenutnemu kompletu kalibratorjev potekel rok veljavnosti (nastavljen na 90 dni) ali če je bila programska oprema sistema NeuMoDx System spremenjena.
- Programska oprema sistema NeuMoDx System bo uporabnika obvestila, ko bo treba obdelati kalibratorje; nova serija testnih trakov ne more biti uporabljena za testiranje, dokler niso kalibratorji uspešno obdelani.

4. Veljavnost kalibracije je določena na naslednji način:
 - a) Za določanje veljavnosti mora biti obdelan komplet dveh kalibratorjev – visokega in nizkega.
 - b) Za ustvarjanje veljavnih rezultatov morata vsaj 2 od 3 ponovljenih vzorcev prikazati rezultate znotraj predhodno določenih parametrov. Nazivna tarča nizkega kalibratorja je $4 \log_{10}$ IE/ml in nazivna tarča visokega kalibratorja je $6 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) Koeficient kalibracije se izračuna, da upošteva pričakovano variacijo med serijami testnih trakov; ta koeficient kalibracije se uporabi pri določanju končne koncentracije EBV.
5. Če en ali noben kalibrator ne prestane pregleda veljavnosti, ponovite obdelavo neuspešnih kalibratorjev z novo stekleničko. Če en kalibrator ne prestane veljavnosti, je možno ponoviti samo neuspešni kalibrator, saj sistem od uporabnika ne zahteva ponovne izvedbe obeh kalibratorjev.
6. Če kalibrator(ji) ne prestane(jo) testa veljavnosti dvakrat zapored, se obrnite na NeuMoDx Molecular, Inc.

Nadzor kakovosti

Lokalni predpisi običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za nadzorne postopke, ki spremljajo točnost in preciznost celotnega analitičnega postopka, in mora določiti število, vrsto in pogostost preskušanja kontrolnih materialov z uporabo preverjenih specifikacij učinkovitosti za nespremenjen, odobren testni sistem.

Zunanje kontrole

1. Materiale zunanje kontrole, ki vsebujejo nekužne tarče EBV v kapsulah v redčilu Basematrix za pozitivne kontrole, dobavlja NeuMoDx Molecular, Inc., v kompletu, ki vsebuje NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
2. Pozitivne in negativne zunanje kontrole je treba obdelati enkrat na 24 ur. Če komplet veljavnih zunanjih kontrol ne obstaja, bo sistem NeuMoDx System od uporabnika zahteval, da te kontrole obdela, preden bo lahko pripravil rezultate vzorca.
3. Če so potrebne zunanje kontrole, vzemite komplet zunanjih kontrol iz zamrzovalnika in pustite stekleničke, da se odtajajo na sobni temperaturi (15–30 °C). Nežno zavrtite, da zagotovite homogenost.
4. Z uporabo zaslona na dotik in ko je prenosnik za epruvete s primerki postavljen na polico samodejnega nalagalnika, naložite stekleničke s pozitivnimi in negativnimi kontrolami v sistem NeuMoDx System. Sistem NeuMoDx System bo prepoznal črtno kodo in začel obdelovati epruvete s primerki, razen če reagentov oziroma potrošnega materiala, potrebnega za testiranje, ni na voljo.
5. Veljavnost zunanjih kontrol bo sistem NeuMoDx System ocenil na podlagi pričakovanega rezultata. Pozitivna kontrola bi morala imeti rezultat EBV Positive (EBV-pozitivno), negativna kontrola pa rezultat EBV Negative (EBV-negativno).
6. Odstopajoče rezultate glede zunanjih kontrol je treba obravnavati na naslednji način:
 - a) Positive (Pozitivno) rezultat testa pri negativnem kontrolnem vzorcu nakazuje težavo s kontaminacijo primerka.
 - b) Negative (Negativno) rezultat testa za pozitivni kontrolni vzorec lahko kaže na težavo z reagentom ali instrumentom.
 - c) V obeh zgoraj navedenih primerih ponovite neuspele NeuMoDx EBV External Control s sveže odtajano stekleničko kontrole, ki ni prestala testa veljavnosti.
 - d) Če pozitivna NeuMoDx EBV External Control še naprej javlja rezultat Negative (Negativno), se obrnite na službo za stranke podjetja NeuMoDx.
 - e) Če negativna zunanja kontrola NeuMoDx EBV External Control še naprej javlja rezultat Positive (Pozitivno), skušajte izločiti vse vire morebitne kontaminacije, vključno z menjavo VSEH reagentov in potrošnega materiala, preden se obrnete na službo za stranke podjetja NeuMoDx.

