

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

**R only**

UZMANĪBU! Tikai ASV eksportam

**IVD** Lietošanai *in vitro* diagnostikā ar NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Lietošanas instrukcijas atjauninājumus skatiet vietnē [www.giaagen.com/neumodx-ifu](http://www.giaagen.com/neumodx-ifu)

Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600108

Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 96 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600317

## PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ir automatizēts *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests cilvēka Epšteina-Barra vīrusa (EBV) DNS kvantitatīvai noteikšanai EDTA plazmā pacientiem ar imūndeficītu, transplantāta saņēmējiem.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, ko izpilda sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un sistēmā NeuMoDx 96 Molecular System, ietver automatizētu DNS ekstrahēšanu, lai no parauga materiāla izolētu mērķa nukleīnskābi, un reāllaika polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), lai mērķētu uz diviem ļoti labi saglabātiem reģioniem EBV genomā.

Analīzi ir paredzēts izmantot kā palīgizmekli EBV DNS līmeņa monitorēšanai perifērajās asinīs, lai novērtētu vīrusu reakciju uz ārstēšanu. Šo analīzi paredzēts izmantot kopā ar klīnisko ainu un citiem slimības gaitas laboratoriskajiem marķieriem EBV infekcijas klīniskajā ārstēšanā un kontrolē.

Analīzi nav paredzēts izmantot kā skrīninga testu, lai noteiktu EBV DNS klātbūtni asinīs vai asins preparātos. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ir paredzēts izmantot apmācītiem klīniskās laboratorijas darbiniekiem, kas ir īpaši apguvuši reāllaika PĶR metodes, *in vitro* diagnostikas procedūras un/vai NeuMoDx Molecular Systems lietošanu. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 nav paredzēts izmantot pašpārbaudei vai izmantošanai aprūpes vietā.

## KOPSAVILKUMS UN SKAIDROJUMS

Cilvēka pilnāsinis, kas paņemtas sterilos asins paņemšanas stobriņos, kuros kā pretšācēšanas līdzeklis ir EDTA, var izmantot plazmas sagatavošanai. Lai sāktu testēšanu, plazmu parauga materiāla stobriņā, kas sader ar NeuMoDx System, ievieto parauga materiālu stobriņu turētājā un tad NeuMoDx System darbaldā. Katra plazmas parauga materiāla 550 µl alikvoto daļu sajauc ar NeuMoDx Lysis Buffer 1, un NeuMoDx System automātiski veic visas darbības, kas nepieciešamas, lai ekstrahētu mērķa nukleīnskābi, sagatavotu izolēto DNS reāllaika PĶR amplifikācijai un amplificētu un noteiktu amplifikācijas produktus, ja tādi ir (divi ļoti labi saglabāti reģioni EBV genomā). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ietver DNS paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai palīdzētu pārbaudīt iespējamu inhibitorvielu klātbūtni un NeuMoDx System vai reaģentu kļūdas, kas var rasties ekstrahēšanas un amplifikācijas procesa laikā.

EBV ir izplatīts cilvēka herpesvīrusu dzimtas divpavedienu DNS vīruss, kas inficē visu vecumu cilvēkus. Novērtēts, ka > 90% cilvēku visā pasaulē ir vai ir bijuši inficējušies ar EBV.<sup>1</sup> EBV izplatās ar ķermeņa šķidrumiem, piemēram, siekalām, asinīm, spermam, un orgānu transplantācijas ceļā. Daudzi cilvēki inficējas ar EBV bērnībā. Šiem cilvēkiem, lai gan viņi ir inficējušies ar EBV, parasti nav simptomu. Cilvēkiem ar imūndeficītu var attīstīties smagāki EBV infekcijas simptomi un komplikācijas. Latenta EBV infekcija vislielāko risku rada pacientiem pēc transplantāta saņemšanas. Limfoproliferatīvi traucējumi pēc transplantāta saņemšanas (post-transplant lymphoproliferative disorders, PTLD) ietver EBV ierosinātu audzēja veidošanos B šūnās imūnsupresantu iedarbības dēļ uz EBV imūnkontroli, un tas ir viens no visnozīmīgākajiem saslimstības un mirstības cēloņiem pacientiem ar jebkāda orgāna transplantātu.<sup>2</sup>

EBV vīrusa slodzes kontrolēšanu var izmantot, lai atvieglotu ar EBV saistītu PTLN diagnosticēšanu un ārstēšanu. Tomēr jāveic diagnostika, izmantojot biopsiju. EBV vīrusa slodzes kontrolēšanu var izmantot arī, lai vērotu reakciju ar EBV saistītai PTLN ārstēšanai, parasti ar Rituximab, un imūnsupresantu terapijas samazinājumā.<sup>3</sup>

## PROCEDŪRAS PRINCIPI

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sistēmā NeuMoDx System analizēšanai izmanto NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 un NeuMoDx vispārējās lietošanas reaģentus. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 apvieno automatizētu DNS ekstrahēšanu, amplifikāciju un noteikšanu, izmantojot reāllaika PĶR. Lai sagatavotu plazmu, pilnāsinu parauga materiālus paņem stobriņos ar EDTA. Plazmas parauga materiālu ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ievieto parauga materiālu stobriņu turētājā un tad sistēmā NeuMoDx System darbaldā apstrādei. Pēc tam operatoram vairs nav jāiesaistās.

NeuMoDx Systems izmanto siltuma, lizējoša enzīma un ekstrahēšanas reaģentu kombināciju, lai automātiski lizētu šūnas, ekstrahētu DNS un likvidētu inhibitorus. Magnētiskās afinitātes mikrolodītes piesaista atbrīvojušās nukleīnskābes. Mikrolodītes ar piesaistītajām nukleīnskābēm ievieto kasetnē NeuMoDx Cartridge, kur nesaistītās sastāvdaļas, kas nav DNS, papildus aizskalo ar NeuMoDx Wash Reagent, un saistīto DNS eluē, izmantojot NeuMoDx Release Reagent. Pēc tam NeuMoDx Systems izmanto eluēto DNS, lai rehidratētu patentētos NeuDry™ amplifikācijas reaģentus, kas satur visus elementus, kuri ir nepieciešami EBV specifisko mērķu un SPC1 PĶR amplifikācijai. Kad NeuDry PĶR reaģenti izšķīdināti, sagatavoto PĶR gatavo maisījumu NeuMoDx System iepilda kasetnē NeuMoDx Cartridge. Kontrolmateriāla un mērķa DNS sekvenču (ja tādas ir) amplifikācija un noteikšana notiek NeuMoDx Cartridge PĶR kameras zonā. Kasetnē NeuMoDx Cartridge arī ir paredzēts ietvert amplikonu pēc reāllaika PĶR, būtībā novēršot kontaminācijas risku pēc amplifikācijas.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 mērķis ir divi ļoti labi saglabāti reģioni – BALF5 un BXFL1 – EBV genomā. Divu mērķu izmantošana mazina kļūdaini negatīvu rezultātu risku, ja kādā no mērķa reģioniem būtu mutācija, tādējādi palielinot analīzes noturību. Amplificētos mērķus nosaka reāllaikā, izmantojot hidrolīzes zondes ķīmiju (ko parasti sauc par TaqMan® ķīmiju), kurā tiek izmantotas amplikoniem specifiskas fluorogēnās oligonukleotīdu zondes molekulas to attiecīgajiem mērķiem.

TaqMan zondes veido fluoroforus, kas kovalenti saistīts ar oligonukleotīda zondes 5' galu, un dzēsēju 3' galā. Kamēr zonde ir neskarta, fluorofors un dzēsējs ir tuvu viens otram, un dzēsēja molekula dzēsē fluorofora izstaroto fluorescenci Fērstera rezonanses enerģijas pārnesei (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) ceļā.

TaqMan zondēm ir paredzēts piesaistīties DNS reģionā, kas amplificēts ar īpašu praimeru kopumu. Taq DNS polimerāzei pagarinot praimeru un sintezējot jauno pavedienu, Taq DNS polimerāzes 5'–3' eksonukleāzes aktivitāte noārda zondi, kas ir piesaistījies pie matricē. Zondei noārdoties,

atbrīvojas fluorofors, tāpēc tā vairs nav tuvu dzēsējam, tādējādi FRET dēļ zūd dzēšanas efekts, un ir iespējams noteikt fluorofora fluorescenci. Iegūtais konstatētais fluorescences signāls ir tieši proporcionāls atbrīvotajam fluoroforam, un to var saistīt ar esošās mērķa DNS daudzumu.

