

REF 201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0

R only

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

IVD За *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular System

 За актуализации на листовката посетете: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора NeuMoDx 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора NeuMoDx 96 Molecular System; ном. № 40600317

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е автоматизиран *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количествено определяне на ДНК на човешки вирус Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV) в плазма с EDTA от претърпяли трансплантация имунокомпрометирани пациенти.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, извършен на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System, включва автоматизирана ДНК екстракция за изолиране на целевите нуклеинови киселини от пробата и PCR в реално време, насочен към два силно консервирани региона в генома на EBV.

Анализът е предназначен за използване като помощно средство при проследяване на нивата на EBV ДНК в периферната кръв за оценка на вирусния отговор към лечението. Този анализ е предвиден за употреба заедно с клиничната картина и други лабораторни показатели за прогресия на заболяването при клиничния контрол и следене на EBV инфекция.

Анализът не е предвиден за употреба като тест за скрининг за наличието на EBV ДНК в кръв или кръвни продукти. Анализът NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е предназначен за използване от обучен клиничен лабораторен персонал, специално инструктиран и обучен в техниките на PCR в реално време и диагностични *инвитро* процедури и/или системи NeuMoDx Molecular System. Анализът NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 не е предназначен за самостоятелно тестване или употреба на мястото на полагане на грижи.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, съдържащи EDTA като антикоагулант, може да се използва за подготовката на плазма. За да започне тестването, плазма в епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System, се поставя в носач за епруветки с проби и се зарежда на работния плот на NeuMoDx System. За всяка проба 550 µL аликвотна част от аликвотната част от плазма се смесва NeuMoDx Lysis Buffer 1 и NeuMoDx System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията (два силно консервирани региона в генома на EBV). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 включва контрол за обработка на ДНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), който помага при следенето за наличието на потенциално инхибиращи вещества и проблеми в NeuMoDx System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурите за извличане и амплификация.

EBV представлява често срещан двувърижен ДНК вирус от семейството на човешкия вирус херпес, който заразява хора от всички възрасти. Счита се, че повече от 90% от хората по цял свят са или са били заразени с EBV.¹ EBV се предава чрез телесни течности – например слюнка, кръв, сперма и трансплантация на органи. Много хора се заразяват с EBV в детските години. Докато са заразени с EBV, те обикновено са асимптоматични. Имунокомпрометирани лица могат да развият по-тежки симптоми и усложнения от EBV инфекция. Латентната EBV инфекция крие най-голям риск за пациентите след трансплантация. Лимфопролиферативните заболявания след трансплантация (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD) включват образуване на предизвикан от EBV тумор в В-клетките поради въздействието на имunosупресивни агенти върху имунния контрол на EBV – една от най-съществените причини за заболяемост и смъртност при пациенти, претърпяли всякакви видове трансплантация на органи.²

Следенето на EBV вирусния товар може да се използва като помощ при диагностиката и контрола на свързани с EBV PTLD. Диагнозата обаче трябва да се постави след взета биопсия. Следенето на EBV вирусния товар може също да се използва за проследяване на отговора на свързаното с EBV лечение на PTLD, обикновено с Ритуксимаб, и намаляване на имunosупресивната терапия.³

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

За извършване на анализ NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 на система NeuMoDx System се използват тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, калибратори NeuMoDx EBV Calibrator, външни контроли NeuMoDx EBV External Control, буфер NeuMoDx Lysis Buffer 1 и NeuMoDx реактиви за обща употреба. Анализът NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA за подготовката на плазма. Пробата от плазма в съвместима с NeuMoDx System епруветка за проби се поставя в носач за епруветки с проби и се зарежда на работния плот на NeuMoDx System за обработка. Друга намеса на оператора не е необходима.

Системите NeuMoDx System използват комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършват автоматично лизиране на клетки, извличане на ДНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от магнитни афинитетни микросфери. Микросферите със свързаните нуклеинови киселини се зареждат в NeuMoDx Cartridge, където несвързаните, несъдържащи ДНК компоненти допълнително се отиват с NeuMoDx Wash Reagent, а свързаната ДНК се елуира с NeuMoDx Release Reagent. Системите NeuMoDx System след това използват елуираната ДНК, за да рехидратира патентовани реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация с PCR на прицелните EBV-специфични нуклеинови киселини и тези за SPC1. След разтварянето на реактивите NeuDry за PCR NeuMoDx System накарва подготовената смес за PCR в NeuMoDx Cartridge. Амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенция от ДНК (ако има) се извършват в камерата за PCR на NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge е също така конструирана да задържа ампликона след PCR в реално време и на практика елиминира риска от замърсяване след амплификацията.

NeuMoDx EBV Quant Assay се 2.0 прицелва в два силно консервирани региона – BALF5 и BXFL1 – в генома на EBV. Двойното прицелване намалява риска от грешни отрицателни резултати в случаи на мутация в един от прицелните региони, което повишава надеждността на анализа. Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се определят в реално време с прилагане на химичен метод с хидролизна сонда (известен като TaqMan®), с използване на флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните за съответните цели.

Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, при което молекулата на гасителя гаси флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan са конструирани така, че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Taq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Taq ДНК полимеразата разгражда хибридираната към образеца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасящото действие поради FRET и се създава възможност за откриване на флуоресценцията на флуорофора. Засеченият получен флуоресцентен сигнал е право пропорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна ДНК.

Сонда TaqMan, обозначена с флуорофор (възбуждане: 490 nm и излъчване: 521 nm) в край 5' и гасител в край 3', се използва за откриване на двете прицелни EBV ДНК. За откриването на SPC1 сондата TaqMan е белязана с друг флуоресцентен оцветител (възбуждане: 535 nm и излъчване: 556 nm) в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато амплификацията завърши, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)). Ако резултатът е POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН), софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част или съобщава дали изчислената концентрация е извън линейния диапазон.



РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Единици на опаковка	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 Суши реактиви за RT-PCR, съдържащи специфични за EBV и SPC1 сонда TaqMan и праймери.	6	16	96

Необходими, но недоставени материали (Предлагат се отделно от QIAGEN)

№	Съдържание
800501	NeuMoDx EBV Calibrators Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за EBV за установяване на валидността на стандартната крива (1 шише от всяка контрола = 1 набор)
900502	NeuMoDx EBV External Controls Набори за еднократна употреба от EBV-ниски положителни, високи положителни и отрицателни контроли за всекидневно установяване на валидността на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (по 1 шише от всяка контрола = 1 набор)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Суши парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Връхчета Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µL) с филтри
235905	Връхчета Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

NeuMoDx 288 Molecular System [№ 500100] NeuMoDx 96 Molecular System [№ 500200]

NeuMoDx System Software, версия 1.9.2.6 или по-нова



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 е само за *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx System.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Трябва да има валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски NeuMoDx EBV Calibrator [№ 800501]), преди да могат да се генерират резултати от тестовите за клинични аликвотни части.

- NeuMoDx EBV External Control [№ 900502] трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Минималният обем от пробата за вторичните аликвотни части от плазма с EDTA е описан подробно по-долу в раздела „Подготовка на теста“. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Употребата на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати.
- Трябва да се избягва замърсяване на всички реактиви и консумативи с микроорганизми и деоксирибонуклеаза (ДНКаза). Когато се използват вторични епруветки се препоръчва използване на несъдържащи ДНКаза стерилни преносни пипети за еднократна употреба. За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касети NeuMoDx Cartridges от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се замърсяват.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се внимава да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 и NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на контейнера с NeuMoDx Lysis Buffer; при боравенето с консумативите и реактивите може да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (ИЛБ) са предоставени за всеки реактив (ако е необходимо) на www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Измивайте добре ръцете след извършването на теста.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- С пробите винаги трябва да се борави като с инфекциозни и в съответствие с процедурите за безопасност в лабораторията като описаните в *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ и в документ M29-A4 на CLSI.⁵
- Когато работите с химикали, винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация, моля, консултирайте се със съответните информационни листове за безопасност (ИЛБ).
- Депонирайте неизползваните реактиви и отпадъци в съответствие с държавните, федералните, провинциалните, щатските и местните разпоредби. Следвайте препоръките в Информационния лист за безопасност (ИЛБ).

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Съдържа: борна киселина. Опасност! Предиизвиква сериозно дразнене на очите. Може да увреди фертилитета или плода. Преди употреба се снабдете със специални инструкции. Не използвайте, преди да сте прочели и разбрали всички предпазни мерки за безопасност. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. ПРИ явна или предполагаема експозиция: Потърсете медицински(а) съвет/помощ. Съхранявайте заключено. Съдържанието/опаковките да се предадат на събирателен пункт за опасни или специални отпадъци.

Информация за спешни случаи

CHEMTREC

Извън САЩ и Канада +1 703-527-3887



СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 са стабилни в първичната опаковка до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта, когато се съхраняват при температури от 15 °C до 28 °C.
2. След като бъде заредена, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 може да остане в NeuMoDx System 14 дни. Оставаният срок на годност на заредените тест-ленти се проследява от софтуера и се съобщава на потребителя в реално време. Системата ще съобщи, когато трябва да се извади тест-лента, използвана по-дълго от допустимия срок.
3. Въпреки че са неинфекциозни, NeuMoDx EBV Calibrator и NeuMoDx EBV External Control трябва да се изхвърлят след употреба като биорискови отпадъци, за да се намали рискът от контаминация.

ВЗЕМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

С всички проби трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.

1. Не замразявайте цяла кръв или проби, съхранявани в първични епруветки.
2. За подготовка на проби от плазма, трябва да се взема цяла кръв в стерилни епруветки с EDTA като антикоагулант. Спазвайте инструкциите на производителя на епруветките за взимане на проби.
3. Цяла кръв, взета в изброените по-горе изделия, може да се съхранява и/или пренася до 24 часа при 2 °C до 25 °C преди подготовката на плазмата. Подготовката на плазмата трябва да се извършва по инструкциите на производителя.
4. Подготвените проби от плазма могат да се оставят в NeuMoDx System до 8 часа преди обработка. Ако е необходимо повече време за съхранение, се препоръчва пробите да се поставят в хладилник или фризер.
5. Подготвените проби от плазма трябва да се съхраняват при температури от 2 до 8 °C не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа при стайна температура.

6. Подготвените проби от плазма могат да се съхраняват при -20°C до 8 седмици; алиquotни части от плазма не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване преди употреба.
 1. Ако пробите са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15°C – 30°C); след което ги разбъркайте с вортекс, за да се разпределят равномерно. Пробите трябва да са на стайна температура преди тестването.
 2. След като замразените алиquotни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 8 часа.
7. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

1. Поставете етикета с баркод за проба върху епруветка за проби, съвместима със NeuMoDx System, както е описано по-долу.
2. Прехвърлете алиquotна част от проба в епруветката с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:
3. *За проби от плазма:*
 - Носач за епруветки с проби (за 32 епруветки): диаметър от 11 mm до 14 mm и височина от 60 mm до 120 mm; минимален обем проба в епруветката $\geq 750 \mu\text{L}$
 - Носач за епруветки с проби (за 24 епруветки): диаметър от 14,5 mm до 18 mm и височина от 60 mm до 120 mm; минимален обем проба в епруветката $\geq 1100 \mu\text{L}$
 - Носач за епруветки с проби с малък обем (за 32 епруветки): 1,5-mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга; минимален обем проба в епруветката $\geq 650 \mu\text{L}$

Работа с NeuMoDx System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора NeuMoDx 288 и 96 Molecular System (ном. № 40600108 и 40600317)

1. Заредете един или повече носачи за тест-ленти NeuMoDx System Test Strip Carrier с тест-лента(и) NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
2. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
3. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent и NeuMoDx Release Reagent и изпразнете бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за система NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчетата (само за NeuMoDx 96 Molecular System) или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System), ако е необходимо.
4. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете Calibrator [№ 800501] и/или External Control [№ 900502], ако е необходимо. Допълнителна информация за калибраторите и контролите ще намерите в раздела „Обработка на резултатите“.
5. Заредете епруветките с проби в носач за епруветки с проби и се уверете, че са свалени капачките и тампоните от всички епруветки.
6. Поставете носача за епруветки с проби на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача(ите) в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочения(те) тест(ове), при положение, че в системата да има валидна заявка за тестване.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 може да се използва само на системите NeuMoDx System.
2. Работните характеристики на NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 са установени за проби от плазма, подготвени от цяла кръв, взета с EDTA като антикоагулант. Употребата на NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 с други източници не е проверена и работните характеристики не са известни за други видове проби.
3. Тъй като откриването на EBV нуклеинови киселини обикновено зависи от броя на присъстващите в алиquotната част вирусни частици, надеждните резултати зависят от правилното вземане, боравене и съхранение на пробите.
4. Грешни резултати от тестовете могат да се получат при неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати могат да се получат, защото броят на вирусните частици в алиquotната част е под границата на откриването на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
6. Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за EBV, така и за SPC1, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
7. Ако преди приключване на обработката на алиquotната част възникне грешка в системата, ще бъде отчетено „No Result“ (няма резултат) и тестът трябва да бъде повторен.

8. В случай че откритата EBV ДНК е над ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 трябва да се повтори с разрежена аликвотна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:100 или 1:1000 в EBV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Системата автоматично ще изчисли концентрацията на първоначалната проба по следния начин: Концентрацията на първоначалната проба = \log_{10} (фактора на разреждане) + съобщената концентрация на разредената аликвотна част, стига факторът на разреждане да е правилно избран в софтуера преди повтарянето.
9. Наличието на инхибитори на PCR в плазма може да доведе до грешка в количественото определяне на системата; в този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разрежена в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
10. Положителен резултат говори за наличие на ДНК на EBV.
11. Въпреки че е много малко вероятно, делеции или мутации в консервираните региони, в които се прицелва NeuMoDx EBV Quant Assay, могат да повлияят на откриването и/или количественото определяне и да доведат до грешен резултат.
12. Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
13. За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрата лабораторна практика, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Достъпните резултати може да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца с Results (резултатите) на сензорния екран на NeuMoDx System. Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа EBV в NeuMoDx (EBV Quant ADF, версия 4.0.0 или по-нова). Един резултат от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 може да бъде отчетен като Negative (отрицателен), Positive (положителен) със съобщена концентрация на EBV ДНК, Indeterminate (неопределен), No Result (Няма резултат) или Unresolved (Неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части. Резултати се съобщават според алгоритъма за взимане на решение във файла с дефиниция за анализа (Assay Definition File, ADF), обобщен в Таблица 1 по-долу.

Таблица 1: Интерпретация на резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Резултат	EBV Прицелни	Контрол за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Положителен)	AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ) [2 ≤ Ct < 28 (И) EPR > 1,3 (И) EP > 1200] ИЛИ [28 < Ct < 38 (И) EP > 1200]	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), над горната граница на количествено определяне [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log₁₀ IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] > 8,0 Log ₁₀ IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), под долната граница на количествено определяне [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log₁₀ IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] < 1,48 Log ₁₀ IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Negative (Отрицателен)	NOT AMPLIFIED (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ) N/A (Не е приложимо) ИЛИ [2 ≤ Ct < 28 (И) EPR ≤ 1,3 AND EP > 1200] ИЛИ [28 ≤ Ct < 38 (И) EP > 1200] ИЛИ Ct > 38	AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ) [29 < Ct < 35 (И) EP ≥ 2000]
No Result (Няма резултат)*	Not Amplified; System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)	
Indeterminate (Неопределен)*	Not Amplified; System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)	
Unresolved (Неполучен)*	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)	

EP = End Point Fluorescence (флуоресценцията в крайната точка); EPR = End Point Fluorescence Ratio (съотношението на флуоресценцията в крайната точка); Ct = Cycle Threshold (прага на цикъла);

Quant = изчислено количество наличен EBV, изразено в Log₁₀ IU/mL. Вижте раздела „Изчисляване на теста“ по-долу.

* Системата има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка) /Repeat (Повторение) в случай на невалиден резултат, за да се минимизират забавянията в съобщаването на резултатите.

Изчисляване на теста: Аликвотни части

1. За аликовтни части в рамките на линейния диапазон на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 концентрацията на ДНК на EBV в аликовтните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация.
 1. „Коефициент на калибрация“ се изчислява според резултатите от обработката на NeuMoDx EBV Calibrator да се установи валидността на стандартната крива за всяка партида NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 на дадена NeuMoDx System.
 2. Коефициентът на калибрация се включва автоматично от системата в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на EBV.
2. Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 се съобщават в IU/mL и Log₁₀ IU/mL.
3. Крайното количествено определяне на неизвестните аликовтни части е проследимо по 1-вия Международен стандарт на СЗО за вирус на Epstein-Barr за техниките за амплификация на нуклеинови киселини.

