

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

**R only**

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

**IVD** Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System


Värskenduste sisestamiseks minge aadressile: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)  
 Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut ; P/N 40600108  
 Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut ; P/N 40600317

## SIHTOTSTARVE

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 on automatiseeritud *in vitro* nukleiinhapete amplifitseerimise analüüs inimese Epstein-Barri viiruse (EBV) DNA kvantifikatsiooniks siirikuga immuunpuudulikkusega patsientide EDTA-plasmaproovides.

Kasutatuna seadmel NeuMoDx 288 Molecular System või NeuMoDx 96 Molecular System, võimaldab analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 automatiseeritud DNA ekstraheerimist proovist sihtnukleiinhapete isoleerimiseks ja reaallaja PCR-iga EBV viiruse genoomis oleva kahe väga konserveerunud sihtmärkiirakonna amplifitseerimist.

Analüüs on ette nähtud kasutamiseks abivahendina, et jälgida EBV DNA tasemeid perifeerses veres ja hinnata viiruse allumist ravile. Analüüs on mõeldud kasutamiseks koos kliiniliste näitajate ja muude haiguse kulgu näitavate laboratoorsete markeritega EBV-nakkuse kliiniliseks raviks ja jälgimiseks.

Analüüs ei ole ette nähtud kasutamiseks sõelumisanalüüsina, et teha kindlaks EBV DNA olemasolu veres ja veretoodetes. Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 on ette nähtud kasutamiseks väljaõppega kliinilise labori töötajatele, kes on saanud spetsiifilised juhised ja väljaõppe reaallaja PCR-i tehnikate ja *in vitro* diagnostiliste protseduuride alal ja/või seadmetega NeuMoDx Molecular Systems. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ei ole ette nähtud kasutamiseks enesetestimiseks ega laboriväliselt.

## KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Plasma ettevalmistamiseks võib kasutada inimese täisverd, mis on kogutud steriilsetesse verekatsutitesse, milles on antikoaguleeriva agetina EDTA. Testimise alustamiseks asetatakse seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis plasma proovikatsutikandjasse ja laaditakse seadme NeuMoDx System töölauale. Kõikide proovide korral segatakse omavahel 550 µl plasmaproovi alikvoot puhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 1 ning seade NeuMoDx System teeb automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhapete ekstraheerimiseks, valmistab isoleeritud DNA reaallajas PCR-i amplifitseerimiseks ette ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid (kaks väga konserveerunud sihtmärkiirakonda Kasutaja EBV genoomis). Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 Assay sisaldab DNA proovi töötlemiskontrolli (Sample Process Control, SPC1), et aidata jälgida potentsiaalselt inhibeerivate ainete ja ka seadme NeuMoDx System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ekstraheerimise ja amplifitseerimise protsessi käigus esineda.

EBV on tavaline kaheahelaline DNA-viirus inimese herpesviiruse perekonnast, mis nakatab igas vanuses inimesi. Hinnanguliselt >90% kogu maailma inimestest on või on olnud nakatunud EBV-ga.<sup>1</sup> EBV levib kehavedelikega, nagu sülg, veri, seemnevedelik, ja elundi siirdamisel. Paljud inimesed nakatuvad EBV-ga lapsepõlves. Need inividid on EBV-sse nakatumisest hoolimata asümptomaatilised. Immuunpuudulikkusega inimestel võivad tekkida EBV-nakkusega raskemad sümptomid ja komplikatsioonid. Latentne EBV-nakkus kujutab siirdamisjärgsetele patsientidele kõige suuremat ohtu. Transplantatsioonijärgsete lümfoproliferatiivsete haiguste (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD) hulka kuulub EBV-juhitud kasvaja tekkimine B-rakkudes, sest immunosupressandid mõjutavad seda, kuidas immuunsüsteem tõrjub EBV-d, üht olulisemat haigestumuse ja suuremuse põhjust patsientidel, kellele tehakse mis tahes elundisiirdamine.<sup>2</sup>

EBV viiruskoormuse jälgimist saab kasutada EBV-ga seotud PTLD diagnoosimisel ja ravimisel. Diagnoosida tuleb aga biopsia põhjal. EBV viiruskoormust võib jälgida ka selleks, et vaadelda immuunvastust EBV-ga seotud PTLD ravile, mida tavaliselt tehakse Rituximabi abil ja immuunsupresseeriva ravi vähendamiseks.<sup>3</sup>

## PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kasutab seadmes NeuMoDx System analüüsi teostamiseks testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, kalibraatoreid NeuMoDx EBV Calibrator, väliseid kontrolle NeuMoDx EBV External Control, lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 1 ja NeuMoDx-i üldotstarbelisi reaktiive. Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise, amplifitseerimise ja tuvastamise reaallaja PCR-i abil. Täisvere proovid kogutakse plasma ettevalmistamiseks EDTA-katsutitesse. Seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis olev plasma pannakse proovikatsutikandjasse ja laaditakse töötlemiseks seadme NeuMoDx System töölauale. Kasutaja täiendav sekkumine pole vajalik.

Seade NeuMoDx Systems kasutab automaatse rakkude lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni magnetilise afiinsusega helmeste abil. Helmed koos seotud nukleiinhapetega laaditakse kasseti NeuMoDx Cartridge, kus seondumata, DNA-d mittesaldavad komponendid pestakse täiendavalt pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent ja seotud DNA elueeritakse vabastusreaktiiviga NeuMoDx Release Reagent abil. Seejärel kasutab seade NeuMoDx System elueeritud DNA-d, et rehidreerida patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivid, mis sisaldavad kõiki EBV sihtmärkide ja SPC1 polümeraasi ahelreaktsiooni PCR-i amplifikatsioonikõvera jaoks vajalikke elemente. Pärast NeuDry PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System PCR-iks valmis segu kasseti NeuMoDx Cartridge. DNA kontroll- ja sekveneerimisjärjestuse (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub kasseti NeuMoDx Cartridge PCR-i kambris. Kasseti NeuMoDx Cartridge on lisaks kavandatud amplikoni hoidmiseks pärast reaallaja PCR-i ja seeläbi sisuliselt välistab amplifikatsioonijärgse saastumisohtu.

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sihtmärgid on EBV genoomi kaks väga konserveerunud piirkonda BALF5 ja BXFL1. Kahe sihtmärgiga ülesehitus vähendab ühe sihtpiirkonna mutatsiooni korral valenegatiivsete tulemuste tekkimise riski, suurendades seeläbi analüüsi usaldusväärsust. Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaallajas hüdrolüüsisonide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluorogeense oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised amplikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks.

Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, mille tulemuseks on kustuti-molekul, mis kustutab fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab Försteri resonantsenergia ülekande (FRET) kaudu.

TaqMan sondid on sellise kujundusega, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeraas pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeraasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja kaotab vahetu läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori fluorestsentsi tuvastada. Tuvastatud tekkinud fluorestsentsisignaali on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida olemasoleva sihtmärk-DNA hulga.