(Notranje) kontrole obdelave vzorca

Eksogena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) je vključena v NeuMoDx Extraction Plate ter je z vsakim vzorcem vključena v celotni postopek ekstrakcije nukleinske kisline ter amplifikacije PCR v realnem času. Primerji in šobe, specifični za SPC1, so tudi vključeni v vsak testni trak NeuMoDx EBV Quant Test Strip, s čimer je omogočena zaznava prisotnosti nadzora obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) poleg tarče DNK EBV (če je prisotna) preko multipleksa PCR v realnem času. Zaznava amplifikacije SPC1 programske opreme sistema NeuMoDx System omogoča nadzor učinkovitosti ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.

Če test NeuMoDx EBV Quant Assay, izveden na sistemu NeuMoDx System, ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, javljen kot Indeterminate (Nedoločen) (IND) ali Unresolved (Nerešeno) (UNR).

Rezultat IND (Nedoločen) bo javljen, če je med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx System. V primeru, da je sporočen rezultat IND (Nedoločen), je priporočen ponovni test.

Rezultat UNR (Nerešen) bo javljen, če ni zaznana nobena veljavna amplifikacija DNK EBV ali SPC1, kar nakazuje morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev. V primeru, da je javljen rezultat UNR (Nerešeno), je ponovni test možno izvesti kot prvi korak. Če ponovni test ni uspešen, lahko uporabite razredčen primerek, da ublažite učinke morebitne inhibicije v vzorcu.

KARAKTERISTIKE DELOVANJA

Analitična občutljivost – meja zaznave z uporabo standarda WHO

Analitična občutljivost kvant testa NeuMoDx EBV Quant Assay je bila potrjena s testiranjem EBV-negativnih primerkov plazme, obogatenih z nizko razredčino 1. Mednarodnega standarda WHO za EBV za tehnike amplifikacije nukleinske kisline. Ta potrditveni test je bil izveden pri pričakovani meji zaznave (Limit of Detection, LoD) NeuMoDx EBV Quant Assay na sistemih NeuMoDx Systems pri 200 IE/ml. LoD je bil definiran kot najnižja stopnja tarče za zaznavo pri stopnji $\geq 95\%$. Študija je bila izvedena na več sistemih s kvalificiranimi serijami reagentov NeuMoDx. Stopnje zaznave so prikazane v preglednici 2.

Preglednica 2: Določitev LoD NeuMoDx EBV Quant Assay; pozitivna stopnja zaznave za primerke plazme

Ciljna koncentracija [IE/ml]	PLAZMA		
	Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

Analitična občutljivost – spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) je definirana kot najnižja stopnja tarče, pri kateri je dosežena $> 95\%$ zaznava IN kjer je skupna analitična napaka (Total Analytic Error, TAE) $\leq 1,0$. Za potrditev 200 IE/ml tako LoD kot LLoQ za kvant test EBV so bili za določanje TAE uporabljeni rezultati študije stopnje zadetkov. Ta izračunan TAE je bil definiran kot:

$$\text{TAE} = \text{odstopanje} + 2 \cdot \text{SD [Westgard Statistic]}$$

Odstopanje je absolutna vrednost razlike med povprečjem izračunane koncentracije in pričakovano koncentracijo. SD se nanaša na standardno deviacijo kvantificirane vrednosti vzorca.