Изчисляване на теста: Калибратори

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на ДНК на EBV в пробите. За генерирането на валидни резултати калибрация на теста трябва да се извърши с калибраторите, предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc.

1. NeuMoDx EBV Calibrator се доставят в комплект [№ 800501] и съдържат неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на EBV, подготвена в Basematrix.
2. Набор калибратори за EBV трябва да се обработят с всяка нова партида NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, при зареждане на нов файл с дефиниция за анализа EBV в NeuMoDx System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (90 дни) или ако софтуерът на NeuMoDx System бъде променен.
3. Софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя кога трябва да се обработят калибраторите; нова партида тест-ленти не може да се използва за тестването, докато калибраторите не бъдат успешно обработени.
4. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 1. Набор от два калибратора – висок и нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 2. За генерирането на валидни резултати поне 2 от 3-те репликата трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е 3 Log₁₀ IU/mL, а тази на висок калибратор – 5 Log₁₀ IU/mL.
 3. Коефициент на калибрация се изчислява за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти; този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на EBV ДНК.
5. Ако единият или двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържалият калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
6. Ако калибраторите не издържат проверката за валидност за втори пореден път, се обърнете към отдела за техническа поддръжка на QIAGEN.

Невалидни резултати

Ако анализ NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат, според вида на възникналата грешка, той ще бъде съобщен като Indeterminate (неопределен), No Result (няма резултат) или Unresolved (неполучен) и за получаване на валиден резултат тестът трябва да бъде повторен.

Indeterminate (Неопределен) резултат ще бъде съобщен, ако по време на обработката на аликовтната част, бъде установена грешка в NeuMoDx System. Ако бъде съобщен резултат Indeterminate (Неопределен), се препоръчва извършване на повторен тест.

No Result (няма резултат) ще бъде съобщен, ако в NeuMoDx System е установена грешка и обработката на аликовтната част е прекратена. Ако бъде съобщено, че No Result (няма резултат), се препоръчва извършване на повторен тест.

Unresolved (Неполучен) резултат ще се съобщи, ако не бъде открита прицелна нуклеинова киселина и няма амплификация на контрола за обработката на аликовтните части, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат Unresolved (неполучен), повторно тестване е препоръчителната първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разредена проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликовтната част (вижте раздела за ограниченията за допълнителни инструкции).

Виж Ръководство за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) или Ръководство за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) за списък на кодовете за грешка, които могат да бъдат свързани с невалидните резултати.

Вътрешен качествен контрол

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

Външни контроли

1. Външни контроли, съдържащи неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на EBV в Basematrix за положителни контроли или Basematrix за отрицателни контроли, са предоставени от QIAGEN в комплект, съдържащ контроли NeuMoDx EBV External Control [№ 900502].
2. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват веднъж на всеки 24 часа. Ако не съществува набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че тези контроли трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликовтните части:

Външни контроли NeuMoDx EBV	Очаквана концентрация	Цвят на етикета
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IU/mL (4,18 Log ₁₀ IU/mL)	Червен
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IU/mL (2,18 Log ₁₀ IU/mL)	Сиво
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (Не е приложимо)	Черен

- Когато обработвате външни контроли, поставяйте контролите в носача за епруветки с проби и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx System от полицата на автоматичното зареждащо устройство. NeuMoDx System ще разпознае барковете и ще започне да обработва контролите, освен ако не са налице реактиви или консумативи, необходими за тестването.
- Валидността на тези външни контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очакваните резултати.

Външни контроли NeuMoDx EBV	Количествен резултат за EBV	Резултат за SPC1
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV-ПОЛОЖИТЕЛНИ) [Конц (Концентр.)] 3,68 – 4,68 Log ₁₀ IU/mL	SPC1-положителни
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV-ПОЛОЖИТЕЛНИ) [Конц (Концентр.)] 1,58 – 2,78 Log ₁₀ IU/mL	SPC1-положителни
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV-ОТРИЦАТЕЛНИ)	SPC1-положителни

- Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
 - Положителен резултат от теста, отчетен за отрицателна контролна алиquotна част, може да означава замърсяване и процедурите за контрол на качеството на лабораторията трябва да бъдат изследвани, за да се открие основната причина. Уверете се, че използвате отделни зони за подготовка на пробата, обработка на контролата и настройка на RT-PCR. Допълнителни съвети за отстраняване на проблеми ще намерите в Ръководството за оператора на *NeuMoDx 288 или 96 Molecular System*.
 - Резултат Negative (Отрицателен), съобщен за алиquotна част с положителен контрол, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - Във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е No Result (Няма резултат) (NR), Unresolved (Неполучен) (UNR) или Indeterminate (Неопределен) (IND), обработката на неиздържалата проверката контрола трябва да се повтори с прясно размразени шишета от същата контрола.
 - Ако положителен външен контрол продължава да дава Negative (отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за техническо обслужване на QIAGEN.
 - Ако отрицателен външен контрол продължава да дава Positive (положителен) резултат, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на контаминация, включително като смените всички реактиви и повторите серията, преди да се обърнете към отдела за техническо обслужване на QIAGEN.
- Ако външните контроли не предоставят очакваните резултати, се изисква да се повтори набор от положителни и отрицателни контроли. Резултатите от пробите няма да бъдат съобщавани, ако контролите не дадат очакваните резултати.
- NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която потребителят може да избере, за да бъде сигурно, че при INVALID (НЕВАЛИДЕН) резултат автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

(Вътрешни) контроли за обработката на алиquotните части

Екзогенен контрол за обработката на алиquotните части (Sample Process Control, SPC1) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с RT-PCR в реално време с всяка алиquotна част/контрола/калибратор. Специфичните за контрола за обработката на алиquotните части 1 (Sample Process Control, SPC1) праймери и сонди са включени във всяка тест-лента NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. Този контрол на процеса за обработка на алиquotната част позволява на NeuMoDx System да наблюдава ефикасността на процесите за извличане на ДНК и RT-PCR амплификация.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

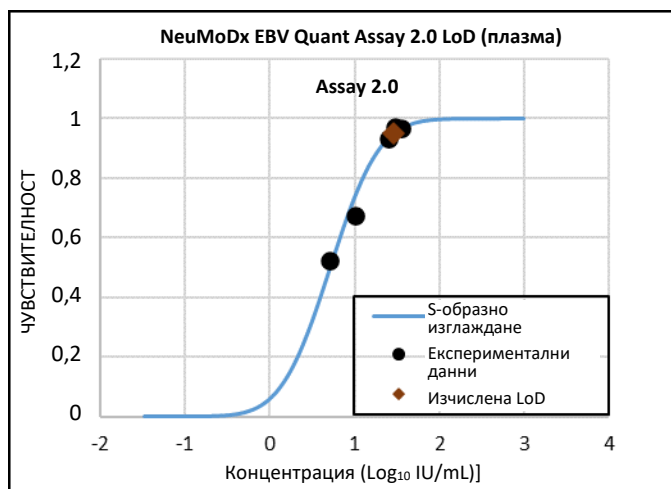
АНАЛИТИЧНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ – Граница на откриване

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 се характеризира в два последователни етапа: 1. Предварителна оценка на границата на откриване (LoD) (Анализ тип Probit), последвана от 2. Потвърждение на LoD. В част 1 са тествани отрицателни проби и серия от разреждания по първия Международен стандарт на СЗО в подложена на скрининг отрицателна за EBV човешка плазма, за да се определи предварителната LoD на системите NeuMoDx System. Предварителната LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в 95% от случаите по анализ тип Probit. В част 2 предварителната LoD е потвърдена чрез тестване на изкуствено създаден панел на ниво LoD. И двата етапа на изследването са извършени в продължение на 3 дни с различни системи, с различни партии реактиви NeuMoDx. В част 1 са обработени общо 144 репликати при всяко ниво на разреждане. Процентите на откриване са представени в *таблица 2*.

Таблица 2: Определяне на предварителна LoD на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [\log_{10} IU/mL]	ПЛАЗМА		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
35	1,54	144	139	96,5%
30	1,48	144	140	97,2%
25	1,40	143	133	93,0%
10	1,00	144	97	67,4%
5	0,70	143	75	52,4%
NEG (Отр.)	---	144	0	0,0%

LoD на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 в плазма, използвайки 1-вия Международен стандарт на СЗО за EBV, е определена на 29,3 IU/mL ($1,47 \log_{10}$ IU/mL) с 95% доверителен интервал (CI) от 24,4 – 37,1 IU/mL, ($1,39 - 1,57 \log_{10}$ IU/mL) [Фигура 1]. Този LoD впоследствие беше потвърден чрез анализ на процента на съвпадения, който е изобразен в таблица 3.



Фигура 1: Анализ тип Probit, използван за определяне на LoD на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 в аликвотни части от плазма

Таблица 3: Потвърждение на LoD на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Система	Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [\log_{10} IU/mL]	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Всичко			192	186	96,9%

Беше потвърдено, че LoD за EBV генотип 2 (GT2) е 29,3 IU/mL [$1,47 \log_{10}$ IU/mL], както е определено чрез анализ на процента на съвпадения.

Въз основа на резултата от двете проучвания, LoD на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е определена на 29,3 IU/mL [$1,47 \log_{10}$ IU/mL].

АНАЛИТИЧНА ЧУВСТВИТЕЛНОСТ – Долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ се дефинира като най-ниското прицелно ниво, при което се постига >95% откриване и общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е $\leq 1,0$. За да се определи LLoQ, общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е изчислена за всяко прицелно ниво на EBV, при което се съобщава > 95% откриване като част от изчислението за LoD. TAE се дефинира по следния начин:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \quad (\text{статистика на Westgard})$$

Отклонението е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация. SD е стандартното отклонение на количествено определената стойност на аликвотната част.

Съвкупните резултати съгласно 1-вия Международен стандарт на СЗО за 5-те нива на EBV пробите от плазма, използвани в изследването на LLoQ, са представени в *таблица 4*. Въз основа на този набор от данни и определената преди това LoD, LLoQ е определена като 30,0 IU/mL (1,48 Log₁₀ IU/mL) и впоследствие потвърдена за EBV генотип 2 (GT2).

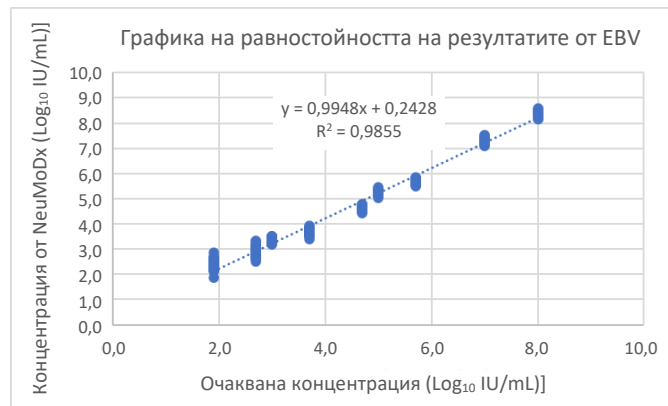
Таблица 4: LLoQ за анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, с отклонението и TAE

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Процент откриване	SD	Отклонение	TAE
35	1,54	2,05	96,5%	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2%	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0%	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4%	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4%	0,27	1,13	1,68

Въз основа на резултата от тези проучвания, LoD на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е определена като 29,3 IU/mL (1,47 log₁₀ IU/mL), а LLoQ – на 30,0 IU/mL [1,48 log₁₀ IU/mL].