TaqMani sondi, mis on märgistatud fluorofooriga (stimuleerimine: lainepikkusel 490 nm ja kiirgus: lainepikkusel 521) 5'-otsas ja tumedat kustutit 3'-otsas kasutatakse mõlema EBV DNA sihtmärgi tuvastamiseks. SPC1 tuvastamiseks märgistatakse TaqMani sond alternatiivse fluorestsentsvärviga (stimuleerimine: lainepikkusel 535 nm ja kiirgus: lainepikkusel 556) 5'-otsas ja kasutatakse tumedat kustutit 3'-otsas. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentsignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / NO RESULT (TULEMUS PUUDUB) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA)). Kui tulemus on POSITIVE (POSITIIVNE), siis seadme NeuMoDx System tarkvara esitab ühtlasi prooviga seotud kvantitatiivse väärtuse või teatab, kui arvatud kontsentratsioon jääb väljapoole lineaarset vahemikku.



## REAKTIIVID/KULUKAUBAD

### Kaasasolevad materjalid

REF	Sisu	Ühikuid pakis	Teste ühikus	Teste pakis
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> Kuivatatud RT-PCR-reaktiivid, mis sisaldavad EBV ja SPC1 spetsiifilist TaqMani sondi ja praimereid.	6	16	96

### Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid (saadaval eraldi ettevõttelt QIAGEN)

REF	Sisu
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> EBV kõrgete ja madalate kalibraatorite ühekordsed komplektid, et määrata standardkõvera kehtivus (1 vial igat kontrolli = 1 komplekt)
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> Ühekordselt kasutatavad EBV madalate positiivsete, positiivsete ja negatiivsete kontrollproovide komplektid analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 igapäevase kehtivuse määramiseks (1 vial igat kontrolli = 1 komplekt)
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid
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>Filtriga otsikud Hamilton® CO-RE / CO-RE II (300 µl)</b>
235905	<b>Filtriga otsikud Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl)</b>

### Vajalikud mõõteseadmed

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] või NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]  
NeuMoDx System Software versioon 1.9.2.6 või uuem



## HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetega NeuMoDx Systems.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikkuskuupaeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Enne kui testi tulemusi saab kliinilistele proovidele kohaldada, peab olemas olema kehtiv testi kalibreerimine (selleks töödeldakse kõrgeid ja madalaid kalibraatoreid NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800501]).
- Väliseid kontrollid NeuMoDx EBV External Control [REF 900502] tuleb kogu analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 testimise vältel iga 24 tunni järel töödelda.
- EDTA-plasma sekundaarsete alikvootide minimaalsed proovimahud on esitatud all jaotises „Testi ettevalmistamine“. Kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Valel temperatuuril või üle kindlaksmääratud säilitusajaga proovide kasutamine võib põhjustada kehtetuid või ekslikke tulemusi.

- Vältige kõigi reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleasiga (DNAas). Sekundaarsete katsutite kasutamisel on soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kassetti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridges biohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega biohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx 96 Molecular System). Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris analüüsitakse ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaubad ning reaktiivid, isikukaitsevahendid, nt kindad ja laborikitlid ning seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kasseti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ja ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer anuma ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Iga reaktiivi kohta on (vastavalt vajadusele) esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) aadressil [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipettige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldelge proove alati nakkusohulike ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> ja CLSI dokumendis M29-A4.<sup>5</sup>
- Kemikaalidega töötamise korral kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge vastavate ohutuskaartidega (Safety Data Sheet SDS).
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi-, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele. Järgige ohutuskaardil (Safety Data Sheet, SDS) esitatud soovitusi.

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Sisaldab boorhapet. Oht. Põhjustab tõsist silmaärritust. Võib kahjustada fertiilsust või loodet. Hankige enne kasutamist erijuhised. Mitte käidelda enne kõigi ettevaatusabinõudega tutvumist ja neist arusaamist. Kanda kaitsekindaid/-rõivaid, kaitseprille/kaitsemaski. KOKKUPUUTUMISEL või kahtluste tekkimisel: pöörduge arsti poole / otsige arstiabi. Hoidke lukustatult. Utiliseerige sisu/mahuti heakskiidetud jäätmekäitlusettevõttes.

### Hädaolukorra teave

CHEMTREC

Väljaspool USA ja Kanadat +1 703 527 3887



### TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMINE JA STABIILSUS

1. Testribad NeuMoDx EBV Quant Test 2.0 Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 15 °C kuni 28 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
2. Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 jääda süsteemi NeuMoDx System 14 päevaks. Laaditud testribade allesjäänud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaajas. Süsteem soovib testriba eemaldamist, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud perioodi.
3. Kuigi kalibraator NeuMoDx EBV Calibrator ja väline kontroll NeuMoDx EBV External Control ei ole nakkuslik, tuleb kogu kasutamata jäänud materjal kõrvaldada laboratoorse biohtliku jäätmena, et vähendada saastumise riski.

### PROOVI KOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

*Käsitleda kõiki proove kui võimaliku nakkusohu allikana.*

1. Ärge külmutage täisverd ega primaarsetes katsutites hoitud proove.
2. Plasmaproovide ettevalmistamiseks tuleks täisverd koguda steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulandina EDTA-d. Järgige proovi kogumiskatsuti tootja juhiseid.
3. Eespool nimetatud seadmetesse kogutud täisverd võib enne plasma ettevalmistamist säilitada ja/või transportida kuni 24 tundi temperatuuril 2–25 °C. Plasma tuleb ettevalmistada vastavalt tootja juhistele.
4. Ettevalmistatud plasmaproove võib enne töötlemist hoida seadmes NeuMoDx System kuni 8 tundi. Kui on vaja kauem hoida, on soovitatav proovid enne jahutada või külmutada.
5. Ettevalmistatud plasmaproove tuleb hoida temperatuuril 2 kuni 8 °C mitte kauem kui 7 päeva enne testimist ja toatemperatuuril kuni 8 tundi.
6. Ettevalmistatud proove võib temperatuuril –20 °C säilitada plasma korral kuni 8 nädalat; plasmaproove ei tohi olla enne kasutamist enam kui 2 korda külmutada/sulatada.
  1. Kui proovid on külmunud, laske proovidel toatemperatuuril (15 °C kuni 30 °C) täielikult üles sulada; keeristage, et saada ühtlaselt segunenud proov. Proovid peavad olema enne analüüsimist toatemperatuuril.
  2. Kui külmunud proovid on üles sulanud, tuleb testida 8 tunni jooksul.
7. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.