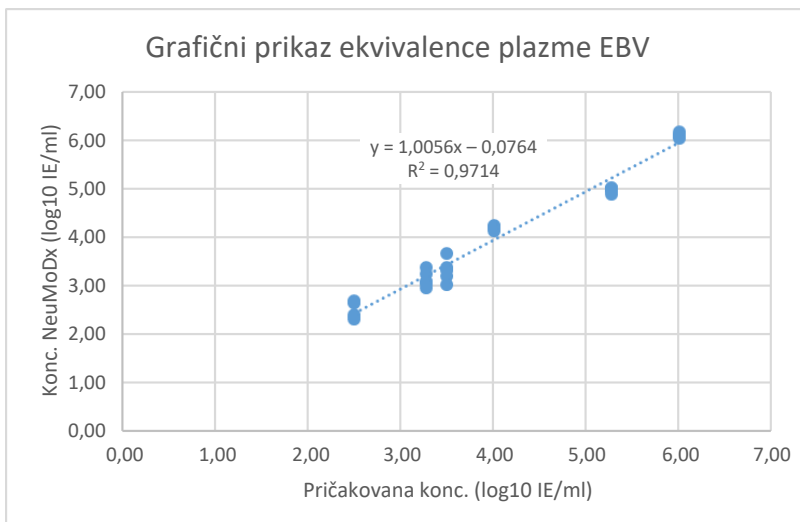
Preglednica 3: Spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) testa NeuMoDx EBV Quant Assay, z odstopanjem in TAE

Ciljna konc. [IE/ml]	Ciljna konc. [\log_{10} IE/ml]	Plazma				
		Povprečna konc. [\log_{10} IE/ml]	Zaznava (%)	SD	Odstopanje	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Na podlagi rezultata te študije sta bila tako LoD kot LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay določena pri 200,0 IE/ml [$2,30 \log_{10}$ IE/ml].

Linearnost in določanje zgornje meje količinskega določanja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Linearnost zgornje meje kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) NeuMoDx EBV Quant Assay je bila določena v plazmi s pripravo serije razredčin z uporabo tarče EBV NeuMoDx v kapsuli in Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) z vzpostavljeno sledljivostjo do 1. Mednarodnega standarda WHO za EBV. 10-mestna plošča je bila pripravljena z združeno EBV-negativno plazmo, s čimer je bila ustvarjena plošča z razponom koncentracije 2,0–8,0 \log_{10} IE/ml. Zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) testa NeuMoDx EBV Quant Assay je bila določena pri 8,0 \log_{10} IE/ml. Pripravljena je bila potrditvena plošča za oceno linearnosti standardne krivulje, koncentracije testa EBV, ki jih je sporočil sistem NeuMoDx System v primerjavi s pričakovanimi vrednostmi, so predstavljene na *sliki 2*.



Slika 2: Linearnost testa NeuMoDx EBV Quant Assay

Analitična specifičnost – navzkrižna reaktivnost

Analitična specifičnost je bila prikazana s presejanjem 35 organizmov, ki jih je možno najti v primerkih krvi/plazme, kot tudi vrst, ki so filogenetsko podobne EBV za namene navzkrižne reaktivnosti. Organizmi pri visoki koncentraciji so bili pripravljene v skupinah 5–6 organizmov. Testirani organizmi so prikazani v *preglednici 4*. Navzkrižna reaktivnost pri testiranih organizmih ni bila opažena, kar potrjuje 100 % analitično specifičnost testa NeuMoDx EBV Quant Assay.

Preglednica 4: Patogeni, uporabljeni za prikaz analitične specifičnosti

Netarčni organizmi					
Poliomavirus (virus BK)	Adenovirus tipa 5	Virus herpes simpleks tipa 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovirus	Virus hepatitisa C	Virus herpes simpleks tipa 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Človeški herpes virus tipa 6	Parvovirus B19	Virus varicella zoster	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Človeški herpes virus tipa 7	Virus JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Človeški herpes virus tipa 8	Človeški papilomavirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus hepatitisa B	Človeški papilomavirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analitična specifičnost – moteče snovi, komenzalni organizmi

Test NeuMoDx EBV Quant Assay je bil ocenjen glede interferenc v prisotnosti neciljnih organizmov z uporabo istih skupin organizmov, pripravljenih za testiranje navzkrižne reaktivnosti in navedenih zgoraj v *preglednici 4*. Negative plazma EBV je bila obogatena z organizmi, združenimi v skupine po 4–7; te skupine so bile nato obogatene s tarčo EBV pri koncentraciji $3 \log_{10}$ IE/ml. V prisotnosti teh organizmov niso opazili nobenih pomembnih interferenc, kar kaže minimalni odklon količinskega določanja od kontrolnih primerkov, ki niso vsebovali motečega agenta.

