

**REF** 201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0

**R only**

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.

**IVD** A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System

 Pentru actualizări ale prospectului, accesați: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317

## DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 este un test automat, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic pentru cuantificarea ADN-ului virusului Epstein-Barr (EBV) uman din plasmă EDTA provenită de la pacienții cu transplant imunocompromiși.

Analiza NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 aplicată pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acidul nucleic țintă din eșantion și PCR în timp real pentru a viza două regiuni extrem de bine conservate în genomul EBV.

Analiza este destinată utilizării ca ajutor în monitorizarea nivelurilor de ADN EBV din sângele periferic pentru a evalua răspunsul viral la tratament. Această analiză este destinată utilizării împreună cu simptomele clinice și cu alți markeri de laborator ai evoluției bolii pentru gestionarea clinică și monitorizarea infecției cu EBV.

Analiza nu este destinată utilizării ca testare de screening pentru prezența ADN-ului EBV în sânge sau produși sanguini. Analiza NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 este destinată utilizării de către personalul instruit al laboratoarelor clinice, pregătit și instruit special în tehnicile PCR în timp real și procedurile de diagnosticare *in vitro* și/sau sistemele NeuMoDx Molecular System. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 nu este destinat pentru autotestare sau pentru utilizare în afara sistemului sanitar.

## REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui, care conțin EDTA ca agent de anticoagulare, poate fi folosit pentru pregătirea plasmă. Pentru inițierea testării, plasma dintr-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System este amplasată într-un suport de eprubete pentru eșantioane și încărcată pe masa de lucru a sistemului NeuMoDx System. Pentru fiecare eșantion, o parte alicotă de 550 μl de probă plasmatică este amestecată cu NeuMoDx Lysis Buffer 1, iar NeuMoDx System parcurge automat toate etapele necesare pentru extracția acidului nucleic țintă, pregătește ADN-ul izolat pentru amplificare PCR în timp real și, dacă aceștia sunt prezenți, amplifică și detectează produșii de amplificare (două regiuni extrem de bine conservate în genomul EBV). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (Sample Process Control, SPC1), care să ajute la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, și a erorilor NeuMoDx System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

EBV este un virus ADN dublu catenar comun din familia virusului herpetic uman, care infectează oameni de toate vârstele. Se estimează că > 90% dintre indivizii din întreaga lume sunt sau au fost infectați cu EBV.<sup>1</sup> EBV este răspândit prin fluide corporale, cum ar fi salivă, sânge, spermă și transplanturi de organe. Mulți oameni se infectează cu EBV în copilărie. Acești indivizi, deși sunt infectați cu EBV, sunt de obicei asimptomatici. Persoanele imunocompromise pot dezvolta simptome și complicații mai severe la infecția cu EBV. Infecția latentă cu EBV prezintă cel mai mare risc pentru pacienții post-transplant. Tulburările limfoproliferative post-transplant (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLN) includ formarea tumorii determinată de EBV în celulele B, din cauza efectului agenților imunosupresori asupra controlului imunitar al EBV, una dintre cele mai semnificative cauze ale morbidității și mortalității la pacienții supuși oricărui tip de transplant de organe.<sup>2</sup>

Monitorizarea încărcăturii virale EBV poate fi utilizată ca ajutor în diagnosticarea și gestionarea PTLN asociate cu EBV. Totuși, diagnosticul trebuie stabilit prin intermediul unei biopsii. Monitorizarea încărcăturii virale EBV poate fi, de asemenea, utilizată pentru a monitoriza răspunsul la tratamentul PTLN asociate cu EBV, în general cu rituximab și o reducere a terapiei imunosupresoare.<sup>3</sup>

## PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pe NeuMoDx System utilizează NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, calibratoare NeuMoDx EBV Calibrator, substanțe de control externe NeuMoDx EBV External Control, NeuMoDx Lysis Buffer 1 și reactivi NeuMoDx de uz general pentru a efectua analiza. Testul NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 combină extracția, amplificarea și detecția automată a ADN-ului prin PCR în timp real. Eșantioanele de sânge integral sunt recoltate în eprubete cu EDTA, pentru pregătirea plasmă. Eșantionul de plasmă dintr-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System este amplasat într-un suport de eprubete pentru eșantioane și încărcat pe masa de lucru a sistemului NeuMoDx System pentru procesare. Nu mai este necesară nicio altă intervenție a operatorului.

Sistemele NeuMoDx System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza celulară, extracția ADN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de microsferă cu afinitate magnetică. Microsferele, împreună cu acizii nucleici legați, sunt încărcate în NeuMoDx Cartridge, unde componenți nelegați, non-ADN sunt spălați ulterior cu NeuMoDx Wash Reagent, iar ADN-ul legat este eluat, utilizând NeuMoDx Release Reagent. Ulterior, sistemele NeuMoDx System utilizează ADN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetati de amplificare NeuDry™, care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea PCR a țintelor specifice EBV și SPC1. La reconstituirea reactivilor NeuDry PCR, NeuMoDx System distribuie amestecul pregătit compatibil cu PCR în NeuMoDx Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor de ADN de control și țintă (dacă sunt prezente) au loc în zona camerei PCR din NeuMoDx Cartridge. De asemenea, NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a include ampliconul după PCR în timp real, astfel eliminând, în mod esențial, riscul de contaminare post-amplificare.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 vizează două regiuni foarte bine conservate, BALF5 și BXFL1, din genomul EBV. Modelul de țintă dublă reduce riscul obținerii de rezultate fals negative în cazul mutațiilor într-o regiune țintă, crescând astfel soliditatea analizei. Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor pentru țintele respective.

Sondele TaqMan constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să tempereze fluorescența emisă de fluorofor prin transfer de energie de rezonanță Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondele TaqMan sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și provoacă pierderea proximității față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluorescenței fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat detectat este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de ADN țintă.

O sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor (excitație: 490 nm și emisie: 521 nm) la capătul 5', și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3', este utilizată pentru detecția ambelor ținte ADN EBV. Pentru detecția SPC1, sonda TaqMan este etichetată cu o vopsea fluorescență alternativă (excitație: 535 nm și emisie: 556 nm) la capătul 5', și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)). Dacă un rezultat este POSITIVE (POZITIV), software-ul sistemului NeuMoDx System oferă, de asemenea, și o valoare cantitativă asociată probei sau raportează dacă valoarea calculată pentru concentrație este în afara intervalului liniar.



## REACTIVI/CONSUMABILE

### Materiale furnizate

REF	Conținut	Unități per pachet	Testări pe unitate	Teste per pachet
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> Reactivi RT-PCR deshidratați, care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice EBV și SPC1.	6	16	96

### Materiale necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la QIAGEN)

REF	Conținut
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe pentru EBV, pentru a stabili validitatea curbei standard (Câte 1 flacon din fiecare substanță de control = 1 set)
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> Seturi de unică folosință de substanțe de control Low Positive (slab pozitiv), High Positive (Puternic pozitiv) și Negative (Negativ) la EBV pentru a stabili validitatea zilnică a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (câte 1 flacon din fiecare substanță de control = 1 set)
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Particule paramagnetice deshidratate, enzime litice deshidratate și substanțe de control deshidratate pentru procesarea probei
400500	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Vârfuri Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl) cu filtre</b>
235905	<b>Vârfuri Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) cu filtre</b>

### Instrumentar necesar

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

Software NeuMoDx System versiunea 1.9.2.6 sau o versiune superioară



## AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivi în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării (generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800501]).
- Substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control [REF 900502] trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

- Volumul minim al eșantionului de alicote secundare de plasmă EDTA este detaliat mai jos în secțiunea Pregătirea testării. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprii sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați contaminarea microbiană și deoxiribonucleazică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. La utilizarea eprubetelor secundare, se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile, de unică folosință, fără DNază. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 și NeuMoDx Extraction Plate sau suprafața superioară a recipientului de NeuMoDx Lysis Buffer; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (FDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz), la [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>5</sup> (Biosiguranța în laboratoarele microbiologice și biomedicale) și în Documentul M29-A4 CLSI.<sup>5</sup>
- Când lucrați cu substanțe chimice, purtați întotdeauna un halat de laborator adecvat, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție. Pentru mai multe informații, consultați fișele cu date de securitate corespunzătoare (FDS).
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale. Urmați recomandările din fișa cu date de securitate (FDS).

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Conține: acid boric. Pericol! Provoacă iritarea gravă a ochilor. Poate dăuna fertilității sau fătului. Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare. A nu se manipula decât după ce au fost citite și înțelese toate măsurile de securitate. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție. ÎN CAZ DE expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul. Depozitați produsul sub cheie. Aruncați conținutul/recipientul la un centru omologat pentru eliminarea deșeurilor.

### Informații în caz de urgență

CHEMTREC

În afara SUA și Canada +1 703-527-3887



### DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

1. Bandelele NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 28 °C.
2. Odată încărcată, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 14 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandele de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de sistem.
3. Deși sunt neinfecțioase, calibratoarele NeuMoDx EBV Calibrator și substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control trebuie aruncate după utilizare ca deșeuri biopericuloase de laborator pentru a reduce riscul de contaminare.

### RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

*Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.*

1. Nu congelați eșantioanele de sânge integral sau alte eșantioane depozitate în eprubete primare.
2. Pentru pregătirea eșantioanelor de plasmă, sângele integral trebuie recoltat în eprubete sterile, utilizând EDTA drept anticoagulant. Urmați instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor.
3. Sângele integral recoltat în dispozitivele enumerate mai sus poate fi depozitat și/sau transportat timp de până la 24 de ore la o temperatură cuprinsă între 2 și 25 °C înainte de pregătirea plasmei. Pregătirea plasmei trebuie realizată în conformitate cu instrucțiunile producătorului.
4. Eșantioanele pregătite de plasmă pot rămâne pe NeuMoDx System timp de până la 8 ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate.
5. Eșantioanele pregătite de plasmă trebuie depozitate între 2 și 8 °C timp de maxim 7 zile înainte de testare, și maxim 8 ore la temperatura camerei.

6. Eșantioanele plasmatiche pregătite pot fi depozitate la -20 °C timp de până la 8 săptămâni; probele plasmatiche nu trebuie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare înainte de utilizare.
  1. Dacă eșantioanele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (între 15 °C și 30 °C); vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă. Probele trebuie să ajungă la temperatura camerei înainte de testare.
  2. După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 8 ore.
7. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.

## INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

### Pregătirea testării

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System, conform descrierii de mai jos.
2. Transferați o parte alicotă de eșantion în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:
3. *Pentru eșantioanele plasmatiche:*
  - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane (32 de eprubete): Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă; volumul minim de umplere  $\geq 650 \mu\text{l}$

### Utilizarea NeuMoDx System

*Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System (Nr.P. 40600108 și 40600317)*

1. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandelele de testare NeuMoDx System cu bandelele NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandelele de testare în NeuMoDx System.
2. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului sistemului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent și NeuMoDx Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului sistemului NeuMoDx System, procesați Calibrators [REF 800501] și/sau External Controls [REF 900502], după cum este necesar. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea *Procesarea rezultatelor*.
5. Încărcați eprubeta (eprubetele) pentru eșantioane într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacele și posibilele tamponuri din toate eprubetele.
6. Amplasați suportul de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

## LIMITĂRI

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
2. Performanța NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 a fost stabilită pentru eșantioanele plasmatiche preparate din sânge integral recoltat cu EDTA pe post de anticoagulant. Nu a fost evaluată utilizarea NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 împreună cu alte surse, iar caracteristicile de performanță sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
3. Deoarece detecția EBV depinde în general de numărul de particule virale prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
4. Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încurcarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.
6. Dacă țintele EBV și ținta SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
7. Dacă survine o eroare de sistem înainte de finalizarea procesării probelor, va fi raportat „No Result” (Niciun rezultat), iar testarea trebuie repetată.