## KASUTUSJUHE

### Testi ettevalmistamine

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vötkoodisilt, nagu on kirjeldatud allpool.
2. Viige proovi alikvoot vötkoodiga näidisekatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx System vastavalt allpool määratletud mahtudele:
3. *Plasmaproovid*
  - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Proovikatsuti kandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne täitemaht  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Väikese mahuga proovikatsuti kandja (32 katsutile): 1,5 ml koonilise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti; minimaalne täitemaht on  $\geq 650 \mu\text{l}$

### Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317)

1. Täitke üks või enam süsteemi NeuMoDx System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ja kasutage puutekraani, et laadida testribakandja(d) süsteemi NeuMoDx System.
2. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
3. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, vahetage välja pesemisreaktiiv NeuMoDx Wash Reagent, vabastusreaktiiv NeuMoDx Release Reagent, tühjendage vastavalt vajadusele praimingujäätmed, biohtlike jäätmete mahuti (ainult NeuMoDx 288 Molecular System), otsikute jäätmemahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) või biohtlike jäätmete nõu (ainult NeuMoDx 96 Molecular System).
4. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, töödelge seadmeid Calibrators [REF 800501] ja/või External Controls [REF 900502] vastavalt vajadusele. Rohkem teavet kalibraatorite ja kontrollide kohta leiab jaotisest *Tulemuste töötlemine*.
5. Laadige proovikatsuti(d) proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt katsutitelt on korgid ja tampoonid eemaldatud.
6. Asetage proovikatsutite kandur(id) automaatlaadija riulile ja kasutage puutetundlikku ekraani kanduri(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatava(te) testi(de) jaoks laaditud proovide töötlemine, eeldusel, et seadmes on kehtiv testitellimus.

## PIIRANGUD

1. Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tohib kasutada ainult seadmetega NeuMoDx Systems.
2. Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 toimivust on kinnitatud plasmaproovide puhul, mis on ette valmistatud täisverest, mille kogumisel on kasutatud antikoagulandina EDTA-d. Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kasutamist muude proovitüüpidega ei ole hinnatud ja toimevõime näitajad on muud tüüpi proovide korral teadmata.
3. EBV tuvastamine sõltub üldiselt proovis esinevate viiruseosakeste arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
4. Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segijamise tulemusel võib saada valed tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate viiruseosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tuvastuspiir.
5. Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
6. Kui nii EBV sihtmärgi kui ka SPC1 sihtmärgi amplifikatsiooni ei toimu, esitatakse kehtetu tulemus – Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamata) ja testi tuleb korrata.
7. Kui enne proovi töötlemist tekib süsteemi viga, kajastatakse „No result“ (Tulemus puudub) ning testi tuleb korrata.
8. Kui EBV DNA tuvastatakse ülalpool ULoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 korrata algse proovi lahjendatud alikvoodiga. Soovituslik lahjendamise suhe on 1 : 100 või 1 : 1000 EBV negatiivse plasma või lahjendajaga Basematrix 53 Diluent (Basematrix, Seracare®, Milford, MA). Süsteem arvutab originaalproovi kontsentratsiooni automaatselt järgmisel viisil. Proovi algne kontsentratsioon =  $\log_{10}$  (lahjendusaste) + teatud lahjendatud proovi kontsentratsioon, kui lahjendusaste on enne kordamist tarkvaras õigesti valitud.
9. PCR inhibiitorite esinemine plasmas võib tekitada süsteemis kvantiteerimisvea; sellisel juhul on soovitatav, et testi korratakse sama prooviga, mida on lahjendatud lahjendiga Basematrix suhte juures 1 : 10 või 1 : 100.
10. Positiivne tulemus viitab EBV DNA esinemisele.
11. Väikesest tõenäosusest hoolimata võib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay sihtmärgiks olevate kaitstud piirkondade deletsioonid või mutatsioonid võivad tuvastamist ja/või kvantifitseerimist mõjutada ja põhjustada vale tulemuse.
12. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemusi 2.0 tuleb kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena; analüüs ei ole ette nähtud nakkuse diagnoosimiseks.
13. Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

## TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused). Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on esitatud analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay definitsioonifailis (EBV Quant ADF versioon 4.0.0 või uuem). Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tulemus võib olla esitatud kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne) koos esitatud EBV DNA kontsentratsiooniga Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamatu) vastavalt sihtmärgi ja proovi töötlemise kontrolli amplifikatsiooni seisule. Tulemused esitatakse ADF-i tulemuste töötlemise otsuse algoritmi põhjal, mis on kokku võetud allpool tabelis 1.

Tabel 1. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tulemuste tõlgendus

Tulemus	EBV sihtmärgid	Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiivne)	<b>AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND EPR > 1.3 AND (JA) EP > 1200] OR (VÕI) [28 < Ct < 38 AND EP > 1200]	N/A (Pole kohaldatav)
Positive (Positiivne), üle kvantifitseerimise ülempiiri [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log10 IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) > 8,0 Log10 IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	N/A (Pole kohaldatav)
Positive (Positiivne), alla kvantifitseerimise alampiiri [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log10 IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) < 1,48 Log10 IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	N/A (Pole kohaldatav)
Negative (Negatiivne)	<b>NOT AMPLIFIED (MITTEAMPLIFITSEERITUD)</b> Pole kohaldatav <b>OR (VÕI)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND EPR ≤ 1.3 AND EP > 1200] <b>OR (VÕI)</b> [28 ≤ Ct < 38 AND EP > 1200] <b>OR (VÕI)</b> Ct > 38	<b>AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD)</b> [29 < Ct < 35 ja EP ≥ 2000]
No Result (Tulemus puudub)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine katkestatud)	
Indeterminate (Määramatu)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine lõpetatud)	
Unresolved (Lahendamata)*	Not Amplified, No System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, Süsteemiviga pole tuvastatud)	

EP = End Point Fluorescence (lõpp-punkti fluorestsents) suhtes korrigeerimist; EPR = End Point Fluorescence Ratio (lõpp-punkti fluorestsentsi määr); Ct = Cycling Threshold;

Quant = arvatud olemasoleva EBV kvantiteet, väljendatud ühikuga log<sub>10</sub> IU/ml. Vaadake allpool jaotist „Testi arvutamine“.

\* Süsteemil on valikuline Rerun/Repeat (kordustest/kordus) võimekus, et kehtetu tulemuse korral automaatselt uuesti töödelda, vähendamaks viivitusi tulemuse kajastamisel.

### Testi arvutamine Proovid

- Proovide puhul, mis on analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantitatiivses lineaarvahemikus, arvutatakse proovide EBV DNA kontsentratsioon, kasutades salvestatud standardkõverat koos kalibreerimiskoeffitsiendiga.
  - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse töödeldud kalibraatorite NeuMoDx EBV Calibrators tulemuste põhjal, et tagada standardkõvera kehtivus testribade NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 iga partii spetsiifilises seadmes NeuMoDx System.
  - Kalibreerimiskoeffitsient hõlmatakse süsteemi poolt automaatselt EBV DNA kontsentratsiooni lõpliku määramisse.
- Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tulemused esitatakse ühikutes IU/ml ja Log<sub>10</sub> IU/ml.
- Saadav tundmatute proovide kvantitatiivse määramise tulemus on jälgitav MTO Epstein-Barri viiruse nukleinhapete amplifitseerimismeetodite 1. rahvusvahelise standardini.

### Testi arvutamine Kalibraatorid

Proovide EBV DNA kvantifitseerimiseks on vaja teha standardkõvera põhjal nõuetekohane kalibreering. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab testi kalibreerima, kasutades ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. varustatud kalibraatoreid.

1. Kalibraator NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800501] sisaldab mittenakkusotlikke kapseldatud EBV sihtmärke lahjendis Basematrix.
2. EBV kalibraatorite komplekti töötlemine on vajalik iga uue testribade NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 partii korral, uue EBV analüüsi definitsiooni fail laadimisel seadmesse NeuMoDx System, parajasti kasutusel olete kalibraatorite komplekti kehtivusaja lõppemisel (hetkel seatud 90 päevale) või kui seadme NeuMoDx System tarkvara muudetakse.
3. Seadme NeuMoDx System tarkvara teavitab kasutajat, kui kalibraatoreid tuleb töödelda. Testribade uut partiid ei saa testimiseks kasutada, kuni kalibraatorid on edukalt töödeldud.
4. Kalibraatorite kehtivus määratakse järgnevalt.
  1. Kaht kalibraatori komplekti – kõrge ja madal – tuleb kehtivuse määramiseks töödelda.
  2. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab vähemalt kaks kolmest kordusest andma tulemuse eelnevalt määratletud parameetrite piires. Madala kalibraatori nominaalne sihtmärk on 3 Log<sub>10</sub> IU/ml ja kõrge kalibraatori nominaalne sihtmärk on 5 Log<sub>10</sub> IU/ml.
  3. Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse, et võtta arvesse testribade partiide vahelised ootuspärased erinevused. Seda kalibreerimiskoeffitsienti kasutatakse, et määrata lõplik EBV DNA kontsentratsioon.
5. Kui ühe või mõlema kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, siis töödelge ebaõnnestunud kalibraatorit/kalibraatoreid uuesti, kasutades uut vialit. Juhul kui ühe kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, saab korrata ainult ebaõnnestunud kalibraatori kontrolli, kuna süsteem ei nõua kasutajalt mõlema kalibraatori uuesti kasutamist.
6. Kui kalibraator(ite) kehtivuse kontroll ebaõnnestub kaks korda järjest, võtke ühendust ettevõtte QIAGEN tehnilise toega.

### Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx System läbi viidud analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (Määramatu), No Results (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata), olenevalt tekkinud veatüübist, ja testi tuleb kehtiva tulemuse saamiseks korrata.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus Indeterminate (Määramatu). Tulemuse Indeterminate (Määramatu) korral on soovitatav teha kordustest.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge ja proovi töötlemine katkestatakse, siis esitatakse tulemus No Result (Tulemus puudub). Kui esitatakse tulemus No Result (Tulemus puudub), on soovitatav teostada kordusanalüüs.

Tulemus Unresolved (Lahendamata) esitatakse juhul, kui sihtmärke ei tuvastata ja prooviprotsessi kontrolli amplifitseerimist ei toimu, mis viitab võimalikule reaktiivi tõrkele või inhibiitorite olemasolule. Tulemuse Unresolved (Lahendamata) korral on esimese sammuna soovitatav teha kordustest. Kui kordustest ebaõnnestub, võib võimaliku inhibeeriva mõju leevendamiseks kasutada proovi lahjendust (vt täiendavaid juhiseid jaotisest „Piirangud“).

Vt süsteemi NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut (tootekood: 40600108) või süsteemi NeuMoDx 96 Molecular System käitaja käsiraamatut (tootekood: 40600317) kõigi kehtetute tulemuste seotud veakode.

### Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

### Välised kontrollid

1. QIAGEN tarnib väliseid kontrolle, mis sisaldavad terviklikku mittenakkuslikku kapseldatud EBV viirust Basematrixi lahjendis positiivseid kontrolle või Basematrixi lahuses negatiivseid kontrolle komplektina NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
2. Positiivsed ja negatiivsed välised kontrollid tuleb töödelda iga 24 tunni tagant. Kui kehtiv väliste kontrollide komplekt puudub, nõuab seadme NeuMoDx System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et proovitulemusi saaks esitada.

Välise kontroll NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Eeldatav kontsentratsioon)	Sildi värviskeem
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IU/ml (4,18 Log <sub>10</sub> IU/ml)	Punane
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IU/ml (2,18 Log <sub>10</sub> IU/ml)	Hall
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	Pole kohaldatav	Must

3. Väliste kontrollide proovikatsuti kandjasse ja laadige kandja automaatlaadija riulilt seadme NeuMoDx System puutetundliku ekraani abil. Seade NeuMoDx System tunneb ära vöötkoodid ja alustab kontrollide töötlemist, välja arvatud juhul, kui analüüsimiseks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.

4. Seade NeuMoDx System hindab nende väliste kontrollide kehtivust ootuspäraste tulemuste põhjal.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV Quanti tulemus	SPC1 tulemus
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV Positive (EBV positiivne) [Conc] 3,68 – 4,68 Log <sub>10</sub> IU/ml	SPC1 Positiivne
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV Positive (EBV positiivne) [Conc] 1,58 – 2,78 Log <sub>10</sub> IU/ml	SPC1 Positiivne
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV Negative (EBV negatiivne)	SPC1 Positiivne

5. Väliste kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.



1. Negatiivse kontrollproovi kohta esitatud tulemus Positive (Positiivne) võib tähistada saastumist ning algpõhjuste leidmiseks tuleb läbi vaadata labori kvaliteedikontrolli protseduurid. Kasutage proovi ettevalmistamiseks, kontrolli käitlemiseks ja RT-PCR-i seadistamiseks eraldi alasid. Tõrkeotsingu lisanäpunäiteid leiate seadme *NeuMoDx 288* või *96 Molecular System käsiraamatust*.
2. Positiivse kontrollproovi tulemus Negative (Negatiivne) võib osutada reaktiiviga või instrumendiga seotud probleemile.
3. Kummalgi ülaltoodud juhul või tulemus No Result (NR, tulemus puudub), Unresolved (UNR, lahendamata), Indeterminant (IND, määramatu) tulemuse korral korrake kontrolli ebaõnnestunud kehtivuskontrolliga kontrolli(de) värskest ülessulatatud viall(de)ga.
4. Kui positiivne väline kontroll annab uuesti tulemus Negative (Negatiivne), võtke ühendust QIAGENi tehnilise toega.
5. Kui negatiivne väline kontroll annab jätkuvalt tulemus Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastumise allikad, sh kõigi reaktiivide asendamine ja kordusanalüüs, enne kui QIAGENi klienditeenindusega ühendust võtate.
6. Kui välised kontrollid ei anna oodatud tulemust, on vaja korrata positiivsete ja negatiivsete kontrollide komplekti. Proovi tulemusi ei esitata, kui kontrollid ei anna oodatud tulemust.
7. NeuMoDx System on varustatud automaatse Rerun (Uuesti käitamine) / Repeat (Kordamine) võimekusega, mida kasutaja saab valida, et tagada tulemuse INVALID (KEHTETU) automaatne uuesti töötlemine, et minimeerida tulemuse esitamise viibimist.