Линейност и определяне на горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Линейността и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 са установени в плазма с подготовка на серия разреждания с капсулираната прицелна нуклеинова киселина на NeuMoDx EBV и култура на EBV от ATCC (ATCC, Манасас, Вирджиния). Установена е проследимост до 1-ви Международен стандарт на СЗО за EBV за всички допълнителни стандарти преди тестването.. Панел от 10 елемента е подготвен в групирана EBV-отрицателна плазма, за да се обхване диапазон на концентрацията 1,48 – 8,0 Log₁₀ IU/mL. ULoQ на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е определена като 8,0 Log₁₀ IU/mL. *Подготвен е панел за потвърждаване на линейността на стандартната крива и концентрациите от анализа EBV, съобщени от NeuMoDx System, в сравнение с очакваните стойности са представени на фигура 2.*



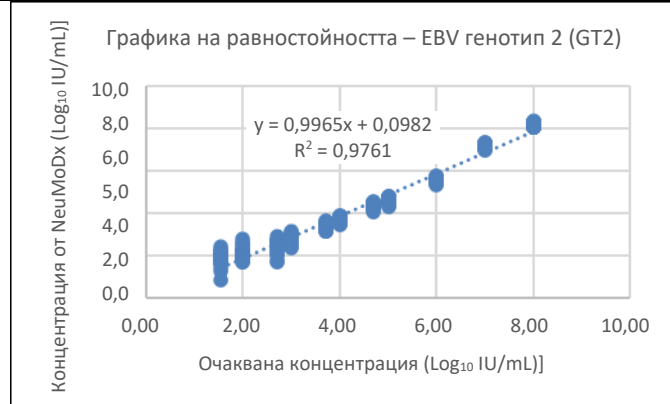
Фигура 2: Линейност на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Линейност на EBV генотип 2 (GT2)

Линейността на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 за EBV генотип 2 (GT2) се характеризира с тестването на единадесет различни концентрации на EBV GT2, с установена проследимост до 1-ви Международен стандарт на СЗО за EBV, подготвени в групирана EBV-отрицателна плазма. Проучването е проведено чрез тестване на 36 репликата при 11 концентрации в 2 системи NeuMoDx System и 3 партии тест-ленти EBV Quant Test Strip 2.0. Линейността за EBV генотип 2 (GT2) е представена в *таблица 5* и на *фигура 3*.

Таблица 5: Линеиност на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 за EBV генотип 2

Генотип	Уравнение за линеиност $y =$ количественото определяне от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 $x =$ очакваното количествено определяне	R^2
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761


Фигура 3: Линеиност на анализа NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 за EBV генотип 2

Аналитична специфичност – Кръстосана реактивност

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 36 организма, които се срещат в проби от кръв/плазма, както и видове, филогенетично сходни с EBV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 5 – 6 организма при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в *таблица 6*. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Таблица 6: Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

Неприцелни организми					
ВК полиомавирус	Аденовирус тип 5	Вирус херпес симплекс тип 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Цитомегаловирус	Вирус на хепатит С	Вирус херпес симплекс тип 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Човешки вирус херпес тип 6	Парвовирус В19	Вирус на варицела зостер	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Човешки вирус херпес тип 7	JC вирус	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Човешки вирус херпес тип 8	Човешки папиломавирус 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Вирус на хепатит В	Човешки папиломавирус 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в *таблица 6*. В EBV-отрицателна плазма са добавени организмите, групирани по 4 – 7; в тези групи след това е добавена прицелната нуклеинова киселина на EBV при концентрация 90 IU/mL [$1,95 \text{ Log}_{10}$ IU/mL]. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендогенни и екзогенни вещества

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма с EBV. Те включват абнормно високи нива на кръвни компоненти, както и обичайни антивирусни и имunosупресивни лекарства, класифицирани в *таблица 7*. Всяко вещество е добавено към подобрена EBV-отрицателна човешка плазма с добавени 90 IU/mL EBV [$1,95 \text{ Log}_{10}$ IU/mL] и алиquotните части са анализирани за интерференция чрез сравняване на отчетената концентрация с положителната контрола. Освен това плазма от обичайно болестно състояние, свързано с EBV инфекция, също е тествана за потенциална интерференция. Средната концентрация и отклонението на всички тествани вещества в сравнение с контролните алиquotни части с добавено същото ниво на EBV са дадени в *таблица 8*. Нито едно от екзогенните и ендогенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Таблица 7: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

Група	Име на лекарството	Класифициране	Група	Име на лекарството	Класифициране
Група 1	Азатиоприн	Имуносупресивно лекарство	Група 4	Триметоприм	Антибиотик
	Циклоспорин	Имуносупресивно лекарство		Ванкомицин	Антибиотик
	Фоскарнет	Антивирусно лекарство (Herpesviridae)		Такролимус	Имуносупресивно лекарство
	Ганцикловир	Антивирусно лекарство (EBV)		Еверолимус	Имуносупресивно лекарство
	Валганцикловир хидрохлорид	Антивирусно лекарство (EBV)		Калиев квалуланат	Антибиотик
Група 2	Преднизон	Кортикостероид/имуносупресивно лекарство	Група 5	Фамотидин	Антагонист на хистаминовия рецептор
	Цидофовир	Антивирусно лекарство (EBV)		Сулфаметоксазол	Антибиотик
	Цефотетан	Антибиотик (широкоспектърен)		Валацикловир	Антивирусно лекарство (Herpesviridae)
	Цефотаксим	Антибиотик (широкоспектърен)		Летермовир	Антивирусно лекарство (EBV)
	Флуконазол	Антимикотично лекарство		Динатриев тикарцилин	Антибиотик
Група 3	Микофенолат мофетил	Имуносупресивно лекарство	Лефлуномид	Имуносупресивно лекарство	
	Натриев микофенолат	Имуносупресивно лекарство			
	Пиперацилин	Антибиотик			
	Сиролимус/рапамицин	Имуносупресивно лекарство			
	Тазобактам	Модифициран антибиотик			

Таблица 8: Тестване за интерференция – ендогенни и екзогенни агенти

Ендогенни + Болестно състояние	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Хемоглобин	2,19	0,32
Триглицериди	1,90	0,02
Билирубин	2,12	0,24
Албумин	1,95	0,07
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	2,08	0,20
Антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Ревматоиден артрит (Rheumatoid Arthritis, RA)	1,89	0,01
Положителен контрол	1,88	Не е приложимо
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Група 1: Азатиоприн, циклоспорин, фоскарнет, ганцикловир, валганцикловир хидрохлорид	2,19	0,09
Група 2: Преднизон, цидофовир, цефотетан, цефотаксим, флуконазол	2,11	0,01
Група 3: Микофенолат мофетил, натриев микофенолат, пиперацилин, сиролимус/рапамицин, тазобактам	2,16	0,06
Група 4: Триметоприм, ванкомицин, такролимус, еверолимус, калиев квалуланат	2,24	0,14
Група 5: Фамотидин, сулфаметоксазол, летермовир, валацикловир, динатриев тикарцилин, лефлуномид	2,26	0,16
Положителен контрол	2,10	Не е приложимо

Вътрешнолабораторна прецизност

Прецизността на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е определена с тестване на 3 репликата на панел от 6 проби с EBV, приготвени с положителна контрола NeuMoDx EBV Positive Control и култура от EBV (ATCC, Манасас, Вирджиния) два пъти на ден с два апарата NeuMoDx 288 System и два апарата NeuMoDx 96 System в продължение на 12 дни. Характеризирани са прецизността в рамките на обработка, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Демонстрирана е отлична прецизност в различните системи, дни или обработки, както се вижда от *таблица 9*. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx System.

Таблица 9: Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 на NeuMoDx System

Прицелна концентрация на EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	Средна концентрация на EBV [$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$]	SD в рамките на системата	SD в рамките на деня	SD в рамките на обработката	Общо (вътрешнолабораторно) SD
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

Възпроизводимост на резултатите от различни партиди

Възпроизводимостта на резултатите от различни партиди NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 е определена чрез проверка на 3 партиди тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 като част от изследването на вътрешнолабораторната прецизност. 6-членен панел от EBV-положителни проби от плазма е използван за оценка на работните характеристики (*таблица 10*). Резултатите, генерирани между различните партиди, бяха анализирани и представени в *таблица 10*. Максималното отклонение е $0,29 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, а максималното SD е $0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ за NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Равностойността на работните характеристики между различните партиди е демонстрирана, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

Таблица 10: Възпроизводимост на резултатите от различни партиди – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Очаквана концентрация ($\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$)	Партида 1			Партида 2			Партида 3		
	Средна концентрация ($\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$)	Log Conc SD	Абсолютно отклонение	Средна концентрация ($\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$)	Log Conc SD	Абсолютно отклонение	Средна концентрация ($\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$)	Log Conc SD	Абсолютно отклонение
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

Ефективност на контрола за обработката на аликвотните части

Контролът за обработката на аликвотните части SPC1 е включен в NeuMoDx EBV Quant Assay за съобщаване на проблеми при технологичните стъпки или инхибиране, влошаващо работните характеристики на анализа. С NeuMoDx CMV Quant Assay като еталон, ефективността на SPC1 е тествана за проби от плазма при представителни условия за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на аликвотната част и евентуално *може да не бъдат засечени* от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Положителни (при $3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$) и отрицателни за цитомегаловирус проби са проверени при следните условия: наличие на инхибитор, няма на капан разтвор за промивка и няма издухване на пробата. Неефективна обработка с отрицателно отражение върху откриването/количественото определяне на прицелната вирусна нуклеинова киселина се следи паралелно с работните характеристики на прицелната нуклеинова киселина на SPC1, както е показано в *таблица 11*. Във всички тествани случаи е демонстрирано, че контролът за обработката на аликвотните части е проследил правилно неефективността на обработката и наличието на инхибитори или очакваната неефективност на обработката няма съществено отрицателно отражение върху откриването и количественото определяне на прицелната нуклеинова киселина както на SPC1, така и на вируса. Следователно SPC1 демонстрира успешно и ефективно следене на работните характеристики на анализа на NeuMoDx System.

Таблица 11: Ефективността на контрола за обработката на аликвотните части за вирусна ДНК в плазма*

Тестван проблем при технологичните стъпки	Състояние на амплификацията на контрола за обработката на аликвотните части 1	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина на CMV	Резултат от анализа
Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Delivered (Няма накапана промивка)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Blowout (Няма издуване на промивката)	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive (Положителен) с количествено определяне в рамките на 0,3 Log ₁₀ IU/mL от контрола

*Цитомегаловирус (Cytomegalovirus, CMV) в проби от плазма се използва като еталон за оценка на ефективността на контрола за обработката на аликвотните части.

Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация за проби от плазма е определен с обработка на редуващи се високи положителни и отрицателни аликвотни части на EBV. Пет набора за подобно шахматно тестване са обработени с общо 60 репликата от EBV-отрицателна плазма и 60 репликата от плазма с добавен EBV при 6,0 Log₁₀ IU/mL с помощта на системите NeuMoDx 288 System и 96 Molecular System. И в двата типа системи, всичките 120 репликата от отрицателната проба са съобщени като отрицателни, с което се демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части от плазма на NeuMoDx System.

Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Извършено е тестване за демонстриране на равностойността на резултатите от пресни и замразени проби от плазма със сходен пренасян по кръвен път вирус – CMV – като еталон. Пресните проби са съхранявани при 4 °С, преди в тях да бъдат добавени три нива на CMV и да бъдат тествани за равностойност. Аликвотните части са замразени за най-малко 24 часа при -20 °С. След този период на съхранение в замразено състояние пробите са размразени и тествани отново. Резултатите от пресните спрямо замразените проби от плазма са сравнени за равностойност посредством регресионен анализ. Данните демонстрират отлична равностойност между пресните и замразените проби от плазма със slope 1,0 и много малко отклонение (интерсепт), както се вижда от *таблица 12* по-долу.

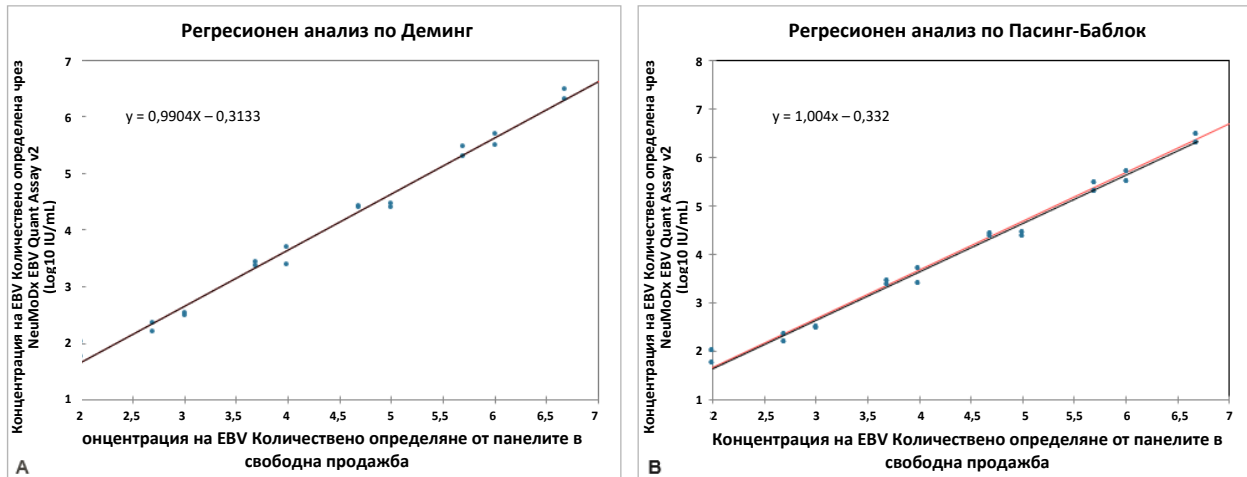
Таблица 12: Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Изисквани параметри	Пресни спрямо замразени с EDTA
Slope [0,9 – 1,1]	1,000
Интерсепт < 0,5 Log ₁₀ IU/mL	0,020
Стойност на $p > 0,05$	0,631

Работни характеристики на количественото определяне

Количествените работни характеристики на NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 са оценени с обработка на два панела за проверка на EBV в свободна продажба от AcroMetrix и Exact Diagnostics (проследими по 1-вия Международен стандарт на СЗО за EBV) на NeuMoDx Molecular System.

Отлична корелация е демонстрирана между NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 и двата панела за проверка за EBV в свободна продажба (*фигура 4*) както при регресионен анализ по метода на Деминг (*фигура 4А*) така и по този на Пасинг-Баблок (*фигура 4В*).



Фигура 4. Графика на равностойността на резултатите от панелите за проверка на AcroMetrix и Exact Diagnostics и NeuMoDx EBV Quant Assay. А. Линеен регресионен анализ по метода на Деминг. В. Линеен регресионен анализ по метода на Пасинг-Баблок.

Качеството на регресионното изглаждане по Деминг е илюстрирано с общ коефициент на слоуп 0,990 и интерсепт (отклонение) -0,313, което показва, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 и панелите за проверка за EBV, са в корелация с допустимо отклонение. Линеиното изглаждане по Пасинг-Баблок също свидетелства за съществена корелация между резултатите, получени от NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 и тези от панелите за проверка за EBV, с общ коефициент на слоуп 1,004 и интерсепт (отклонение) -0,332. Изчислената стойност r на анализа по Пасинг-Баблок е 0,988.

Таблица 13: Резюме на линейния регресионен анализ по Деминг и Пасинг-Баблок

Анализ по Деминг		Анализ по Пасинг-Баблок	
Интерсепт	Коефициент на слоуп	Интерсепт	Коефициент на слоуп
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95% ДИ (-0,620; -0,007)	95% ДИ (0,928; 1,053)	95% ДИ (-0,548; -0,116)	95% ДИ (0,950; 1,047)

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ

1. Epstein-Barr virus infection. [N Engl J Med](#). 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. [Transplant Direct](#). 2016 Jan; 2(1): e48.
3. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

Seracare® е търговска марка на Seracare Life Sciences, Inc.

TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

ЛЕГЕНДА НА СИМВОЛИТЕ

	За употреба само по лекарско предписание		Съдържанието е достатъчно за ≤ 1 теста
	Производител		Направете справка с инструкциите за употреба
	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика		Внимание
	Упълномощен представител в Европейската общност		Опасност за здравето
	Каталожен номер		Маркировка CE
	Код на партида		Съдържание
	Срок на годност		Съдържа биологичен материал от животински произход
	Ограничение за температура		Борна киселина
	Само за еднократна употреба		



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



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

Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: support@giagen.com

Патент: www.neumodx.com/patents