8. În eventualitatea în care ADN-ul EBV detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 poate fi repetat cu o parte alicotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluare 1:100 sau 1:1000 în plasmă negativă la EBV sau în Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Sistemul va calcula automat concentrația eșantionului original, după cum urmează: Concentrația eșantionului original =  $\log_{10}$  (factor de diluție) + concentrația raportată a probei diluate, atât timp cât factorul de diluție a fost selectat în mod corespunzător în software, înainte de repetare.
9. Prezența inhibitorilor PCR în plasmă poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului; dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă repetarea testării cu același eșantion diluat în Basematrix la 1:10 sau 1:100.
10. Un rezultat pozitiv indică prezența ADN-ului EBV.
11. Cu toate că posibilitatea este scăzută, delețiile sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx EBV Quant Assay pot afecta detecția/și cuantificarea și pot duce la un rezultat eronat.
12. Rezultatele obținute din NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; testul nu este destinat diagnosticării infecției.
13. Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

## PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” („Rezultate”) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System. Rezultatele NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sunt generate automat de software-ul sistemului NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx EBV Quant Assay (EBV Quant ADF versiunea 4.0.0 sau o versiune ulterioară). Un rezultat NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv) cu o concentrație de ADN EBV raportată, Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie ADF de procesare a rezultatelor, sintetizate mai jos în Tabelul 1.

**Tabelul 1:** Interpretarea rezultatelor NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Rezultat	Ținte EBV	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)
<b>Positive (Pozitiv)</b>	<b>AMPLIFIED (AMPLIFICAT)</b> [2 ≤ Ct < 28 și EPR > 1,3 și EP > 1200] SAU [28 < Ct < 38 și EP > 1200]	N/A (Nu se aplică)
<b>Positive (Pozitiv), mai mare decât limita superioară de cuantificare [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	[CONC] > 8,0 Log <sub>10</sub> UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)	N/A (Nu se aplică)
<b>Positive (Pozitiv), mai mic decât limita inferioară de cuantificare [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	[CONC] < 1,48 Log <sub>10</sub> UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)	N/A (Nu se aplică)
<b>Negative (Negativ)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (NEAMPLIFICAT)</b> N/A (Nu se aplică) SAU [2 ≤ Ct < 28 și EPR ≤ 1,3 și EP > 1200] SAU [28 ≤ Ct < 38 și EP > 1200] SAU Ct > 38	<b>AMPLIFIED (AMPLIFICAT)</b> [29 < Ct < 35 și EP ≥ 2000]
<b>No Result (Niciun rezultat)*</b>	Not Amplified (Neamplificat); System Error Detected (Eroare de sistem detectată); Sample Processing Aborted (Procesarea probelor abandonată)	
<b>Indeterminate (Neconcludent)*</b>	Not Amplified (Neamplificat); System Error Detected (Eroare de sistem detectată); Sample Processing Completed (Procesarea probelor finalizată)	
<b>Unresolved (Nerezolvat)*</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplificat, Nu s-au observat erori de sistem)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescență cu punct final); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Raportul fluorescenței cu punct final); Ct = Cycling Threshold (Prag de ciclare);

Quant = cantitate calculată de EBV prezent, exprimată în  $\log_{10}$  UI/ml. Consultați secțiunea Calculul pentru testare de mai jos.

\* Sistemul are capacitatea opțională Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pentru a permite reprocesarea automată în cazul unui rezultat nevalid, pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

**Calculul pentru testare: Probe**

1. Pentru probele aflate în intervalul liniar al NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, concentrația de ADN EBV din probe este calculată utilizând curba standard stocată împreună cu coeficientul de calibrare.
  1. Un „coeficient de calibrare” se calculează pe baza rezultatelor calibratoarelor NeuMoDx EBV Calibrator procesate, pentru a stabili validitatea curbei standard, pentru fiecare lot de bandelele NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, pe un anumit sistem NeuMoDx System.
  2. Coeficientul de calibrare este încorporat automat de sistem în determinarea finală a concentrației de ADN EBV.
2. Rezultatele NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sunt raportate în UI/ml și Log<sub>10</sub> UI/ml.
3. Cuantificarea rezultată a probelor necunoscute poate fi urmărită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru virusul Epstein-Barr pentru tehnicile de amplificare a acidului nucleic.

**Calculul pentru testare: Calibratoare**

Este necesară o calibrare validă, pe baza curbei standard, pentru a cuantifica ADN-ul EBV în eșantioane. Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie efectuată o calibrare a testării, utilizând calibratoarele furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc.

1. Calibratoarele NeuMoDx EBV Calibrator sunt furnizate într-un kit [REF 800501] și conțin țintă EBV neinfecțioasă încapsulată, preparată în Basematrix.
2. Cu fiecare lot nou de bandelele NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 trebuie procesat câte un set de calibratoare EBV Calibrator, dacă un fișier de definiție a testului EBV nou este încărcat în NeuMoDx System, dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul sistemului NeuMoDx System este modificat.
3. Software-ul sistemului NeuMoDx System va anunța utilizatorul cu privire la momentul în care trebuie procesate calibratoare; nu poate fi folosit pentru testare un lot nou de bandelele de testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
4. Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
  1. Un set de două calibratoare – puternice și slabe – trebuie procesat pentru stabilirea validității.
  2. Pentru generarea unor rezultate valide, cel puțin 2 din cele 3 replicate trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală cu calibrator slab este 3 Log<sub>10</sub> UI/ml, iar ținta nominală cu calibrator puternic este 5 Log<sub>10</sub> UI/ml.
  3. Se calculează un coeficient de calibrare pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandelele de testare; acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de ADN EBV.
5. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului (calibratoarelor) eșuat(e) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să execute din nou ambele calibratoare.
6. În cazul în care calibratorul (calibratoarele) eșuează în verificarea validității a doua oară consecutiv, contactați departamentul Asistență tehnică QIAGEN.