## Prooviprotsessi (sisemised) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx Extraction Plate on kätkevad eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) ning see läbib iga prooviga/kontrolliga/kalibraatoriga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaalaia RT-PCR amplifikatsiooni kontrolli protsessi. SPC1-spetsiifilised praimerid ja sond on lisatud igale testribale NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. See SPC1 võimaldab seadmel NeuMoDx System jälgida DNA ekstraheerimise ja RT-PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

## TOIMIVUSNÄITAJAD

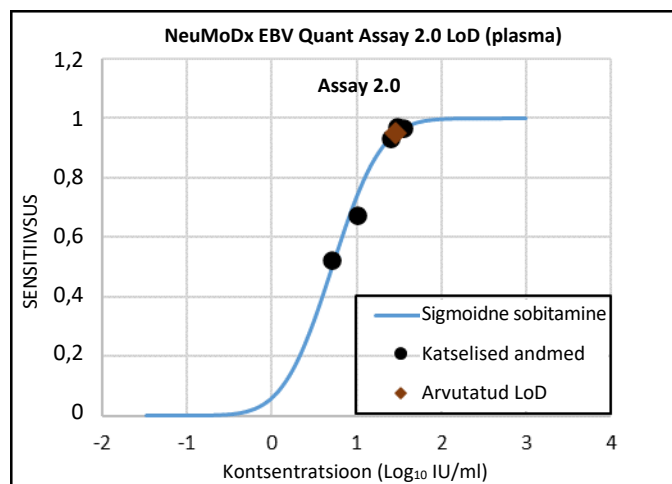
### ANALÜÜTILINE SENSITIIVSUS — tuvastuspiir

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 analüütiline sensitiivsus määrati kahe järjestikulise etapiga: 1. tuvastuspiiri (LoD) esialgne hinnang (Probit-analüüs) ja pärast seda 2. LoD-i kontrollimine. 1. etapi käigus analüüsiti negatiivseid proove ja EBV negatiivses inimese plasmas skriinitud MTO 1. rahvusvahelise standardi lahjendusseeriaid, et määrata esialgne LoD süsteemidel NeuMoDx Systems. Esialgne LoD defineeriti kui madalaim sihttase, mis määrati Probit-analüüsiga 95% juhtudel. 2. etapi käigus kontrolliti esialgset LoD-i, analüüsides LoD-i tasemel kunstlikku paneeli. Uuringu mõlemad etapid viidi läbi 3 päeva jooksul mitmes seadmes reaktiivide NeuMoDx mitme partiiga. 1. etapiga töödeldi igal lahjenduse tasemel kokku 144 kordust. Tuvastamismäärad on näidatud tabelis 2.

Tabel 2. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 esialgse LoD-i määramised

Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [ $\log_{10}$ IU/ml]	PLASMA		
		Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
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%

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD plasmas määrati EBV MTO 1. rahvusvahelise standardi abil tasemele 29,3 IU/ml (1,47  $\log_{10}$  IU/ml) ehk 95% usaldusvahemiku (CI) juures vahemikku 24,4–37,1 IU/ml (1,39–1,57  $\log_{10}$  IU/ml) [Joonis 1]. Seda LoD-i kontrolliti edasi kokkulangevuse analüüsiga, mis on esitatud tabelis 3.



Joonis1. Probit-analüüs, mida kasutati, et määrata analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD plasmaproovides

Tabel 3. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-i kontroll

Süsteem	Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [log <sub>10</sub> IU/ml]	Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Kõik			192	186	96,9%

EBV genotüübi 2 (GT2) LoD kinnitati kokkulangevuse analüüsiga väärtus 29,3 IU/ml [1,47 Log<sub>10</sub> IU/ml].

Mõlema uuringu tulemuste põhjal määrati analüüsil NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD väärtuseks 29,3 IU/ml [1,47 Log<sub>10</sub> IU/ml].

### ANALÜÜTILINE SENSITIIVSUS – kvantifitseerimise alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLOQ on defineeritud alumise sihttasemena, mille juures saavutatakse tuvastus > 95% juhtudel, JA analüütiline koguviga (Total Analytical Error, TAE) on ≤ 1,0. LLoQ määramiseks arvutati LoD arvutuse osana analüütiline koguviga (total analytical error, TAE) iga EBV sihttaseme kohta, mille korral oli tuvastus > 95%. TAE on defineeritud järgnevalt.

$$TAE = nihe + 2 * SD \text{ (Westgardi statistika)}$$

Nihe on keskmise arvatud kontsentratsiooni ja eeldatava kontsentratsiooni erinevuse absoluutväärtus. SD on proovi määratud kvantitatiivse väärtuse standardhälve.

LLOQ-i uuringus kasutatud EBV plasmaproovide MTO 1. rahvusvahelise standardi 5 tasandi koontulemused on näidatud tabelis 4. Selle andmestiku ja varasemalt määratud LoD-i põhjal määrati LLoQ-i väärtuseks 30,0 IU/ml (1,48 Log<sub>10</sub> IU/ml) ja seejärel kinnitati see EBV genotüübi 2 (GT2) puhul.

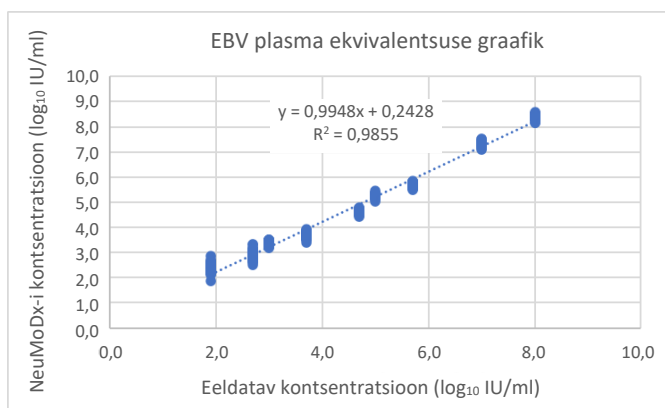
Tabel 4. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLoQ nihke ja TAE-ga

Sihtkont. [IU/ml]	Sihtkont. [log <sub>10</sub> IU/ml]	Plasma				
		Keskmine kont. [log <sub>10</sub> IU/ml]	Tuvastamismäär	SD	Nihe	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

Nende uuringute tulemuste põhjal määrati NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD väärtusele 29,3 IU/ml (1,47 log<sub>10</sub> IU/ml) ja LLoQ väärtusele 30,0 IU/ml [1,48 log<sub>10</sub> IU/ml].

### Kvantifitseerimise ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarsus ja määramine

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineaarsus ja kvantifitseerimise ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määrati plasmas, valmistades EBV 1. rahvusvahelise standardi järgi lahuseeriad, lisaks kahe teisese standardi järgi: NeuMoDx kapseldatud EBV sihtmärk ja ATCC EBV kultuur (ATCC, Manassas, VA). EBV MTO 1. rahvusvahelise standardi jälgitavus määrati kõigi teisestest standardite jaoks enne testimist. Mitme EBV-negatiivse plasma ühendatud proovi abil valmistati 10 paneel, et luua testimispaneel kontsentratsioonivahemikus 1,48–8,0 log<sub>10</sub> IU/ml. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 seerumiproovide ULoQ määrati väärtusele 8,0 log<sub>10</sub> IU/ml. Standardkõvera lineaarsuse hindamiseks koostatud kinnituspaneel ja seadme NeuMoDx System teatatud EBV analüüsikontsentratsioonid võrreldes oodatavate väärtustega on esitatud joonisel 2.



Joonis 2. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineaarsus

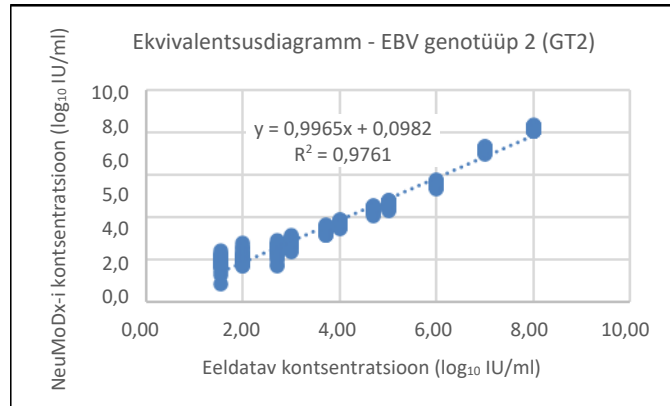


## EBV genotüübi 2 (GT2) lineaarsus

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineaarsus EBV genotüübi 2 (GT2) lõikes määratleti, analüüsides EBV GT2 (jälgitav EBV MTO 1. rahvusvahelise standardini) ühtteist erinevat kontsentratsiooni, mis valmistati ette EBV-negatiivses plasmas. Uuring viidi läbi, analüüsides 36 kordust 11 kontsentratsioonil 2, kasutades süsteemi NeuMoDx System ja EBV Quant Test Strips 2.0 3 partiid. Lineaarsus EBV genotüübi 2 (GT2) lõikes on esitatud tabelis 5 ja joonisel 3.

Tabel 5. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineaarsus EBV genotüübi 2 lõikes

Genotüüp	Lineaarsuse võrrand y = NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantifitseerimise väärtus x = Eeldatav kvantitatiivne väärtus	R <sup>2</sup>
GT2	y = 0,9965x – 0,0982	0,9761



Joonis 3. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineaarsus EBV genotüübi 2 lõikes

## Analüütiline spetsiifilisus – ristreaktiivsus

Analüütilist spetsiifilisust näidati, sõeludes 36 organismi, mida võib leida vere-/plasmaproovidest, ja liigi suhtes, mis on fülogeneetiliselt sarnased EBV ristreaktiivsusele. Valmistati ette 5–6 organismist koosnevad kõrge kontsentratsiooniga ühendatud proovid. Testitud organismid on näidatud tabelis 6. Ühegi testitud organismi korral ei esinenud ristreaktiivsust, mis kinnitab analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 100% analüütilist spetsiifilisust.

Tabel 6. Analüütilise spetsiifilise töendamiseks kasutatud patogeenid

Mittesihtorganismid					
BK polüomaviirus	5. tüüpi adenoviirus	Herpes Simplex viiruse 1. tüüp	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Tsütomegaloviirus	C-hepatiidi viirus	Herpes Simplex viiruse 2. tüüp	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Inimese herpesviiruse 6. tüüp	Parvoviirus B19	Tuulerõugeviirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Inimese herpesviiruse 7. tüüp	JC-viirus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Inimese herpesviiruse 8. tüüp	Inimese papilloomiviirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
B-hepatiidi viirus	Inimese papilloomiviirus 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

## Analüütiline spetsiifilisus – segavad ained, kommensaalsed organismid

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 hinnati mittesihtorganismide tekitatava interferentsi suhtes, kasutades ristreaktiivsuse testimiseks ettevalmistatud samu organismide kogumeid, mis on esitatud eespool tabelis 6. Negatiivset EBV plasmata rikastati 4–7 organismist koosneva ühendatud prooviga ja samuti EBV sihtmärgiga kontsentratsioonis 90 IU/ml [1,95 log<sub>10</sub> IU/ml]. Nende organismidega kokku puutul ei täheldatud olulist interferentsi, nagu näitas määratud kvantitatiivse väärtuse hälve kontrollproovidest, mis ei sisaldanud interferentsi tekitajat.

## Analüütiline spetsiifilisus – segavad ained, endogeensed ja eksogeensed ained

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 toimivust hinnati EBV kliinilistes plasmaproovides levinud eksogeensete ja endogeensete segavate ainete esinemisel. Nende hulka kuulusid nii verekomponentide liiga kõrge tasemed kui ka levinud viirusvastased ravimid ja immunosuppressandid, mis on klassifitseeritud tabelis 7. Igat ainet lisati kinnitatud EBV-negatiivsesse inimese plasmasse, mida oli rikastatud 90 IU/ml [1,95 Log<sub>10</sub> IU/ml] EBV-ga ja proove analüüsiti segava mõju suhtes, võrreldes positiivse kontrolli kohta esitatud kontsentratsioone. Lisaks testiti võimaliku interferentsi suhtes tavapärasest haigusseisundis plasmata, mida seostatakse EBV nakkusega. Kõigi testitud ainete keskmine kontsentratsioon ja nihked võrreldes kontrollproovidega, mida rikastati sama EBV tasemega, on esitatud tabelis 8. Mitte ükski eksogeenne ega endogeenne aine ei mõjutanud analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 spetsiifilisust.

NeuMoDx Molecular, Inc.

40600562-ET\_B  
2023-07

**Tabel 7.** Interferentsi testimine – eksogeensed ained (ravimiklass)

Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon	Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon
Kogum 1	Asatiopriin	Immunosupressant	Kogum 4	Trimetopriim	Antibiootikum
	Tsüklosporiin	Immunosupressant		Vankomütsiin	Antibiootikum
	Foskarnet	Viirusevastane (herpesviirused)		Takroliimus	Immunosupressant
	Gantsükloviir	Viirusevastane (EBV)		Everoliimus	Immunosupressant
	Valgantsükloviirvesinikkloriid	Viirusevastane (EBV)		Klavulanaatkaalium	Antibiootikum
Kogum 2	Prednisoon	Kortikosteroid/ immunosupressant	Kogum 5	Famotidiin	Histamiini retseptori antagonist
	Tsidofoviir	Viirusevastane (EBV)		Sulfametoksasool	Antibiootikum
	Tsefotetaan	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Valatsiloviir	Viirusevastane (herpesviirused)
	Tsefotaksiim	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Letermoviir	Viirusevastane (EBV)
	Flukonasool	Antifungaalne		Tikartsilliin-dinaatrium	Antibiootikum
Kogum 3	Mükofenolaatmofetiil	Immunosupressant	Leflunomiid	Immunosupressant	
	Mükofenolaatnaatrium	Immunosupressant			
	Piperatsilliin	Antibiootikum			
	Siroliimus/Rapamütsiin	Immunosupressant			
	Tasobaktaam	Modifitseeritud antibiootikum			

**Tabel 8.** Interferentsi testimine – endogeensed ja eksogeensed ained

Endogeenne + haigusseisund	Keskmine kont.	Nihe
	log <sub>10</sub> IU/ml	log <sub>10</sub> IU/ml
Hemoglobiin	2,19	0,32
Triglütseriidid	1,90	0,02
Bilirubiin	2,12	0,24
Albumiin	1,95	0,07
Süsteemne erütematoosne luupus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	2,08	0,20
Tuumavastane antikeha (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Reumatoidartriit (Rheumatoid Arthritis, RA)	1,89	0,01
Positiivne kontroll	1,88	Pole kohaldatav
Eksogeensed (ravimid)	Keskmine kont.	Nihe
	log <sub>10</sub> IU/ml	log <sub>10</sub> IU/ml
Kogum 1: asatiopriin, tsüklosporiin, foskarnet, gantsükloviir, valgantsükloviirhüdrokloriid	2,19	0,09
Kogum 2: prednisoon, tsidofoviir, tsefotetaan, tsefotaksiim, flukonasool	2,11	0,01
Kogum 3: mükofenolaatmofetiil, mükofenolaat naatrium, piperatsilliin, siroliimus/rapamütsiin, tasobaktaam	2,16	0,06
Kogum 4: trimetopriim, vankomütsiin, takroliimus, everoliimus, klavulanaat-kaalium	2,24	0,14
Kogum 5: famotidiin, sulfametoksasool, letermoviir, valatsükloviir, tikartsilliin-dinaatrium, leflunomiid	2,26	0,16
Positiivne kontroll	2,10	Pole kohaldatav

## Laborisine täpsus

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 täpsus määrati kontrolliga NeuMoDx EBV Positive Control ja EBV kultuuriga (ATCC, Manassas, VA) EBV proovidega ette valmistatud 6-liikmelise paneeli 3 kordust kaks korda päevas testides, kasutades 12 päeva jooksul kaht seadet NeuMoDx 288 System ja kaht seadet NeuMoDx 96 System. Määrati sarjasine, päevasine ja süsteemine täpsus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati  $\leq 0,18 \log_{10}$  IU/ml. Tõestati suurepäraselt täpsust süsteemide, päevade ja testide lõikes, nagu on näidatud tabelis 9. Kasutajate vahel täpsust ei määratud, kuna kasutaja ei ole proovide töötlemisel süsteemiga NeuMoDx System määrava tähtsusega.

**Tabel 9.** Laborisine täpsus – analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 seadmetel NeuMoDx Systems

EBV sihtkont. [log <sub>10</sub> IU/ml]	Keskmine EBV kont. [log <sub>10</sub> IU/ml]	Süsteemine SD	Perioodil Päeva SD	Perioodil Käitamise SD	Üldine (Laboir) SD
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

## Partiikaupa reprodutseeritavus

Laborisine täpsuse uuringu raames määrati analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 partiidevaheline reprodutseeritavus, hinnates NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 3 partiid. Toimivuse hindamiseks kasutati 6-liikmelist EBV positiivse plasma paneeli (tabel 10). Analüüsi partiide lõikes saadud tulemusi ja need on esitatud tabelis 10. Testribade NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0 maksimaalne nihe oli  $0,29 \log_{10}$  IU/ml ja maksimaalne SD oli  $0,18 \log_{10}$  IU/ml. Partiidest näidati samaväärset toimivust, kuna kõikide paneeli liikmete kvantifitseerimise väärtused olid tolerantsi määra piires.

**Tabel 10.** Partiidevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Eeldatav kont. (Log <sub>10</sub> IU/ml)	Partii 1			Partii 2			Partii 3		
	Kesk. kont. (Log <sub>10</sub> IU/ml)	Log kont. SD	Abs nihe	Kesk. kont. (Log <sub>10</sub> IU/ml)	Log kont. SD	Abs nihe	Kesk. kont. (Log <sub>10</sub> IU/ml)	Log kont. SD	Abs nihe
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

## Proovi töötlemise kontrolli tõhusus

Analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 on kaasas proovi protsessikontroll (Sample Process Control, SPC1), mis annab teavet protsessi ebaõnnestumise või analüüsi toimimist mõjutava pärsiva toime kohta. Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay mudelina kasutades hinnati SPC1 efektiivsust plasmaproovide osas kriitilisi töötusetappide tõrkeid esindavates tingimustes, mis võivad tekkida proovide töötlemise ajal ja mida seadme NeuMoDx System toimimist kontrollivad sensorid võivad jätta tuvastamata. Tsütomegaloviiruse positiivseid ( $3 \log_{10}$  IU/ml) ja negatiivseid proove testiti järgmistes tingimustes: inhibiitori olemasolu, pesulahuse kättesaadavuse piiramine ja pesureaktiivi eemaldamata jätmine. Töötusetappide tõrkeid, mis mõjutasid negatiivselt viirusliku sihtmärgi tuvastamist/kvantifitseerimist, peegeldas SPC1 sihtmärki, nagu on näidatud tabelis 11. Kõigil testitud juhtudel näidati, et prooviprotsessi kontroll jälgendas protsessi ebaefektiivsust ja inhibiitorite olemasolu adekvaatselt või eeldatav protsessi ebaefektiivsust ei avaldanud olulist negatiivset mõju SPC1 ega viirusliku sihtmärgi tuvastamisele ja kvantifitseerimisele. Seega, SPC1 abil näidati analüüsi toimimise efektiivset jälgimist seadmes NeuMoDx System.

**Tabel 11.** Proovi töötlemise kontrolli tõhusus plasma viiruse DNA osas\*

Protsessi etapp Testitud ebaõnnestumine	Proovi töötlemise kontrolli 1 amplifikatsioonistaatus	CMV sihtmärki Amplifikatsioonistaatus	Analüüsi tulemus
Presence of Inhibitor (Inhibiitori sisaldus)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Delivered (Pesemisreaktiivi ei ole)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Blowout (Pesemisreaktiivi väljajuhutamist ei toimu)	Amplified (Amplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	Positive (Positiivne) kvantifitseerimine kontrolli koguse 0,3 Log <sub>10</sub> IU/ml juures

\*Tsütomegaloviirust (Cytomegalovirus, CMV) plasmas kasutati proovi protsessi kontrolli efektiivsuse hindamise mudelsüsteemina.

## Ristsaastumine

Plasmaproovide ristsaastumise määr tuvastati EBV positiivse ja negatiivse sisaldusega proovide vaheldumisi töötlemisega. Tehti viis sellist kontrolltestide komplekti, milles kasutati kokku 60 kordust EBV-negatiivse plasmaga ja 60 kordust EBV-ga rikastatud plasmaga koguses 6,0 Log<sub>10</sub> IU/ml, kasutades nii süsteemi NeuMoDx 288 kui ka 96 Molecular System. Mõlema süsteemi lõikes olid kõik 120 negatiivsete proovide kordustest negatiivsed, mis näitab, et kõikide analüüside plasmaproovide töötlemisel ei esinenud süsteemis NeuMoDx System ristsaastumist.

## Proovimatriksi ekvivalentsus

Testid tehti, et näidata värske ja külmutatud plasmaproovide samaväärsust, kasutades mudelina sarnast vere kaudu levivat viirust, CMV-d. Värskeid proove säilitati 4 °C juures, kuni neid rikastati kolme eri CMV tasemega ja analüüsiti samaväärsuse suhtes. Proovid külmutati minimaalselt 24 tundi -20 °C juures. Pärast seda külmutatult hoiustamist sulutati proovid üles ja testiti uuesti. Värske ja külmutatud plasmaproovide tulemusi võrreldi ekvivalentsuse osas regressioonanalüüsiga. Andmed näitasid värske ja külmutatud plasmaproovide suurepärase samaväärsust, millel oli kaldenurk 1,0 ja väga väike nihe (lõikepunkt), nagu on esitatud allpool tabelis 12.

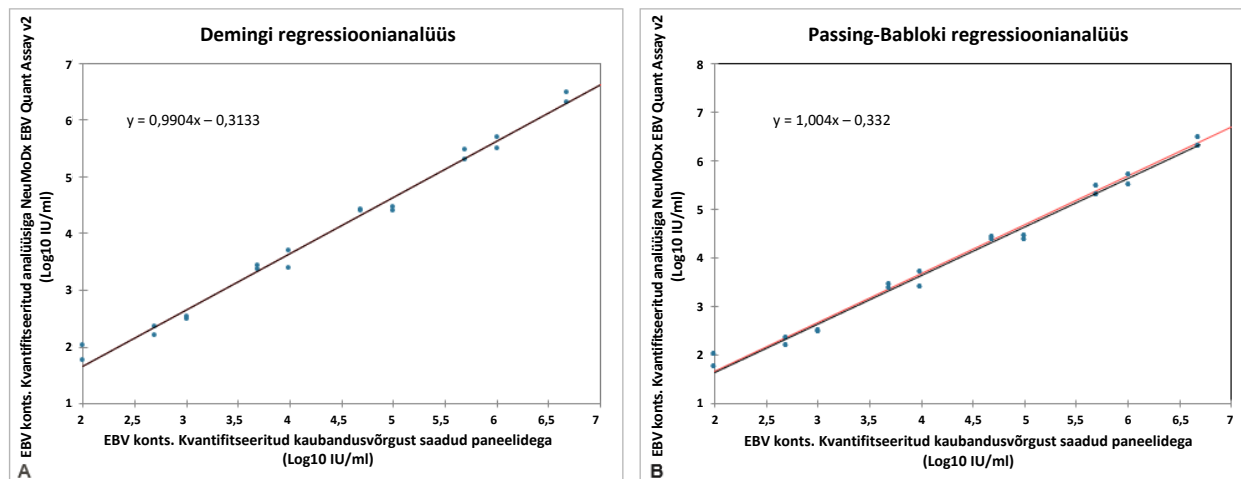
Tabel 12. Proovimatriksi ekvivalentsus

Parameetri nõue	Värske vs. külmutatud EDTA
Tõus [0,9–1,1]	1,000
Lõikepunkt < 0,5 log <sub>10</sub> IU/ml	0,020
p-väärtus > 0,05	0,631

## Kvantifitseerimise näitajad

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantitatiivset tulemuslikkust hinnati, töödeldes seadmega NeuMoDx Molecular Systems kaht kaubanduslikult saada olevat EBV kontrollimise paneeli ettevõtelt AcroMetrix ja Exact Diagnostics (jälgitav 1. MTO EBV rahvusvahelise standardini).

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay ja kahe kaubanduslikult saadaoleva EBV kontrollpaneeli vahel saadi suurepärase korrelatsioon (joonis 4), kui neid analüüsiti kas Demingi regressiooni (joonis 4A) või Passing-Babloki meetodiga (joonis 4B).



Joonis 4. Ettevõtete AcroMetrix ja Exact Diagnostics kontrollpaneelide ekvivalentsus analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Lineaarne regressioonanalüüs Demingi meetodiga. B. Lineaarne regressioonanalüüs Passing-Babloki meetodiga.

Demingi regressiooni sobivust näitavad tõusu koefitsient 0,990 ja lõikepunkt (nihe) -0,313, mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ja EBV kontrollpaneelidega saadud kontsentratsiooniväärtused on korrelatsioonis ja sobiva nihkega. Passing-Babloki lineaarne sobivus toetab ka analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ja EBV kontrollpaneelide abil saadud tulemuste korrelatsiooni olulisust, mille üldine tõusu koefitsient on 1,004 ja lõikepunkt (kõrvalekalle) on -0,332. Passing-Babloki analüüsi p-väärtuseks arvatati 0,988.

Tabel 13. Demingi ja Passing-Babloki lineaarse regressiooni analüüside kokkuvõte

Demingi analüüs		Passing-Babloki analüüs	
Lõikepunkt	Tõusu koefitsient	Lõikepunkt	Tõusu koefitsient
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95% CI (-0,620; -0,007)	95% CI (0,928; 1,053)	95% CI (-0,548; -0,116)	95% CI (0,950; 1,047)

## VIITED

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.

## KAUBAMÄRGID

NeuMoDx™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.










NeuDry™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.

Seracare® on ettevõtte Seracare Life Sciences, Inc. registreeritud kaubamärk.

TaqMan® on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.

## SÜMBOLITE SELETUSED

<b>R only</b>	Ainult retsepti alusel		Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks
	Tootja		Lugege kasutusjuhendit
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade		Ettevaatust
<b>EC REP</b>	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses		Terviseoht
<b>REF</b>	Katalooginumber	<b>CE</b>	CE-märgis
<b>LOT</b>	Partii kood	<b>CONT</b>	Sisaldab
	Kasutamise lõppkuupäev		Sisaldab loomset päritolu bioloogilist materjali
	Temperatuuri piir	<b>Boric Acid</b>	Boorhape
	Mitte korduskasutada		



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



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

Tehniline tugi /järelvalve aruandlus: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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

