

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

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μόνο για εξαγωγή από τις ΗΠΑ

IVD Για *in vitro* διαγνωστική χρήση με τα συστήματα NeuMoDx 288 και NeuMoDx 96 Molecular System

 Για ενημερώσεις του φύλλου οδηγιών, επισκεφτείτε τη διεύθυνση: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay είναι μια αυτοματοποιημένη, *in vitro* εξέταση ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος για την ποσοτικοποίηση του DNA του ανθρώπινου ιού Epstein-Barr (EBV) στο πλάσμα. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay που εφαρμόζεται σε συστήματα NeuMoDx 288 Molecular System και NeuMoDx 96 Molecular System [σύστημα(ήματα) NeuMoDx System] ενσωματώνει αυτοματοποιημένη εκχύλιση DNA, ώστε να απομονωθεί το στοχευόμενο νουκλεϊκό οξύ από το πλάσμα, και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) πραγματικού χρόνου ώστε να στοχευθούν δύο ιδιαίτερα συντηρημένες περιοχές στο γονιδίωμα του ιού Epstein-Barr.

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay προορίζεται για *in vitro* ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του DNA του ιού Epstein-Barr σε φρέσκα και κατεψυγμένα δοκίμια ανθρώπινου πλάσματος με χρήση των συστημάτων NeuMoDx 288 και NeuMoDx 96 Molecular Systems. Η εξέταση NeuMoDx EBV Assay προορίζεται για χρήση κατά τη διάγνωση και την παρακολούθηση των λοιμώξεων από EBV. Η μέθοδος προσδιορισμού μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση των επιπέδων του DNA του EBV, ώστε να αξιολογηθεί η ανταπόκριση στην αντιική θεραπεία. Αυτή η μέθοδος προσδιορισμού προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και άλλους εργαστηριακούς δείκτες εξέλιξης της νόσου, για την κλινική διαχείριση και παρακολούθηση της λοίμωξης από EBV. Η μέθοδος προσδιορισμού δεν προορίζεται για χρήση ως εξέταση ελέγχου για την παρουσία του EBV σε αίμα ή προϊόντα αίματος.

ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Ανθρώπινο ολικό αίμα το οποίο έχει συλλεχθεί μέσα σε σειρά σωληνάρια συλλογής αίματος που περιέχουν EDTA ως αντιπηκτικό παράγοντα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την προετοιμασία του πλάσματος. Για την εκκίνηση της εξέτασης, τοποθετείται μέσα σε φορέα σωληναρίων δοκιμίου πλάσμα σε σωληνάριο δοκιμίου συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System και φορτώνεται στην τράπεζα εργασίας του συστήματος NeuMoDx System. Για κάθε δοκίμιο, ένα κλάσμα 250 μλ του δείγματος πλάσματος αναμιγνύεται με ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 5 και το σύστημα NeuMoDx System εκτελεί αυτόματα όλα τα βήματα που απαιτούνται ώστε να εκχυλιστεί το στοχευόμενο νουκλεϊκό οξύ, να προετοιμαστεί το απομονωμένο DNA για ενίσχυση PCR πραγματικού χρόνου και, αν υπάρχουν προϊόντα της ενίσχυσης, αυτά να ενισχυθούν και να ανιχνευτούν (δύο ιδιαίτερα συντηρημένες περιοχές στο γονιδίωμα EBV). Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay περιλαμβάνει έναν μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος 1 του DNA (Sample Process Control 1, SPC1), για διευκόλυνση της παρακολούθησης για παρουσία δυνητικών ανασταλτικών ουσιών και για αστοχίες του συστήματος NeuMoDx System ή των αντιδραστηρίων που ενδέχεται να προκύψουν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκχύλισης και ενίσχυσης.

Ο EBV είναι ένας κοινός ιός δίκλωνου DNA της οικογένειας των ανθρώπινων ερπητοϊών που μολύνει ανθρώπους όλων των ηλικιών. Εκτιμάται ότι >90% των ατόμων παγκοσμίως είναι μολυσμένα ή έχουν μολυνθεί με EBV.¹ Ο EBV εξαπλώνεται μέσω των σωματικών υγρών, όπως σίελος, αίμα, σπέρμα και μέσω μεταμοσχεύσεων οργάνων. Πολλά άτομα μολύνονται με EBV κατά την παιδική ηλικία. Αυτά τα άτομα, ενώ είναι μολυσμένα με EBV, είναι τυπικά ασυμπτωματικά. Τα ανοσοκατεσταλμένα άτομα ενδέχεται να αναπτύξουν πιο βαριά συμπτώματα και επιπλοκές από τη λοίμωξη από EBV. Η λανθάνουσα λοίμωξη από EBV αποτελεί τον μεγαλύτερο κίνδυνο για ασθενείς μετά από μεταμόσχευση. Στις λεμφοκυτταρικές διαταραχές μετά από μεταμόσχευση (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD) περιλαμβάνεται ο σχηματισμός όγκου εξαιτίας EBV στα Β κύτταρα, λόγω της επίδρασης των ανοσοκατασταλτικών παραγόντων στον έλεγχο του ανοσοποιητικού από τον EBV, μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας σε ασθενείς που υποβάλλονται σε οποιοδήποτε είδους μεταμόσχευση οργάνων.²

Η χρήση της παρακολούθησης του ιικού φορτίου του EBV διευκολύνει τη διάγνωση και τη διαχείριση των PTLD που σχετίζονται με τον EBV. Ωστόσο, η ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος του EBV στο αίμα δεν επαρκεί για τη διάγνωση PTLD που συσχετίζεται με EBV. Η εξέταση νουκλεϊκού οξέος (Nucleic Acid Testing, NAT) θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και άλλους εργαστηριακούς δείκτες εξέλιξης της νόσου, για την κλινική διαχείριση και παρακολούθηση των ασθενών με λοίμωξη από EBV. Ενώ οι τρέχουσες κατευθυντήριες γραμμές για τη διαχείριση και τη θεραπεία των λοιμώξεων από EBV στα ανοσοκατεσταλμένα άτομα είναι διφορούμενες ως προς το πότε να ξεκινά η αντιική θεραπεία, όλες απαιτούν σταθερή παρακολούθηση του ιικού φορτίου εφόσον ξεκινήσει η αντιική θεραπεία ώστε να υποβοηθηθεί ο μετριασμός των βαριών παρενεργειών των φαρμακευτικών αγωγών στους εν λόγω πληθυσμούς.^{3,4}

ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay στο σύστημα NeuMoDx System χρησιμοποιεί την ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip, βαθμονομητές NeuMoDx EBV Calibrator, εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx EBV External Control, ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 5 και αντιδραστήρια γενικής χρήσης NeuMoDx για την εκτέλεση της ανάλυσης. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay συνδυάζει αυτοματοποιημένη εκχύλιση DNA, ενίσχυση και ανίχνευση μέσω PCR πραγματικού χρόνου. Δοκίμια ολικού αίματος συλλέγονται μέσα σε σωληνάρια με EDTA, για την προετοιμασία του πλάσματος. Το δοκίμιο πλάσματος, μέσα σε συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System σωληνάριο δοκιμίου, τοποθετείται σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίων και φορτώνεται στην τράπεζα εργασίας του συστήματος NeuMoDx System για επεξεργασία. Δεν απαιτείται καμία περαιτέρω παρέμβαση του χειριστή.

Τα συστήματα NeuMoDx Systems χρησιμοποιούν έναν συνδυασμό θερμότητας, λυτικού ενζύμου και αντιδραστηρίων εκχύλισης για την αυτόματη εκτέλεση κυτταρικής λύσης, εκχύλισης DNA και απομάκρυνσης των αναστολέων. Τα αποδεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα συλλαμβάνονται από παραμαγνητικά σωματίδια. Τα σωματίδια, μαζί με τα δεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα, φορτώνονται στη φύσιγγα NeuMoDx Cartridge όπου τα μη δεσμευμένα συστατικά εκτός DNA απομακρύνονται περαιτέρω με πλύση με το αντιδραστήριο NeuMoDx Wash Reagent και το δεσμευμένο DNA εκλύεται με το αντιδραστήριο NeuMoDx Release Reagent. Τα συστήματα NeuMoDx Systems χρησιμοποιούν στη συνέχεια το εκλουσμένο DNA για επανενυδάτωση των αποκλειστικών αντιδραστηρίων ενίσχυσης NeuDry™ που περιέχουν όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την ενίσχυση PCR των στόχων συγκεκριμένα για τον ιό EBV και του SPC1. Μετά την ανασύσταση των αντιδραστηρίων PCR NeuDry, το σύστημα NeuMoDx System διανέμει το προετοιμασμένο, έτοιμο για PCR μίγμα μέσα στη φύσιγγα NeuMoDx Cartridge. Η ενίσχυση και η ανίχνευση των αλληλουχιών DNA του μάρτυρα και του στόχου (αν υπάρχουν) σημειώνονται στον θάλαμο PCR της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge. Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί επίσης ώστε να περιέχει το αμπλικόνιο μετά από PCR πραγματικού χρόνου και να εξαλείφεται ως εκ τούτου ουσιαστικά ο κίνδυνος επιμόλυνσης μετά την ενίσχυση.

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay στοχεύει δύο ιδιαίτερα συντηρημένες περιοχές, τις BALF5 και BXFL1, στο γονιδίωμα του EBV. Ο σχεδιασμός διπλού στόχου μειώνει τον κίνδυνο ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων σε περίπτωση μετάλλαξης, αυξάνοντας έτσι την αξιοπιστία της μεθόδου προσδιορισμού. Οι ενισχυμένοι στόχοι ανιχνεύονται σε πραγματικό χρόνο μέσω χημείας ανιχνευτών υδρόλυσης (κοινώς αναφέρεται ως χημεία TaqMan®), με τη χρήση μορίων ανιχνευτή φθορίζοντος ολιγονουκλεοτιδίου ειδικών για τα αμπλικόνια των αντίστοιχων στόχων.