**Rezultate nevalide**

Dacă o analiză NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 efectuată pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat ca Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat); în funcție de tipul erorii survenite, testarea trebuie repetată pentru obținerea unui rezultat valid.

Un rezultat Indeterminate (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat Indeterminate (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat No Result (Niciun rezultat) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System și procesarea probelor este abandonată. În cazul în care este raportat un rezultat No Result (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat Unresolved (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio țintă și dacă nu are loc nicio amplificare a substanței de control pentru procesare probei, ceea ce indică un posibil eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat Unresolved (Nerezolvat), se recomandă repetarea testării, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectul unei posibile inhibări (pentru instrucțiuni suplimentare, consultați secțiunea privind limitările).

Consultați manualul de operare al NeuMoDx 288 Molecular System (Nr.P.: 40600108) sau manualul de operare al NeuMoDx 96 Molecular System (Nr.P.: 40600317) pentru o listă a codurilor de eroare care pot fi asociate cu rezultatele nevalide.

**Controlul calității**

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

**Substanțe de control externe**

1. Substanțele de control externe care conțin ținta EBV neinfecțioasă încapsulată în Basematrix pentru substanțe de control pozitive sau Basematrix pentru substanțe de control negative, sunt furnizate de QIAGEN într-un kit care conține substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control [REF 900502].
2. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate o dată la 24 de ore. Dacă nu există un set de substanțe de control externe valide, software-ul NeuMoDx System va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor:

NeuMoDx EBV External Control	Expected Concentration (Concentrație preconizată)	Schemă de culori a etichetei
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1.5E4 UI/ml (4,18 Log <sub>10</sub> UI/ml)	Roșu
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 UI/ml (2,18 Log <sub>10</sub> UI/ml)	Gri
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (Nu se aplică)	Negru



- La procesarea substanțelor de control externe, amplasați substanțele de control etichetate într-un suport de eprubete pentru eșantioane și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System din raftul încărcătorului automat. NeuMoDx System va recunoaște codurile de bare și va începe procesarea substanțelor de control, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
- Validitatea acestor substanțe de control externe va fi evaluată de NeuMoDx System în funcție de rezultatele preconizate.

NeuMoDx EBV External Control	Rezultat EBV Quant	Rezultat SPC1
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (POZITIV LA EBV) [Conc] 3,68 – 4,68 Log <sub>10</sub> UI/ml	Pozitiv la SPC1
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (POZITIV LA EBV) [Conc] 1,58 – 2,78 Log <sub>10</sub> UI/ml	Pozitiv la SPC1
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (NEGATIV LA EBV)	Pozitiv la SPC1

- Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
  - Un rezultat pozitiv al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă poate indica contaminarea, iar procedurile de control al calității ale laboratorului trebuie să fie examinate pentru a identifica o cauză principală. Asigurați-vă că utilizați zone separate pentru pregătirea probelor, manipularea substanțelor de control și configurarea RT-PCR. Consultați *Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System* pentru sfaturi suplimentare privind remedierea problemelor.
  - Un rezultat Negative (Negativ) raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de instrument.
  - În oricare dintre situațiile de mai sus sau în cazul unui rezultat No Result (Niciun rezultat) (NR), Unresolverd (Nerezolvat) (UNR) sau Indeterminate (Neconcludent) (IND), repetați procesul pentru substanțele de control eșuate cu flacoane proaspăt decongelate pentru substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
  - Dacă substanța de control externă pozitivă continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ), contactați departamentul Asistență tehnică QIAGEN.
  - Dacă substanța de control externă negativă continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv), încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea tuturor reactivilor, înainte de a contacta departamentul Asistență tehnică QIAGEN.
- Dacă substanțele de control externe nu oferă rezultatele așteptate, este necesar să se repete un set de substanțe de control pozitive și negative. Rezultatele probelor nu vor fi raportate dacă substanțele de control nu furnizează rezultatele așteptate.
- NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun (Repetarea execuției)/Repeat (Repetare) pe care utilizatorul poate alege să o utilizeze pentru a se asigura că un rezultat INVALID (NEVALID) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

#### Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea RT-PCR în timp real cu fiecare probă/substanță de control/calibrator. Soluțiile de amorsare și sonda specifică pentru SPC1 sunt incluse în fiecare bandetă NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. Această SPC1 îi permite NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificarea RT-PCR.

#### CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

##### SENSIBILITATE ANALITICĂ – limită de detecție

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost caracterizată în două etape secvențiale: 1. Evaluarea limitei preliminare de detecție (Limit of Detection, LoD) (analiză Probit) urmată de 2. Confirmarea limitei de detecție. În partea 1, eșantioanele negative și o serie de diluții au fost testate în plasma umană testată prin screening negativ la EBV în conformitate cu Primul standard internațional al OMS, pentru a determina limita de detecție preliminară pe sistemele NeuMoDx System. Limita de detecție preliminară a fost definită drept cel mai scăzut nivel țintă detectat la o rată de 95%, determinată prin analiza Probit. În partea 2, limita de detecție preliminară a fost confirmată prin testarea unui panel recoltat la nivelul limitei de detecție. Ambele etape ale studiului au fost efectuate timp de peste 3 zile pe mai multe sisteme cu loturi multiple de reactivi NeuMoDx. În partea 1, au fost procesate în total 144 de replicare la fiecare nivel de diluție. Ratele de detecție sunt prezentate în  *Tabelul 2*.

**Tabelul 2:** Determinarea limitei de detecție preliminară a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintă [log <sub>10</sub> UI/ml]	PLASMĂ		
		Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
35	1,54	144	139	96,5%
30	1,48	144	140	97,2%
25	1,40	143	133	93,0%
10	1,00	144	97	67,4%
5	0,70	143	75	52,4%
NEG	---	144	0	0,0%

S-a determinat că limita de detecție a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 în plasmă utilizând Primul standard internațional al OMS pentru EBV este de 29,3 UI/ml (1,47 log<sub>10</sub> UI/ml), cu un interval de încredere (ÎI) 95% de 24,4 – 37,1 UI/ml (1,39 – 1,57 log<sub>10</sub> UI/ml) [Figura 1]. Această limită de detecție a fost confirmată ulterior prin analiza ratei de succes descrisă în Tabelul 3.

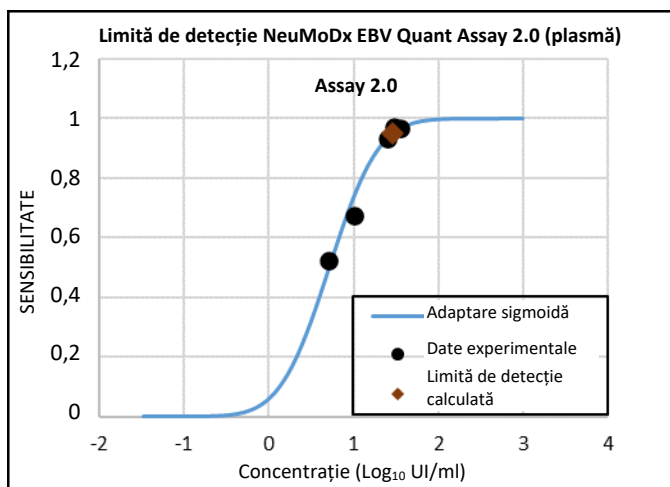


Figura 1: Analiză de tip Probit utilizată pentru determinarea limitei de detecție a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 în probele plasmatice

Tabelul 3: Confirmarea limitei de detecție a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Sistem	Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrație țintă [log <sub>10</sub> UI/ml]	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Toate			192	186	96,9%

Limita de detecție pentru genotipul 2 (GT2) al EBV a fost confirmată ca fiind 29,3 UI/ml [1,47 Log<sub>10</sub> UI/ml], determinată prin analiza ratei de succes.

Pe baza rezultatelor ambelor studii, LoD a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost determinată ca fiind de 29,3 UI/ml [1,47 Log<sub>10</sub> UI/ml].

#### SENSIBILITATE ANALITICĂ – Limită inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ este definită ca cel mai mic nivel al țintei la care se obține o detecție > 95% și eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) ≤ 1,0. Pentru a determina LLoQ, eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) a fost calculată pentru fiecare dintre nivelurile țintei EBV pentru care s-a demonstrat că raportează o detecție > 95% ca parte a calculului LoD. TAE este definită după cum urmează:

$$TAE = \text{abatere} + 2 \cdot SD \text{ (Statistică Westgard)}$$

Abaterea este valoarea absolută a diferenței dintre media concentrației calculate și a concentrației preconizate. SD se referă la abaterea standard a valorii cuantificate a probei.

Rezultatele compilate pentru cele 5 niveluri ale Primului standard internațional al OMS pentru eșantioanele de plasmă de EBV utilizate în studii LLoQ sunt prezentate în Tabelul 4. Pe baza acestui set de date și a limitei de detecție determinate anterior, s-a stabilit că LLoQ este de 30,0 UI/ml (1,48 Log<sub>10</sub> UI/ml) și a fost confirmată ulterior pentru genotipul 2 (GT2) al EBV.

Tabelul 4: LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, cu abaterea și TAE

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [log <sub>10</sub> UI/ml]	Plasmă				
		Conc. medie [log <sub>10</sub> UI/ml]	Rată de detecție	SD	Abatere	TAE
35	1,54	2,05	96,5%	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2%	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0%	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4%	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4%	0,27	1,13	1,68

Pe baza rezultatelor acestor studii, s-a determinat că LoD a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost de 29,3 UI/ml (1,47 log<sub>10</sub> UI/ml) și că LLoQ a fost de 30,0 UI/ml [1,48 log<sub>10</sub> UI/ml].



### Liniaritatea și determinarea limitei superioare de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Liniaritatea și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) ale NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 au fost stabilite în plasmă, prin pregătirea unei serii de diluție folosind Primul standard internațional al OMS pentru EBV, pe lângă cele două standarde secundare: ținta EBV încapsulată NeuMoDx și cultura EBV ATCC (ATCC, Manassas, VA). Trasabilitatea în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru EBV a fost stabilită pentru toate standardele secundare înainte de testare. Un panel cu 10 elemente a fost pregătit în plasma comasată negativă la EBV pentru a crea un panel care să se întindă pe un interval de concentrații de 1,48 – 8,0 Log<sub>10</sub> UI/ml. S-a determinat că ULoQ a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 este 8,0 Log<sub>10</sub> UI/ml. A fost pregătit un panel de confirmare pentru a evalua liniaritatea curbei standard, iar concentrațiile analizei EBV raportate de sistemul NeuMoDx System în comparație cu valorile preconizate sunt prezentate în Figura 2.

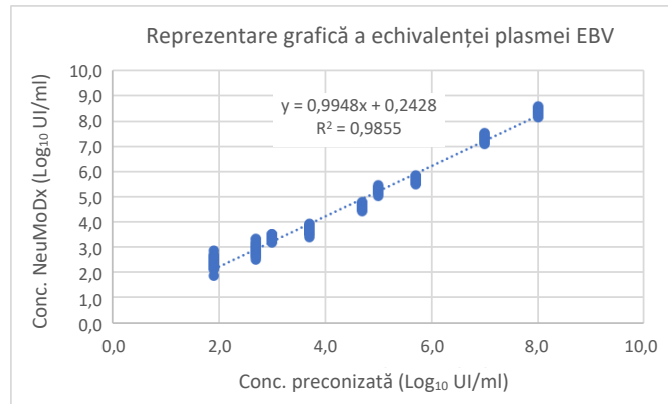


Figura 2: Liniaritatea NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

### Liniaritatea genotipului 2 al EBV (GT2)

Liniaritatea analizei NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 la genotipul 2 al EBV (GT2) a fost caracterizată prin testarea a 11 concentrații diferite de EBV GT2, cu trasabilitate stabilită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru EBV, pregătite în plasmă comasată negativă la EBV. Studiul a fost efectuat prin testarea a 36 de replicare la 11 concentrații în 2 sisteme NeuMoDx și 3 loturi de bandete de testare EBV Quant Test Strip 2.0. Liniaritatea la nivelul genotipului 2 (GT2) al EBV este prezentată în Tabelul 5 și Figura 3.

Tabelul 5: Liniaritatea NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pentru genotipul 2 al EBV

Genotip	Ecuția liniarității y = cuantificare NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 x = cuantificare preconizată	R <sup>2</sup>
GT2	y = 0,9965x – 0,0982	0,9761

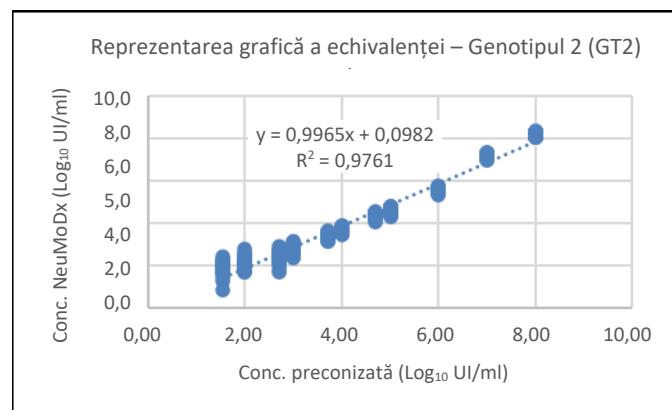


Figura 3: Liniaritatea NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pentru genotipul 2 al EBV

### Specificitate analitică – Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 36 de organisme care pot fi întâlnite în eșantioane de sânge/plasmă, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu EBV pentru reactivitate încrucișată. Organismele cu concentrație ridicată au fost preparate în surse de 5-6 organisme. Organismele testate sunt prezentate în Tabelul 6. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100% pentru NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabelul 6:** Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică

Organisme non-țintă					
Poliomavirus BK	Adenovirus tip 5	Virusul Herpes Simplex tip-1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovirus	Virusul hepatitei C	Virusul Herpes Simplex tip-2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virusul herpetic uman tip-6	Parvovirus B19	Virusul varicelo-zosterian	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virusul herpetic uman tip-7	Virusul JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Virusul herpetic uman tip-8	Virus papiloma uman 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virusul hepatitei B	Virus papiloma uman 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

**Specificitate analitică – Substanțe de interferență, organisme comensale**

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme pregătite pentru testarea reactivității încrucișate, enumerate în *Tabelul 6*. Plasma negativă la EBV a fost îmbogățită cu organisme comensale în grupuri de 4-7; aceste surse au fost îmbogățite ulterior cu țintă EBV, la o concentrație de 90 UI/ml [1,95 Log<sub>10</sub> UI/ml]. Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență.

**Specificitate analitică – Substanțe de interferență, substanțe endogene și exogene**

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost evaluat în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la eșantioanele clinice de plasmă EBV. Acestea au inclus niveluri anormale de ridicate ale componentilor sanguini, precum și medicamentele antivirale și imunosupresoare comune, clasificate în *Tabelul 7*. Fiecare substanță a fost adăugată în plasma umană testată prin screening negativă la EBV îmbogățită cu EBV la 90 UI/ml [1,95 Log<sub>10</sub> UI/ml] și probele au fost analizate pentru interferență prin compararea concentrației raportate cu substanța de control pozitivă. În plus, a fost testată plasma comună stadiului bolii, asociată cu infecția cu EBV, pentru o posibilă interferență. Concentrația medie și abaterea tuturor substanțelor testate în comparație cu probele de control îmbogățite cu același nivel de EBV sunt raportate în *Tabelul 8*. Niciuna dintre substanțele exogene și endogene nu a afectat specificitatea NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabelul 7:** Testarea interferenței – Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

Sursă	Denumire medicament	Clasificare	Sursă	Denumire medicament	Clasificare
Sursa 1	Azatioprină	Imunosupresor	Sursa 4	Trimetoprim	Antibiotic
	Ciclosporină	Imunosupresor		Vancomicină	Antibiotic
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Tacrolimus	Imunosupresor
	Ganciclovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Imunosupresor
	Valganciclovir clorhidrat	Antiviral (EBV)		Clavulanat de potasiu	Antibiotic
Sursa 2	Prednison	Corticosteroid/ imunopresor	Sursa 5	Famotidină	Antagonist al receptorilor histaminici
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiotic
	Cefotetan	Antibiotic (spectru larg)		Valaciclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaximă	Antibiotic (spectru larg)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Fluconazol	Antifungic		Ticarcilină disodică	Antibiotic
Sursa 3	Micofenolat mofetil	Imunosupresor		Leflunomidă	Imunosupresor
	Micofenolat sodic	Imunosupresor			
	Piperacilină	Antibiotic			
	Sirolimus/Rapamicină	Imunosupresor			
	Tazobactam	Antibiotic modificat			

**Tabelul 8:** Testarea interferenței – Agenți endogeni și exogeni

Agenți endogeni + stadiul bolii	Conc. medie	Abatere
	Log <sub>10</sub> UI/ml	Log <sub>10</sub> UI/ml
Hemoglobină	2,19	0,32
Trigliceride	1,90	0,02
Bilirubină	2,12	0,24
Albumină	1,95	0,07
Lupus eritematos sistemic (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	2,08	0,20
Anticorp anti-nuclear (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Artrită reumatoidă (Rheumatoid Arthritis, RA)	1,89	0,01
Substanță de control pozitivă	1,88	Nu se aplică
Exogen (medicamente)	Conc. medie	Abatere
	Log <sub>10</sub> UI/ml	Log <sub>10</sub> UI/ml
Sursa 1: Azatioprină, Ciclosporină, Foscarnet, Ganciclovir, Valganciclovir clorhidrat	2,19	0,09
Sursa 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaximă, Fluconazol	2,11	0,01
Sursa 3: Micofenolat mofetil, Micofenolat sodic, Piperacilină, Sirolimus/Rapamicină, Tazobactam	2,16	0,06
Sursa 4: Trimetoprim, Vancomicină, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanat de potasiu	2,24	0,14
Sursa 5: Famotidină, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcillin disodic, Leflunomidă	2,26	0,16
Substanță de control pozitivă	2,10	Nu se aplică

### Precizia în laborator

Precizia NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost determinată prin testarea a 3 replicare ale unui panel de 6 membri din eșantioane de EBV preparate cu NeuMoDx EBV Positive Control și cultură EBV (ATCC, Manassas, VA) de două ori pe zi, folosind două sisteme NeuMoDx 288 System și două sisteme NeuMoDx 96 Sistem în decurs de 12 zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării, precizia din timpul zilei și precizia în sistem, iar abaterea standard globală s-a determinat a fi  $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ . Precizia excelentă a fost demonstrată pe toate sistemele, în toate zilele și în toate execuțiile, după cum se arată în *Tabelul 9*. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx System.

**Tabelul 9:** Precizie în laborator – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pe sisteme NeuMoDx System

Conc. țintă EBV [Log <sub>10</sub> UI/ml]	Conc. medie EBV [Log <sub>10</sub> UI/ml]	SD în sistem	SD în timpul zilei	SD în execuție	SD globală (în laborator)
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

### Reproductibilitatea de la un lot la altul

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost determinată prin evaluarea a 3 loturi de bandelete NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ca parte a studiului de precizie în laborator. Pentru evaluarea performanței a fost utilizat un panel de 6 membri cu plasmă pozitivă la EBV (*Tabelul 10*). Rezultatele generate între loturi au fost analizate și au fost prezentate în *Tabelul 10*. Abaterea globală maximă a fost de  $0,29 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$  și SD globală maximă a fost de  $0,18 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$  pentru bandeletele de testare NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Performanța echivalentă a fost demonstrată între loturi, deoarece cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță.

**Tabelul 10:** Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Conc. preconizată (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Lot 1			Lot 2			Lot 3		
	Conc. medie (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Log conc. SD	Abatere Abs	Conc. medie (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Log conc. SD	Abatere Abs	Conc. medie (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Log conc. SD	Abatere Abs
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

### Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei

Substanța de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este inclusă în NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 pentru a raporta erorile din timpul etapelor de procesare sau inhibarea care afectează performanța analizei. Utilizând NeuMoDx CMV Quant Assay ca model, eficacitatea SPC1 a fost testată pentru eșantioanele de plasmă, în condiții reprezentative pentru erorile critice din timpul etapei de procesare, care ar putea apărea în timpul procesării probelor, și care este posibil să nu fie detectate de senzorii de monitorizare a performanței NeuMoDx System. Eșantioanele pozitive la citomegalovirus (la 3 Log<sub>10</sub> UI/ml) și negative au fost provocate în următoarele condiții: prezența inhibitorului, nicio soluție de spălare furnizată și lipsă suflare spălare. Ineficiențele în procesare, care au afectat negativ detecția/cuantificarea țintei virale, au fost reflectate de performanța țintei SPC1, după cum se arată în Tabelul 11. În toate cazurile testate, s-a demonstrat că substanța de control pentru procesarea probei a monitorizat în mod adecvat ineficiențele în procesare și prezența inhibitorilor, sau că ineficiența anticipată în procesare nu a avut un efect negativ semnificativ asupra detecției SPC1 sau a detecției și cuantificării țintei virale. Prin urmare, SPC1 a demonstrat succesul în monitorizarea eficientă a performanței analizei pe NeuMoDx System.

**Tabelul 11:** Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei pentru ADN viral în plasmă\*

Eroare în timpul etapelor de procesare testată	Starea de amplificare a substanței de control pentru procesarea probei 1	Starea de amplificare a țintei CMV	Rezultatul analizei
Presence of Inhibitor (Prezența inhibitorului)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Delivered (Niciun reactiv de spălare furnizat)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Blowout (Lipsă suflare spălare)	Amplified (Amplificat)	Amplified (Amplificat)	Positive (Pozitiv) cu cuantificarea în 0,3 Log <sub>10</sub> UI/ml din substanța de control

\*Citomegalovirusul (CMV) în eșantioanele de plasmă a fost utilizat ca sistem model pentru evaluarea eficacității substanței de control pentru procesarea probei.

### Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru eșantioanele de plasmă a fost determinată prin procesarea unor probe puternic pozitive și negative alternante ale EBV. Au fost efectuate cinci seturi de astfel de testări cu tipar de tablă de șah, cu un total de 60 de replicare de plasmă negativă la EBV și 60 de replicare ale unui eșantion plasmatic EBV îmbogățit, la 6,0 Log<sub>10</sub> UI/ml, pe ambele sisteme NeuMoDx 288 și 96 Molecular System. Pe ambele tipuri de sisteme, toate cele 120 de replicare ale eșantionului negativ au fost raportate ca negative, ceea ce demonstrează că nu s-a produs nicio contaminare încrucișată în timpul procesării probelor plasmatice pe NeuMoDx System.

### Echivalența matricelor eșantioanelor

Testarea a fost efectuată pentru a demonstra echivalența dintre eșantioanele de plasmă proaspete și cele congelate, utilizând un virus din sânge similar, CMV, drept model. Eșantioanele proaspete au fost păstrate la 4 °C până când au fost îmbogățite cu trei niveluri de CMV și testate pentru echivalență. Probele au fost congelate timp de cel puțin 24 ore la -20 °C. După această perioadă de depozitare în stare congelată, eșantioanele au fost decongelate și retestate. Rezultatele obținute din eșantioanele de plasmă proaspete și cele congelate au fost comparate pentru echivalență prin analiză de regresie. Datele au demonstrat o echivalență excelentă între eșantioanele de plasmă proaspete și congelate, cu o pantă la 1,0 și abatere (intersecție) foarte mică, așa cum este prezentat în Tabelul 12 de mai jos.

**Tabelul 12:** Echivalența matricelor eșantioanelor

Cerință privind parametrii	EDTA proaspăt comparat cu congelat
Pantă [0,9-1,1]	1,000
Intersecție < 0,5 Log <sub>10</sub> UI/ml	0,020
valoarea $p > 0,05$	0,631

### Caracterizarea performanței cantitative

Performanța cantitativă a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a fost caracterizată prin procesarea a două paneluri comerciale de verificare EBV de la AcroMetrix și Exact Diagnostics (care pot fi urmărite în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru EBV) pe sistemele NeuMoDx Molecular System.

A fost obținută o corelare excelentă între NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 și cele două paneluri comerciale de verificare EBV (Figura 4) atunci când au fost analizate fie cu metoda de regresie Deming (Figura 4A), fie cu metoda Passing-Bablok (Figura 4B).

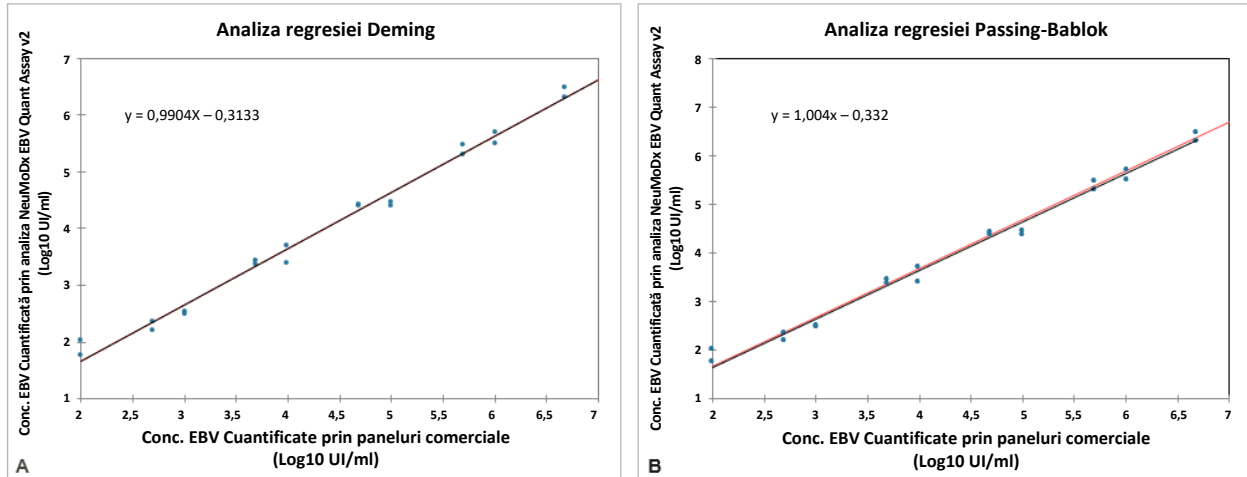


Figura 4. Reprezentarea grafică a echivalenței dintre panelurile de verificare AcroMetrix și Exact Diagnostics și NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Analiza regresiei liniare folosind metoda Deming. B. Analiza regresiei liniare folosind metoda Passing-Bablok.

Calitatea adaptării prin regresie Deming este ilustrată de un coeficient global al pantei egal cu 0,990 și o intersecție (abatere) de -0,313, demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 și panelurile de verificare EBV sunt corelate cu o abatere acceptabilă. Adaptarea liniară Passing-Bablok susține, de asemenea, importanța corelării dintre rezultatele obținute de la NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 și panelurile de verificare EBV cu un coeficient global al pantei de 1,004 și o intersecție (abatere) de -0,332. Valoarea  $p$  a analizei Passing-Bablok a fost calculată ca fiind 0,988.

Tabelul 13: Sumarul analizei de regresie liniară Deming și Passing-Bablok

Analiză Deming		Analiză Passing-Bablok	
Intersecție	Coeficientul pantei	Intersecție	Coeficientul pantei
-0,313	0,990	-0,332	1,004
Îf 95% (-0,620, -0,007)	Îf 95% (0,928, 1,053)	Îf 95% (-0,548, -0,116)	Îf 95% (0,950, 1,047)

## REFERINȚE

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. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

## MĂRCI COMERCIALE

NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.


















NeuDry™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

Seracare® este marcă comercială a Seracare Life Sciences, Inc.

TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

## LEGENDĂ

 <b>R only</b>	Doar pe bază de rețetă		Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Producător		Consultați instrucțiunile de utilizare
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>		Atenție
	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană		Pericol pentru sănătate
	Număr de catalog		Marcaj CE
	Cod lot		Conține
	Termen de valabilitate		Conține material biologic de origine animală
	Limită de temperatură		Acid boric
	A nu se reutiliza		



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



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

Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Brevet: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)