Analitična specifičnost – moteče snovi, endogene in eksogene snovi

Test NeuMoDx EBV Quant Assay je bil ocenjen v prisotnosti tipičnih eksogenih in endogenih motečih snovi, s katerimi se srečujemo v primerkih klinične plazme s EBV. To vključuje nenavadno visoke stopnje krvnih komponent kot tudi splošna protivirusna in imunosupresivna zdravila, ki so razvrščena v *preglednici 5*. Vsaka snov je bila dodana presejani EBV-negativni človeški plazmi, obogateni s $3 \log_{10}$ IE/ml EBV in vzorci so bili analizirani glede motenj. Poleg tega je bila glede morebitnih interferenc testirana tudi običajna plazma bolnikov z okužbo z virusom EBV. Povprečna koncentracija in odstopanje vseh testiranih snovi, primerjana s kontrolnimi vzorci, obogateni s isto stopnjo EBV, sta navedena v *preglednici 6*. Nobena od eksogenih in endogenih snovi ni vplivala na specifičnost NeuMoDx EBV Quant Assay.

Preglednica 5: Testiranje interference – eksogene snovi (klasifikacije zdravil)

Skupina	Ime zdravila	Klasifikacija	Skupina	Ime zdravila	Klasifikacija
Skupina 1	Azatioprin	Imunosupresiv	Skupina 4	Trimetoprim	Antibiotik
	Ciklosporin	Imunosupresiv		Vankomicin	Antibiotik
	Foskarnet	Protivirusno zdravilo (Herpesviridae)		Takrolimus	Imunosupresiv
	Ganciklovir	Protivirusno zdravilo (EBV)		Everolimus	Imunosupresiv
	Valganciklovir hidroklorid	Protivirusno zdravilo (EBV)		Kalijev klavulanat	Antibiotik
Skupina 2	Prednizon	Kortikosteroid/immunosupresiv	Skupina 5	Famotidin	Antagonist histaminskih receptorjev
	Cidofovir	Protivirusno zdravilo (EBV)		Sulfametoksazol	Antibiotik
	Cefotetan	Antibiotik (širokega spektra)		Valaciklovir	Protivirusno zdravilo (Herpesviridae)
	Cefotaksim	Antibiotik (širokega spektra)		Letermovir	Protivirusno zdravilo (EBV)
	Flukonazol	Antimikotik		Dinatrijev tikarcilin	Antibiotik
Skupina 3	Mikofenolat mofetil	Imunosupresiv		Leflunomid	Imunosupresiv
	Natrijev mikofenolat	Imunosupresiv			
	Piperacilin	Antibiotik			
	Sirolim/rapamicin	Imunosupresiv			
	Tazobaktam	Modificiran antibiotik			

Preglednica 6: Testiranje interference – eksogeni in endogeni agenti

Endogena	Povprečna konc.	Odstopanje
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Hemoglobin	3,20	0,23
Trigliceridi	3,15	0,28
Bilirubin	3,48	-0,05
Albumin	3,2	0,22
Eksogeni (zdravila)	Povprečna konc.	Odstopanje
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Skupina 1: Azatioprin, ciklosporin, foskarnet, ganciklovir, valganciklovir hidroklorid	3,30	0,13
Skupina 2: Prednizon, cidofovir, cefotetan, cefotaksim, flukonazol	3,22	0,21
Skupina 3: Mikofenolat mofetil, natrijev mikofenolat, piperacilin, sirolim/rapamicin, tazobaktam	3,36	0,07
Skupina 4: Trimetoprim, vankomicin, takrolimus, everolimus, kalijev klavulanat	3,32	0,11
Skupina 5: Famotidin, sulfametoksazol, letermovir, valaciklovir, dinatrijev tikarcilin, leflunomid	3,47	-0,10
Stanje bolezni	Povprečna konc.	Odstopanje
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Sistemiški eritematozni lupus (SLE)	3,23	0,20
Antinuklearno protitelo (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Revmatoidni artritis (RA)	3,19	0,24