Οι ανιχνευτές TaqMan αποτελούνται από ένα φθοροφόρο ομοιοπολικό προσαρτημένο στο άκρο 5' του ολιγονουκλεοτιδίου ανιχνευτή και έναν αναστολέα στο άκρο 3'. Ενώ ο ανιχνευτής είναι άθικτος, το φθοροφόρο και ο αναστολέας βρίσκονται κοντά, επομένως το μόριο του αναστολέα αναστέλλει τον φθορισμό που εκπέμπεται από το φθοροφόρο μέσω μεταφοράς FRET (Förster Resonance Energy Transfer, μεταφορά ενέργειας λόγω συντονισμού κατά Förster).

Οι ανιχνευτές TaqMan έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να αναδιατάσσονται εντός μιας περιοχής DNA που έχει ενισχυθεί από ένα ειδικό σύνολο εκκινητών. Καθώς η Taq DNA πολυμεράση επεκτείνει τον εκκινητή και συνθέτει τον νέο κλώνο, η δράση της Taq DNA πολυμεράσης στην 5' προς 3' εξωνουκλεάση διασπά τον ανιχνευτή που έχει αναδιαταχθεί σύμφωνα με το πρότυπο. Με την υποβάθμιση του ανιχνευτή, απελευθερώνεται το φθοροφόρο και χάνεται η εγγύτητα προς τον αναστολέα και, ως εκ τούτου, υπερκελιζείται η ανασταλτική επίδραση λόγω της μεταφοράς FRET και επιτρέπεται ανίχνευση του φθορισμού του φθοροφόρου. Το σήμα φθορισμού που προκύπτει και ανιχνεύεται είναι ευθέως ανάλογο προς το φθοροφόρο που απελευθερώνεται και μπορεί να συσχετιστεί με την ποσότητα του DNA του στόχου που υπάρχει.

Ένας ανιχνευτής TaqMan επισήμως με φθοροφόρο (490/521 nm) στο άκρο 5' και ένας σκοτεινός αναστολέας στο άκρο 3' χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του DNA του EBV. Για ανίχνευση του SPC1, ο ανιχνευτής TaqMan επισήμως με φθορίζουσα χρωστική (535/556 nm) στο άκρο 5' και με έναν σκοτεινό αναστολέα στο άκρο 3'. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρακολουθεί το σήμα φθορισμού που εκπέμπεται από τους ανιχνευτές TaqMan στο τέλος κάθε κύκλου ενίσχυσης. Όταν ολοκληρωθεί η ενίσχυση, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System αναλύει τα δεδομένα και αναφέρει ένα αποτέλεσμα [POSITIVE (Θετικό)/NEGATIVE (Αρνητικό)/INDETERMINATE (Απροσδιόριστο)/UNRESOLVED (Χωρίς απάντηση)]. Αν ένα αποτέλεσμα είναι POSITIVE (Θετικό), το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρέχει επίσης μια ποσοτική τιμή που συσχετίζεται με το δείγμα ή αναφέρει αν η υπολογισμένη συγκέντρωση βρίσκεται εκτός των ορίων ποσοτικοποίησης.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ/ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

Παρεχόμενα υλικά

REF	Περιεχόμενα	Εξετάσεις ανά τεμάχιο	Εξετάσεις ανά συσκευασία
201500	Ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip Αφυδατωμένα αντιδραστήρια PCR που περιέχουν ανιχνευτή και εκκινητές TaqMan ειδικά για τον EBV και τον SPC1.	16	96

Πρόσθετα υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται (διατίθενται ξεχωριστά από τη NeuMoDx)

REF	Περιεχόμενα
100200	Πλάκα NeuMoDx Extraction Plate Αφυδατωμένα παραμαγνητικά σωματίδια, λυτικό ένζυμο και μάρτυρες επεξεργασίας δείγματος
800500	Βαθμονομητές NeuMoDx EBV Calibrator Σετ βαθμονομητών υψηλού και χαμηλού EBV μίας χρήσης για τον καθορισμό της εγκυρότητας της πρότυπης καμπύλης
900501	Εξωτερικοί μάρτυρες NeuMoDx EBV External Control Σετ θετικών και αρνητικών μαρτύρων EBV μίας χρήσης, για την καθιέρωση της ημερήσιας εγκυρότητας της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay
400900	Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	Αντιδραστήριο πλύσης NeuMoDx Wash Reagent
400200	Αντιδραστήριο αποδέσμευσης NeuMoDx Release Reagent
100100	Φύσιγγα NeuMoDx Cartridge
235903	Ρύγχη Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 μL) με φίλτρα
235905	Ρύγχη Hamilton CO-RE/CO-RE II (1.000 μL) με φίλτρα

Όργανα που απαιτούνται

Σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] ή σύστημα NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay παρέχεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο με τα συστήματα NeuMoDx Systems.
- Θα πρέπει να χειρίζεστε πάντα τα δοκίμια με τον τρόπο που θα χειριζόσασταν μολυσματικές ουσίες και σύμφωνα με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες, όπως αυτές που περιγράφονται στο έγγραφο Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ και στο έγγραφο M29-A4⁶ του CLSI.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα είναι ενδεικτικό της παρουσίας DNA του ιού EBV.
- Η εκτέλεση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay επιτρέπεται μόνο σε προσωπικό που έχει εκπαιδευτεί στη χρήση του συστήματος NeuMoDx System και στον χειρισμό μολυσματικών υλικών.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια ή τα αναλώσιμα μετά την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια, αν η σφράγιση ασφαλείας έχει σπάσει ή αν η συσκευασία έχει φθορές κατά την άφιξη.
- Μη χρησιμοποιείτε αναλώσιμα ή αντιδραστήρια, αν το προστατευτικό σακουλάκι είναι ανοικτό ή σκισμένο κατά την άφιξη.
- Για να μπορέσουν να δημιουργηθούν αποτελέσματα εξέτασης για κλινικά δείγματα, πρέπει να διατίθεται μια έγκυρη βαθμονόμηση εξέτασης (που δημιουργείται μέσω επεξεργασίας βαθμονομητών υψηλού και χαμηλού NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]).
- Οι βαθμονομητές NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία κάθε 24 ώρες καθ' όλη τη διάρκεια της εξέτασης με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Ο ελάχιστος όγκος δοκίμιου των δευτερευόντων κλασμάτων εξαρτάται από το μέγεθος του σωληναρίου/το φορέα σωληναρίων δοκίμιου, όπως καθορίζεται παρακάτω. Κάθε όγκος που είναι μικρότερος από τον ελάχιστο προσδιορισμένο ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα «Quantity Not Sufficient» (Ανεπαρκής ποσότητα).
- Η χρήση δοκιμών που έχουν αποθηκευτεί σε ακατάλληλες θερμοκρασίες ή για χρονικό διάστημα που υπερβαίνει τους καθορισμένους χρόνους φύλαξης ενδέχεται να προκαλέσει μη έγκυρα ή εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Αποφεύγετε πάντα την επιμόλυνση όλων των αντιδραστηρίων και των αναλώσιμων με μικρόβια και δεοξυριβονουκλεάση (DNάση). Συνιστάται η χρήση αποστειρωμένων, αναλώσιμων πιπιτών μεταφοράς χωρίς DNάση. Χρησιμοποιείτε νέα πιπέτα για κάθε δοκίμιο.
- Για την αποφυγή της επιμόλυνσης, μη χειρίζεστε και μην αποσυναρμολογείτε καμία φύσιγγα NeuMoDx Cartridge μετά την ενίσχυση. Σε καμία περίπτωση μην επαναφέρετε φύσιγγες NeuMoDx Cartridge από τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 288 Molecular System) ή από τον κάδο βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 96 Molecular System). Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί ώστε να αποτρέπεται η επιμόλυνση.
- Σε περιπτώσεις όπου διενεργούνται επίσης από το εργαστήριο εξετάσεις PCR ανοικτού σωληναρίου, πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται ότι η ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip, τα πρόσθετα αναλώσιμα και αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εξέταση, τα μέσα ατομικής προστασίας όπως γάντια και εργαστηριακές ποδιές, καθώς και το σύστημα NeuMoDx System δεν θα επιμολυνθούν.
- Θα πρέπει να φοράτε καθαρά γάντια νιτριλίου χωρίς πούδρα κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των αναλωσίμων NeuMoDx. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να μην υπάρχει επαφή με την επάνω επιφάνεια της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge, την επιφάνεια σφράγισης αλουμινοφύλλου της ταινίας NeuMoDx EBV Quant Test Strip ή την πλάκα NeuMoDx Extraction Plate, ή με την επάνω επιφάνεια του περιέκτη του ρυθμιστικού διαλύματος NeuMoDx Lysis Buffer 5. Ο χειρισμός των αναλώσιμων και των αντιδραστηρίων θα πρέπει να πραγματοποιείται με επαφή μόνο στις πλευρικές επιφάνειες.
- Δελτία δεδομένων ασφάλειας (ΔΔΑ) διατίθενται εφόσον ζητηθούν.
- Πλένετε σχολαστικά τα χέρια σας μετά την εκτέλεση της εξέτασης.
- Μην πραγματοποιείτε αναρρόφηση με το στόμα. Μην καπνίζετε, μην τρώτε και μην πίνετε σε χώρους όπου πραγματοποιείται χειρισμός δοκιμών ή αντιδραστηρίων.
- Απορρίψτε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και τα απόβλητα σύμφωνα με τους εθνικούς, ομοσπονδιακούς, περιφερειακούς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς.

ΦΥΛΑΞΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

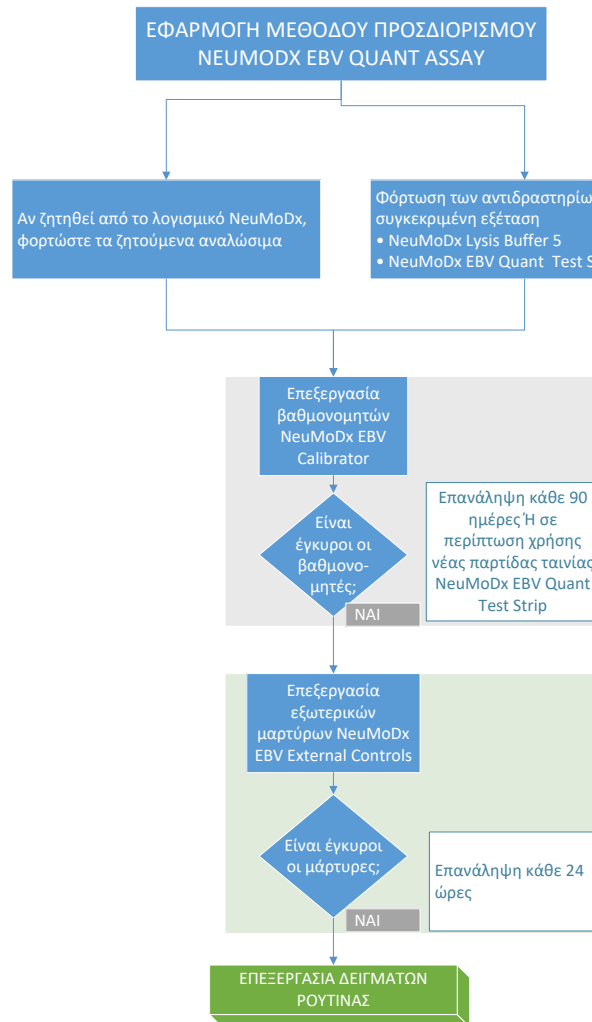
- Οι ταινίες NeuMoDx EBV Quant Test Strips είναι σταθερές στην κύρια συσκευασία έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην άμεση ετικέτα του προϊόντος όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 18 έως 23 °C.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αναλώσιμα και τα αντιδραστήρια μετά την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε κανένα προϊόν εξέτασης, εάν υπάρχουν ορατές αλλοιώσεις στην κύρια ή τη δευτερεύουσα συσκευασία.
- Μην επαναφορτώνετε κανένα προϊόν εξέτασης που είχε φορτωθεί πριν σε άλλο σύστημα NeuMoDx System.
- Μετά τη φόρτωση, η ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip μπορεί να παραμείνει επί του συστήματος NeuMoDx System για 14 ημέρες. Η υπολειπόμενη διάρκεια ζωής των φορτωμένων δοκιμαστικών ταινιών παρακολουθείται από το λογισμικό και αναφέρεται στον χρήστη σε πραγματικό χρόνο. Το σύστημα θα εμφανίζει ειδοποίηση για την αφαίρεση των δοκιμαστικών ταινιών που έχουν χρησιμοποιηθεί για διάστημα μεγαλύτερο από το επιτρεπόμενο.
- Αν και οι βαθμονομητές NeuMoDx EBV Calibrator και NeuMoDx EBV External Control δεν είναι μολυσματικοί, θα πρέπει να απορρίπτονται στα βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα του εργαστηρίου μετά από τη χρήση προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης από το στοχευόμενο νουκλεϊκό οξύ που περιέχουν.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΔΟΚΙΜΙΩΝ

Χειρίζεστε όλα τα δοκίμια ως ικανά να μεταδώσουν μολυσματικούς παράγοντες.

- Μην καταψύχετε ολικό αίμα ή τυχόν δοκίμια που φυλάσσονται σε πρωτογενή σωληνάρια.
- Για την προετοιμασία δοκιμών πλάσματος, το ολικό αίμα θα πρέπει να συλλέγεται μέσα σε στείρα σωληνάρια με τη χρήση EDTA ως αντιπηκτικού. Ακολουθείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή του σωληναρίου συλλογής δοκιμίου.
- Το ολικό αίμα που συλλέγεται μέσα στις συσκευές που παρατίθενται παραπάνω μπορεί να φυλάσσεται ή/και να μεταφέρεται για έως 24 ώρες στους 2 °C έως 25 °C πριν από την προετοιμασία του πλάσματος. Η προετοιμασία του πλάσματος θα πρέπει να εκτελείται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- Τα προετοιμασμένα δοκίμια πλάσματος μπορούν να παραμείνουν στο σύστημα NeuMoDx System για έως 8 ώρες πριν από την επεξεργασία. Αν απαιτείται επιπλέον χρόνος φύλαξης, συνιστάται τα δοκίμια είτε να ψύχονται είτε να καταψύχονται.
- Τα προετοιμασμένα δοκίμια πλάσματος θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C για έως 7 ημέρες το πολύ πριν από την εξέταση και για 8 ώρες κατά το μέγιστο σε θερμοκρασία δωματίου.
- Τα προετοιμασμένα δοκίμια πλάσματος μπορούν να φυλάσσονται σε θερμοκρασία <-20 °C για έως 8 εβδομάδες για το πλάσμα πριν από την επεξεργασία. Τα δείγματα πλάσματος δεν θα πρέπει να υποβάλλονται σε περισσότερους από 2 κύκλους κατάψυξης/απόψυξης πριν από τη χρήση.
 - Αν τα δείγματα καταψυχθούν, αφήστε τα δείγματα να αποψυχθούν πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 °C) και στροβίλιστε τα για να παραχθεί ένα ομοιόμορφα κατανεμημένο δείγμα.
 - Εφόσον τα κατεψυγμένα δείγματα αποψυχθούν, η εξέταση θα πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός 8 ωρών.
- Αν τα δοκίμια αποσταλούν, θα πρέπει να συσκευαστούν και να επισημανθούν σε συμμόρφωση με τους ισχύοντες κρατικούς ή/και διεθνείς κανονισμούς.
- Επισημαίνετε με σαφήνεια τα δοκίμια και υποδεικνύετε ότι προορίζονται για εξέταση EBV.
- Προχωρήστε στην ενότητα Προετοιμασία εξέτασης.

Η συνολική επεξεργασία για την εφαρμογή της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay συνοψίζεται παρακάτω στην *Εικόνα 1*.



Εικόνα 1: Ροή εργασιών εφαρμογής μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Προετοιμασία εξέτασης

- Εφαρμόστε ετικέτα γραμμωτού κωδικού δοκιμίου σε ένα σωληνάριο δοκιμίου που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System.
- Μεταφέρετε ένα κλάσμα του πλάσματος στο σωληνάριο δοκιμίου με γραμμωτό κωδικό που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System σύμφωνα με τους όγκους που καθορίζονται παρακάτω:
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (32 σωληναρίων): διάμετρος 11–14 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης ≥ 400 mL
 - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (24 σωληναρίων): διάμετρος 14,5–18 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης ≥ 850 mL

Λειτουργία συστήματος NeuMoDx System

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στα *Εγχειρίδια χρήσης των συστημάτων NeuMoDx 288 και 96 Molecular System* (κωδ. είδους 40600108 και 40600317)

- Συμπληρώστε έναν ή περισσότερους φορείς δοκιμαστικών ταινιών στο NeuMoDx System με δοκιμαστική/-ές ταινία/-ες NeuMoDx EBV Quant Test Strip και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφή για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς δοκιμαστικών ταινιών στο σύστημα NeuMoDx System.
- Εάν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, προσθέστε τα απαιτούμενα αναλώσιμα στους φορείς αναλωσίμων του συστήματος NeuMoDx System και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφή για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς στο σύστημα NeuMoDx System.

3. Αν ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, αντικαταστήστε το αντιδραστήριο NeuMoDx Wash Reagent και το αντιδραστήριο NeuMoDx Release Reagent, εκκενώστε τον κάδο αποβλήτων πλήρωσης ή βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων, ανάλογα με την περίπτωση.
4. Αν ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, υποβάλετε σε επεξεργασία τους βαθμονομητές [REF 800500] ή/και τους εξωτερικούς μάρτυρες [REF 900501], ανάλογα με τις απαιτήσεις. Περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες παρέχονται στην ενότητα *Επεξεργασία αποτελεσμάτων*.
5. Φορτώστε το σωληνάριο/τα σωληνάρια δοκιμίου/βαθμονομητή/μάρτυρα σε έναν τυπικό φορέα 32 σωληναρίων και διασφαλίστε ότι τα καπάκια έχουν αφαιρεθεί από όλα τα σωληνάρια δοκιμίου.
6. Τοποθετήστε τον φορέα σωληναρίων δοκιμίου σε οποιαδήποτε ανοικτή θέση στο ράφι αυτόματης φόρτωσης και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα στο σύστημα NeuMoDx System. Με αυτήν την ενέργεια, θα ξεκινήσει η επεξεργασία του φορτωμένου δοκιμίου/των φορτωμένων δοκιμίων για την προσδιορισμένη εξέταση/τις προσδιορισμένες εξετάσεις.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

- Η ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip μπορεί να χρησιμοποιείται μόνο σε συστήματα NeuMoDx System.
- Η απόδοση της ταινίας NeuMoDx EBV Quant Test Strip έχει διαπιστωθεί για δοκίμια πλάσματος που προετοιμάζονται από ολικό αίμα το οποίο συλλέγεται με EDTA ως αντιπηκτικό. Η χρήση της ταινίας NeuMoDx EBV Quant Test Strip με άλλους τύπους κλινικού δοκιμίου δεν έχει αξιολογηθεί και τα χαρακτηριστικά απόδοσης της εξέτασης είναι άγνωστα για άλλους τύπους δοκιμίου.
- Καθώς η ανίχνευση του EBV εξαρτάται από τον αριθμό των ιών που υπάρχουν στο δείγμα, η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ορθή συλλογή, τον ορθό χειρισμό και την ορθή φύλαξη των δοκιμίων.
- Οι βαθμονομητές και οι εξωτερικοί μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία όπως συνιστάται στα ένθετα των συσκευασιών και αν ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System πριν από την επεξεργασία κλινικών δειγμάτων ρουτίνας.
- Εσφαλμένα αποτελέσματα θα μπορούσαν να σημειωθούν λόγω ακατάλληλης συλλογής, ακατάλληλου χειρισμού και ακατάλληλης φύλαξης δοκιμίων, τεχνικού σφάλματος ή εσφαλμένης ταυτοποίησης σωληναρίων δοκιμίου. Επιπλέον, θα μπορούσαν να σημειωθούν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα επειδή ο αριθμός των σωματιδίων του ιού στο δείγμα είναι χαμηλότερος από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Ο χειρισμός του συστήματος NeuMoDx System περιορίζεται στη χρήση από προσωπικό καταρτισμένο σχετικά με τη χρήση του συστήματος NeuMoDx System.
- Αν δεν ενισχυθούν ούτε οι στόχοι EBV ούτε ο στόχος SPC1, θα αναφερθεί μη έγκυρο αποτέλεσμα [Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση)] και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.
- Αν το αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay είναι Positive (Θετικό), αλλά η τιμή ποσοτικοποίησης είναι πέραν των ορίων ποσοτικοποίησης, το σύστημα NeuMoDx System θα αναφέρει αν ο ανιχνευμένος ιός EBV ήταν κάτω από το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ή πάνω από το ανώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Σε περίπτωση που ο ανιχνευμένος ιός EBV ήταν κάτω από το LLoQ, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay μπορεί να επαναληφθεί (αν αυτό είναι επιθυμητό) με ένα άλλο κλάσμα του δοκιμίου.
- Σε περίπτωση που ο ανιχνευμένος ιός EBV είναι πάνω από το ULoQ, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay μπορεί να επαναληφθεί με ένα αραιωμένο κλάσμα του αρχικού δοκιμίου. Συνιστάται αραιώση 1:100 ή 1:1.000 σε αρνητικό για EBV πλάσμα ή αραιωτικό Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Το σύστημα θα υπολογίσει αυτόματα τη συγκέντρωση του αρχικού δοκιμίου ως εξής: Αρχική συγκέντρωση δοκιμίου = \log_{10} (συντελεστής αραιώσης) + αναφερόμενη συγκέντρωση του αραιωμένου δείγματος, εφόσον ο συντελεστής αραιώσης επιλεγεί σωστά στο λογισμικό πριν από την επανάληψη.
- Η περιστασιακή παρουσία αναστολέων PCR στο πλάσμα ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα ποσοτικοποίησης στο σύστημα. Αν συμβεί αυτό, συνιστάται η επανάληψη της εξέτασης με το ίδιο δοκίμιο, αραιωμένο μέσα σε Basematrix σε αναλογία 1:10 ή 1:100.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει απαραίτητα την παρουσία ενεργού λοίμωξης από ιό. Μάλλον με ένα θετικό αποτέλεσμα πιθανολογείται ότι υπάρχει DNA του ιού Epstein-Barr.
- Μολονότι η πιθανότητα είναι πολύ μικρή, η διαγραφή ή οι μεταλλάξεις και στις δύο συντηρημένες περιοχές του γονιδιώματος του EBV τις οποίες στοχεύει η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay ενδέχεται να επηρεάσουν την ανίχνευση ή θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εσφαλμένο αποτέλεσμα με χρήση της ταινίας NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Τα αποτελέσματα από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα στις κλινικές παρατηρήσεις και σε άλλες πληροφορίες που είναι διαθέσιμες στον ιατρό. Η εξέταση δεν προορίζεται για τη διάγνωση λοίμωξης.
- Συνιστάται η χρήση ορθών εργαστηριακών πρακτικών, συμπεριλαμβανομένης της αλλαγής γαντιών για το χειρισμό διαφορετικών δοκιμίων ασθενών, με σκοπό την αποφυγή επιμόλυνσης.

ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα διαθέσιμα αποτελέσματα μπορούν να προβάλλονται ή να εκτυπώνονται από την καρτέλα «Results» (Αποτελέσματα) στο παράθυρο αποτελεσμάτων Results (Αποτελέσματα) στην οθόνη αφής του συστήματος NeuMoDx System.

Τα αποτελέσματα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay δημιουργούνται αυτόματα από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System με χρήση του αλγόριθμου απόφασης και των παραμέτρων επεξεργασίας αποτελεσμάτων που προσδιορίζονται στο αρχείο ορισμού της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV (EBV Assay Definition File, EBV ADF). Ένα αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay μπορεί να αναφερθεί ως Negative (Αρνητικό), Positive (Θετικό) με αναφερόμενη συγκέντρωση EBV, Positive (Θετικό) άνω του ULoQ, Positive (Θετικό) κάτω από το LLoQ, Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση), βάσει της κατάστασης ενίσχυσης του στόχου και του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος. Τα αποτελέσματα αναφέρονται βάσει του αλγορίθμου απόφασης στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1: Αλγόριθμος απόφασης μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay

Αποτέλεσμα	EBV	Μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (SPC1)
Positive (Θετικό)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (KAI) } EPR > 2 \text{ AND (KAI) } EP \geq 1500]$ Ή $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (KAI) } EP \geq 1500]$	N/A (Δ/Ε)
Positive (Θετικό), άνω του ανώτατου όριου ποσοτικοποίησης [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log_{10} IU/mL)	[CONC] ([ΣΥΓΚ.]) $> 8,0 \text{ Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (ΧΩΡΙΣ ΠΟΣΟΤ.)	N/A (Δ/Ε)
Positive (Θετικό), κάτω από το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log_{10} IU/mL)	[CONC] ([ΣΥΓΚ.]) $< 2,3 \text{ Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (ΧΩΡΙΣ ΠΟΣΟΤ.)	N/A (Δ/Ε)
Negative (Αρνητικό)	N/A (Δ/Ε) OR (H) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (KAI) } EPR \leq 2]$ Ή $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (KAI) } EP < 1500]$ OR (H) $Ct > 38$	AMPLIFIED (ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗ) ($29 \leq Ct \leq 35$) and (και) $EP \geq 2.000$
Indeterminate (Απροσδιόριστο)	NOT AMPLIFIED / Systems Errors Noted (ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗ/Επισημαίνονται σφάλματα συστήματος)	
Unresolved (Χωρίς απάντηση)	NOT AMPLIFIED / No System Errors Noted (ΔΕΝ ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΝΙΣΧΥΣΗ/Δεν επισημαίνονται σφάλματα συστήματος)	

EP = Φθορισμός τελικού σημείου (μετά από διόρθωση τιμής αναφοράς), EPR = Αναλογία φθορισμού τελικού σημείου, C_t = Τιμή κατωφλίου κύκλου,

Quant = υπολογισμένη ποσότητα EBV που υπάρχει, εκφρασμένη σε Log_{10} IU/mL. Δείτε την ενότητα «Υπολογισμός εξέτασης» παρακάτω.

Υπολογισμός εξέτασης

- Για δείγματα εντός του εύρους ποσοτικοποίησης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay, η συγκέντρωση του DNA του EBV στα δείγματα υπολογίζεται με τη χρήση της αποθηκευμένης πρότυπης καμπύλης, σε συνδυασμό με τον συντελεστή βαθμονόμησης.
 - Υπολογίζεται ένας «συντελεστής βαθμονόμησης» βάσει των αποτελεσμάτων των βαθμονομητών NeuMoDx EBV Calibrator που υποβάλλονται σε επεξεργασία για την καθιέρωση της εγκυρότητας της πρότυπης καμπύλης, για κάθε παρτίδα των ταινιών NeuMoDx EBV Quant Test Strip, σε ένα συγκεκριμένο σύστημα NeuMoDx System.
 - Ο συντελεστής βαθμονόμησης ενσωματώνεται αυτόματα από το σύστημα στον τελικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης DNA του EBV.
- Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας NeuMoDx EBV Quant Assay αναφέρονται σε Log_{10} IU/mL.
- Η προκύπτουσα ποσοτικοποίηση των άγνωστων δειγμάτων είναι ιχνηλάσιμη σύμφωνα με το 1^ο Διεθνές πρότυπο του ΠΟΥ για τον ιό Epstein-Barr για τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος.

Βαθμονόμηση εξέτασης

Για την ποσοτικοποίηση του DNA του EBV στα δοκίμια, απαιτείται μια έγκυρη βαθμονόμηση βάσει της πρότυπης καμπύλης. Για τη δημιουργία έγκυρων αποτελεσμάτων, πρέπει να ολοκληρωθεί μια βαθμονόμηση εξέτασης με τη χρήση των βαθμονομητών που παρέχονται από τη NeuMoDx Molecular, Inc.

Βαθμονομητές

- Οι βαθμονομητές NeuMoDx EBV Calibrator παρέχονται σε ένα κιτ [REF 800500] και περιέχουν μη μολυσματικό, εγκλωβισμένο στόχο EBV, προετοιμασμένο μέσα σε Basematrix.
- Ένα σετ βαθμονομητών EBV πρέπει να υποβάλλεται σε επεξεργασία με κάθε νέα παρτίδα ταινιών NeuMoDx EBV Quant Test Strip, αν φορτωθεί νέο αρχείο ορισμού της μεθόδου προσδιορισμού EBV στο σύστημα NeuMoDx System, αν παρέλθει η περίοδος εγκυρότητας του τρέχοντος σετ βαθμονομητών (ρυθμισμένη στις 90 ημέρες) ή αν το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System τροποποιηθεί.

3. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System θα ειδοποιεί τον χρήστη όταν χρειάζεται επεξεργασία των βαθμονομητών. Η χρήση νέας παρτίδας δοκιμαστικών ταινιών για εξέταση δεν είναι δυνατή έως ότου υποβληθούν επιτυχώς σε επεξεργασία οι βαθμονομητές.
4. Η εγκυρότητα της βαθμονόμησης καθορίζεται ως εξής:
 - a) Για να διαπιστωθεί η εγκυρότητα, πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία ένα σετ δύο βαθμονομητών –υψηλού και χαμηλού.
 - b) Για τη δημιουργία έγκυρων αποτελεσμάτων, τουλάχιστον 2 από τα 3 αντίγραφα πρέπει να παρέχουν αποτελέσματα εντός προκαθορισμένων παραμέτρων. Ο ονομαστικός στόχος του βαθμονομητή χαμηλού επιπέδου είναι 4 Log₁₀ IU/mL και ο ονομαστικός στόχος του βαθμονομητή υψηλού επιπέδου είναι 6 Log₁₀ IU/mL.
 - c) Υπολογίζεται ένας συντελεστής βαθμονόμησης ώστε να ληφθεί υπόψη η αναμενόμενη διακύμανση μεταξύ παρτίδων ταινιών εξέτασης. Αυτός ο συντελεστής βαθμονόμησης χρησιμοποιείται κατά τον προσδιορισμό της τελικής συγκέντρωσης του EBV.
5. Αν ο ένας ή και οι δύο βαθμονομητές αποτύχουν στον έλεγχο εγκυρότητας, επαναλάβετε την επεξεργασία του ή των αποτυχημένων βαθμονομητών χρησιμοποιώντας νέο φιαλίδιο. Σε περίπτωση που ένας βαθμονομητής αποτύχει στον έλεγχο εγκυρότητας, παρέχεται η δυνατότητα επανάληψης μόνο του αποτυχημένου βαθμονομητή, καθώς το σύστημα δεν απαιτεί από τον χρήστη να εκτελέσει και τους δύο βαθμονομητές ξανά.
6. Αν ένας ή περισσότεροι βαθμονομητές αποτύχουν στον έλεγχο εγκυρότητας για δεύτερη συνεχή φορά, επικοινωνήστε με τη NeuMoDx Molecular, Inc.

Ποιοτικός έλεγχος

Οι κατά τόπους κανονισμοί ορίζουν συνήθως ότι το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τις διαδικασίες ελέγχου με τις οποίες παρακολουθούνται η ορθότητα και η ακρίβεια ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, καθώς και ότι το εργαστήριο πρέπει να καθορίζει τον αριθμό, τον τύπο και την συχνότητα ελέγχου των υλικών μαρτύρων χρησιμοποιώντας επαληθευμένες προδιαγραφές απόδοσης για ένα μη τροποποιημένο, εγκεκριμένο σύστημα εξέτασης.

Εξωτερικοί μάρτυρες

1. Τα υλικά εξωτερικού μάρτυρα, που περιέχουν μη μολυσματικό, εγκλωβισμένο στόχο EBV μέσα σε Basematrix για θετικούς μάρτυρες, παρέχονται από τη NeuMoDx Molecular, Inc. μέσα σε ένα κιτ που περιέχει τους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
2. Οι θετικοί και αρνητικοί εξωτερικοί μάρτυρες χρειάζεται να υποβάλλονται σε επεξεργασία μία φορά κάθε 24 ώρες. Αν δεν υπάρχει σετ έγκυρων εξωτερικών μαρτύρων, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System θα ζητήσει από τον χρήστη να υποβληθούν σε επεξεργασία αυτοί οι μάρτυρες για να μπορέσουν να αναφερθούν αποτελέσματα δειγμάτων.
3. Αν απαιτούνται εξωτερικοί μάρτυρες, ανασύρετε ένα σετ εξωτερικών μαρτύρων από τον καταψύκτη και αφήστε τα φιαλίδια να αποψυχθούν σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 °C). Στροβιλίστε απαλά για να διασφαλίσετε την ομοιογένεια.
4. Χρησιμοποιώντας την οθόνη αφής και έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου τοποθετημένο στο ράφι αυτόματης φόρτωσης, φορτώστε τα φιαλίδια θετικού και αρνητικού μάρτυρα στο σύστημα NeuMoDx System. Το σύστημα NeuMoDx System θα αναγνωρίσει τον γραμμωτό κωδικό και θα αρχίσει την επεξεργασία των σωληναρίων δοκιμίου, εκτός εάν δεν διατίθενται τα απαιτούμενα για την εξέταση αντιδραστήρια ή αναλώσιμα.
5. Η εγκυρότητα των εξωτερικών μαρτύρων θα αξιολογείται από το σύστημα NeuMoDx System βάσει του αναμενόμενου αποτελέσματος. Ο θετικός μάρτυρας θα πρέπει να παρέχει Positive (Θετικό) για EBV αποτέλεσμα και ο αρνητικός μάρτυρας θα πρέπει να παρέχει Negative (Αρνητικό) για EBV αποτέλεσμα.
6. Ο χειρισμός των ασύμφωνων αποτελεσμάτων για εξωτερικούς μάρτυρες θα πρέπει να εκτελείται ως εξής:
 - a) Ένα Positive (Θετικό) αποτέλεσμα εξέτασης που αναφέρεται για ένα δείγμα αρνητικού μάρτυρα υποδεικνύει πρόβλημα επιμόλυνσης του δοκιμίου.
 - b) Ένα Negative (Αρνητικό) αποτέλεσμα εξέτασης που αναφέρεται για ένα δείγμα θετικού μάρτυρα μπορεί να υποδεικνύει ότι υπάρχει πρόβλημα που σχετίζεται με ένα αντιδραστήριο ή με το όργανο.
 - c) Σε οποιαδήποτε από τις παραπάνω περιπτώσεις, επαναλάβετε τον ή τους αποτυχημένους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx EBV External Control(s) με πρόσφατα αποψυγμένο φιαλίδιο του μάρτυρα/των μαρτύρων που απέτυχε/-αν στην εξέταση εγκυρότητας.
 - d) Αν ο εξωτερικός θετικός μάρτυρας NeuMoDx EBV External Control συνεχίζει να αναφέρει Negative (Αρνητικό) αποτέλεσμα, επικοινωνήστε με την εξυπηρέτηση πελατών της NeuMoDx.
 - e) Αν ο εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας NeuMoDx EBV External Control συνεχίζει να αναφέρει Positive (Θετικό) αποτέλεσμα, επιχειρήστε να εξαλείψετε όλες τις πηγές δυναμικής επιμόλυνσης, συμπεριλαμβανομένης της αντικατάστασης ΟΛΩΝ των αντιδραστηρίων και των αναλώσιμων, προτού επικοινωνήσετε με την εξυπηρέτηση πελατών της NeuMoDx.

(Εσωτερικοί) μάρτυρες επεξεργασίας δείγματος

Στην πλάκα NeuMoDx Extraction Plate είναι ενσωματωμένος ένας εξωγενής μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control 1, SPC1) ο οποίος υποβάλλεται σε ολόκληρη τη διαδικασία εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος και ενίσχυσης PCR πραγματικού χρόνου με κάθε δείγμα. Εκκινητές και ανιχνευτές συγκεκριμένα για τον μάρτυρα SPC1 περιλαμβάνονται επίσης σε κάθε ταινία NeuMoDx EBV Quant Test Strip, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευση της παρουσίας SPC1 μαζί με το DNA του στόχου EBV (αν υπάρχει) μέσω PCR πολυπλεξίας πραγματικού χρόνου. Η ανίχνευση ενίσχυσης SPC1 επιτρέπει στο λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System να παρακολουθεί την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών εκχύλισης DNA και ενίσχυσης PCR.

Αν μια μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay που εκτελείται στο σύστημα NeuMoDx System δεν κατορθώσει να οδηγήσει σε έγκυρο αποτέλεσμα, αυτό θα αναφερθεί είτε ως Indeterminate -IND- (Απροσδιόριστο) είτε ως Unresolved -UNR- (Χωρίς απάντηση) βάσει του τύπου του σφάλματος που σημειώνεται.

Αν ανιχνευτεί σφάλμα του συστήματος NeuMoDx System κατά την επεξεργασία του δείγματος, θα αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο). Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο), συνιστάται η επανεξέταση.

Αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση) θα αναφέρεται αν δεν ανιχνευτεί έγκυρη ενίσχυση DNA EBV ή SPC1, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή αστοχία του αντιδραστηρίου ή παρούσα αναστολή. Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση), ως πρώτο βήμα μπορεί να εκτελεστεί επανεξέταση. Αν η επανεξέταση αποτύχει, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα αραιωμένο δοκίμιο για μετρίασμό των επιδράσεων τυχόν αναστολής του δείγματος.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Αναλυτική ευαισθησία – Όριο ανίχνευσης με χρήση του προτύπου του ΠΟΥ

Η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay επιβεβαιώθηκε μέσω εξέτασης αρνητικών για EBV δοκιμών πλάσματος, ενοφθαλμισμένων με χαμηλή αραιώση του 1^{ου} Διεθνούς προτύπου του ΠΟΥ για τον EBV για τεχνικές ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος. Αυτή η εξέταση επιβεβαίωσης εκτελέστηκε στο αναμενόμενο όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD) της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay στα συστήματα NeuMoDx System στα 200 IU/mL. Ως LoD καθορίστηκε το χαμηλότερο επίπεδο στόχου που πρόκειται να ανιχνευτεί σε ποσοστό $\geq 95\%$. Η μελέτη εκτελέστηκε σε πολλαπλά συστήματα με πιστοποιημένες παρτίδες αντιδραστηρίων NeuMoDx. Τα ποσοστά ανίχνευσης απεικονίζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Προσδιορισμός LoD μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay, Ποσοστό ανίχνευσης θετικού για δοκίμια πλάσματος

Στοχευόμενη συγκέντρωση [IU/mL]	ΠΛΑΣΜΑ		
	Αριθμός έγκυρων εξετάσεων	Αριθμός θετικών	Ποσοστό ανίχνευσης
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Αναλυτική ευαισθησία – Κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ορίζεται ως το χαμηλότερο επίπεδο στόχου στο οποίο επιτυγχάνεται ανίχνευση > 95% ΚΑΙ το συνολικό αναλυτικό σφάλμα (ΣΑΣ) είναι $\leq 1,0$. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η τιμή 200 IU/mL ως LoD και LLoQ για τη μέθοδο προσδιορισμού EBV Quant Assay, χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα της μελέτης λόγου ευστοχίας για τον προσδιορισμό του ΣΑΣ. Αυτό το υπολογισμένο ΣΑΣ ορίστηκε ως εξής:

$$\text{ΣΑΣ} = \text{συστηματικό σφάλμα} + 2 \cdot \text{TA} \text{ [Westgard Statistic]}$$

Το συστηματικό σφάλμα είναι η απόλυτη τιμή της διαφοράς μεταξύ του μέσου όρου της υπολογισμένης συγκέντρωσης και της αναμενόμενης συγκέντρωσης. Το ακρωνύμιο TA αναφέρεται στην τυπική απόκλιση της ποσοτικοποιημένης τιμής του δείγματος.

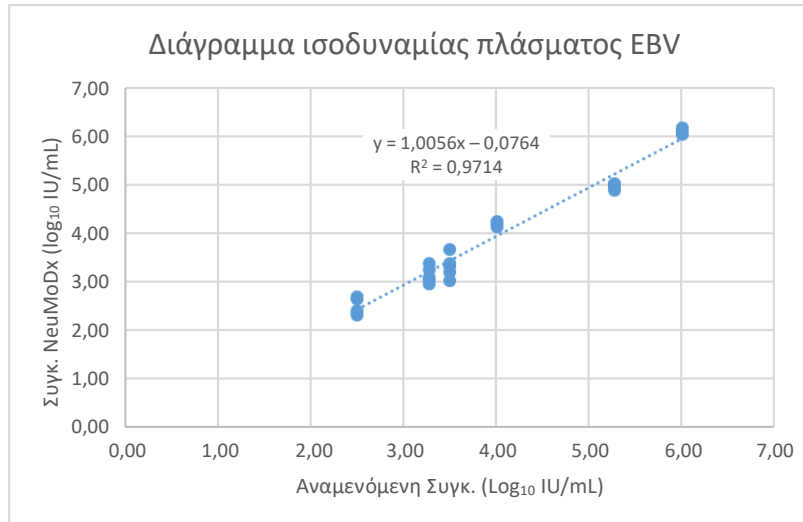
Πίνακας 3: LLoQ της δοκιμασίας NeuMoDx EBV Quant Assay με συστηματικό σφάλμα και ΣΑΣ

Στοχευόμενη συγκ. [IU/mL]	Στοχευόμενη συγκ. [Log ₁₀ IU/mL]	Πλάσμα				
		Μέση συγκ. [Log ₁₀ IU/mL]	Ανίχνευση (%)	TA	Συστηματικό σφάλμα	ΣΑΣ
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Βάσει της έκβασης αυτών των μελετών, το LoD και το LLoQ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay προσδιορίστηκαν και τα δύο ότι ήταν 200,0 IU/mL [2,30 Log₁₀ IU/mL].

Γραμμικότητα και προσδιορισμός ανώτατου ορίου ποσοτικοποίησης (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Η γραμμικότητα και το ανώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay καθιερώθηκαν στο πλάσμα με την προετοιμασία μιας σειράς αραιώσεων με τη χρήση του εγκλωβισμένου στόχου EBV NeuMoDx και του θετικού μάρτυρα EBV Exact Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) με καθιερωμένη ιχνηλασιμότητα σύμφωνα με το 1^ο Διεθνές πρότυπο του ΠΟΥ για EBV. Προετοιμάστηκε μια σειρά εξετάσεων 10 μελών μέσα σε συγκεντρωμένο, αρνητικό για EBV πλάσμα, ώστε να δημιουργηθεί μια σειρά εξετάσεων που θα κυμαίνονταν σε εύρος συγκέντρωσης 2,0 – 8,0 Log₁₀ IU/mL. Το ULoQ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay προσδιορίστηκε ότι ήταν 8,0 Log₁₀ IU/mL. Προετοιμάστηκε μια σειρά εξετάσεων επιβεβαίωσης για την αξιολόγηση της γραμμικότητας της πρότυπης καμπύλης και οι συγκεντρώσεις της μεθόδου προσδιορισμού EBV που αναφέρθηκαν από το σύστημα NeuMoDx System σε σύγκριση με τις αναμενόμενες τιμές παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.



Εικόνα 2: Γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay

Ειδικότητα – Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Η ειδικότητα ανάλυσης καταδείχθηκε μέσω ελέγχου 35 μικροοργανισμών που μπορούν να εντοπιστούν σε δοκίμια αίματος/πλάσματος, καθώς και ειδών φυλογενετικά παρόμοιων με τον ιό EBV για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα. Μικροοργανισμοί σε υψηλή συγκέντρωση προετοιμάστηκαν σε ομάδες των 5-6 μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί που εξετάστηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Δεν παρατηρήθηκε καμία διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με κανέναν από τους εξεταζόμενους μικροοργανισμούς, γεγονός που επιβεβαιώνει ειδικότητα ανάλυσης 100% για τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay.

Πίνακας 4: Παθογόνα που χρησιμοποιήθηκαν για την κατάδειξη της ειδικότητας ανάλυσης

Μη στοχευόμενοι μικροοργανισμοί					
Πολυομαϊός BK	Αδενοϊός τύπου 5	Ιός του απλού έρπητα τύπος 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Κυτταρομεγαλοϊός	Ιός της ηπατίτιδας C	Ιός του απλού έρπητα τύπος 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπος 6	Παρβοϊός B19	Ιός έρπητα ζωστήρα-ανεμοβλογιάς	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπος 7	Ιός JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπος 8	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Ιός της ηπατίτιδας B	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Ειδικότητα ανάλυσης – Παρεμβαλλόμενες ουσίες, συμβιωτικοί μικροοργανισμοί

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay αξιολογήθηκε ως προς την παρεμβολή παρουσία μη στοχευόμενων μικροοργανισμών με τη χρήση των ίδιων ομάδων μικροοργανισμών που προετοιμάστηκαν για την εξέταση διασταυρούμενης αντιδραστικότητας που παρατίθεται παραπάνω στον Πίνακα 4. Αρνητικό για EBV πλάσμα ενοφθαλμίστηκε με τους μικροοργανισμούς που συγκεντρώθηκαν σε ομάδες των 4-7. Αυτές οι ομάδες ενοφθαλμίστηκαν στη συνέχεια με στόχο EBV σε συγκέντρωση 3 Log₁₀ IU/mL. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική παρεμβολή παρουσία αυτών των μικροοργανισμών, όπως υποδεικνύεται από την ελάχιστη απόκλιση της ποσοτικοποίησης από δοκίμια μαρτύρων που δεν περιείχαν κανέναν παρεμβαλλόμενο παράγοντα.

Ειδικότητα ανάλυσης – Παρεμβαλλόμενες ουσίες, ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay αξιολογήθηκε παρουσία τυπικών εξωγενών και ενδογενών παρεμβαλλόμενων ουσιών που απαντώνται σε κλινικά δοκίμια πλάσματος EBV. Σε αυτές συμπεριλήφθηκαν μη φυσιολογικά υψηλά επίπεδα συστατικών του αίματος, καθώς και κοινές αντιβιοτικές και ανοσοκατασταλτικές φαρμακευτικές αγωγές, που ταξινομήθηκαν στον Πίνακα 5. Κάθε ουσία προστέθηκε σε ελεγχόμενο, αρνητικό για EBV ανθρώπινο πλάσμα, ενοφθαλμισμένο με 3 Log₁₀ IU/mL EBV και τα δείγματα αναλύθηκαν ως προς την παρεμβολή. Επιπλέον, εξετάστηκε επίσης ως προς τη δυναμική παρεμβολή πλάσμα σε κοινή κατάσταση νόσου που συσχετίζεται με λοίμωξη από EBV. Η μέση συγκέντρωση και το συστηματικό σφάλμα όλων των ουσιών που εξετάστηκαν σε σύγκριση με τα ενοφθαλμισμένα με ίδιο επίπεδο EBV δείγματα μάρτυρα αναφέρονται στον Πίνακα 6. Καμία από τις εξωγενείς και ενδογενείς ουσίες δεν επηρέασε την ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay.

Πίνακας 5: Εξέταση παρεμβολής - Εξωγενείς παράγοντες (Ταξινομήσεις φαρμάκων)

Ομάδα	Όνομα φαρμάκου	Ταξινόμηση	Ομάδα	Όνομα φαρμάκου	Ταξινόμηση
Ομάδα 1	Αζαθειοπρίνη	Ανοσοκατασταλτικό	Ομάδα 4	Τριμεθοπρίμη	Αντιβιοτικό
	Κυκλοσπορίνη	Ανοσοκατασταλτικό		Βανκομυκίνη	Αντιβιοτικό
	Φοσκαρνέτη	Αντιικό (Herpesviridae)		Τακρόλιμους	Ανοσοκατασταλτικό
	Γκανσικλοβίρη	Αντιικό (EBV)		Εβερόλιμους	Ανοσοκατασταλτικό
	Υδροχλωρική βαλγκανσικλοβίρη	Αντιικό (EBV)		Κλαβουλανικό κάλιο	Αντιβιοτικό
Ομάδα 2	Πρεδνιζόνη	Κορτικοστεροειδές/ανοσοκατασταλτικό	Ομάδα 5	Φαμοτιδίνη	Ανταγωνιστής υποδοχέα ισταμίνης
	Σιδοφοβίρη	Αντιικό (EBV)		Σουλφαμεθοξαζόλη	Αντιβιοτικό
	Κεφοτετάνη	Αντιβιοτικό (ευρέος φάσματος)		Βαλακικλοβίρη	Αντιικό (Herpesviridae)
	Κεφοταξίμη	Αντιβιοτικό (ευρέος φάσματος)		Λετερμοβίρη	Αντιικό (EBV)
	Φλουκοναζόλη	Αντιμυκητιασικό		Τικαρσυλλίνη δινάτριο	Αντιβιοτικό
Ομάδα 3	Μυκοφαινολική μοφετίλη	Ανοσοκατασταλτικό	Λεφλουνομίδη	Ανοσοκατασταλτικό	
	Μυκοφαινολικό νάτριο	Ανοσοκατασταλτικό			
	Πιπερακιλλίνη	Αντιβιοτικό			
	Σιρόλιμους/Ραπαμυκίνη	Ανοσοκατασταλτικό			
	Ταζοβακτάμη	Τροποποιημένο αντιβιοτικό			

Πίνακας 6: Εξέταση παρεμβολής - Εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες

Ενδογενείς	Μέση συγκ.	Συστηματικό σφάλμα
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Αιμοσφαιρίνη	3,20	0,23
Τριγλυκερίδια	3,15	0,28
Χολερυθρίνη	3,48	-0,05
Λευκωματίνη	3,2	0,22
Εξωγενείς (Φαρμακευτικές αγωγές)	Μέση συγκ.	Συστηματικό σφάλμα
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Ομάδα 1: Αζαθειοπρίνη, κυκλοσπορίνη, φοσκαρνέτη, γκανσικλοβίρη, υδροχλωρική βαλγκανσικλοβίρη	3,30	0,13
Ομάδα 2: Πρεδνιζόνη, σιδοφοβίρη, κεφοτετάνη, κεφοταξίμη, φλουκοναζόλη	3,22	0,21
Ομάδα 3: Μυκοφαινολική μοφετίλη, μυκοφαινολικό νάτριο, πιπερακιλλίνη, σιρόλιμους/ραπαμυκίνη, ταζοβακτάμη	3,36	0,07
Ομάδα 4: Τριμεθοπρίμη, βανκομυκίνη, τακρόλιμους, εβερόλιμους, κλαβουλανικό κάλιο	3,32	0,11
Ομάδα 5: Φαμοτιδίνη, σουλφαμεθοξαζόλη, λετερμοβίρη, βαλασικλοβίρη, τικαρσυλλίνη δινάτριο, λεφλουνομίδη	3,47	-0,10
Κατάσταση νόσου	Μέση συγκ.	Συστηματικό σφάλμα
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ)	3,23	0,20
Αντιτυρηνικό αντίσωμα (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Ρευματοειδής αρθρίτιδα (ΡΑ)	3,19	0,24

Ενδοεργαστηριακή ακρίβεια

Η ακρίβεια της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay προσδιορίστηκε μέσω εξέτασης 3 αντιγράφων μιας σειράς εξετάσεων 4 μελών δοκιμών EBV που προετοιμάστηκαν με θετικό μάρτυρα EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) τρεις φορές την ημέρα, με χρήση δύο συστημάτων NeuMoDx 288 System και ενός συστήματος NeuMoDx 96 System επί δύο ημέρες. Χαρακτηρίστηκαν οι ακρίβειες στο πλαίσιο της εκτέλεσης, στο πλαίσιο της ημέρας και στο πλαίσιο του συστήματος, και η συνολική τυπική απόκλιση προσδιορίστηκε ότι ήταν $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Καταδείχτηκε εξαιρετική ακρίβεια μεταξύ συστημάτων, ημερών ή εκτελέσεων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 7. Η ακρίβεια μεταξύ χειριστών δεν χαρακτηρίστηκε, καθώς ο χειριστής δεν διαδραματίζει κανέναν σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία των δειγμάτων με τη χρήση του συστήματος NeuMoDx System.

Πίνακας 7: Ενδοεργαστηριακή ακρίβεια – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay σε συστήματα NeuMoDx System

Συγκ. στόχου EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	Μέση συγκ. EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	ΤΑ στο πλαίσιο του συστήματος	ΤΑ στο πλαίσιο της ημέρας	ΤΑ στο πλαίσιο της εκτέλεσης	Συνολικά ΤΑ (στο πλαίσιο του εργαστηρίου)
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

Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων

Η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay προσδιορίστηκε με την αξιολόγηση τριών παρτίδων βασικών αντιδραστηρίων -ταινίες NeuMoDx EBV Quant Test Strip και ρυθμιστικό διάλυμα Lysis Buffer 5- στο πλαίσιο εξέτασης πιστοποίησης (Qualification Testing, QT). Για την αξιολόγηση της απόδοσης, χρησιμοποιήθηκε μια σειρά εξετάσεων με 4 μέλη θετικού για EBV πλάσματος (Πίνακας 8). Αναλύθηκε η διακύμανση στο πλαίσιο κάθε παρτίδας και μεταξύ παρτίδων και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 8-9. Το μέγιστο συνολικό συστηματικό σφάλμα ήταν $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ και η μέγιστη συνολική ΤΑ ήταν $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ για τις ταινίες NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip. Το μέγιστο συνολικό συστηματικό σφάλμα ήταν $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ και η μέγιστη συνολική ΤΑ ήταν $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ για το ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 5. Καταδείχτηκε ισοδύναμη απόδοση μεταξύ των παρτίδων, καθώς η ποσοτικοποίηση όλων των μελών της σειράς εξετάσεων ήταν εντός των προδιαγραφών ανοχής.

Πίνακας 8: Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant, Test Strip

Συγκ. στόχου EBV [IU/mL]	Μέση συγκ. EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	N (Εγκυρα αποτελέσματα ανά παρτίδα)	Συστηματικό σφάλμα	ΤΑ μεταξύ παρτίδων	ΤΑ στο πλαίσιο της παρτίδας	Συνολική ΤΑ
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

Πίνακας 9: Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων – Δοκιμασία NeuMoDx EBV Quant Assay, ρυθμιστικό διάλυμα Lysis Buffer 5

Συγκ. στόχου EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	Μέση συγκ. EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	N (Εγκυρα αποτελέσματα ανά παρτίδα)	Συστηματικό σφάλμα	ΤΑ μεταξύ παρτίδων	ΤΑ στο πλαίσιο της παρτίδας	Συνολική ΤΑ
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

Αποτελεσματικότητα μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος

Ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control 1, SPC1) περιλαμβάνεται στη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay για την αναφορά αστοχιών βημάτων επεξεργασίας ή αναστολής που επηρεάζει την απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού. Με τη χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx CMV Quant Assay ως μοντέλου, εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα του SPC1 για δοκίμια πλάσματος υπό συνθήκες αντιπροσωπευτικές κρίσιμων αστοχιών βημάτων επεξεργασίας που θα μπορούσαν δυνητικά να σημειωθούν κατά την επεξεργασία των δειγμάτων και οι οποίες *ενδέχεται να μην ανιχνευτούν* από τους αισθητήρες παρακολούθησης της απόδοσης του συστήματος NeuMoDx System. Τα θετικά (στα 3 Log₁₀ IU/mL) και αρνητικά για κυτταρομεγαλοϊό δοκίμια τέθηκαν σε πρόκληση υπό τις ακόλουθες συνθήκες: παρουσία αναστολέα, χωρίς χορήγηση διαλύματος πλύσης και χωρίς πλύση με εκφύσηση. Οι ανεπάρκειες στην επεξεργασία που είχαν αρνητική επίδραση στην ανίχνευση/ποσοτικοποίηση του στοχευόμενου ιού αντικατοπτρίστηκαν μέσω της απόδοσης του στόχου SPC1, όπως φαίνεται στον Πίνακα 10. Σε όλες τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, καταδείχθηκε ότι είτε ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος παρακολούθησε τις ανεπάρκειες επεξεργασίας και την παρουσία αναστολέων επαρκώς είτε η αναμενόμενη αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας δεν είχε σημαντική αρνητική επίδραση στην ανίχνευση του SPC1 ούτε στην ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση του στοχευόμενου ιού. Συνεπώς, το SPC1 κατέδειξε επιτυχία στην αποτελεσματική παρακολούθηση της απόδοσης της μεθόδου προσδιορισμού στο σύστημα NeuMoDx System.

Πίνακας 10: Αποτελεσματικότητα του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος για ιικό DNA σε πλάσμα*

Εξεταζόμενη αστοχία βήματος επεξεργασίας	Κατάσταση ενίσχυσης μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος 1	Κατάσταση ενίσχυσης στόχου CMV	Αποτέλεσμα μεθόδου προσδιορισμού
Presence of Inhibitor (Παρουσία αναστολέα)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)
No Wash Delivered (Χωρίς χορήγηση πλύσης)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)
No Wash Blowout (Χωρίς πλύση με εκφύσηση)	Amplified (Με ενίσχυση)	Amplified (Με ενίσχυση)	Positive with Quantitation within 0.3 Log ₁₀ IU/mL of Control (Θετικό με ποσοτικοποίηση εντός 0,3 Log ₁₀ IU/mL του μάρτυρα)

*Ο κυτταρομεγαλοϊός (CMV) σε δοκίμια πλάσματος χρησιμοποιήθηκε ως σύστημα μοντέλου για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος.

Διασταυρούμενη μόλυνση

Το ποσοστό διασταυρούμενης μόλυνσης για δοκίμια πλάσματος προσδιορίστηκε με την επεξεργασία εναλλάξ υψηλών θετικών και αρνητικών δειγμάτων ενός παρόμοιου αιματογενούς μεταδιδόμενου ιού DNA, του κυτταρομεγαλοϊού (CMV). Εκτελέστηκαν τρία σετ κάθε τέτοιας εξέτασης ελέγχου, με συνολικά 108 αντίγραφα αρνητικού για CMV πλάσματος και 108 αντίγραφα ενοφθαλμισμένου με CMV πλάσματος στα 6,0 Log₁₀ IU/mL. Και τα 108 αντίγραφα του αρνητικού δοκίμιου αναφέρθηκαν ως αρνητικά, γεγονός που καταδεικνύει ότι δεν σημειώθηκε καμία διασταυρούμενη μόλυνση κατά την επεξεργασία του δείγματος πλάσματος στο σύστημα NeuMoDx System.

Ισοδυναμία μήτρας δοκίμιου

Εκτελέστηκε εξέταση για να καταδειχθεί η ισοδυναμία μεταξύ φρέσκων και κατεψυγμένων δοκιμών πλάσματος με τη χρήση παρόμοιου αιματογενούς μεταδιδόμενου ιού, του CMV, ως μοντέλου. Τα φρέσκα δοκίμια διατηρήθηκαν στους 4 °C έως ότου ενοφθαλμιστήκαν με τρία επίπεδα CMV και εξετάστηκαν ως προς την ισοδυναμία. Στη συνέχεια, τα δείγματα καταψύχθηκαν για τουλάχιστον 24 ώρες στους -20 °C. Μετά από αυτήν την περίοδο φύλαξης υπό κατάψυξη, τα δοκίμια αποψύχθηκαν και επανεξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα από τα φρέσκα έναντι των κατεψυγμένων δοκιμών πλάσματος συγκρίθηκαν ως προς την ισοδυναμία μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης. Τα δεδομένα κατέδειξαν εξαιρετική ισοδυναμία μεταξύ φρέσκων και κατεψυγμένων δοκιμών πλάσματος με τιμή κλίσης 1,0 και πολύ χαμηλό συστηματικό σφάλμα (τομή), όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 11 παρακάτω.

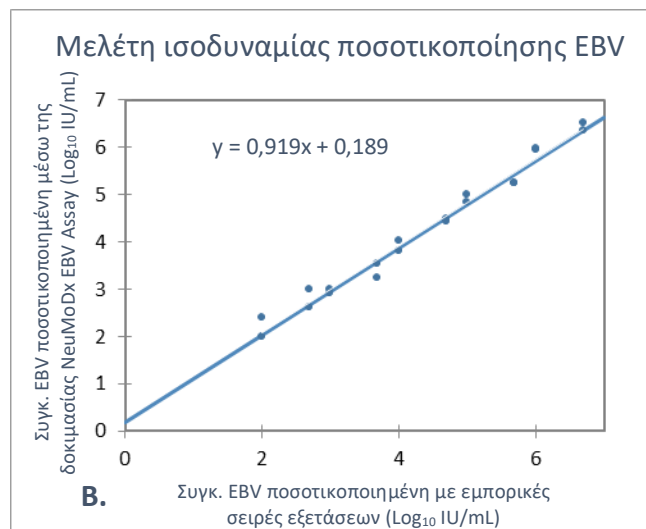
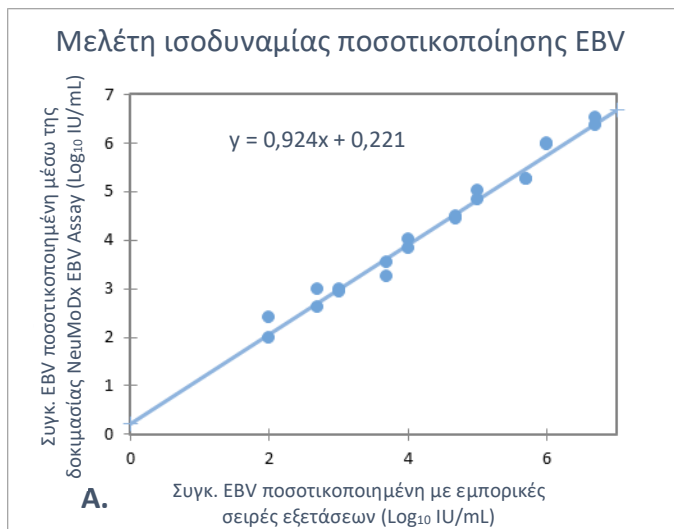
Πίνακας 11: Ισοδυναμία μήτρας δοκίμιου

Απαίτηση παραμέτρου	Φρέσκα έναντι κατεψυγμένων με EDTA
Κλίση [0,9 – 1,1]	1,000
Τομή <0,5 Log ₁₀ IU/mL	0,020
Τιμή <i>p</i> > 0,05	0,631

Χαρακτηρισμός απόδοσης ποσοτικοποίησης

Η ποσοτική απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay χαρακτηρίστηκε με την επεξεργασία δύο εμπορικών σειρών εξετάσεων επιβεβαίωσης EBV από την AcroMetrix και την Exact Diagnostics (ιχνηλασιμότητα σύμφωνα με το 1^ο Διεθνές πρότυπο του ΠΟΥ για τον EBV) στα συστήματα NeuMoDx Molecular System.

Εξασφαλίστηκε εξαιρετική συσχέτιση μεταξύ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay και των δύο εμπορικών σειρών εξετάσεων επαλήθευσης EBV (Εικόνα 4), κατά την ανάλυση με τη μέθοδο παλινδρόμησης Deming (Εικόνα 4A) ή τη μέθοδο Passing-Bablok (Εικόνα 4B).



Εικόνα 4. Διάγραμμα ισοδυναμίας μεταξύ σειρών εξετάσεων επιβεβαίωσης AcroMetric και Exact Diagnostics και μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης με χρήση της μεθόδου Deming. **B.** Γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης με χρήση της μεθόδου Passing-Bablok.

Η ποιότητα της εφαρμογής παλινδρόμησης Deming απεικονίζεται μέσω ενός συντελεστή συνολικής κλίσης της τάξης του 0,92 και τομής (συστηματικού σφάλματος) της τάξης του 0,22, γεγονός που καταδεικνύει ότι τα αποτελέσματα συγκέντρωσης που εξασφαλίστηκαν μεταξύ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay και των σειρών εξετάσεων επαλήθευσης EBV συσχετίζονται με αποδεκτό συστηματικό σφάλμα. Η γραμμική εφαρμογή Passing-Bablok υποστηρίζει επίσης τη σημασία της συσχέτισης μεταξύ των αποτελεσμάτων που εξασφαλίστηκαν από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx EBV Quant Assay και τις σειρές εξετάσεων επαλήθευσης EBV με συντελεστή συνολικής κλίσης 0,92 και τομή (συστηματικό σφάλμα) 0,19. Η τιμή r της ανάλυσης Passing-Bablok υπολογίστηκε ότι είναι 0,40.

Πίνακας 12: Σύνοψη γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης Deming και Passing-Bablok

Ανάλυση Deming		Ανάλυση Passing-Bablok	
Τομή	Συντελεστής κλίσης	Τομή	Συντελεστής κλίσης
0,22	0,92	0,19	0,92
ΔΕ 95% (-0,11, 0,55)	ΔΕ 95% (0,86, 0,99)	ΔΕ 95% (-0,08, 0,41)	ΔΕ 95% (0,87, 0,99)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

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.

ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ















Η ονομασία NeuMoDx™ είναι εμπορικό σήμα της NeuMoDx Molecular, Inc.

Η ονομασία NeuDry™ είναι εμπορικό σήμα της NeuMoDx Molecular, Inc.

Η ονομασία TaqMan® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Roche Molecular Systems, Inc.

Όλες οι υπόλοιπες ονομασίες προϊόντων, τα εμπορικά σήματα και τα κατατεθέντα εμπορικά σήματα που μπορεί να αναφέρονται στο παρόν έγγραφο αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

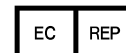
ΣΥΜΒΟΛΑ

ΣΥΜΒΟΛΟ	ΣΗΜΑΣΙΑ
R only	Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
	Κατασκευαστής
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Αριθμός καταλόγου
	Κωδικός παρτίδας
	Ημερομηνία λήξης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Περιορισμός υγρασίας
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προσοχή
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Σήμανση CE



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

Χορηγός (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



Τεχνική υποστήριξη / Υποβολή αναφορών επαγρύπνησης: support@qiagen.com

Δίπλωμα ευρεσιτεχνίας: www.neumodx.com/patents