TaqMan zondi, kas ir iezīmēta ar fluoroforu (ierosme: 490 nm un izstarošana: 521 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā, izmanto EBV DNS mērķu noteikšanai. SPC1 noteikšanai TaqMan zonde ir iezīmēta ar citu fluorescējošu krāsvielu (ierosme: 535 nm un izstarošana: 556 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā. NeuMoDx System programmatūra pārbauda fluorescences signālu, ko katra amplifikācijas cikla beigās izstaro TaqMan zondes. Kad amplifikācija pabeigta, NeuMoDx System programmatūra analizē datus un ziņo rezultātu (POSITIVE (Pozitīvs)/NEGATIVE (Negatīvs)/INDETERMINATE (Neskaidrs)/NO RESULT (Nav rezultāta)/UNRESOLVED (Neatrisināts)). Ja rezultāts ir POSITIVE (pozitīvs), NeuMoDx System programmatūra sniedz arī ar paraugu saistīto kvantitatīvo vērtību vai ziņo, vai aprēķinātā koncentrācija ir ārpus lineārā diapazona.



## REAĢENTI/PALĪGMATERIĀLI

### Nodrošinātais materiāls

ATS	Saturs	Vienības iepakojumā	Testi vienībā	Testi iepakojumā
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> Sausie RT-PQR reaģenti, kas satur EBV un SPC1 specifiskas TaqMan zondes un primerus.	6	16	96

### Nepieciešamie materiāli, kas nav nodrošināti (var iegādāties atsevišķi no QIAGEN)

ATS	Saturs
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> Vienreizlietojami EBV augšējo un apakšējo vērtību kalibratoru komplekti standarta līknes derīguma noteikšanai (pa 1 katra kontrolmateriāla flakonam = 1 komplekts)
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> Vienreizlietojami EBV vāji pozitīvu, ļoti pozitīvu un negatīvu kontrolmateriālu komplekti NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ikdienas derīguma noteikšanai (1 katra kontrolmateriāla flakons = 1 komplekts)
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Sausas paramagnētiskas daļiņas, lizējošs enzīms un parauga apstrādes kontrolmateriāli
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>Hamilton® CO-RE / CO-RE II uzgaļi (300 µl) ar filtriem</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II uzgaļi (1000 µl) ar filtriem</b>

### Nepieciešamie piederumi

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

NeuMoDx System programmatūra versija 1.9.2.6 vai jaunāka



## BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 paredzēts lietošanai *in vitro* diagnostikā tikai ar NeuMoDx Systems.
- Reaģentus un palīgmateriālus nedrīkst lietot pēc norādītā derīguma termiņa beigām.
- Reaģentus nedrīkst lietot, ja drošības noslēgs ir saplīsis vai saņemšanas brīdī iepakojums ir bojāts.
- Palīgmateriālus un reaģentus nedrīkst lietot, ja saņemšanas brīdī aizsargmaisīnš ir atvērts vai saplīsis.
- Jābūt pieejamai derīgai testa kalibrācijai (ko ģenerē, apstrādājot NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) augšējo un apakšējo vērtību, tikai pēc tam var ģenerēt testu rezultātus klīniskajiem paraugiem.
- NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] jāapstrādā ik pēc 24 stundām, ja testēšanu veic ar NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Sekundāro alikvoto EDTA plazmas minimālais parauga materiāla tilpums ir detalizēti norādīts tālāk, sadaļā "Testa sagatavošana". Ja tilpums ir mazāks par norādīto minimālo tilpumu, var rasties kļūda "Quantity Not Sufficient" (Daudzums nav pietiekams).
- Ja izmanto parauga materiālus, kas glabāti neatbilstošā temperatūrā, vai pēc norādītā glabāšanas laika, iegūtie rezultāti var būt nederīgi vai kļūdaini.
- Nepieļaujiet neviena reaģenta un palīgmateriāla kontamināciju ar mikrobiem vai deoksiribonukleāzi (DNāzi). Lietojot sekundāros stobriņus, ieteicams izmantot sterilas DNāzi nesaturošas vienreizlietojamas pārneses pipetes. Katram parauga materiālam jāizmanto jauna pipete.
- Lai izvairītos no piesārņošanas, pēc amplifikācijas nedrīkst rīkoties ar NeuMoDx Cartridge vai to izjaukt. Nekādā gadījumā neizņemt kasetnes NeuMoDx Cartridges no bioloģiski bīstamo atkritumu konteinera (NeuMoDx 288 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertnes (NeuMoDx 96 Molecular System). Kasetne NeuMoDx Cartridge ir izveidota tā, lai nepieļautu kontamināciju.
- Ja laboratorijā veic arī PQR testus ar atvērtiem stobriņiem, jāuzmanās, lai nepiesārņotu NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, testēšanai nepieciešamos papildu palīgmateriālus un reaģentus, individuālos aizsardzības līdzekļus, piemēram, cimdus un laboratorijas uzsvārcus, kā arī NeuMoDx System.

- Rīkojoties ar NeuMoDx reaģentiem un palīgmateriāliem, jāvalkā tīri nitrila cimdi bez pulvera. Jāuzmanās, lai nepieskartos NeuMoDx Cartridge augšējai virsmai, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 un NeuMoDx Extraction Plate folijas noslēgvirsmi vai NeuMoDx Lysis Buffer tvertnes augšējai virsmai; rīkojoties ar palīgmateriāliem un reaģentiem, drīkst pieskarties tikai sānu virsmām.
- Drošības datu lapas (DDL) katram reaģentam (attiecīgā gadījumā) atrodamas tīmekļa vietnē [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Pēc testa veikšanas rūpīgi nomazgājiet rokas.
- Pipetēšanu nedrīkst veikt ar muti. Zonās, kur notiek darbības ar parauga materiāliem vai reaģentiem, nedrīkst smēķēt, dzert vai ēst.
- Ar parauga materiāliem vienmēr jārikojas tā, it kā tie būtu inficēti, un saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, piemēram, tām, kas aprakstītas dokumentā *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> un CLSI dokumentā M29-A4.<sup>5</sup>
- Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Plašāku informāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapās (DDL).
- Utilizējiet neizmantotos reaģentus un atkritumus saskaņā ar valsts, federālajiem, pašvaldības, pavalsts un vietējiem noteikumiem. Ievērojiet drošības datu lapā (DDL) ietvertos norādījumus.

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Saturs: borskābe. Bīstami! Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Var kaitēt auglībai vai nedzimušajam bērnam. Pirms lietošanas saņemiet speciālu instrukciju. Neizmantojiet, pirms nav izlasīti un saprasti visi norādījumi par piesardzības pasākumiem. Valkājiet aizsargcimdus, aizsargapģērbu, aizsargbrilles, sejas masku. Ja nokļūst saskarē vai ir iemesls uztraukumam: Lūdziet palīdzību medikiem. Glabājiet noslēgtā vietā. Atbrīvojieties no satura/tvertnes apstiprinātā atkritumu pārstrādes rūpnīcā.

### Informācija ārkārtas situācijā

CHEMTREC

Ārpus ASV un Kanādas +1 703-527-3887



### PRODUKTA GLABĀŠANA, APIEŠANĀS AR TO UN STABILĪTĀTE

1. Primārajā iepakojumā NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 ir stabilas visā derīguma termiņa laikā, kas norādīts uz tiešās produkta uzlīmes, ja tas tiek glabāts 15–28 °C temperatūrā.
2. Pēc NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ielādēšanas sistēmā NeuMoDx System tās tur var palikt 14 dienas. Programmatūra reāllaikā izseko un ziņo lietotājam par ielādēto testa strēmelišu atlikušo glabāšanas ilgumu. Sistēma parādīs uzaicinājumu izņemt testa strēmeli, kas tiek lietota ilgāk par pieļaujamo periodu.
3. Lai gan NeuMoDx EBV Calibrators un NeuMoDx EBV External Controls nav infekciozi, pēc lietošanas tie jāizmet kopā ar laboratorijas bioloģiski bīstamajiem atkritumiem, lai mazinātu piesārņošanas risku.

### PARAUGA MATERIĀLU PAŅEMŠANA, TRANSPORTĒŠANA UN GLABĀŠANA

Ar visiem parauga materiāliem jāapietas tā, it kā tie varētu pārnest infekcijas izraisītājus.

1. Nedrīkst sasaldēt pilnasinis un nevienu parauga materiālu, ko glabā primārajos stobriņos.
2. Lai sagatavotu plazmas parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem sterilos stobriņos, kā antikoagulantu izmantojot EDTA. Jārīkojas atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.
3. Pilnasinis, kas paņemtas iepriekš norādītajās ierīcēs, pirms plazmas sagatavošanas var glabāt un/vai transportēt līdz 24 stundām no 2 °C līdz 25 °C temperatūrā. Plazma jāgatavo atbilstīgi ražotāja norādījumiem.
4. Sagatavoti plazmas parauga materiāli sistēmā NeuMoDx System var palikt līdz 8 stundām pirms apstrādes. Ja nepieciešams papildu glabāšanas laiks, parauga materiālus ieteicams atdzēsēt vai sasaldēt.
5. Sagatavoti plazmas parauga materiāli jāglabā no 2 līdz 8 °C temperatūrā ne ilgāk kā 7 dienas pirms testēšanas un ne ilgāk kā 8 stundas istabas temperatūrā.
6. Sagatavotos plazmas parauga materiālus var glabāt -20 °C temperatūrā līdz 8 nedēļām; plazmas paraugus pirms lietošanas nedrīkst pakļaut vairāk kā 2 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem.
  1. Ja parauga materiāli ir sasaldēti, nogaidiet, līdz parauga materiāli istabas temperatūrā (15–30 °C) pilnībā atkūst, pēc tam sajauciet virpuļmikserī, lai iegūtu vienmērīgi izkliedētu paraugu. Pirms testēšanas paraugiem jābūt sasnējušiem istabas temperatūru.
  2. Kad sasaldētie paraugi atkusī, tie jātestē 8 stundu laikā.
7. Ja parauga materiālus pārvadā, tie jāiesaiņo un jāmarķē saskaņā ar piemērojamiem valsts un/vai starptautiskajiem noteikumiem.

## LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

### Testa sagatavošana

1. Ar NeuMoDx System saderīgam parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svītrkoda uzlīmi, kā aprakstīts tālāk.
2. Parauga materiāla alikvota daļu pārnesiet ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ar svītrkodu atbilstoši tālāk noteiktajiem tilpumiem.
3. *Plazmas parauga materiāliem:*
  - Parauga materiālu stobriņu turētājs (32 stobriņi): diametrs 11–14 mm un augstums 60–120 mm; minimālais iepildāmais tilpums  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Parauga materiālu stobriņu turētājs (24 stobriņi): diametrs 14,5–18 mm un augstums 60–120 mm; minimālais iepildāmais tilpums  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Maza tilpuma parauga materiālu stobriņu turētājs (32 stobriņi): 1,5 ml mikrocentrifūgas stobriņš ar konisku apakšu; minimālais iepildāmais tilpums  $\geq 650 \mu\text{l}$

### NeuMoDx System darbība

Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 un 96 Molecular Systems operatora rokasgrāmatā (daļas Nr. 40600108 un 40600317)

1. Piepildiet vienu vai vairākus turētājus NeuMoDx System Test Strip Carrier ar testa strēmeliņiem NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 un izmantojiet skārienkrānu, lai testa strēmelišu turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
2. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, NeuMoDx System palīgmateriālu turētājos ievietojiet nepieciešamos palīgmateriālus un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
3. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, pēc nepieciešamības nomainiet NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, iztukšojiet uzpildes atkritumus, bioloģiski bīstamo atkritumu konteineru (tikai NeuMoDx 288 Molecular System), uzgaļu atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System).
4. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, apstrādājiet attiecīgi kalibratorus [REF 800501] un/vai ārējos kontrolmateriālus [REF 900502]. Papildinformācija par kalibratoriem un kontrolmateriāliem atrodama sadaļā *Rezultātu apstrāde*.
5. Parauga materiālu stobriņus ievietojiet parauga materiālu stobriņu turētājā un visiem stobriņiem noteikti noņemiet vāciņus, un izņemiet uztriepes tamponus.
6. Parauga materiālu stobriņu turētājus ievietojiet automātiskās ievietošanas ierīces plauktā un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System. Tādējādi sāksies ielādēto parauga materiālu apstrāde ar norādīto testu(-iem), pieņemot, ka sistēmā ir derīgs testa pasūtījums.

## IEROBEŽOJUMI

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 var izmantot tikai ar NeuMoDx Systems.
2. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 darbības efektivitāte ir noteikta plazmas parauga materiāliem, kas sagatavoti no pilnasinīm, tās ņemot stobriņā ar EDTA kā antikoagulantu. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 lietošana ar citiem avotiem nav novērtēta, un darbības efektivitātes raksturlielumi citu veidu parauga materiāliem nav zināmi.
3. EBV noteikšana parasti ir atkarīga no vīrusa daļiņu skaita paraugā, tāpēc rezultātu ticamība ir atkarīga no parauga materiālu pareizas ņaņemšanas, to lietošanas un glabāšanas.
4. Kļūdainu rezultātu iemesls var būt parauga materiālu nepareiza ņaņemšana, rīcība ar tiem, glabāšana, tehniska kļūme vai parauga materiālu stobriņu sajaukšana. Vēl kļūdaini negatīvi rezultāti iespējami tad, ja vīrusa daļiņu skaits paraugā ir zem NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 noteikšanas robežas.
5. NeuMoDx System drīkst lietot tikai darbinieki, kas ir apguvuši zināšanas par NeuMoDx System lietošanu.
6. Ja gan EBV mērķi, gan SPC1 mērķis neamplificē, tiek ziņots nederīgs rezultāts (Indeterminate (Neskaidrs) vai Unresolved (Neatrisināts)), un tests ir jāatkārto.
7. Ja pirms parauga apstrādes beigām rodas sistēmas kļūda, tiek ziņots "No Result" (Nav rezultāta), un tests ir jāatkārto.
8. Ja EBV DNS tiek noteikts virs ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 var atkārtot ar sākotnējā parauga materiāla atšķaidītu alikvoto daļu. Ieteicams atšķaidījums attiecībā 1:100 vai 1:1000 EBV negatīvā plazmā vai atšķaidītājā Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Sākotnējā parauga materiāla koncentrāciju sistēma automātiski aprēķinās šādi: sākotnējā parauga materiāla koncentrācija =  $\log_{10}$  (atšķaidījuma koeficients) + atšķaidītā parauga ziņotā koncentrācija, ja vien pirms atkārtotās testēšanas atšķaidījuma koeficients būs pareizi atlasīts programmatūrā.
9. PĶR inhibitoru klātbūtne plazmā var izraisīt sistēmas kvantitatīvās noteikšanas kļūdu; ja tā noticis, testu ieteicams atkārtot ar to pašu parauga materiālu, kas atšķaidīts atšķaidītājā Basematrix attiecībā 1:10 vai 1:100.
10. Pozitīvs rezultāts liecina par EBV DNS klātbūtni.
11. Lai gan šāda iespēja ir neliela, delēcijas vai mutācijas saglabātajos reģionos, uz ko mērķē NeuMoDx EBV Quant Assay, var ietekmēt noteikšanu un/vai kvantitatīvo noteikšanu un izraisīt kļūdainu rezultātu.
12. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 iegūtie rezultāti jāizmanto kā papildinājums klīniskajiem novērojumiem un citai ārstam pieejamajai informācijai; tests nav paredzēts infekcijas diagnosticēšanai.
13. Lai izvairītos no piesārņošanas, ieteicams ievērot labu laboratoriju praksi, tostarp pēc darba ar katra pacienta parauga materiāliem mainīt cimdus.

## REZULTĀTU APSTRĀDE

Pieejamos rezultātus var apskatīt vai izdrukāt cilnē "Results" (Rezultāti), kas atrodama NeuMoDx System skārienekrāna logā Results (Rezultāti). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 rezultātus automātiski ģenerē NeuMoDx System programmatūra, izmantojot lēmuma algoritmu un rezultātu apstrādes parametrus, kas norādīti NeuMoDx EBV Quant Assay analīzes definīcijas failā (EBV Quant ADF versija 4.0.0 vai jaunāka). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ziņotais rezultāts atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un parauga apstrādes kontrolmateriālam var būt šāds: Negative (Negatīvs), Positive (Pozitīvs) ar ziņotu EBV DNS koncentrāciju, Indeterminate (Neskaidrs), No Result (Nav rezultāta) vai Unresolved (Neatrisināts). Rezultāti tiek ziņoti, pamatojoties uz ADF rezultātu apstrādes lēmuma algoritmu, kas apkopots tālāk 1. tabulā.

1. tabula: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 rezultātu interpretēšana

Rezultāts	EBV mērķi	Paraugu apstrādes kontrolmateriāls (SPC1)
<b>Positive (Pozitīvs)</b>	<b>AMPLIFIED (Amplificēts)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND (UN) BPK > 1,3 AND (UN) BP > 1200] OR (VAI) [28 < Ct < 38 AND (UN) BP > 1200]	N/A (Nav attiecināms)
<b>Positive (Pozitīvs), virs kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas [ULoQ] (log<sub>10</sub> SV/ml)</b>	[KONC] > 8,0 log <sub>10</sub> SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
<b>Positive (Pozitīvs), zem kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas [LLoQ] (log<sub>10</sub> SV/ml)</b>	[KONC] < 1,48 log <sub>10</sub> SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
<b>Negative (Negatīvs)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (Nav amplificēts)</b> N/A (Nav attiecināms) <b>OR (VAI)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND (UN) BPK ≤ 1,3 AND (UN) BP > 1200] <b>OR (VAI)</b> [28 ≤ Ct < 38 AND (UN) BP > 1200] <b>OR (VAI)</b> Ct > 38	<b>AMPLIFIED (Amplificēts)</b> [29 < Ct < 35 un BP ≥ 2000]
<b>No Result (Nav rezultāta)*</b>	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Aborted (Nav amplificēts; Konstatēta sistēmas kļūda; Parauga apstrāde pārtraukta)	
<b>Indeterminate (Neskaidrs)*</b>	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Completed (Nav amplificēts; Konstatēta sistēmas kļūda; Parauga apstrāde pabeigta)	
<b>Unresolved (Neatrisināts)*</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Nav amplificēts, Nav konstatētu sistēmas kļūdu)	

BP = beigu punkta fluorescences; BPK = beigu punkta fluorescences koeficients; Ct = cikla sliekšnis (Cycling Threshold);

Kvant = aprēķinātais esošā EBV daudzums, kas izteikts log<sub>10</sub> SV/ml. Skatiet testa aprēķinu sadaļu tālāk.

\* Sistēmā pastāv neobligāta atkārtotas apstrādes/atkārtotības iespēja, lai nederīga rezultāta gadījumā varētu veikt automātisku atkārtotu apstrādi, tādējādi mazinot rezultātu ziņošanas aizkavēšanos.

### Testa aprēķins: Paraugi

- Paraugiem, kas atbilst NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineārajam diapazonam, EBV DNS koncentrāciju paraugos aprēķina, izmantojot saglabāto standarta līkni kopā ar kalibrācijas koeficientu.
  - Kalibrācijas koeficientu aprēķina atbilstīgi rezultātiem, kas iegūti, apstrādājot NeuMoDx EBV Calibrators, lai noteiktu standarta līknes derīgumu katrai NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 partijai konkrētā NeuMoDx System.
  - Kalibrācijas koeficientu sistēma automātiski iekļauj EBV DNS koncentrācijas galīgajā noteikšanā.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2,0 rezultāti tiek ziņoti mērvienībā SV/ml un log<sub>10</sub> SV/ml.
- Nezināmo paraugu iegūtā kvantitatīvā noteikšana ir izsekojama atbilstoši Epšteina-Barra vīrusa PVO 1. starptautiskajam standartam nukleīnskābes amplifikācijas metodēm.

### Testa aprēķins: Kalibratori

Lai kvantitatīvi noteiktu EBV DNS parauga materiālos, nepieciešama derīga kalibrēšana atbilstīgi standarta līknei. Lai ģenerētu derīgus rezultātus, tests jākalibrē, izmantojot NeuMoDx Molecular, Inc. piegādātus kalibratorus.

- NeuMoDx EBV Calibrators piegādā komplektā [REF 800501], un tie satur atšķaidītājā Basematrix sagatavotu neinfekciozu iekapsulētu EBV mērķi.
- EBV kalibratoru komplekts jāapstrādā ar katru jaunu NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 partiju vai tad, ja sistēmā NeuMoDx System augšupielādē jaunu EBV analīzes definīcijas failu, ja pašreizējā kalibratoru komplekta derīguma termiņš ir beidzies (iestatīts 90 dienas) vai ja modificēta NeuMoDx System programmatūra.
- NeuMoDx System programmatūra lietotāju informēs, kad būs jāapstrādā kalibratori; jaunu testa strēmeliņu partiju nevarēs izmantot testēšanai, kamēr kalibratori nebūs sekmīgi apstrādāti.
- Tālāk aprakstīts, kā tiek noteikts kalibrācijas derīgums:
  - Lai noteiktu derīgumu, jāapstrādā divu kalibratoru komplekts: augšējās un apakšējās vērtības kalibrators.

- Lai ģenerētu derīgus rezultātus, vismaz 2 atkārtojumu rezultātiem no 3 atkārtojumiem jāatbilst iepriekšnoteiktajiem parametriem. Apakšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir 3 log<sub>10</sub> SV/ml, un augšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir 5 log<sub>10</sub> SV/ml.
- Aprēķina kalibrācijas koeficientu, lai ņemtu vērā paredzamās atšķirības starp testa strēmelišu partijām; šo kalibrācijas koeficientu izmanto galīgās EBV DNS koncentrācijas noteikšanai.
- Ja viena vai abu kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga, atkārtoti apstrādājiet nesekmīgo(-s) kalibratoru(-s), izmantojot jaunu flakonu. Ja derīguma pārbaude ir nesekmīga vienam kalibratoram, iespējams atkārtot tikai nesekmīgā kalibratora pārbaudi, jo sistēma neprasa, lai lietotājs vēlreiz analizētu abus kalibratorus.
- Ja kalibratora(-u) derīguma pārbaude ir nesekmīga otrreiz pēc kārtas, sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu.

## Nederīgi rezultāti

Ja sistēmā NeuMoDx System veiktas analīzes NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 iegūtais rezultāts nav derīgs, tas atbilstoši radušās kļūdas veidam tiek ziņots kā Indeterminate (Neskaidrs), No Result (Nav rezultāta) vai Unresolved (Neatrisināts), un tests jāatkārto, lai iegūtu derīgu rezultātu.

Rezultāts Indeterminate (Neskaidrs) tiek ziņots, ja parauga apstrādes laikā tiek konstatēta NeuMoDx System kļūda. Ja rezultāts ir Indeterminate (Neskaidrs), ieteicama atkārtota testēšana.

Rezultāts No Result (Nav rezultāta) tiek ziņots, ja tiek konstatēta NeuMoDx System kļūda, un parauga apstrāde tiek pārtraukta. Ja rezultāts ir No Result (Nav rezultāta), ieteicama atkārtota testēšana.

Rezultāts Unresolved (Neatrisināts) tiek ziņots, ja nav konstatēts mērķis un nav parauga apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas, kas liecina par iespējamu reaģenta kļūdu vai inhibitoru klātbūtni. Ja rezultāts ir Unresolved (Neatrisināts), kā pirmā darbība ieteicama atkārtota testēšana. Ja atkārtota testēšana ir nesekmīga, iespējamās inhibīcijas efekta mazināšanai var izmantot atšķaidītu parauga materiālu (plašākus norādījumus skatiet sadaļā par ierobežojumiem).

Skatiet NeuMoDx 288 Molecular System operatora rokasgrāmatu (PN: 40600108) vai NeuMoDx 96 Molecular System operatora rokasgrāmatu (PN: 40600317); tajā ir kļūdas koda saraksts, kas varētu būt saistīti ar nederīgiem rezultātiem.

## Kvalitātes kontrole

Vietējie noteikumi parasti paredz, ka laboratorija ir atbildīga par kontroles procedūrām, ar ko uzrauga pilna analizēšanas procesa akurātumu un precizitāti, un ka tai, izmantojot apstiprinātas darbības efektivitātes specifiskājas nepārveidotai apstiprinātai testu sistēmai, jānosaka, cik reīzu, kādā veidā un cik bieži jātestē kontrolmateriāli.

## Ārējie kontrolmateriāli

- Ārējos kontrolmateriālus, kas pozitīviem kontrolmateriāliem satur neinfekciozu iekapsulētu EBV mērķi atšķaidītājā Basematrix, bet negatīviem kontroles materiāliem – Basematrix, nodrošina QIAGEN: tas ir komplekts, kurā ir NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
- Pozitīvi un negatīvi ārējie kontrolmateriāli jāapstrādā ik pēc 24 stundām. Ja nav derīga ārējo kontrolmateriālu komplekta, NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu lietotājam apstrādāt kontrolmateriālus, lai pēc tam varētu ziņot parauga rezultātus:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Paredzamā koncentrācija)	Uzlīmju krāsu shēma
Ļoti pozitīvais kontrolmateriāls NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 SV/ml (4,18 log <sub>10</sub> SV/ml)	Sarkans
Vāji pozitīvais kontrolmateriāls NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 SV/ml (2,18 log <sub>10</sub> SV/ml)	Pelēks
Negatīvs kontrolmateriāls NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (Nav attiecināms)	Melns

- Apstrādājot ārējos kontrolmateriālus, ievietojiet kontrolmateriālus parauga materiāla stobriņu turētājā un izmantojiet skārienkrānu, lai turētāju no automātiskās ievietošanas ierīces plaukta ielādētu sistēmā NeuMoDx System. NeuMoDx System atpazīst svītrkodus un sāk kontrolmateriālu apstrādi, ja būs ielādēti atbilstoši testēšanai nepieciešamie reaģenti vai palīgmateriāli.
- Šo ārējo kontrolmateriālu derīgumu NeuMoDx System novērtē, ņemot vērā paredzamos rezultātus.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV Quant (kvantitatīvais) rezultāts	SPC1 rezultāts
Ļoti pozitīvais kontrolmateriāls NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV pozitīvs) [Konc] 3,68–4,68 log <sub>10</sub> SV/ml	SPC1 pozitīvs
Vāji pozitīvais kontrolmateriāls NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV pozitīvs) [Konc] 1,58–2,78 log <sub>10</sub> SV/ml	SPC1 pozitīvs
Negatīvs kontrolmateriāls NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV negatīvs)	SPC1 pozitīvs

- Tālāk aprakstīts, kā jārikojas, ja ārējo kontrolmateriālu rezultāti nav atbilstoši:

- Pozitīvs testa rezultāts, kas ziņots par negatīvu kontrolmateriāla paraugu, var norādīt uz piesārņojumu, un ir jāpārbauda laboratorijas kvalitātes kontroles procedūras, lai noskaidrotu iemeslu. Raugiet, lai paraugu sagatavošanai tiktu izmantotas atsevišķas zonas, kontrolējiet visas darbības un RT-PCR iestatīšanu. Papildu padomus problēmu novēršanai skatiet *NeuMoDx 288 vai 96 Molecular System operatora rokasgrāmatā*.
- Negatīvs rezultāts, kas ziņots pozitīvam kontrolmateriāla paraugam, var liecināt par problēmu, kas ir saistīta ar reaģentu vai iekārtu.
- Abos iepriekš minētajos gadījumos vai ja rezultāts ir No Result (NR) (Nav rezultātu), Unresolved (UNR) (Nenoskaidrots) vai Indeterminate (IND) (Nenoteikts), nesekmīgā rezultāta kontrolmateriāls jāapstrādā atkārtoti, izmantojot svaigi atkausētu(-s) to kontrolmateriālu flakonu(-s), kuru derīguma tests bijis nesekmīgs.



- Ja pozitīvā ārējā kontrolmateriāla rezultāts aizvien ir Negative (negatīvs), sazinieties ar QIAGEN tehniskā atbalsta dienestu.
- Ja negatīvā ārējā kontrolmateriāla rezultāts aizvien ir Positive (pozitīvs), mēģiniet novērst visus iespējamās kontaminācijas avotus, tostarp nomainiet visus reagentus, un atkārtojiet testēšanu, tikai pēc tam sazinieties ar QIAGEN klientu apkalpošanas dienestu.
- Ja ārējie kontrolmateriāli nesniedz paredzamos rezultātus, ir jāatkārto pārbaudes ar pozitīvo un negatīvo kontrolmateriālu komplektu. Parauga rezultāti netiks ziņoti, ja kontrolmateriāli nesniedz paredzamos rezultātus.
- NeuMoDx System ir aprīkota ar automātiskas atkārtotas apstrādes/atkārtošanas iespēju, ko lietotājs var izvēlēties izmantot, lai rezultāta INVALID (Nederīgs) gadījumā tests tiktu automātiski atkārtoti apstrādāts, un tādējādi mazinātu rezultātu ziņošanas aizkavēšanos.

### Paraugu apstrādes (iekšējie) kontrolmateriāli

Platē NeuMoDx Extraction Plate ir iestrādāts eksogēns paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC1), kas ir pakļauts visam nukleīnskābes ekstrakcijas un reāllaika RT-PQR amplifikācijas procesam katram paraugam/kontrolmateriālam/kalibratoram. Katrā testa strēmelītē NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ir iekļauti prameri un zonde, kas specifiski SPC1. Šis SPC1 ļauj NeuMoDx System pārraudzīt DNS ekstrahēšanas un RT-PQR amplifikācijas procesu efektivitāti.

### DARBĪBAS EFEKTIVITĀTES RAKSTURLIELUMI

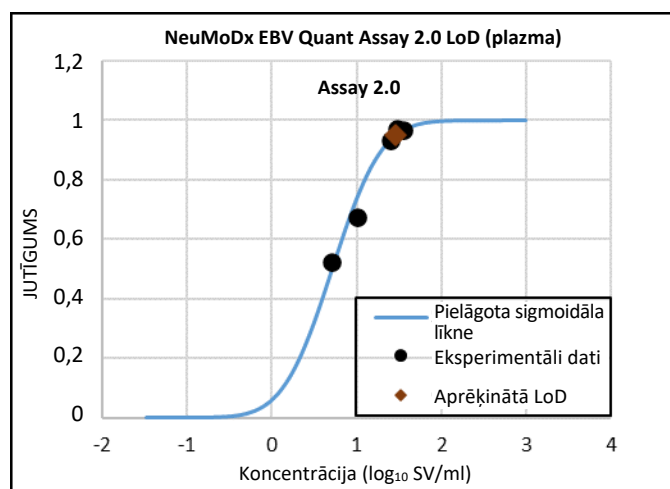
#### ANALĪTISKAIS JUTĪGUMS – noteikšanas robeža

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 analītiskais jutīgums tika raksturots divos secīgos etapos: 1. Sākotnējās noteikšanas robežas (Preliminary Limit of Detection, LoD) izvērtējums (probita analīze) un pēc tam 2. LoD apstiprinājums. 1. daļā tika testēti negatīvie parauga materiāli un skrīninga EBV PVO 1. starptautiskā standarta atšķaidījumu sērijas negatīvajā cilvēka plazmā, lai noteiktu sākotnējo LoD sistēmā NeuMoDx Systems. Sākotnējais LoD tika definēts kā zemākais noteiktais mērķa līmenis ar rādītāju 95%, kā noteikts ar probita analīzi. 2. daļā sākotnējais LoD tika apstiprināts, testējot īpaši izveidoto paneli LoD līmenī. Abi pētījuma etapi tika veikti 3 dienas vairākās sistēmās ar vairākām NeuMoDx reaģentu partijām. 1. daļā tika apstrādāti kopumā 144 atkārtojumi katrā atšķaidījuma līmenī. Noteikšanas rādītāji ir norādīti 2. tabulā.

2. tabula. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sākotnējā LoD noteikšana

Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [ $\log_{10}$ SV/ml]	PLAZMA		
		Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
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%

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 noteiktā LoD vērtība plazmā, izmantojot EBV PVO 1. starptautisko standartu, tika noteikta kā 29,3 SV/ml ( $1,47 \log_{10}$  SV/ml) ar 95% ticamības intervālu (Confidence Interval, CI) 24,4–37,1 SV/ml, ( $1,39$ – $1,57 \log_{10}$  SV/ml) [1. att.]. Šis LoD pēc tam tika apstiprināts trāpījumu procenta analīzē, kas ir attēlota 3. tabulā.



1. attēls: Probita analīze, kas izmantota NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD noteikšanai plazmas paraugos

3. tabula. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD apstiprināšana

Sistēma	Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [log <sub>10</sub> SV/ml]	Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Viss			192	186	96,9%

Tika apstiprināts, ka LoD EBV 2. genotipam (GT2) bija 29,3 SV/ml [1,47 log<sub>10</sub> SV/ml], kā tika noteikts trāpījumu procenta analizē.

**Pamatojoties uz abu pētījumu rezultātiem, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 noteiktā LoD bija 29,3 SV/ml [1,47 log<sub>10</sub> SV/ml].**

#### ANALĪTISKAIS JUTĪGUMS – kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ)

Kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža LLOQ definēta kā zemākais mērķa līmenis, kādā tiek sasniegta > 95% noteikšana, UN summārā analīzes kļūda (SAK) ir ≤ 1,0. Lai noteiktu LLOQ, tika aprēķināta SAK katram EBV mērķa līmenim, kuram ziņotā noteikšana bija > 95%, aprēķinot LoD. SAK ir definēta šādi:

$$SAK = \text{novirze} + 2 * SN \text{ (Westgard statistika)}$$

Novirze ir aprēķinātās koncentrācijas vidējā aritmētiskā un paredzamās koncentrācijas starpības absolūtā vērtība. SN attiecas uz parauga kvantitatīvi noteiktās vērtības standartnovirzi.

Apkopotie rezultāti, kas iegūti LLOQ pētījumā izmantoto EBV plazmas parauga materiālu PVO 1. starptautiskā standarta 5 līmeņiem, ir parādīti 4. tabulā. Atbilstoši šai datu kopai un iepriekš noteiktajai LoD noteiktā LLOQ bija 30,0 SV/ml (1,48 log<sub>10</sub> SV/ml), un to pēc tam apstiprināja EBV genotipam 2 (GT2).

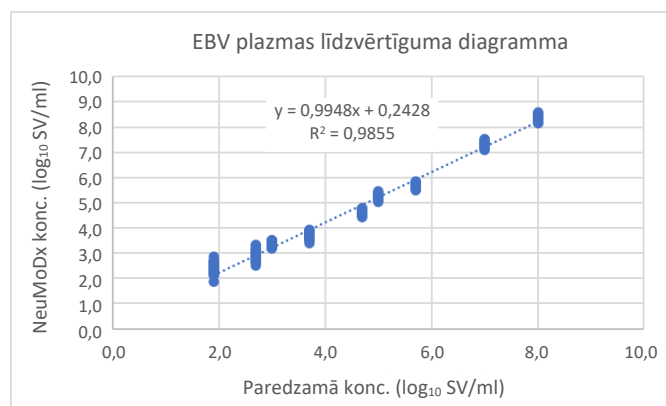
4. tabula: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLOQ ar novirzi un SAK

Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [log <sub>10</sub> SV/ml]	Plazma				
		Vidējā konc. [log <sub>10</sub> SV/ml]	Noteikšanas rādītājs	SN	Novirze	SAK
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

**Pamatojoties uz šo pētījumu rezultātiem, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 noteiktais LoD bija 29,3 SV/ml (1,47 log<sub>10</sub> SV/ml), un noteiktais LLOQ bija 30,0 SV/ml [1,48 log<sub>10</sub> SV/ml].**

#### Linearitāte un kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (ULOQ) noteikšana

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitāti un kvantitatīvās noteikšanas augšējo robežu (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) noteica plazmā, atšķaidījumu sērijas sagatavošanai izmantojot EBV PVO 1. starptautisko standartu papildus diviem sekundārajiem standartiem: NeuMoDx iekapsulētu EBV mērķi un ATCC EBV kultūru (ATCC, Manassas, VA). Pirms testēšanas visiem sekundārajiem standartiem tika noteikta izsekojamība atbilstoši EBV PVO 1. starptautiskajam standartam. EBV negatīvas plazmas kopparaugā sagatavoja 10 elementu paneli, radot paneli, kas aptvertu koncentrāciju diapazonu 1,48–8,0 log<sub>10</sub> SV/ml. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 noteiktā ULOQ bija 8,0 log<sub>10</sub> SV/ml. Lai novērtētu standarta līknes linearitāti, tika sagatavots apstiprinājuma panelis, un NeuMoDx System ziņotās EBV analīzes koncentrācijas, salīdzinot ar paredzamajām vērtībām, ir parādītas 2. attēlā.



2. attēls. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitāte

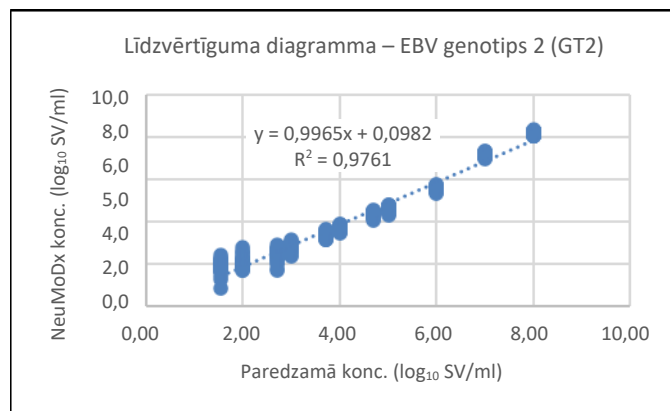


### EBV genotipa 2 (GT2) linearitāte

Tika raksturota NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitāte EBV genotipā 2 (GT2), testējot vienpadsmit dažādas EBV GT2 koncentrācijas, ar noteiktu izsekojamību saskaņā ar EBV PVO 1. starptautisko standartu, kas sagatavotas EBV negatīvas plazmas kopparaugā. Pētījumā tika testēti 36 atkārtējumi 11 koncentrācijās, 2 NeuMoDx Systems sistēmās un 3 EBV Quant Test Strips 2.0 partijās. Linearitāte EBV genotipam 2 (GT2) ir parādīta 5. tabulā un 3. attēlā.

5. tabula: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitāte EBV genotipam 2

Genotips	Linearitātes vienādojums y = NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantitatīvā noteikšana x = paredzamā kvantitatīvā noteikšana	R <sup>2</sup>
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761



3. attēls. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitāte EBV genotipam 2

### Analītiskais specifiskums – krusteniskā reaģētspēja

Analītisko specifiskumu apliecināja, atsijājot 36 organismus, ko var konstatēt asins/plazmas parauga materiālos, kā arī EBV filogēnētiski līdzīgas sugas, lai noteiktu krustenisko reaģētspēju. Organismus augstā koncentrācijā sagatavoja kopparaugos pa 5–6 organismiem. Pārbaudītie organismi ir attēloti 6. tabulā. Nevienam testētajam organismam nenovēroja krustenisko reaģētspēju, kas apstiprina NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 100% analītisko specifiskumu.

6. tabula: Patogēni, kurus izmantoja analītiskā specifiskuma pierādīšanai

Organismi, kas nav mērķa					
Poliomas BK vīruss	Adenovīrusa 5. tips	Herpesvīrusa 1. tips	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovīruss	C hepatīta vīruss	Herpesvīrusa 2. tips	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Cilvēka herpesvīrusa 6. tips	Parvovīruss B19	Varicella-Zoster vīruss	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cilvēka herpesvīrusa 7. tips	JC vīruss	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Cilvēka herpesvīrusa 8. tips	Cilvēka papilomas vīruss 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
B hepatīta vīruss	Cilvēka papilomas vīruss 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

### Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, komensāli organismi

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 izvērtēja, lai noteiktu interferenci ne mērķa organismu klātbūtnē, izmantojot tos pašus organismu kopparaugus, ko sagatavoja krusteniskās reaģētspējas testēšanai un kas ir norādīti iepriekš 6. tabulā. Negatīvai EBV plazmai pievienoja organismus, ko apkopoja grupās pa 4–7; pēc tam šiem kopparaugiem pievienoja EBV mērķi koncentrācijā 90 SV/ml [1,95 log<sub>10</sub> SV/ml]. Šo organismu klātbūtnē nenovēroja nozīmīgu interferenci, par ko liecina kvantitatīvās noteikšanas minimāla novirze no kontrolmateriālu parauga materiāliem, kas nesaturēja nevienu traucējošu vielu.

**Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, endogēnās un eksogēnās vielas**

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 novērtēja tādu tipisku eksogēno un endogēno traucējošo vielu klātbūtnē, ko konstatē EBV klīniskajos plazmas parauga materiālos. Šīs vielas ietvēra neparasti augstas asins komponentu koncentrācijas, kā arī parastas pretvīrusu zāles un imūnsupresantus, kas ir klasificēti 7. tabulā. Katru vielu pievienoja atsiņātai EBV negatīvai cilvēka plazmai, kam pievienots 90 SV/ml [ $1,95 \log_{10}$  SV/ml] EBV, un paraugus analizēja, lai noteiktu interferenci, salīdzinot ziņoto koncentrāciju pozitīvajam kontrolmateriālam. Lai noteiktu iespējamu interferenci, testēja arī ar EBV infekciju saistītu parastu slimības stāvokļa plazmu. Visu testēto vielu vidējā koncentrācija un novirze salīdzinājumā ar kontrolmateriāla paraugiem, kam pievienots EBV tādā pašā koncentrācijā, ir parādīta 8. tabulā. Neviena eksogēnā un endogēnā viela neietekmēja NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 specifiskumu.

**7. tabula:** Interferences testēšana – eksogēnās vielas (zāļu klasifikācija)

Kopparaugs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija	Kopparaugs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija
1. kopparaugs	Azatioprīns	Imūnsupresants	4. kopparaugs	Trimetoprimis	Antibiotika
	Ciklosporīns	Imūnsupresants		Vankomicīns	Antibiotika
	Foskarnets	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)		Takrolims	Imūnsupresants
	Ganciklovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)		Everolims	Imūnsupresants
	Valganciklovīra hidrohlorīds	Pretvīrusu zāles (EBV)		Kālija klavulanāts	Antibiotika
2. kopparaugs	Prednizons	Kortikosteroīds/ imūnsupresants	5. kopparaugs	Famotidīns	Histamīna receptoru antagonists
	Cidofovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)		Sulfametoksazols	Antibiotika
	Cefotetāns	Antibiotika (plaša spektra)		Valacilovīrs	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)
	Cefotaksīms	Antibiotika (plaša spektra)		Letermovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)
	Flukonazols	Pretsēnīšu līdzeklis		Tikarcilīna dinātrija sāls	Antibiotika
3. kopparaugs	Mikofenolāta mofetils	Imūnsupresants		Leflunomīds	Imūnsupresants
	Mikofenolāta nātrija sāls	Imūnsupresants			
	Piperacilīns	Antibiotika			
	Sirolīms/rapamicīns	Imūnsupresants			
	Tazobaktāms	Modificēta antibiotika			

**8. tabula.** Interferences testēšana – endogēnās un eksogēnās vielas

Endogēns + slimības stāvoklis	Vidējā konc.	Novirze
	$\log_{10}$ SV/ml	$\log_{10}$ SV/ml
Hemoglobīns	2,19	0,32
Triglicerīdi	1,90	0,02
Bilirubīns	2,12	0,24
Albumīns	1,95	0,07
Sistēmiska sarkanā vilkēde (SSV)	2,08	0,20
Antinukleārās antivielas (ANA)	2,36	0,48
Reimatoīdais artrīts (RA)	1,89	0,01
Pozitīvais kontrolmateriāls	1,88	N/A (Nav attiecināms)
Eksogēnā (zāles)	Vidējā konc.	Novirze
	$\log_{10}$ SV/ml	$\log_{10}$ SV/ml
1. kopparaugs: azatioprīns, ciklosporīns, foskarnets, ganciklovīrs, valganciklovīra hidrohlorīds	2,19	0,09
2. kopparaugs: prednizons, cidofovīrs, cefotetāns, cefotaksīms, flukonazols	2,11	0,01
3. kopparaugs: mikofenolāta mofetils, mikofenolāta nātrija sāls, piperacilīns, sirolīms/rapamicīns, tazobaktāms	2,16	0,06
4. kopparaugs: trimetoprimis, vankomicīns, takrolims, everolims, kālija klavulanāts	2,24	0,14
5. kopparaugs: famotidīns, sulfametoksazols, letermovīrs, valacilovīrs, tikarcilīna dinātrija sāls, leflunomīds	2,26	0,16
Pozitīvais kontrolmateriāls	2,10	N/A (Nav attiecināms)

## Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 precizitāte tika noteikta, EBV parauga materiālus, kas sagatavoti ar NeuMoDx EBV pozitīvo kontrolmateriālu un EBV kultūru (ATCC, Manassas, VA), 6 elementu paneļa 3 atkārtojumus testējot divas reizes dienā, izmantojot divas NeuMoDx 288 Systems un divas NeuMoDx 96 System 12 dienas. Tika raksturota vienas testēšanas reizes, vienas dienas un vienas sistēmas precizitāte, un noteiktā vispārējā standartnovirze bija  $\leq 0,18 \log_{10}$  SV/ml. Dažādās sistēmās, dienās un testēšanas reizēs precizitāte bija teicama, kā redzams 9. tabulā. Precizitāte starp operatoriem netika raksturota, jo operatora darbības paraugu apstrādē, izmantojot NeuMoDx System, nav nozīmīgas.

9. tabula: Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sistēmās NeuMoDx Systems

Mērķa EBV konc. [ $\log_{10}$ SV/ml]	Vidējā EBV konc. [ $\log_{10}$ SV/ml]	Vienas sistēmas SN	Vienas dienas SN	Vienas izpildes SN	Kopējais (vienas laboratorijas) SN
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

## Reproducējamība ar dažādām partijām

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 reproducējamību ar dažādām partijām noteica, novērtējot 3 NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 partijas, un tā bija daļa no vienas laboratorijas precizitātes pētījuma. Darbības efektivitātes novērtēšanai izmantoja EBV pozitīvas plazmas 6 elementu paneli (10. tabula). Ar dažādām partijām iegūtie rezultāti tika analizēti un attēloti 10. tabulā. Testa strēmeliem NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0 maksimālā vispārējā novirze bija  $0,29 \log_{10}$  SV/ml, un maksimālā vispārējā SN bija  $0,18 \log_{10}$  SV/ml. Dažādām partijām darbības efektivitāte bija teicama, jo visu paneļa elementu kvantitatīvā noteikšana atbilda pielaišanas specifikācijai.

10. tabula: Reproducējamība ar dažādām partijām – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, testa strēmeliem

Paredzamā konc. ( $\log_{10}$ SV/ml)	1. partija			2. partija			3. partija		
	Vid. konc. ( $\log_{10}$ SV/ml)	Log konc. SN	Abs novirze	Vid. konc. ( $\log_{10}$ SV/ml)	Log konc. SN	Abs novirze	Vid. konc. ( $\log_{10}$ SV/ml)	Log konc. SN	Abs novirze
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

## Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ietver paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai ziņotu par procesa etapu kļūdām vai par inhibīciju, kas ietekmē analīzes darbības efektivitāti. Par modeli izmantojot NeuMoDx CMV Quant Assay, SPC1 efektivitāti plazmas parauga materiāliem testēja apstākļos, kas ir raksturīgi kritiski būtiskām apstrādes darbību kļūdām, kādas varētu rasties paraugu apstrādes laikā un ko var nekonstatēt NeuMoDx System darbības efektivitāti pārraugošie sensori. Citomegalovīrusa pozitīvus parauga materiālus (koncentrācijā  $3 \log_{10}$  SV/ml) un negatīvus parauga materiālus pārbaudīja šādos apstākļos: inhibitora klātbūtne, netiek pievadīts skalošanas šķīdums un nenotiek skalošanas izpūšana. Apstrādes neefektivitāti, kas nelabvēlīgi ietekmēja vīrusa mērķa noteikšanu/kvantitatīvo noteikšanu, atspoguļoja SPC1 mērķa darbība, kā parādīts šeit: 11. tabula. Visos testēšanas gadījumos tika pierādīts, ka vai nu paraugu apstrādes kontrolmateriāls pienācīgi pārbaudīja apstrādes neefektivitāti un inhibitoru klātbūtni, vai arī paredzamās apstrādes neefektivitātes nelabvēlīgā ietekme uz SPC1 noteikšanu vai uz vīrusa mērķa noteikšanu un kvantitatīvo noteikšanu nebija nozīmīga. Tādējādi tika pierādīts, ka SPC1 sekmīgi un efektīvi uzrauga analīzes darbības efektivitāti sistēmā NeuMoDx System.

11. tabula: Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte vīrusa DNS noteikšanā plazmā\*

Pārbaudītā apstrādes darbības kļūda	1. paraugu apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas statuss	CMV mērķis amplifikācijas statuss	Analīzes rezultāts
Presence of Inhibitor (Inhibitora klātbūtne)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Delivered (Nav skalošanas)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Blowout (Nenotiek skalošanas izpūšana)	Amplified (Amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	Positive (Pozitīvs) ar kvantitatīvo noteikšanu $0,3 \log_{10}$ SV/ml kontroles materiāla

\* Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitātes novērtēšanai par modeļa sistēmu izmantoja citomegalovīrusu (CMV) plazmas parauga materiālos.

## Krusteniskā kontaminācija

Krusteniskās kontaminācijas rādītāju plazmas parauga materiāliem noteica, pārmaiņus apstrādājot EBV ļoti pozitīvus un negatīvus paraugus. Tika veiktas piecas pārbažu sērijas “dambretes galdiņa” veidā, pavisam testējot 60 EBV negatīvas plazmas atkārtojumus un 60 plazmas atkārtojumus, kam pievienots EBV koncentrācijā  $6,0 \log_{10}$  SV/ml abās sistēmās: NeuMoDx 288 un 96 Molecular Systems. Abos sistēmas veidos visu negatīvā parauga materiāla 120 atkārtojumu ziņotie rezultāti bija negatīvi, kas pierāda, ka plazmas paraugu apstrādes laikā sistēmā NeuMoDx Systems krusteniskā kontaminācija nenotiek.

## Parauga materiālu matricēs līdzvērtīgums

Lai pierādītu līdzvērtīgumu, testēja svaigus un sasaldētus plazmas parauga materiālus, par modeli izmantojot līdzīgu ar asinīm pārnesamu vīrusu – CMV. Svaigos parauga materiālus glabāja 4 °C temperatūrā, līdz tiem pievienoja CMV trīs koncentrācijās un tos testēja, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Paraugi tika sasaldēti vismaz 24 stundas temperatūrā -20 °C. Pēc glabāšanas saldētavā parauga materiālus atkausēja un testēja vēlreiz. Svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu rezultātus salīdzināja, izmantojot regresijas analīzi, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Dati uzrādīja svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu teicamu līdzvērtīgumu, virziena koeficients bija 1,0, un novirze (regresijas konstante) bija ļoti maza, kā parādīts 12. tabulā tālāk.

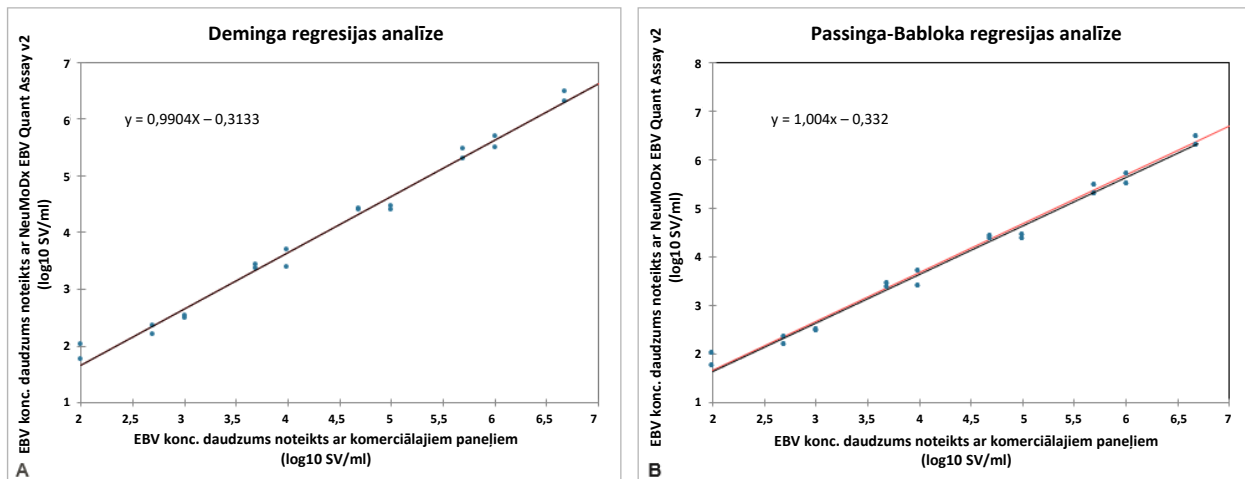
12. tabula: Parauga materiālu matricēs līdzvērtīgums

Prasība parametram	Svaigs, salīdzinot ar sasaldētu, ar EDTA
Virziena koeficients [0,9–1,1]	1,000
Regresijas konstante < $0,5 \log_{10}$ SV/ml	0,020
<i>p</i> vērtība >0,05	0,631

## Kvantitatīvās noteikšanas darbības efektivitātes raksturojums

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantitatīvo darbības efektivitāti raksturoja, apstrādājot divus komerciālus EBV pārbaudes paneļus no AcroMetrix un Exact Diagnostics (izsekojams atbilstoši EBV PVO 1. starptautiskajam standartam) sistēmās NeuMoDx Molecular Systems.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 un abu komerciālo EBV pārbaudes paneļu korelācija bija teicama (4. attēls), datus analizējot ar Deminga regresijas (4.A attēls) vai Passinga-Babloka metodi (4.B attēls).



## 4. attēls. AcroMetrix un Exact Diagnostics pārbaudes paneļu un NeuMoDx EBV Quant Assay līdzvērtīguma diagramma.

A. Lineārās regresijas analīze, izmantojot Deminga metodi. B. Lineārās regresijas analīze, izmantojot Passinga-Babloka metodi.

Deminga regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē vispārējais virziena koeficients 0,990 un regresijas konstante (novirze) -0,313, kas apliecina, ka ar NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 un EBV pārbaudes paneļiem iegūtie koncentrācijas rezultāti korelē ar pieņemamu novirzi. Passinga-Babloka lineārais pielāgojums arī apliecina ar NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 un EBV pārbaudes paneļiem iegūto rezultātu korelācijas nozīmīgumu: vispārējais virziena koeficients ir 1,004, un regresijas konstante (novirze) ir -0,332. Pēc Passinga-Babloka analīzes aprēķinātā *p* vērtība ir 0,988.

13. tabula: Deminga un Passinga-Babloka lineārās regresijas analīzes kopsavilkums

Deminga analīze		Passinga-Babloka analīze	
Regresijas konstante	Virziena koeficients	Regresijas konstante	Virziena koeficients
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95% TI (-0,620; -0,007)	95% TI (0,928; 1,053)	95% TI (-0,548; -0,116)	95% TI (0,950; 1,047)

## ATSAUCES

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.

## PREČU ZĪMES

NeuMoDx™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.
















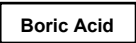

NeuDry™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.

Seracare® ir Seracare Life Sciences, Inc. reģistrēta preču zīme.

TaqMan® ir Roche Molecular Systems, Inc. reģistrēta preču zīme.

Visi citi produktu nosaukumi, preču zīmes un reģistrētās preču zīmes, kas redzamas šajā dokumentā, pieder to attiecīgajiem īpašniekiem.

## SIMBOLU SKAIDROJUMS

	Lietošanai tikai ar recepti		Satur pietiekami daudz materiāla <n> testiem
	Ražotājs		Skatīt lietošanas instrukciju
	Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai		Uzmanību!
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā		Apdraudējums veselībai
	Kataloga numurs		CE zīme
	Partijas kods		Saturs
	Derīguma termiņš		Satur dzīvnieku izcelsmes bioloģisko materiālu
	Temperatūras robežvērtība		Borskābe
	Neizmantot atkārtoti		



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



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

Tehniskais atbalsts/uzraudzības ziņojumi: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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