Natančnost znotraj laboratorija

Natančnost testa NeuMoDx EBV Quant Assay je bila določena s testiranjem 3 ponovljenih vzorcev 4-članske plošče primerkov EBV, pripravljenih s pozitivno kontrolo EBV (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), trikrat dnevno, z uporabo dveh sistemov NeuMoDx 288 System in enega sistema NeuMoDx 96 System v obdobju dveh dni. Opredeljena je bila natančnost znotraj izvedbe, znotraj dneva in znotraj sistema, skupni standardni odklon pa je bil določen pri $\leq 0,33 \log_{10}$ IE/ml. Med sistemi, dnevi ali izvedbami je bila prikazana odlična natančnost, kot je prikazano v *preglednici 7*. Natančnost med upravljavci ni bila določena, saj upravljavec ne igra pomembne vloge pri obdelavi vzorcev z uporabo sistema NeuMoDx System.

Preglednica 7: Natančnost znotraj laboratorija – test NeuMoDx EBV Quant Assay na sistemih NeuMoDx System

Ciljna konc. EBV [\log_{10} IE/ml]	Povprečna konc. EBV [\log_{10} IE/ml]	SD znotraj sistema	Znotraj SD dneva	Znotraj SD postopka	Skupna SD (znotraj laboratorija)
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

Ponovljivost med serijami

Ponovljivost NeuMoDx EBV Quant Assay med serijami je bila določena z oceno treh serij reagentov – NeuMoDx EBV Quant Test Strips in Lysis Buffer 5 – v sklopu testiranja kvalifikacije (Qualification Testing, QT). Za oceno delovanja je bila uporabljena 4-članska plošča EBV-pozitivne plazme (*Preglednica 8*). Variacija znotraj serije in med serijami je bila analizirana, rezultati pa so predstavljeni v *preglednicah 8–9*. Najvišje skupno odstopanje za NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips je bilo $0,03 \log_{10}$ IE/ml in najvišja skupna SD je bila $0,20 \log_{10}$ IE/ml. Najvišje skupno odstopanje za NeuMoDx Lysis Buffer 5 je bilo $0,12 \log_{10}$ IE/ml in najvišja skupna SD je bila $0,41 \log_{10}$ IE/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo prikazano v vseh serijah, saj je bilo količinsko določanje vseh mest na plošči znotraj specifikacije tolerance.

Preglednica 8: Ponovljivost med serijami – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Ciljna konc. EBV [IE/ml]	Povprečna konc. EBV [\log_{10} IE/ml]	N (Veljavni rezultati na serijo)	Odstopanje	Med SD serijo	SD znotraj serije	Skupna SD
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

Preglednica 9: Ponovljivost med serijami – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Ciljna konc. EBV [\log_{10} IE/ml]	Povprečna konc. EBV [\log_{10} IE/ml]	N (Veljavni rezultati na serijo)	Odstopanje	Med SD serijo	SD znotraj serije	Skupna SD
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

Učinkovitost kontrole obdelave vzorca

Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) je vključena v NeuMoDx EBV Quant Assay za poročanje o napakah korakov oziroma inhibiciji, ki vpliva na delovanje testa. Z uporabo NeuMoDx CMV Quant Assay kot modela je bila testirana učinkovitost SPC1 za primerke plazme v pogojih, ki predstavljajo kritične napake pri korakih obdelave, ki bi se lahko pojavili med obdelavo vzorca in *ki jih senzorji za nadzor delovanja* sistema NeuMoDx System morda ne zaznajo. Primerki, pozitivni na citomegalovirus (pri $3 \log_{10}$ IE/ml), in negativni primerki so bili preverjeni v naslednjih pogojih: prisotnost inhibitorja, brez dovajanja raztopine za izpiranje in brez izpihanja po izpiranju. Neučinkovitosti v procesu, ki so negativno vplivale na zaznavo/količinsko določanje virusne tarče, so bile prezrcaljene z delovanjem tarče SPC1, kot je prikazano v *preglednici 10*. V vseh testiranih primerih se je izkazalo, da je kontrola obdelave vzorca zadostno nadzorovala neučinkovitosti pri postopku in prisotnost inhibitorjev oziroma da pričakovane neučinkovitosti pri postopku niso imele pomembnejšega negativnega učinka na zaznavo SPC1 ali zaznavo in količinsko določanje virusne tarče. Zato se je SPC1 izkazal kot uspešen pri učinkovitem nadzoru delovanja testa na sistemu NeuMoDx System.

Preglednica 10: Učinkovitosti kontrole obdelave vzorca za virusno DNK v plazmi*

Testirana napaka koraka postopka	Status amplifikacije kontrole obdelave vzorca 1	Status amplifikacije tarče CMV	Rezultat testa
Presence of Inhibitor (Prisotnost inhibitorja)	Not Amplified (Ni amplificirano)	Not Amplified (Ni amplificirano)	Unresolved (Nerešeno)
No Wash Delivered (Brez izpiranja)	Not Amplified (Ni amplificirano)	Not Amplified (Ni amplificirano)	Unresolved (Nerešeno)
No Wash Blowout (Brez izpihanja po izpiranju)	Amplified (Amplificirano)	Amplified (Amplificirano)	Positive (Pozitivno) s kvantifikacijo znotraj 0,3 log ₁₀ IE/ml kontrole

*Kot sistem modela za oceno učinkovitosti kontrole obdelave vzorca je bil uporabljen citomegalovirus (CMV) v primerkih plazme.

Navzkrižna kontaminacija

Stopnja navzkrižne kontaminacije za primerke plazme je bila določena z obdelavo izmenjujočih se visoko pozitivnih in negativnih vzorcev podobnega virusa DNK v krvi, citomegalovirusa (CMV). Izvedeni so bili trije sklopi takih testiranj s šahovnico s skupno 108 ponovljenimi vzorci CMV-negativne plazme in 108 ponovljenih vzorcev obogatene plazme CMV pri 6,0 log₁₀ IE/ml. Vseh 108 ponovljenih vzorcev negativnega primerka je bilo javljenih kot negativnih, s čimer je bilo prikazano, da se navzkrižna kontaminacija med obdelavo vzorca plazme na sistemu NeuMoDx System ni pojavila.

Ekvivalenca matrice primerka

Testiranje je bilo izvedeno za prikaz ekvivalence med primerki sveže in zamrznjene plazme z uporabo modela podobnega virusa, ki se prenaša s krvjo, tj. CMV. Sveži primerki so bili shranjeni pri 4 °C, dokler niso bili obogateni s tremi stopnjami CMV in testirani glede ekvivalence. Nato so bili vzorci zamrznjeni vsaj za 24 ur pri temperaturi -20 °C. Za tem obdobjem hranjenja v zamrznjenem stanju so bili primerki odtajani in ponovno testirani. Rezultati svežih in zamrznjenih primerkov plazme so bili primerjani glede ekvivalence z analizo regresije. Podatki so prikazali odlično ekvivalenco med svežimi in zamrznjenimi primerki plazme z naklonom 1,0 in zelo nizkim odstopanjem (prestrezanje), kot je prikazano spodaj v *preglednici 11*.

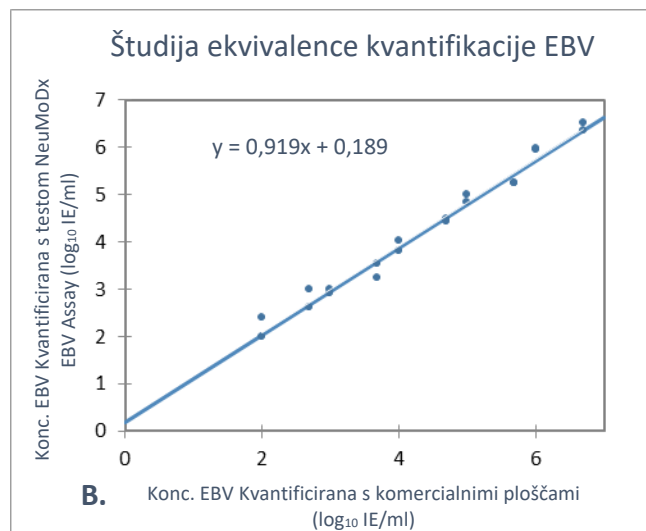
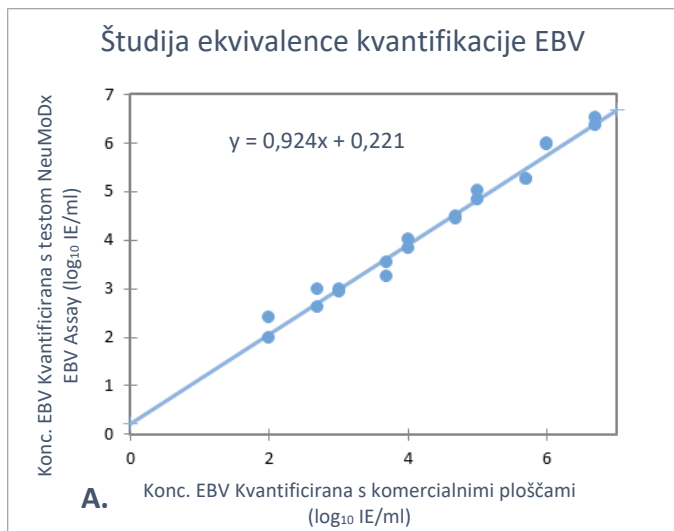
Preglednica 11: Ekvivalenca matrice primerka

Zahteva parametra	Sveža EDTA proti zamrznjeni
Naklon [0,9-1,1]	1,000
Prestrezanje < 0,5 log ₁₀ IE/ml	0,020
Vrednost $p > 0,05$	0,631

Karakterizacija delovanja kvantifikacije

Kvantitativno delovanje NeuMoDx EBV Quant Assay je bilo določeno z obdelavo dveh komercialnih plošč za verifikacijo EBV podjetij AcroMetrix in Exact Diagnostics (sledljivo do 1. Mednarodnega standarda WHO za EBV) na NeuMoDx Molecular Systems.

Odlična korelacija je bila ugotovljena med testom NeuMoDx EBV Quant Assay in dvema komercialnima ploščama za preverjanje EBV (*slika 3*) tako pri analizi z Demingovo regresijo (*slika 3A*) ali po metodi Passing-Bablok (*slika 3B*).



Slika 3. Grafični prikaz ekvivalence med verifikacijskimi ploščami AcroMetrix in Exact Diagnostics ter NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Linearna regresijska analiza z uporabo Demingove metode. B. Linearna regresijska analiza z uporabo metode Passing-Bablok.

Kakovost ujemanja regresije Deming je prikazana s skupnim koeficientom naklona 0,92 in prestrežanjem (odstopanjem) 0,22, s čimer je prikazano, da so rezultati koncentracije, dobljene med NeuMoDx EBV Quant Assay in verifikacijskimi ploščami EBV korelirane s sprejemljivim odstopanjem. Linearno ujemanje Passing-Bablok prav tako potrjuje pomen korelacije med rezultati, pridobljenimi iz NeuMoDx EBV Quant Assay in verifikacijskih plošč EBV, s skupnim koeficientom naklona 0,92 in prestrežanjem (odstopanjem) 0,19. Izračunana vrednost *p* analize Passing-Bablok je bila 0,40.

Preglednica 12: Povzetek analize linearne regresije Deming in Passing-Bablok

Demingova analiza		Analiza Passing-Bablok	
Prestrežanje	Koeficient naklona	Prestrežanje	Koeficient naklona
0,22	0,92	0,19	0,92
95 % IZ (-0,11, 0,55)	95 % IZ (0,86, 0,99)	95 % IZ (-0,08, 0,41)	95 % IZ (0,87, 0,99)

REFERENCE

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.

BLAGOVNE ZNAMKE















NeuMoDx™ je blagovna znamka družbe NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ je blagovna znamka družbe NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® je registrirana blagovna znamka družbe Roche Molecular Systems, Inc.

Vsa druga imena proizvodov, blagovnih znamk in registriranih blagovnih znamk, ki se morda pojavijo v tem dokumentu, so last njihovih zadevnih lastnikov.

SIMBOLI

SIMBOL	POMEN
R only	Samo na recept
	Proizvajalec
	Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>
	Pooblaščen predstavnik v Evropski skupnosti
	Kataloška številka
	Koda serije
	Rok uporabnosti
	Temperaturna meja
	Omejitev vlažnosti
	Ne uporabljajte ponovno
	Vsebuje zadostno količino za $<n>$ testov
	Glejte navodila za uporabo
	Pozor
	Biološka tveganja
	Oznaka CE



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

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Tehnična podpora/poročanje v okviru vigilance: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents