

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

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

IVD A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular SystemPentru actualizări ale prospectului, accesați: www.qiagen.com/neumodx-ifu

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

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

DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx EBV Quant Assay este un test automat, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic pentru cuantificarea ADN-ului virusului Epstein-Barr (EBV) umandin plasmă. Analiza NeuMoDx EBV Quant Assay aplicată pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System (sistemele NeuMoDx System) încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acidul nucleic țintă din plasmă, și reacția de polimerizare în lanț în timp real (Polymerase Chain Reaction, PCR) pentru a viza două regiuni extrem de bine conservate în genomul virusului Epstein-Barr.

NeuMoDx EBV Quant Assay este destinat detecției și cuantificării *in vitro* a ADN-ului virusului Epstein-Barr în eșantioane de plasmă umană proaspete și congelate, utilizând sistemele NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System. Analiza NeuMoDx EBV Assay este destinată utilizării în diagnosticarea și monitorizarea infecțiilor cu EBV. Analiza poate fi utilizată pentru a măsura nivelurile de ADN EBV pentru a evalua răspunsul la tratamentul antiviral. Această analiză este destinată utilizării împreună cu simptomele clinice și cu alți markeri de laborator ai evoluției bolii pentru gestionarea clinică și monitorizarea infecției cu EBV. Analiza nu este destinată utilizării ca testare de screening pentru prezența EBV în sânge sau produși sanguini.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui, care conțin EDTA ca agent de anticoagulare, poate fi folosit pentru pregătirea plasmă. Pentru inițierea testării, plasma dintr-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System este amplasată într-un suport de eprubete pentru eșantioane și încărcată pe masa de lucru a sistemului NeuMoDx System. Pentru fiecare eșantion, o parte alicotă de 250 μl de probă plasmatică este amestecată cu NeuMoDx Lysis Buffer 5, iar NeuMoDx System parcurge automat toate etapele necesare pentru extracția acidului nucleic țintă, pregătește ADN-ul izolat pentru amplificare PCR în timp real și, dacă aceștia sunt prezenți, amplifică și detectează produșii de amplificare (două regiuni extrem de bine conservate în genomul EBV). NeuMoDx EBV Quant Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (Sample Process Control, SPC1), care să ajute la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, și a erorilor NeuMoDx System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

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

Utilizarea monitorizării încărcăturii virale EBV facilitează diagnosticarea și gestionarea PTL asociate cu EBV. Cu toate acestea, detecția acidului nucleic EBV în sânge nu este suficientă pentru diagnosticarea PTL asociate cu EBV. Testarea acidului nucleic (Nucleic Acid Testing, NAT) trebuie utilizată doar împreună cu simptomele clinice și cu alți markeri de laborator ai evoluției bolii pentru gestionarea clinică și monitorizarea pacienților infectați cu EBV. Deși liniile directe actuale pentru gestionarea și tratamentul infecțiilor cu EBV la indivizi imunocompromiși sunt ambigue în ceea ce privește *momentul* începerii terapiei antivirale, toate necesită monitorizare constantă a încărcăturii virale odată ce terapia antivirală este inițiată, pentru a ajuta la atenuarea efectelor adverse severe ale medicamentelor la astfel de populații.^{3,4}

PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx EBV Quant Assay pe NeuMoDx System utilizează NeuMoDx EBV Quant Test Strip, calibratoare NeuMoDx EBV Calibrator, substanțe de control externe NeuMoDx EBV External Control, NeuMoDx Lysis Buffer 5 și reactivi NeuMoDx de uz general pentru a efectua analiza. Testul NeuMoDx EBV Quant Assay combină extracția automatizată a ADN-ului, amplificarea și detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele de sânge integral sunt recoltate în eprubete cu EDTA, pentru pregătirea plasmă. Eșantionul de plasmă dintr-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System este amplasat într-un suport de eprubete pentru eșantioane și încărcat pe masa de lucru a sistemului NeuMoDx System pentru procesare. Nu mai este necesară nicio altă intervenție a operatorului.

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

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

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

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

O sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor (490/521 nm) la capătul 5' și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3' este utilizată pentru detecția ADN-ului EBV. Pentru detectarea SPC1, sonda TaqMan este etichetată cu o vopsea fluorescentă alternativă (535/556 nm) la capătul 5' și cu o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul sistemului NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)). Dacă un rezultat este POSITIVE (POZITIV), software-ul sistemului NeuMoDx System oferă, de asemenea, și o valoare cantitativă asociată probei sau raportează dacă valoarea calculată pentru concentrație este în afara limitelor de cuantificare.

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Testări pe unitate	Teste per pachet
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Reactivi PCR deshidratați care conțin sonda și soluțiile de amorsare TaqMan specifice EBV și SPC1.</i>	16	96

Materiale suplimentare necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particule paramagnetice deshidratate, enzimă litică și substanțe de control pentru procesarea probei</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe pentru EBV, pentru a stabili validitatea curbei standard</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Seturi de unică folosință de substanțe de control pozitive și negative la EBV pentru a stabili validitatea zilnică a NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µL) with Filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µL) with Filters

Instrumentar necesar

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

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx EBV Quant Assay este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Eșantioanele trebuie manipulate întotdeauna ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ și în Documentul CLSI M29-A4.⁶
- Un rezultat pozitiv indică prezența ADN-ului EBV.

- Performanța NeuMoDx EBV Quant Assay este limitată la utilizarea de către personal instruit în utilizarea NeuMoDx System și în manipularea materialelor infecțioase.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivi în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării (generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800500]).
- Substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control [REF 900501] trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Volumul minim al eșantionului pentru părți alicote secundare depinde de dimensiunea eprubetei/suportul eprubetelor pentru eșantioane, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați întotdeauna contaminarea microbiană și dezoxiribonucleică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. Se recomandă utilizarea pipetelor de transfer sterile de unică folosință fără DNază. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx EBV Quant Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx EBV Quant Test Strip sau NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a recipientului NeuMoDx Lysis Buffer 5; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt disponibile la cerere.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.

DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx EBV Quant Test Strip sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 18 și 23 °C.
- Nu utilizați consumabilele și reactivii după data de expirare menționată.
- Nu utilizați niciun produs de testare dacă ambalajul primar sau cel secundar a fost compromis vizual.
- Nu reîncărcați niciun produs de testare care a fost încărcat anterior pe un alt NeuMoDx System.
- Odată încărcată, NeuMoDx EBV Quant Test Strip poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 14 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandelete de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de sistem.
- Deși sunt neinfecțioase, calibratoarele NeuMoDx EBV Calibrators și substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Controls trebuie aruncate după utilizare ca deșeuri biopericuloase de laborator, împreună cu deșeurile biopericuloase de laborator, pentru a reduce riscul de contaminare cu acidul nucleic al țintei înglobat.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

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

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

- Eșantioanele pregătite de plasmă trebuie depozitate între 2 și 8 °C timp de maxim 7 zile înainte de testare, și maxim 8 ore la temperatura camerei.
- Eșantioanele plasmatice pregătite pot fi depozitate la < -20 °C timp de până la 8 săptămâni pentru plasmă înainte de procesare; probele plasmatice nu trebuie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare înainte de utilizare.
 - Dacă probele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C); vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.
 - După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 8 ore.
- Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
- Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării EBV.
- Accesați secțiunea Pregătirea testării.

Procesul global de punere în aplicare a analizei NeuMoDx EBV Quant Assay este sintetizat mai jos, în *Figura 1*.

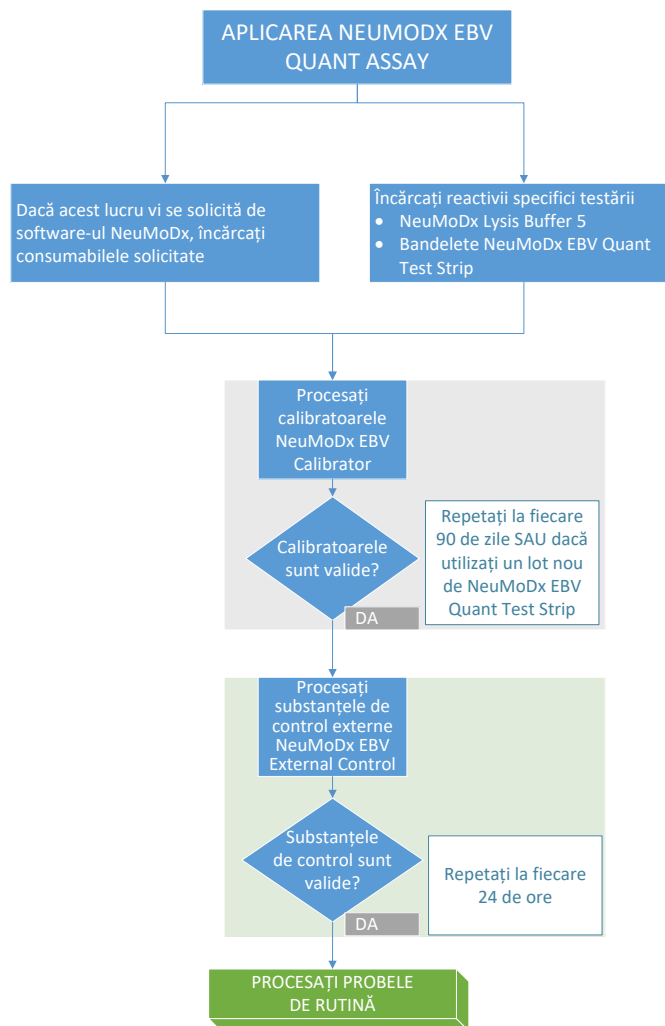


Figura 1: Flux de lucru pentru aplicarea NeuMoDx EBV Quant Assay

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea testării

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System.
2. Transferați o parte alicotă de plasmă în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (32 de eprubete): diametru cuprins între 11 și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 400 ml
 - Suport de eprubete pentru eșantioane (24 de eprubete): diametru cuprins între 14,5 și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 și 120 mm; volumul minim de umplere ≥ 850 ml

Utilizarea NeuMoDx System

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

1. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandele de testare NeuMoDx System cu bandele NeuMoDx EBV Quant Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandele de testare în NeuMoDx System.
2. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, goliți coșul de gunoi pentru deșeuri de amorsare sau pentru deșeuri biopericuloase, după caz.
4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, procesați Calibrators [REF 800500] și/sau External Controls [REF 900501], după cum este necesar. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea *Procesarea rezultatelor*.
5. Încărcați eprubetele pentru eșantioane/calibratoare/substanțe de control într-un suport standard pentru 32 de eprubete și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele pentru eșantioane.
6. Amplasați suportul de eprubete pentru eșantioane în orice poziție deschisă pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate.

LIMITĂRI

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
- Performanța NeuMoDx EBV Quant Test Strip a fost stabilită pentru eșantioanele plasmatice preparate din sânge integral recoltat cu EDTA pe post de anticoagulant. Nu a fost evaluată utilizarea NeuMoDx EBV Quant Test Strip împreună cu alte tipuri de eșantioane clinice, iar caracteristicile de performanță ale acestei testări sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
- Deoarece detecția EBV depinde de numărul de virusuri prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
- Calibratoarele și substanțele de control externe trebuie să fie procesate conform recomandărilor din prospecte și așa cum vi se solicită de către software-ul sistemului NeuMoDx System înainte de procesarea probelor clinice de rutină.
- Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din identificarea greșită a eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.
- Dacă țintele EBV și ținta SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
- Dacă rezultatul NeuMoDx EBV Quant Assay este Positive (Pozitiv), dar valoarea de cuantificare depășește limitele de cuantificare, NeuMoDx System va raporta dacă EBV detectat a fost *mai mic decât* limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) sau *mai mare decât* limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- În eventualitatea în care EBV detectat a fost mai mic decât LLoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay poate fi repetat (dacă se dorește) cu o altă parte alicotă a eșantionului.
- În eventualitatea în care EBV detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay poate fi repetat cu o parte alicotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluare 1:100 sau 1:1000 în plasmă negativă la EBV sau în Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Sistemul va calcula automat concentrația eșantionului original, după cum urmează: Concentrația eșantionului original = \log_{10} (factor de diluție) + concentrația raportată a probei diluate, atât timp cât factorul de diluție a fost selectat în mod corespunzător în software, înainte de repetare.

- Prezența ocazională a inhibitorilor PCR în plasmă poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului; dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă repetarea testării cu același eșantion diluat în Basematrix la 1:10 sau 1:100.
- Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența infecției virale active. Mai degrabă, un rezultat pozitiv presupune prezența ADN-ului virusului Epstein-Barr.
- Deși posibilitatea este foarte scăzută, deleția sau mutațiile din ambele regiuni conservate ale genomului EBV vizate de NeuMoDx EBV Quant Assay poate afecta detecția sau poate genera un rezultat eronat folosind NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Rezultatele obținute din NeuMoDx EBV Quant Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; testul nu este destinat diagnosticării infecției.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” („Rezultate”) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System.

Rezultatele NeuMoDx EBV Quant Assay sunt generate automat de software-ul sistemului NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx EBV (EBV Assay Definition File, ADF). Un rezultat NeuMoDx EBV Quant Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv) cu o concentrație EBV raportată, Positive (Pozitiv) mai mare decât ULoQ, Positive (Pozitiv) mai mic decât LLoQ, Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie din *Tabelul 1*.

Tabelul 1: Algoritm de decizie NeuMoDx EBV Quant Assay

Rezultat	EBV	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitiv)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND } (\$I) \text{ EPR} > 2 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} \geq 1500]$ OR (SAU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} \geq 1500]$	Nu se aplică
Positive (Pozitiv), mai mare decât limita superioară de cuantificare [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log_{10} UI/ml)	$[\text{CONC}] > 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)}$	Nu se aplică
Positive (Pozitiv), mai mic decât limita inferioară de cuantificare [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log_{10} UI/ml)	$[\text{CONC}] < 2,3 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)}$	Nu se aplică
Negative (Negativ)	N/A (Nu se aplică) OR (SAU) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (\$I) \text{ EPR} \leq 2]$ OR (SAU) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} < 1500]$ OR (SAU) $\text{Ct} > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) ($29 \leq Ct \leq 35$) și $\text{EP} \geq 2000$
Indeterminate (Neconcludent)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem observate)	
Unresolved (Nerezolvat)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Nu s-au observat erori de sistem)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescență cu punct final) (după corecția liniei de bază); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Raportul fluorescenței cu punct final); C_t = Cycling Threshold (Prag de ciclare);

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

Calculul pentru testare

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

Calibrarea testării

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

Calibratoare

1. Calibratoarele NeuMoDx EBV Calibrator sunt furnizate într-un kit [REF 800500] și conțin țintă EBV neinfecțioasă încapsulată, preparată în Basematrix.
2. Cu fiecare lot nou de bandelete NeuMoDx EBV Quant Test Strip trebuie procesat câte un set de calibratoare EBV, dacă un fișier de definiție a testului EBV nou este încărcat în NeuMoDx System, dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul sistemului NeuMoDx System este modificat.
3. Software-ul sistemului NeuMoDx System va anunța utilizatorul cu privire la momentul în care trebuie procesate calibratoare; nu poate fi folosit pentru testare un lot nou de bandelete de testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
4. Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
 - a) Un set de două calibratoare – puternice și slabe – trebuie procesat pentru stabilirea validității.
 - b) Pentru generarea unor rezultate valide, cel puțin 2 din cele 3 replicate trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală cu calibrator slab este $4 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$, iar ținta nominală cu calibrator puternic este $6 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$.
 - c) Se calculează un coeficient de calibrare pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandelete de testare; acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de EBV.
5. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului eșuat (calibratoarelor eșuate) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să execute din nou ambele calibratoare.
6. În cazul în care calibratorul (calibratoarele) eșuează în verificarea validității a doua oară consecutiv, contactați NeuMoDx Molecular, Inc.

Controlul calității

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

Substanțe de control externe

1. Materialele de control externe, care conțin ținta EBV neinfecțioasă încapsulată în Basematrix pentru substanțe de control pozitive, sunt furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc. într-un kit care conține substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control [REF 900501].
2. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate o dată la 24 de ore. Dacă nu există un set de substanțe de control externe valide, software-ul sistemului NeuMoDx System va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
3. Dacă sunt necesare substanțe de control externe, extrageți un set de substanțe de control externe din congelator și lăsați flacoanele să se decongeleze la temperatura camerei (15-30 °C). Vortexați ușor pentru a asigura omogenitatea.
4. Utilizând ecranul tactil și un suport de eprubete pentru eșantioane amplasat pe raftul încărcătorului automat, încărcați flacoanele cu substanță de control pozitivă și negativă în NeuMoDx System. NeuMoDx System va recunoaște codul de bare și va începe procesarea eprubetelor pentru eșantioane, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
5. Validitatea substanțelor de control externe va fi evaluată de NeuMoDx System în funcție de rezultatul preconizat. Substanța de control pozitivă trebuie să genereze un rezultat Positive (Pozitiv) la EBV, iar substanța de control negativă trebuie să genereze un rezultat Negative (Negativ) la EBV.
6. Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
 - a) Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă indică o problemă de contaminare a eșantionului.
 - b) Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de instrument.
 - c) În oricare dintre situațiile de mai sus, repetați procesul pentru substanțele de control externe NeuMoDx EBV External Control eșuate cu un flacon proaspăt decongelat cu substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
 - d) Dacă substanța de control externă NeuMoDx EBV External Control pozitivă continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ), contactați departamentul de relații cu clienții NeuMoDx.
 - e) Dacă substanța de control externă NeuMoDx EBV External Control negativă continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv), încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea TUTUROR reactivilor și consumabilelor, înainte de a contacta departamentul de relații cu clienții NeuMoDx.

Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea PCR în timp real cu fiecare probă. Soluțiile de amorsare și sonda specifice pentru SPC1 sunt, de asemenea, incluse în fiecare NeuMoDx EBV Quant Test Strip permițând detecția prezenței SPC1 împreună cu ADN-ul EBV țintă (dacă există) prin PCR multiplex în timp real. Detecția amplificării SPC1 îi permite software-ului sistemului NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificare PCR.

Dacă un test NeuMoDx EBV Quant Assay efectuat pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat fie ca Indeterminate (Neconcludent), fie ca Unresolved (Nerezolvat), în funcție de tipul erorii survenite.

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

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio amplificare validă a ADN-ului EBV sau a SPC1, ceea ce indică posibilul eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), testarea poate fi repetată, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică – Limita de detecție utilizând standardul OMS

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx EBV Quant Assay a fost confirmată prin testarea eșantioanelor de plasmă negative la EBV îmbogățite cu o diluție slabă din Primul standard internațional al OMS pentru EBV pentru tehnicile de amplificare a acidului nucleic. Această testare de confirmare a fost efectuată la limita de detecție (Limit of Detection, LoD) preconizată a NeuMoDx EBV Quant Assay pe sistemele NeuMoDx System la 200 UI/ml. LoD a fost definită ca cel mai scăzut nivel țintă care trebuie detectat la o rată $\geq 95\%$. Studiul a fost efectuat pe mai multe sisteme, cu loturi calificate de reactivi NeuMoDx. Ratele de detecție sunt prezentate în *Tabelul 2*.

Tabelul 2: Determinarea LoD NeuMoDx EBV Quant Assay; Rată de detecție pozitivă pentru eșantioanele plasmatice

Concentrația țintei [UI/ml]	PLASMĂ		
	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Sensibilitate analitică – Limită inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) este definită ca cel mai mic nivel al țintei la care se obține o detecție $> 95\%$ și eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) $\leq 1,0$. Pentru a confirma faptul că 200 UI/ml este atât LoD, cât și LLoQ pentru EBV Quant Assay, rezultatele studiului ratei de succes au fost folosite pentru a determina TAE. Această TAE calculată a fost definită:

$$TAE = \text{abatere} + 2 * SD \text{ [Statistică Westgard]}$$

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

Tabelul 3: LLoQ NeuMoDx EBV Quant Assay, cu abaterea și TAE

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [Log ₁₀ UI/ml]	Plasmă				
		Conc. medie [Log ₁₀ UI/ml]	Detecție (%)	SD	Abatere	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Pe baza rezultatelor acestor studii, LoD și LLoQ ale NeuMoDx EBV Quant Assay au fost determinate ambele ca fiind de 200,0 UI/ml [2,30 Log₁₀ UI/ml].

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

Liniaritatea și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) ale NeuMoDx EBV Quant Assay au fost stabilite în plasmă, prin pregătirea unei serii de diluție folosind ținta EBV încapsulată NeuMoDx și Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) cu trasabilitate stabilită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru EBV. Un panel cu 10 elemente a fost pregătit în plasma comasată negativă la EBV pentru a crea un panel care să se întindă pe un interval de concentrații de 2,0-8,0 Log₁₀ UI/ml. S-a determinat că ULoQ a NeuMoDx EBV Quant Assay este 8,0 Log₁₀ UI/ml. A fost pregătit un panel de confirmare pentru a evalua liniaritatea curbei standard, iar concentrațiile analizei EBV raportate de sistemul NeuMoDx System în comparație cu valorile preconizate sunt prezentate în *Figura 2*.

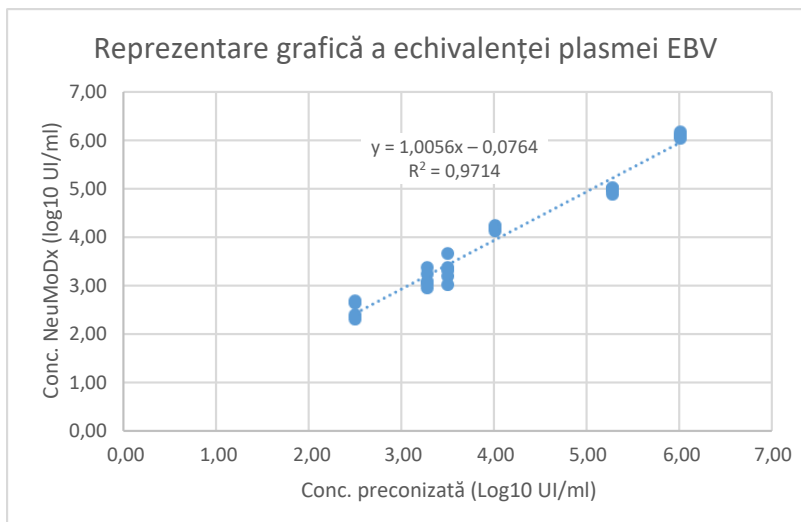


Figura 2: Liniaritatea NeuMoDx EBV Quant Assay

Specificitate analitică – Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 35 de organisme care pot fi întâlnite în eșantioane de sânge/plasmă, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu EBV pentru reactivitate încrucișată. Organismele cu concentrație ridicată au fost preparate în surse de 5-6 organisme. Organismele testate sunt prezentate în *Tabelul 4*. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100% pentru NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabelul 4: Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică

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

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, organisme comensale

NeuMoDx EBV Quant Assay a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme pregătite pentru testarea reactivității încrucișate, enumerate mai sus, în *Tabelul 4*. Plasma negativă la EBV a fost îmbogățită cu organisme comensale în grupuri de 4-7; aceste surse au fost îmbogățite ulterior cu țintă EBV, la o concentrație de 3 Log₁₀ UI/ml. Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență.

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, substanțe endogene și exogene

NeuMoDx EBV Quant Assay a fost evaluat în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la eșantioanele clinice de plasmă EBV. Acestea au inclus niveluri anormal de ridicate ale componentelor sanguini, precum și medicamentele antivirale și imunosupresoare comune, clasificate în *Tabelul 5*. Fiecare substanță a fost adăugată în plasma umană testată prin screening negativ la EBV îmbogățită cu 3 Log₁₀ UI/ml EBV și probele au fost analizate pentru interferență. În plus, a fost testată plasma comună stadiului bolii, asociată cu infecția cu EBV, pentru o posibilă interferență. Concentrația medie și abaterea tuturor substanțelor testate în comparație cu probele de control îmbogățite cu același nivel de EBV sunt raportate în *Tabelul 6*. Niciuna dintre substanțele exogene și endogene nu a afectat specificitatea NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabelul 5: Testarea interferenței – Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

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

Tabelul 6: Testarea interferenței - Agenți exogeni și endogeni

Endogenă	Conc. medie	Abatere
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Hemoglobină	3,20	0,23
Trigliceride	3,15	0,28
Bilirubină	3,48	-0,05
Albumină	3,2	0,22
Exogen (medicamente)	Conc. medie	Abatere
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Sursa 1: Azatioprină, Ciclosporină, Foscarnet, Ganciclovir, Valganciclovir clorhidrat	3,30	0,13
Sursa 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaximă, Fluconazol	3,22	0,21
Sursa 3: Micofenolat mofetil, Micofenolat sodic, Piperacilină, Sirolimus/Rapamicină, Tazobactam	3,36	0,07
Sursa 4: Trimetoprim, Vancomicină, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanat de potasiu	3,32	0,11
Sursa 5: Famotidină, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilin disodic, Leflunomidă	3,47	-0,10
Stadiul bolii	Conc. medie	Abatere
	Log ₁₀ UI/ml	Log ₁₀ UI/ml
Lupus eritematos sistemic (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,23	0,20
Anticorp anti-nuclear (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Artrită reumatoidă (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,19	0,24

Precizia în laborator

Precizia NeuMoDx EBV Quant Assay a fost determinată prin testarea a 3 replicare ale unui panel de 4 membri din eșantioane de EBV preparate cu EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) de trei ori pe zi, folosind două sisteme NeuMoDx 288 System și un sistem NeuMoDx 96 Sistem în decurs de două zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării, precizia din timpul zilei și precizia în sistem, și abaterea standard globală s-a determinat a fi $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$. Precizia excelentă a fost demonstrată pe toate sistemele, în toate zilele și în toate rulările, după cum se arată în *Tabelul 7*. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx System.

Tabelul 7: Precizie în laborator – NeuMoDx EBV Quant Assay pe sisteme NeuMoDx System

Conc. țintă EBV [Log ₁₀ UI/ml]	Conc. medie EBV [Log ₁₀ UI/ml]	SD în sistem	SD în timpul zilei	SD în execuție	SD globală (în laborator)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Reproductibilitatea de la un lot la altul

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx EBV Quant Assay a fost determinată prin evaluarea a trei loturi de reactivi cheie – bandelete NeuMoDx EBV Quant Test Strip și Lysis Buffer 5 – ca parte a testării pentru calificare (Qualification Testing, QT). Pentru evaluarea performanței a fost utilizat un panel de 4 membri cu plasmă pozitivă la EBV (*Tabelul 8*). Variația din cadrul lotului și între loturi a fost analizată, iar rezultatele au fost prezentate în *Tabelele 8-9*. Abaterea globală maximă a fost de $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ și SD globală maximă a fost de $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ pentru bandeletele de testare NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip. Abaterea globală maximă a fost de $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ și SD globală maximă a fost de $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$ pentru NeuMoDx Lysis Buffer 5. Performanța echivalentă a fost demonstrată între loturi, deoarece cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță.

Tabelul 8: Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Conc. țintă EBV [UI/ml]	Conc. medie EBV [Log ₁₀ UI/ml]	N (Rezultate valide pe lot)	Abatere	SD între loturi	SD în lot	Abatere standard globală
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabelul 9: Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Conc. țintă EBV [Log ₁₀ UI/ml]	Conc. medie EBV [Log ₁₀ UI/ml]	N (Rezultate valide pe lot)	Abatere	SD între loturi	SD în lot	Abatere standard globală
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei

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

Tabelul 10: Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei pentru ADN viral în plasmă*

Eroare în timpul etapelor de procesare testată	Starea de amplificare a substanței de control pentru procesarea probei 1	Starea de amplificare a țintei CMV	Rezultatul analizei
Presence of Inhibitor (Prezența inhibitorului)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Delivered (Niciun reactiv de spălare furnizat)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Blowout (Lipsă suflare spălare)	Amplified (Amplificat)	Amplified (Amplificat)	Positive with Quantitation within 0.3 Log ₁₀ IU/mL of Control (Pozitiv cu cuantificarea în 0,3 Log ₁₀ UI/ml din substanța de control)

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

Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru eșantioanele de plasmă a fost determinată prin procesarea unor probe puternic pozitive și negative alternante ale unui virus ADN din sânge asemănător, citomegalovirus (CMV). Au fost efectuate trei seturi de astfel de testări cu tipar de tablă de șah, cu un total de 108 de replicare de plasmă negativă la CMV și 108 de replicare ale unui eșantion plasmatic CMV îmbogățit, la 6,0 Log₁₀ UI/ml. Toate cele 108 de replicare ale eșantionului negativ au fost raportate ca negative, ceea ce demonstrează că nu s-a produs nicio contaminare încrucișată în timpul procesării probelor plasmatic pe NeuMoDx System.

Echivalența matricelor eșantioanelor

Testarea a fost efectuată pentru a demonstra echivalența dintre eșantioanele de plasmă proaspete și cele congelate, utilizând un virus din sânge similar, CMV, drept model. Eșantioanele proaspete au fost păstrate la 4 °C până când au fost îmbogățite cu trei niveluri de CMV și testate pentru echivalență. După aceea, probele au fost congelate timp de minimum 24 de ore la -20 °C. După această perioadă de depozitare în stare congelată, eșantioanele au fost decongelate și retestate. Rezultatele obținute din eșantioanele de plasmă proaspete față de cele congelate au fost comparate pentru echivalență prin analiză de regresie. Datele au demonstrat o echivalență excelentă între eșantioanele de plasmă proaspete și congelate, cu o pantă la 1,0 și abatere (intersecție) foarte mică, așa cum este prezentat în *Tabelul 11* de mai jos.

Tabelul 11: Echivalența matricelor eșantioanelor

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

Caracterizarea performanței de cuantificare

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

A fost obținută o corelare excelentă între NeuMoDx EBV Quant Assay și cele două paneluri comerciale de verificare EBV (*Figura 3*) atunci când au fost analizate fie cu metoda de regresie Deming (*Figura 3A*), fie cu metoda Passing-Bablok (*Figura 3B*).

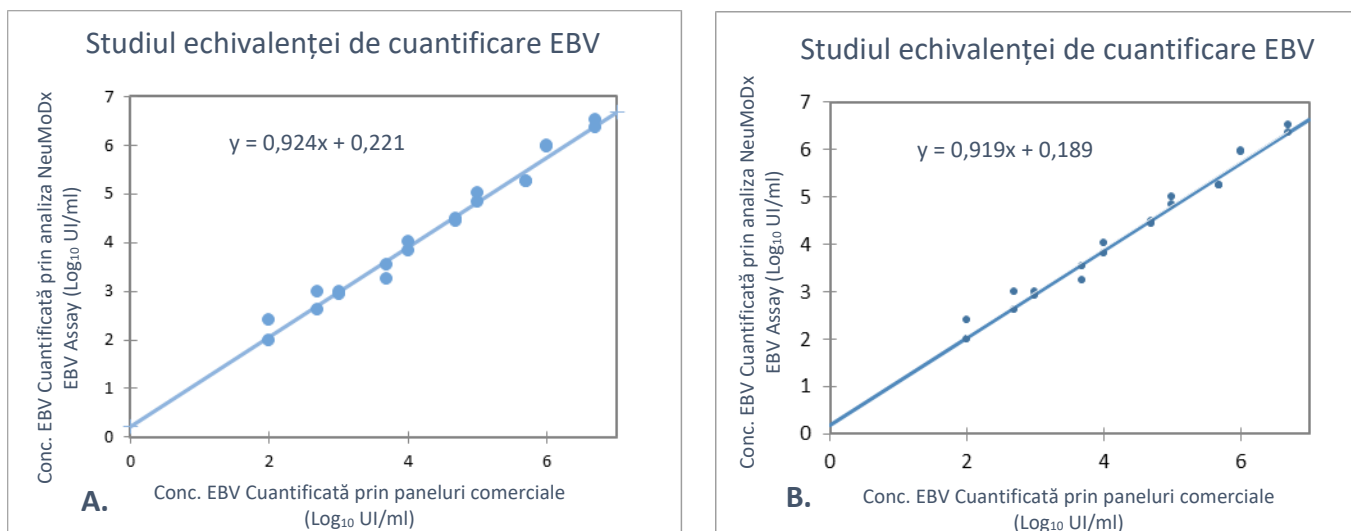


Figura 3. Reprezentarea grafică a echivalenței dintre panelurile de verificare AcroMetrix și Exact Diagnostics și NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Analiza regresiei liniare folosind metoda Deming. B. Analiza regresiei liniare folosind metoda Passing-Bablok.

Calitatea adaptării prin regresie Deming este ilustrată de un coeficient global al pantei egal cu 0,92 și o intersecție (abatere) de 0,22, demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx EBV Quant Assay și panelurile de verificare EBV sunt corelate cu o abatere acceptabilă. Adaptarea liniară Passing-Bablok susține, de asemenea, importanța corelării dintre rezultatele obținute de la NeuMoDx EBV Quant Assay și panelurile de verificare EBV cu un coeficient global al pantei de 0,92 și o intersecție (abatere) de 0,19. Valoarea p a analizei Passing-Bablok a fost calculată ca fiind 0,40.

Tabelul 12: Sumarul analizei de regresie liniară Deming și Passing-Bablok

Analiză Deming		Analiză Passing-Bablok	
Intersecție	Coeficientul pantei	Intersecție	Coeficientul pantei
0,22	0,92	0,19	0,92
Î 95% (-0,11, 0,55)	Î 95% (0,86, 0,99)	Î 95% (-0,08, 0,41)	Î 95% (0,87, 0,99)

REFERINȚE

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

MĂRCI COMERCIALE


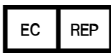








NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

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

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

SIMBOLURI

SIMBOL	SEMNIFICAȚIE
R only	Doar pe bază de rețetă
	Producător
IVD	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană
REF	Număr de catalog
LOT	Cod lot
	Termen de valabilitate
	Limită de temperatură
	Limitare a umidității
	A nu se reutiliza
	Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție
	Riscuri biologice
CE	Marcaj CE



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

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



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



Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: support@qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents