

REF 201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0

R only

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD *In vitro* -diagnostiseen käyttöön NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmien kanssa

 Tuoteselosteen päivitykset ovat osoitteessa www.giaagen.com/neumodx-ifu

Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108

Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 on automaattinen nukleiinihappojen *in vitro* -monistustesti ihmisen Epstein-Barr-viruksen (EBV) DNA:n kvantifiointiin immuunipuutteisilta siirrepotilailta saaduista EDTA-plasmanäytteistä.

NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmissä käytettävä NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys sisältää automaattisen DNA:n eristämisen, jossa eristetään kohdenukleiinihappoja näytteestä, sekä reaaliaikaisen PCR:n, joka kohdistuu kahteen erittäin konservoituneeseen EBV-genomin alueeseen.

Määritys on tarkoitettu apuvälineeksi perifeerisen veren EBV:n DNA-tasojen seurannassa arvioitaessa hoidon virusvastetta. Tämä määritys on tarkoitettu käytettäväksi kliinisen hoidon yhteydessä ja yhdessä muiden taudin etenemistä kuvaavien laboratoriotestien kanssa EBV-infektion kliinisessä hallinnan ja seurannan toteuttamiseksi.

Määrittystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi EBV:n DNA:n seulontatestinä verestä tai verivalmisteista. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 on tarkoitettu sellaisen koulutetun kliinisen laboratorion henkilöstön käyttöön, joka on saanut ohjeita ja koulutusta reaaliaikaisista PCR-tekniikoista ja *in vitro* -diagnostisista toimenpiteistä ja NeuMoDx Molecular System -järjestelmistä. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrittystä ei ole tarkoitettu itsetestaukseen tai vieritestaukseen.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

Steriileihin EDTA:ta antikoagulanttina sisältäviin verinäyteputkiin otettua ihmisen kokoverta voidaan käyttää plasman valmistelemiseen. Testaus aloitetaan asettamalla NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivassa näyteputkessa oleva plasma näyteputkelineeseen ja lataamalla se NeuMoDx System -järjestelmän työpöydälle. Jokaista näytettä varten 550 µl plasman alikvoottia sekoitetaan NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskurin kanssa. NeuMoDx System -järjestelmä suorittaa kaikki vaiheet automaattisesti: se eristää kohdenukleiinihapon, tekee eristetyn DNA:n valmistelut reaaliaikaisen PCR:n monistusvaihetta varten sekä monistaa ja tunnistaa monistamisen tuotteet, jos niitä on näytteessä (kaksi erittäin konservoitunutta aluetta EBV-genomissa). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys sisältää DNA-näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control, SPC1), jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä eristämisen ja monistamisprosessien aikaisia NeuMoDx System -järjestelmän ja reagenssien toimintahäiriöitä.

EBV on yleinen ihmisen herpesvirusperheeseen kuuluva kaksijuosteinen DNA-virus, joka tarttuu kaikenikäisiin ihmisiin. Arviolta > 90 % ihmisistä maailmanlaajuisesti on saanut EBV-tartunnan.¹ EBV leviää ruumiinnesteiden, kuten syljen, veren, siemennesteen ja elinsiirtojen välityksellä.

Useat ihmiset saavat EBV-tartunnan lapsuudessa. Nämä henkilöt ovat yleensä oireettomia, vaikka heillä onkin EBV-tartunta. Immuniiteittään vaarantuneille henkilöille voi kehittyä vaikeampia oireita ja komplikaatioita EBV-infektiosta. Latentti EBV-infektio aiheuttaa suurimman vaaran elinsiirron saaville potilaille. Elinsiirron jälkeisiä lymfoproliferatiivisia häiriöitä (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD) ovat EBV:n aiheuttama kasvaimen muodostuminen B-soluissa EBV:n immuunikontrollin immunosuppressioaineiden vaikutuksen vuoksi, mikä on eräs merkittävimmistä sairastumis- ja kuolleisuussyistä potilailla, joille tehdään jonkinlainen elinsiirto.²

EBV:n virustaakan seuranta voidaan käyttää apuna EBV:hen liittyvän PTLD:n diagnosoinnissa ja hoidossa. Diagnoosi on kuitenkin tehtävä koepalasta. EBV:n virustaakan seuranta voidaan myös käyttää EBV:hen liittyvän PTLD:n hoitovasteen seurantaan. Hoito toteutetaan usein rituksimabilla ja immunosuppressanttihoidon vähennyksellä.³

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

NeuMoDx System -järjestelmässä NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys käyttää NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskaa, NeuMoDx EBV Calibrators -kalibraattoreita, NeuMoDx EBV External Controls -kontrolleja, NeuMoDx Lysis Buffer 1 -puskuria ja yleiskäyttöisiä NeuMoDx-järjestelmän reagensseja analyysin tekemiseen. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksessä yhdistyvät automaattinen DNA:n eristys, monistus ja tunnistus reaaliaikaisella PCR:llä. Kokoverinäytteet otetaan EDTA-putkiin plasman valmistelua varten. NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivassa näyteputkessa oleva plasmanäyte asetetaan näyteputkelineeseen, joka ladataan sitten NeuMoDx System -järjestelmän työpöydälle käsittelyä varten. Muita käyttäjän toimia ei tarvita.

NeuMoDx System -järjestelmät käyttävät lämmön, hajottavan entsyymien ja eristysreagenssien yhdistelmää solujen automaattisessa hajotuksessa, DNA:n eristämässä ja estäjien poistamisessa. Magneettiset mikropallot tarttuvat vapautuneisiin nukleiinihappoihin. Mikropallot ja niihin sitoutuneet nukleiinihapot siirretään NeuMoDx Cartridge -kasettiin, jossa sitoutumattomat, muut kuin DNA:n osat pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla ja sitoutunut DNA eluoidaan NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssilla. Eluoidun DNA:n avulla NeuMoDx System -järjestelmät rehydroivat erityisiä NeuDry™-monistusreagensseja, jotka sisältävät kaikki EBV-spesifisen kohteen PCR-monistamiseen tarvittavat osat sekä SPC1:n. Kun NeuDry-PCR-reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasettiin. Kontrolli- ja kohde-DNA-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan NeuMoDx Cartridge -kasetin PCR-kammiossa. Reaaliaikaisen PCR:n jälkeen ampliconit pysyvät NeuMoDx Cartridge -kasetissa, mikä käytännössä poistaa monistamisen jälkeisen kontaminaation riskin.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys kohdistuu kahteen erittäin konservoituvaan alueeseen, BALF5:een ja BXFL1:een, EBV-genomissa. Kaksoiskohdemalli vähentää virheellisten negatiivisten tulosten vaaraa yhden kohdealueen mutaatiotapauksissa, mikä parantaa määrittämyksen luotettavuutta. Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla eli TaqMan®-tekniikalla, jossa käytetään ampikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimen molekyylejä.

TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'-päähän, ja 3'-päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppisellä energiansiirrolla (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalle DNA:n alueelle. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'-3'-eksonukleasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresoivan aineen fluoresenssin tunnistus voi kasvaa. Havaittu fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen vapautuneeseen fluoresoivaan aineeseen ja voi korreloida kohde-DNA:n määrän kanssa.

Fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 490 nm ja emissio: 521 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä auttavat havaitsemaan kummankin EBV:n DNA-kohteen. TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä SPC1-prosessikontrollin tunnistusta varten (heräte: 535 nm ja emissio: 556 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistumisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto analysoi tiedot ja laatii raportin tuloksista (POSITIVE [Positiivinen] / NEGATIVE [Negatiivinen] / INDETERMINATE [Määrittämätön] / NO RESULT [Ei tulosta] / UNRESOLVED [Ratkaisematon]). Jos tulos on POSITIVE (Positiivinen), NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto antaa myös näytteeseen tai raportteihin liittyvän kvantitatiivisen arvon, jos laskettu pitoisuus on lineaarisen alueen ulkopuolella.



REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Yksiköt pakkauksessa	Testejä/yksikkö	Testejä/pakkaus
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 <i>Kuivatut RT-PCR-reagenssit, jotka sisältävät EBV- ja SPC1-spesifisen TaqMan-koettimen ja alukkeet.</i>	6	16	96

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen QIAGEN-yhtiöltä)

REF	Sisältö
800501	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Kertakäyttöiset EBV korkean ja matalan kalibraattorin sarjat standardikäyrän validiteetin määrittämiseen (1 pullo jokaiselle kontrollille = 1 sarja)</i>
900502	NeuMoDx EBV External Controls <i>Kertakäyttöiset heikosti EBV-positiiviset, erittäin -positiiviset ja -negatiiviset kontrollisetit NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen päivittäisen validiteetin määrittämiseen (1 pullo kutakin kontrollia = 1 setti)</i>
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja näytteiden prosessikontrollit</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE- / CO-RE II -kärjet (300 µl), joissa suodatin
235905	Hamilton CO-RE- / CO-RE II -kärjet (1000 µl), joissa suodatin

Tarvittavat laitteet

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

NeuMoDx System Software -ohjelmiston versio 1.9.2.6 tai uudempi



VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuska on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkaan vain NeuMoDx System -järjestelmillä.
- Älä käytä reagensseja tai tarvikkeita viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suoja- tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja, jos suoja- tai pakkaus on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.
- Validin testikalibroinnin (jonka generoi NeuMoDx EBV Calibrator -sarjan korkean ja matalan kalibraattorin [REF 800501] käsittely) täytyy olla käytettävissä, ennen kuin kliinisistä näytteistä voidaan saada testituloksia.
- NeuMoDx EBV External Controls -kontrollit [REF 900502] on käsiteltävä aina 24 tunnin välein testaamalla ne NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksillä.
- EDTA-plasman toissijaisten alikvoottien näytteen vähimmäismäärä kuvataan yksityiskohtaisesti alla Testin valmistelu -kohdassa. Määritettyä minimiä pienempi määrä voi aiheuttaa virheen Quantity Not Sufficient (Määrä ei riitä).
- Väärissä lämpötiloissa tai liian pitkään säilytettyjen näytteiden käyttö voi aiheuttaa epäkelvöllisiä tai virheellisiä tuloksia.
- Vältä kaikkien reagenssien ja tarvikkeiden mikrobi- ja deoksiribonukleaasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien, DNAasittomien kertakäyttösiirtopipettien käyttö on suositeltavaa käytettäessä toissijaisia putkia. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä missään tapauksessa ota NeuMoDx Cartridge -kasetteja biovaarallisen jätteen säiliöstä (NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä) tai biovaarallisen jätteen astiasta (NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä). NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.
- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuska, muut testissä tarvittavat tarvikkeet ja reagenssit, suojaruuvit, kuten käsinneet ja laboratoriotakit, ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitrilikäsitteitä. Varo, ettet kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskan tai NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn foliotiivistepintaa tai NeuMoDx Lysis Buffer -lyysauspuskurin säiliön yläpintaa. Tarvikkeita ja reagensseja käsiteltäessä saa koskea vain niiden sivupintoihin.
- Jokaiselle reagenssille on (soveltuvasti) saatavissa käyttöturvallisuustiedote (Safety Data Sheet, SDS) osoitteesta www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Pese kädet huolellisesti testin jälkeen.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi, syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ ja CLSI Document M29-A4.⁵
- Kun työskentelet kemikaalien parissa, käytä aina soveltuvaa laboratoriotakkia, kertakäyttöisiä käsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saat asianmukaisista käyttöturvallisuustiedotteista (Safety Data Sheet, SDS).
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti. Noudata käyttöturvallisuustiedotteen (Safety Data Sheet, SDS) suosituksia.

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Sisältää: boric acid. Vaara! Ärsyttää voimakkaasti silmiä. Saattaa heikentää hedelmällisyyttä tai vaurioittaa sikiötä. Lue erityisohjeet ennen käyttöä. Lue varoitukset huolellisesti ennen käsittelyä. Käytä suojakäsineitä/ suojavaateita/ silmiensuojainta/ kasvonsuojainta. Altistumisen tapahduttua tai jos epäillään altistumista: Hakeudu lääkäriin. Varastoi lukitussa tilassa. Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteenkäsittelylaitoksessa.

Tiedot hätätilanteita varten

CHEMTREC

Yhdysvaltojen ja Kanadan ulkopuolella +1 703-527-3887



TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITTELY JA STABIILISUUS

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 -testiliuskat ovat stabiileja sisäpakkauksessa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään 15–28 °C:n lämpötilassa.
2. Kun NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 on asetettu, se voi olla NeuMoDx System -järjestelmän sisällä 14 vuorokautta. Ohjelmisto seuraa järjestelmään asetettujen testiliuskojen jäljellä olevaa käyttöikää ja ilmoittaa sen käyttäjälle reaaliaikaisesti. Järjestelmä kehottaa vaihtamaan testiliuskan, joka on ollut käytössä sallittua pidemmän ajan.
3. Vaikka NeuMoDx EBV Calibrator -kalibraattori ja NeuMoDx EBV External Control -kontrollit eivät ole tartuntavaarallisia, ne pitää hävittää käytön jälkeen laboratorion biovaarallisen jätteen mukana kuten biovaarallinen laboratoriojäte, jotta kontaminaatorisia voidaan pienentää.

NÄYTTEIDEN KERUU, KULJETUS JA SÄILYTYS

Käsittele kaikkia näytteitä kuin ne pystyisivät siirtämään eteenpäin tarttuvia taudinaiheuttajia.

1. Älä pakasta kokoverta tai ensisijaisissa putkissa olevia näytteitä.
2. Plasmanäytteiden valmistelua varten kokoveri on otettava steriileihin putkiin, joissa käytetään EDTA:ta antikoagulanttina. Noudata näytteenotto-putken valmistajan ohjeita.
3. Edellä mainituilla laitteilla otetut kokoverinäytteet voidaan säilyttää ja/tai kuljettaa 24 tunnin ajan 2–25 °C:ssa ennen plasman valmistelua. Plasman valmistelu on tehtävä valmistajan ohjeiden mukaisesti.
4. Valmisteltuja plasmanäytteitä voidaan säilyttää NeuMoDx System -järjestelmässä enintään 8 tuntia ennen käsittelyä. Jos tarvitaan pidempi säilytysaika, on suositeltavaa asettaa näytteet joko jääkaappiin tai pakastimeen.
5. Valmisteltuja plasmanäytteitä saa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 7 vuorokautta ennen testausta ja enintään 8 tuntia huoneenlämmössä.
6. Valmisteltuja plasmanäytteitä voidaan säilyttää –20 °C:ssa enintään 8 viikkoa. Plasmanäytteitä ei saa pakastaa/sulattaa enempää kuin kaksi kertaa ennen käyttöä.
 1. Jos näytteet on pakastettu, niiden on annettava sulaa kokonaan huoneenlämmössä (15–30 °C). Käytä näytteitä vortex-laitteessa, jotta ne jakautuvat tasaisesti. Näytteiden pitää olla huoneenlämpöisiä ennen testausta.
 2. Kun pakastetut näytteet on sulatettu, testaus on tehtävä 8 tunnin sisällä.
7. Jos näytteitä kuljetetaan, ne on pakattava ja merkittävä sovellettavien maakohtaisten ja/tai kansainvälisten säädösten mukaisesti.

KÄYTTÖOHJEET

Testin valmistelut

1. Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen, kuten alla on ohjeistettu.
2. Siirrä näytealikoivootti viivakooditarralla varustettuun NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen. Vähimmäistäyttömäärät on esitetty alla:
3. *Plasmanäytteet:*
 - Näyteputkeline (32 putken): 11–14 mm halkaisijaltaan ja 60–120 mm korkeudeltaan; vähimmäistäyttömäärä $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Näyteputkeline (24 putken): 14,5–18 mm halkaisijaltaan ja 60–120 mm korkeudeltaan; vähimmäistäyttömäärä $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Pienen määrän näyteputkien teline (32 putken): 1,5 ml:n kartiomikrosentrifugiputki; vähimmäistäyttömäärä $\geq 650 \mu\text{l}$

NeuMoDx System -järjestelmän käyttö

Lisätietoja on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (os numerot 40600108 ja 40600317)

1. Aseta vähintään yhteen NeuMoDx System Test Strip -testiliuskatelineeseen NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskoja ja lisää testiliuskatelineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
2. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää lisäämään tarvikkeita, lisää tarvittavat tarvikkeet NeuMoDx System -järjestelmän tarviketelineisiin ja lisää telineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
3. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto niin kehottaa, vaihda NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi, NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi, tyhjennä esitäytön jäte, biovaarallisen jätteen säiliö (vain NeuMoDx 288 Molecular System), kärkien jätteastia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) tai biovaarallisen jätteen astia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) kehoitteen mukaan.
4. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto niin kehottaa, käsittele Calibrators [REF 800501] ja/tai External Controls [REF 900502] tarpeen mukaan. Lisätietoa kalibraattoreista ja kontrolleista on *Tulosten käsitleminen* -osassa.
5. Aseta näyteputket näyteputkelineeseen ja varmista, että kaikkien näyteputkien korkit ja näytetikut on poistettu.
6. Aseta näyteputkeline automaattilataimen hyllylle ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämä käynnistää lisättyjen näytteiden käsittelyn määritetyissä testeissä, kunhan järjestelmässä on voimassa oleva testitilaus.

RAJOITUKSET

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskaa voidaan käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
2. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskan suorituskyky on määritetty kokoverestä valmistettujen, EDTAa antikoagulanttina käytävien plasmanäytteiden osalta. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskan käyttöä muiden lähteiden kanssa ei ole arvioitu eikä niiden suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tunnetta.
3. Koska näytteessä olevien viruspartikkelien määrä vaikuttaa yleensä EBV:n tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
4. Näytteiden virheellinen kerääminen, käsittely, säilytys, tekninen virhe tai näyteputkien sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä virheellisiä testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien virushiukkasten määrä on NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tunnistusrajan alapuolella.
5. NeuMoDx System -järjestelmää saa käyttää ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saanut henkilöstö.
6. Jos sekä EBV-kohteet että SPC1-kohteet eivät monistu, järjestelmä raportoi epäkelvollisen tuloksen (Indeterminate [Epäselvä] tai Unresolved [Ratkaisematon]), ja testi on toistettava.

7. Mikäli tapahtuu järjestelmävirhe ennen näytteen käsittelyn päättymistä, laite ilmoittaa No Result (Ei tulosta), ja testi on toistettava.
8. Mikäli EBV:n DNA:ta havaitaan yli ULoQ-rajaa, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys voidaan toistaa laimennetulla alkuperäisellä näytealikkvootilla. Laimennus EBV-negatiivisella plasmalla tai Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA) -liuoksella suhteessa 1:100 tai 1:1000 on suositeltavaa. Järjestelmä laskee automaattisesti alkuperäisen näytteen pitoisuuden seuraavasti: Alkuperäisen näytteen pitoisuus = \log_{10} (laimennuskerroin) + laimennetun näytteen ilmoitettu pitoisuus, kunhan laimennuskerroin on valittu oikein ohjelmistosta ennen toistamista.
9. PCR-estäjien esiintyminen plasmassa voi aiheuttaa järjestelmässä kvantitointivirheen. Jos näin käy, on suositeltavaa toistaa testi samalla näytteellä, joka on laimennettu Basematrix-aineella 1:10 tai 1:100.
10. Positiivinen tulos osoittaa EBV:n DNA:n läsnäoloa.
11. Vaikka todennäköisyys onkin pieni, deleetiot ja mutaatiot NeuMoDx EBV Quant Assay -määrityksen kohteena olevilla konservoituneilla alueilla voivat vaikuttaa havaitsemiseen ja/tai kvantifiointiin ja johtaa virheelliseen tulokseen.
12. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkärin käytettävissä olevien tietojen ohella. Testiä ei ole tarkoitettu infektion diagnosointiin.
13. Kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratoriokäytännön noudattamista, kuten käsineiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOSTEN KÄSITTELEMINEN

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma generoi NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tulokset automaattisesti käyttämällä ratkaisualgoritmia ja NeuMoDx EBV Quant -määritystiedoston (EBV Quant -ADF-versio 4.0.0 tai uudempi) sisältämiä käsittelyparametreja. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tulos voi olla Negative (Negatiivinen), Positive (Positiivinen) ja ilmoitettu EBV:n DNA:n pitoisuus, Indeterminate (Epäselvä), No Result (Ei tulosta) tai Unresolved (Ratkaisematon) kohteen yhdistystilan ja näytteen käsittelykontrollin perusteella. Tulokset raportoidaan ADF-tulostenkäsittelyn ratkaisualgoritmin perusteella ja niistä on yhteenveto *taulukossa 1*.

Taulukko 1: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tulosten tulkinta

Tulos	EBV-kohteet	Näytteen prosessikontrolli (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiivinen)	AMPLIFIED (Monistettu) [2 ≤ Ct < 28 AND (JA) EPR > 1.3 AND (JA) EP > 1200] OR (TAI) [28 < Ct < 38 AND (JA) EP > 1200]	Ei oleellinen
Positive (Positiivinen), yli kvantitoinnin ylärajan [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log10 IU/ml)	[CONC] (PIT.) > 8,0 Log10 IU/ml, NO QUANT (EI KVANT)	Ei oleellinen
Positive (Positiivinen), alle kvantitoinnin alarajan [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log10 IU/ml)	[CONC] (PIT.) < 1,48 Log10 IU/ml, NO QUANT (EI KVANT)	Ei oleellinen
Negative (Negatiivinen)	NOT AMPLIFIED (Ei monistettu) Ei oleellinen OR (TAI) [2 ≤ Ct < 28 AND (JA) EPR ≤ 1,3 AND (JA) EP > 1200] OR (TAI) [28 ≤ Ct < 38 AND (JA) EP > 1200] OR (TAI) Ct > 38	AMPLIFIED (Monistettu) [29 < Ct < 35 and (ja) EP ≥ 2000]
No Result* (Ei tulosta)	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Aborted (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näytteen käsittely keskeytetty)	
Indeterminate* (Epäselvä)	Not Amplified; System Error Detected; Sample Processing Completed (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näyte käsitelty)	
Unresolved* (Ratkaisematon)	Not Amplified, No System Error Detected (Ei monistu / Ei järjestelmävirhettä)	

EP = End Point Fluorescence (Päätepisteen fluoresenssi); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Päätepisteen fluoresenssisuhe);

C_t = Cycle threshold (Syklin kynnyksiarvo);

Quant (Kvantitatiivinen) = laskennallinen määrä EBV:tä, ilmoitetaan yksikössä log₁₀ IU/ml. Katso seuraava Testilaskenta-kohta.

* Järjestelmä mahdollistaa valinnaisen uusinta-ajo-/toistotoiminnon, jotta automaattinen uudelleen käsittely on mahdollista epäkelvollisen tuloksen sattuessa ja tuloksen raportoinnin viiveet saadaan minimoitua.

Testilaskenta: näytteet

- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen lineaarisella alueella olevien näytteiden EBV DNA -pitoisuus lasketaan käyttämällä tallennettua standardikäyrää ja kalibroitikerrointa.
 - Myös kalibroitikerroin lasketaan käsiteltyjen NeuMoDx EBV Calibrator -kalibraattoreiden tulosten perusteella, jotta voidaan määrittää standardikäyrän validiteetti kunkin NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 -testiliuskaerän osalta tietyssä NeuMoDx System -järjestelmässä.
 - Kalibroitikerroin sisältyy automaattisesti EBV DNA:n pitoisuuden lopulliseen määritykseen.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tulokset ilmoitetaan arvoina iu/ml ja Log₁₀ IU/ml.
- Tuntemattomien näytteiden saatu kvantitointi on jäljitettävissä WHO:n (Maailman terveysjärjestön) 1. kansainväliseen Epstein-Barr-viruksen nukleinihappojen monistustekniikoita koskevaan standardiin.

Testilaskenta: kalibraattorit

Standardikäyrään perustuva validi kalibrointi on tarpeen näytteiden EBV DNA:n kvantitoinnissa. Hyväksyttävien tulosten saaminen edellyttää testikalibroinnin tekemistä NeuMoDx Molecular, Inc. -yhtiön toimittamien kalibraattoreiden avulla.

- NeuMoDx EBV Calibrator -kalibraattorit toimitetaan sarjana [REF 800501], ja ne sisältävät ei-tarttuvaa kapseloitua EBV-kohteita valmisteltuna Basematrixissa.
- EBV-kalibraattorisetti on käsiteltävä kunkin uuden NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 -testiliuskaerän yhteydessä tai jos uusi EBV-määritystiedosto ladataan NeuMoDx System -järjestelmään tai jos nykyinen kalibraattorisetti on validiteettiajan (parhaillaan määritetty 90 päivään) ulkopuolella tai jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmaa on muokattu.
- NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto ilmoittaa käyttäjälle, milloin kalibraattorit on käsiteltävä. Uutta testiliuskaerää ei voi käyttää testaukseen, ennen kuin kalibraattorit on käsitelty onnistuneesti.
- Kalibraation validiteetti määritetään seuraavasti:
 - Validiteetin määrittäminen edellyttää kahden kalibraattorin – korkean ja matalan – käsittelemistä.
 - Hyväksyttävien tulosten generoimista varten ainakin kahden (2) kolmesta (3) replikaatista täytyy tuottaa tuloksia, jotka ovat esimääritettyjen parametrien sisällä. Heikon kalibraattorin nimellinen tavoite on 3 Log₁₀ IU/ml ja vahvan kalibraattorin nimellinen tavoite 5 Log₁₀ IU/ml.
 - Kalibraatiokerroin lasketaan testiliuskaerien välisen variaation ottamiseksi huomioon. Tätä kalibroitikerrointa käytetään lopullisen EBV:n DNA:n pitoisuuden määrityksessä.
- Jos toinen tai molemmat kalibraattorit eivät läpäise validiteettitarkistusta, toista hylätyn kalibraattorin käsittely uudella pullolla. Mikäli toisen kalibraattorin validiteettia ei pystytä varmistamaan, on mahdollista toistaa vain tämän kalibraattorin testi, koska järjestelmä ei edellytä molempien kalibraattorien ajamista uudelleen.
- Jos kalibraattorit eivät läpäise validiteettitarkistusta toisellaakaan kertaa, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen tukeen.

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksestä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä), No Result (Ei tulosta) tai Unresolved (Ratkaisematon) virhetyypin mukaan, testi on toistettava, jotta siitä saadaan hyväksyttävä tulos.

Raportissa on Indeterminate (Epäselvä) -tulos, jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen. Jos tulos Indeterminate (Epäselvä), uusintatestausta suositellaan.

Raportissa on tuloksena No Result (Ei tulosta), jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa järjestelmävirheen ja näytteen käsittely keskeytetään. Jos tulos on No Result (Ei tulosta), uusintatestausta suositellaan.

Raportissa on Unresolved (Ratkaisematon) -tulos, jos kohdetta ei löytynyt eikä näytteen prosessikontrolli monistunut. Tämä voi johtua reagenssin viasta tai estäjästä. Jos raportissa on Unresolved (Ratkaisematon) -tulos, uusintatestausta suositellaan ensimmäisenä toimenä. Jos uusintatestaus epäonnistuu, laimennetulla näytteellä voidaan lieventää mahdollisen inhibition vaikutuksia (katso lisäohjeita rajoituksia koskevasta kohdasta).

Katso NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaasta (osanro: 40600108) tai NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaasta (osanro: 40600317) luettelo virhekoodeista, jotka voivat liittyä epäkelvollisiin tuloksiin.

Laadunvarmistus

Paikallisissa säädöksissä määritetään yleensä, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käytöstä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, hyväksytyyn testijärjestelmän verifioitua suoritusasetietoja.

Ulkoiset kontrollit

- Ulkoiset kontrollit, jotka sisältävät ei-tarttuvaa kapseloitua EBV-kohdetta Basematrixissa positiivisiin kontrolleihin tai Basematrixissa negatiivisiin kontrolleihin, toimittaa QIAGEN NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] -sarjassa.
- Positiiviset ja negatiiviset ulkoiset kontrollit on käsiteltävä 24 tunnin välein. Jos hyväksytyjä ulkoisia kontrolleja ei ole olemassa, NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto kehottaa käyttäjää käsittelemään nämä kontrollit, ennen kuin näytteistä voidaan raportoida tuloksia:

NeuMoDx EBV External Controls	Odotettu pitoisuus	Etiketin väri
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IU/ml (4,18 Log ₁₀ IU/ml)	Punainen
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IU/ml (2,18 Log ₁₀ IU/ml)	Harmaa
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	Ei oleellinen	Musta

- Kun käsittelet ulkoisia kontrolleja, aseta kontrollit näyteputkitelineeseen ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään automaattilataimen hyllyltä kosketusnäytön avulla. NeuMoDx System -järjestelmä tunnistaa viivakoodit ja alkaa käsitellä kontrolleja, paitsi jos testissä tarvittavia reagensseja ja tarvikkeita ei ole käytettävissä.
- NeuMoDx System arvioi ulkoisten kontrollien validiteetin odotetun tuloksen perusteella.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV Quant -tulokset	SPC1-tulos
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV POSITIIVINEN) [Conc] (Pit.) 3,68–4,68 Log ₁₀ IU/ml	SPC1 positiivinen
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV POSITIIVINEN) [Conc] (Pit.) 1,58–2,78 Log ₁₀ IU/ml	SPC1 positiivinen
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV NEGATIIVINEN)	SPC1 positiivinen

- Ulkoisten kontrollien ristiriitaisia tuloksia on käsiteltävä seuraavasti:
 - Negatiivisen kontrollinäytteen raportoitu Positive (Positiivinen) -testitulos voi merkitä kontaminaatiota, ja laboratorion laadunvarmistustoimenpiteet pitää tutkia taustalla olevan syyn löytämiseksi. Varmista, että näytteen valmisteluun, kontrollin käsittelyyn ja RT-PCR:n määrittämiseen käytetään erillisiä alueita. Vianmääritysohjeita on *NeuMoDx 288- tai 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa*.
 - Jos positiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Negative (Negatiivinen) -tulos, reagenssiin tai laitteeseen saattaa liittyä ongelmia.
 - Kummassakin tapauksessa tai jos saadaan tulokseksi No Result (Ei tulosta) (NR), Unresolved (UNR) (Ratkaisematon) tai Indeterminate (Epäselvä) (IND), toista epäonnistuneiden kontrollien käsittely sulattamalla uudet kontrolliampullit ja testaamalla ne.
 - Jos positiivinen ulkoinen kontrolli tuottaa jatkuvasti Negative (Negatiivinen) -tuloksen, ota yhteyttä QIAGENin tekniseen tukeen.
 - Jos negatiivinen ulkoinen kontrolli tuottaa jatkuvasti Positive (Positiivinen) -tuloksen, yritä poistaa kaikki mahdollisen kontaminaation lähteet, vaihda kaikki reagenssit ja toista ajo, ennen kuin otat yhteyttä QIAGENin tekniseen tukeen.
- Jos ulkoiset kontrollit eivät anna odotettuja tuloksia, on toistettava sarja positiivisia ja negatiivisia kontrolleja. Näytteen tuloksia ei raportoida, jos kontrollit eivät anna odotettuja tuloksia.
- NeuMoDx System -järjestelmässä on automaattinen Rerun (Uusinta-ajo-) / Repeat (Toisto) -ominaisuus, jota käyttäjä voi päättää käyttäen varmistamiseksi, että INVALID (Epäkelpo) -tulos käsitellään automaattisesti uudelleen tulosten raportoinnin viiveiden minimoimista varten.

Näytteen käsittelyn (sisäiset) kontrollit

Eksogeeninen näytteenkäsittelykontrolli (Sample Process Control, SPC1) sisältyy NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyyn ja käy läpi koko prosessin nukleiinihappojen eristyksessä reaaliaikaiseen RT-PCR-monistukseen jokaisen näytteen/kontrollin/kalibraattorin osalta. SPC1:n alukkeet ja koetin sisältyvät NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 -testiliuskaan. SPC1:n avulla NeuMoDx System -järjestelmä voi valvoa DNA:n eristämisen ja RT-PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.

SUORITUSKYKYOMINAISUUDET

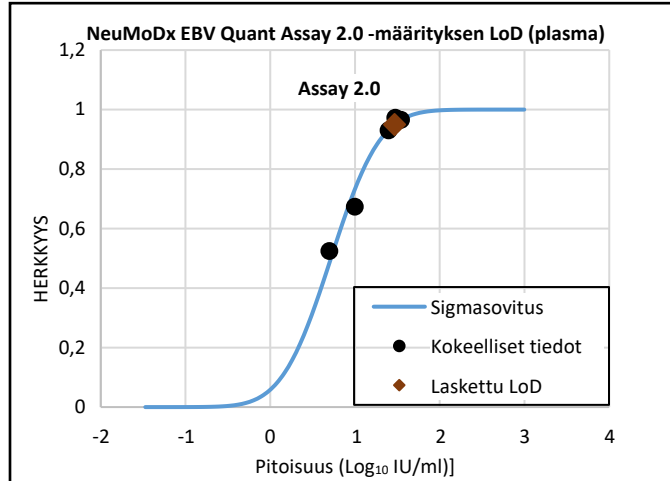
ANALYYTTINEN HERKKYYS – havaitsemisraja

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen analyyttinen herkkyys luokiteltiin kahdessa peräkkäisessä vaiheessa: 1. Alustavan havaitsemisrajan (Limit of Detection, LoD) arviointi (Probit-analyysi), jota seuraa osa 2. LoD:n vahvistus. Osassa 1 negatiiviset näytteet ja WHO:n 1. kansainvälinen standardin laimennussarja seulotussa EBV-negatiivisessa ihmisen plasmassa testattiin alustavan LoD:n määrittämiseksi NeuMoDx System -järjestelmissä. Alustavaksi LoD:ksi määritettiin matalin kohdetaso, joka havaittiin 95-prosenttisesti Probit-analyysin mukaan. Osassa 2 alustava LoD vahvistettiin testaamalla keinotekoinen paneeli LoD-tasolla. Tutkimuksen kumpikin vaihe tehtiin kolmena päivänä useilla järjestelmillä ja useilla NeuMoDx-reagenssierillä. Osassa 1 käsiteltiin yhteensä 144 replikaattia kullakin laimennustasolla. Taulukko 2 sisältää havaitsemisasteet.

Taulukko 2: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen alustava LoD:n määrittäminen

Tavoitepitoisuus [IU/ml]	Tavoitepitoisuus [log ₁₀ IU/ml]	PLASMA		
		Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Havaitsemisaste
35	1,54	144	139	96,5 %
30	1,48	144	140	97,2 %
25	1,40	143	133	93,0 %
10	1,00	144	97	67,4 %
5	0,70	143	75	52,4 %
NEG	---	144	0	0,0 %

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LoD plasmassa käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä EBV-standardia määritettiin arvoon 29,3 IU/ml (1,47 log₁₀ IU/ml), kun 95 %:n luottamusväli (Confidence Interval, CI) oli 24,4–37,1 IU/ml, (1,39–1,57 log₁₀ IU/ml) [kuva 1]. Tämä LoD vahvistettiin myöhemmin havaitsemisanalyysillä, joka kuvataan taulukossa 3.



Kuva 1: Probit-tyyppinen analyysi, jolla määritettiin NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LoD plasmanäytteissä

Taulukko 3: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LoD:n vahvistus

Järjestelmä	Tavoitepitoisuus [IU/ml]	Tavoitepitoisuus [log ₁₀ IU/ml]	Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Havaitsemisaste
N96	29,3	1,47	96	94	97,9 %
N288			96	92	95,8 %
Kaikki			192	186	96,9 %

EBV-genotyypin 2 (GT2) LoD:ksi vahvistettiin 29,3 IU/ml [1,47 Log₁₀ IU/ml] havaitsemisanalysillä määritettynä.

Kummannkin tutkimuksen tuloksen perusteella NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LoD oli 29,3 IU/ml [1,47 Log₁₀ IU/ml].

ANALYYTTINEN HERKKYYS – kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ on määritelmän mukaan matalin kohdetaso, jolla > 95 %:n tunnistus saavutetaan JA analyttinen virhe on yhteensä (Total Analytical Error, TAE) on $\leq 1,0$. LLoQ-rajaa määrittämiseksi laskettiin TAE kustakin EBV-kohdestasta, jolla todettiin > 95 %:n tunnistaminen osana LoD-laskentaa. TAE:n määritelmä on seuraava:

$$TAE = \text{vinouma} + 2 * SD \text{ (Westgard-tilasto)}$$

Vinouma on lasketun ja odotetun pitoisuuden välinen ero absoluuttisena arvona. SD tarkoittaa näytteen kvantitoidun arvon keskihajontaa.

Kootut tulokset viidestä WHO:n 1. kansainvälisen EBV-standardin plasmanäytteen tasosta, joita käytettiin LLoQ-tutkimuksessa, on esitetty taulukossa 4. Näiden tietojen ja aiemmin määritetyn LoD-arvon perusteella LLoQ-arvoksi määritettiin 30,0 IU/ml (1,48 Log₁₀ IU/ml) ja se vahvistettiin sitten EBV-genotyypin 2 (GT2) osalta.

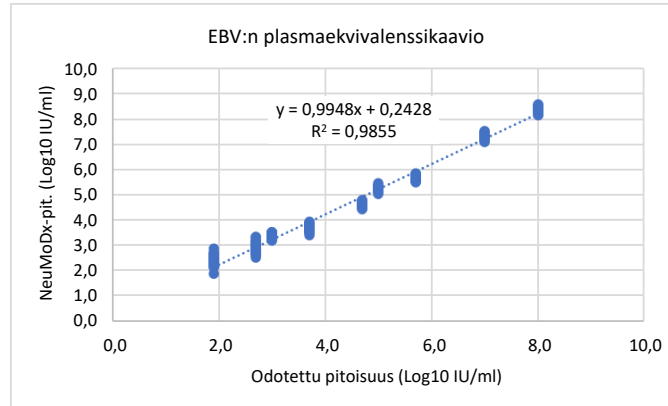
Taulukko 4: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LLoQ sekä vinouma ja TAE

Tavoitepit. [IU/ml]	Tavoitepit. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma				
		Keskimääräinen pit. [log ₁₀ IU/ml]	Havaitsemisaste	SD	Vinouma	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

Näiden tutkimusten tulosten perusteella NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen LoD-arvoksi määritettiin 29,3 IU/ml (1,47 log₁₀ IU/ml) ja LLoQ-arvoksi määritettiin 30,0 IU/ml [1,48 log₁₀ IU/ml].

Kvantitoinnin ylärajan (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarisuus ja määrittäminen

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen lineaarisuus ja kvantitoinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määritettiin plasmasta valmistelemalla laimennussarja käyttämällä WHO:n 1. kansainvälistä EBV-standardia ja lisäksi kahta toissijaista standardia: kapseloitua NeuMoDx EBV -kohdetta ja ATCC EBV Culture -vilijelyä (ATCC, Manassas, VA). Jäljitettävyys WHO:n 1. kansainväliseen EBV-standardiin määritettiin kaikille toissijaisille standardeille ennen testausta. 10 osan paneeli valmisteltiin yhdistetystä EBV-negatiivisesta plasmasta paneeliksi, joka kattoi pitoisuusalueen 1,48–8,0 Log₁₀ IU/ml. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen ULoQ-rajaksi määritettiin 8,0 Log₁₀ IU/ml. Standardikäyrän lineaarisuuden arviointiin valmisteltiin vahvistuspaneeli, ja EBV-määrityksen pitoisuudet verrattuna NeuMoDx System -järjestelmän ilmoittamiin odotettuihin arvoihin on esitetty kuvassa 2.



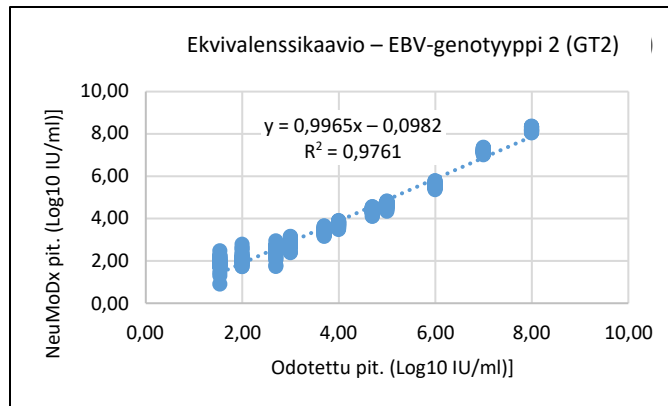
Kuva 2: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen lineaarisuus

EBV-genotyypin 2 (GT2) lineaarisuus

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen lineaarisuus EBV-genotyypissä 2 (GT2) luokiteltiin testaamalla yksitoista eri EBV GT2:n pitoisuutta, joilla oli määritetty jäljitettävyyden WHO:n 1. kansainväliseen EBV-standardiin ja jotka oli valmistettu yhdistetystä EBV-negatiivisesta plasmasta. Tutkimus suoritettiin testaamalla 36 replikaattia 11 pitoisuudella kahdella NeuMoDx System -järjestelmällä ja kolmella EBV Quant Test Strips 2.0 -erällä. EBV-genotyypin 2 (GT2) lineaarisuus esitetään taulukossa 5 ja kuvassa 3.

Taulukko 5: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen EBV-genotyypin 2 lineaarisuus

Genotyyppi	Lineaarisuusyhtälö $y = \text{NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0}$ -määrityksen kvantitointi $x = \text{odotettu kvantitointi}$	R^2
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761



Kuva 3: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen EBV-genotyypin 2 lineaarisuus

Analyttinen spesifisyys – ristireaktiivisuus

Analyttinen spesifisyys määritettiin seulomalla 36 organismin, joita löytyy veri-/plasma-näytteistä, sekä lajien, jotka ovat fylogeneettisesti EBV:n kaltaisia, ristireaktiiviteettiä. Suuren pitoisuuden organismit valmistettiin 5–6 organismin pooleissa. Testatut organismit näkyvät taulukossa 6. Ristireaktiiviteettiä ei havaittu testattujen organismien osalta, mikä vahvisti NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen 100 prosentin analyttisen spesifisyyden.

Taulukko 6: Analyttisen spesifisyyden osoittamiseen käytetyt patogeenit

Ei-kohdeorganismit					
BK-polyoomavirus	Adenovirus, tyyppi 5	Herpes simplex -virus (HSV) 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Sytomegalovirus	Hepatiitti C -virus	Herpes simplex -virus (HSV) 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Ihmisen herpesvirus 6	Parvovirus B19	Varicella-Zoster -virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Ihmisen herpesvirus 7	JC-virus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Ihmisen herpesvirus 8	Ihmisen papilloomavirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatiitti B -virus	Ihmisen papilloomavirus 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

Analyttinen spesifisyys – häiritsevät aineet, kommensaaliset organismit

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksestä arvioitiin interferenssi ei-kohde-organismien esiintyessä näytteessä. Arvioinnissa käytettiin samoja organismiryhmiä kuin ristireaktiviteetin testauksessa (katso edellä oleva taulukko 6). Negatiiviseen EBV-plasmaan lisättiin organismit, jotka oli yhdistetty ryhmiin 4–7. Näihin ryhmiin lisättiin EBV-kohdetta pitoisuutena 90 IU/ml [1,95 Log₁₀ IU/ml]. Merkittäviä häiriöitä ei havaittu näiden organismien läsnäollessa, minkä osoitti minimaalinen kvantitointipointkeama kontrollinäytteistä, joissa häiritseviä aineita ei ollut.

Analyttinen spesifisyys – häiritsevät aineet, endogeeniset ja eksogeeniset aineet

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen suorituskyky arvioitiin sellaisten eksogeenisten ja endogeenisten häiritsevien aineiden läsnäollessa, joita tyyppillisesti löytyy kliinisistä EBV-plasmanäytteistä. Nämä sisälsivät epänormaalin suuria pitoisuuksia veren komponentteja sekä yleisiä antiviruksen- ja immunosuppressiolääkkeitä, jotka on luokiteltu taulukossa 7. Kutakin ainetta lisättiin seulottuun EBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan, johon oli lisätty 90 IU/ml [1,95 Log₁₀ IU/ml] EBV:tä, ja näytteiden interferenssi analysoitiin vertaamalla raportoitua pitoisuutta positiiviseen kontrolliin. Lisäksi EBV-infektioon liittyvät yleiset sairaustilat testattiin plasmasta mahdollisten häiriöiden varalta. Kaikkien testattujen aineiden keskimääräinen pitoisuus ja vinouma verrattuna kontrollinäytteisiin, joihin oli lisätty sama taso EBV:tä, on ilmoitettu taulukossa 8. Mikään eksogeeninen tai endogeeninen aine ei vaikuttanut NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen spesifisyyteen.

Taulukko 7: Häiriöiden testaus – eksogeeniset aineet (lääkeluokitukset)

Ryhmä	Lääkkeen nimi	Luokitus	Ryhmä	Lääkkeen nimi	Luokitus
Ryhmä 1	Atsatiopriini	Immunosuppressantti	Ryhmä 4	Trimetopriimi	Antibiootti
	Syklosporiini	Immunosuppressantti		Vankomysiini	Antibiootti
	Foskarneetti	Viruslääke (Herpesviridae)		Takrolimuusi	Immunosuppressantti
	Gansikloviiri	Antivirus (EBV)		Everolimuusi	Immunosuppressantti
	Valgansikloviirihydrokloridi	Antivirus (EBV)		Klavulanaattikalium	Antibiootti
Ryhmä 2	Prednisoni	Kortikosteroidi/ immunosuppressantti	Ryhmä 5	Famotidiini	Histamiinireseptorin antagonist
	Sidofoviiri	Antivirus (EBV)		Sulfamethoksatsoli	Antibiootti
	Sefotetaani	Laajakirjoinen antibiootti		Valasikloviiri	Viruslääke (Herpesviridae)
	Kefotaksiimi	Laajakirjoinen antibiootti		Letermoviiri	Antivirus (EBV)
	Flukonatsoli	Sienilääke		Tikarsilliini-dinatrium	Antibiootti
Ryhmä 3	Mykofenolaatti-mofetiili	Immunosuppressantti	Leflunomidi	Immunosuppressantti	
	Mykofenolaattinatrium	Immunosuppressantti			
	Piperasilliini	Antibiootti			
	Sirolimuusi/rapamysiini	Immunosuppressantti			
	Tatsobaktaami	Muunneltu antibiootti			

Taulukko 8: Häiritsevien aineiden testaus – endogeeniset ja eksogeeniset aineet

Endogeeninen + sairauden tila	Keskimääräinen pit.	Vinouma
	Log ₁₀ IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
Hemoglobiini	2,19	0,32
Triglyseridit	1,90	0,02
Bilirubiini	2,12	0,24
Albumiini	1,95	0,07
Systeeminen lupus erythematosus (SLE)	2,08	0,20
Tumavasta-aine (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Reumatoiariitti (RA)	1,89	0,01
Positiivinen kontrolli	1,88	Ei oleellinen
Eksogeeniset (lääkkeet)	Keskimääräinen pit.	Vinouma
	Log ₁₀ IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
Ryhmä 1: Atsatiopriini, siklosporiini, foskarneetti, gansikloviiri, valgansikloviirihydrokloridi	2,19	0,09
Ryhmä 2: Prednisoni, sidofoviiri, sefotetaani, sefotaksiimi, flukonatsoli	2,11	0,01
Ryhmä 3: Mykofenolaatti-mofetiili, mykofenolaattinatrium, piperasilliini, sirolimuusi/rapamysiini, tatsobaktaami	2,16	0,06
Ryhmä 4: Trimetopriimi, vankomysiini, takrolimuusi, everolimuusi, kaliumklavulanaatti	2,24	0,14
Ryhmä 5: Famotidiini, sulfametoksatsoli, letermoviiri, valasykloviiri, tikarsilliini-dinatrium, leflunomidi	2,26	0,16
Positiivinen kontrolli	2,10	Ei oleellinen

Laboratorion tarkkuus

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen tarkkuus määritettiin testaamalla 3 replikaattia 6-osaisesta paneelista, jossa EBV-näytteet oli valmisteltu NeuMoDx EBV Positive Control -kontrollilla ja EBV-viljelyllä (ATCC, Manassas, VA). Testaus tehtiin kaksi kertaa päivässä käyttämällä kahta NeuMoDx 288 System -järjestelmää ja kahta NeuMoDx 96 System -järjestelmää 12 päivän aikana. Ajon, päivän ja järjestelmän sisäiset tarkkuudet luokiteltiin ja keskihajonta yhteensä oli $\leq 0,18$ Log₁₀ IU/ml. Erinomainen tarkkuus pystyttiin osoittamaan eri järjestelmissä, eri päivinä ja eri ajoissa *Taulukon 9* tietojen mukaisesti. Käyttäjien välistä tarkkuutta ei luokiteltu, koska käyttäjällä ei ole merkittävää roolia näytteiden käsittelemisessä NeuMoDx System -järjestelmällä.

Taulukko 9: Tarkkuus laboratorion sisällä – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys NeuMoDx System -järjestelmillä

EBV-tavoitepit. [Log ₁₀ IU/ml]	Keskimääräinen EBV-pit. [Log ₁₀ IU/ml]	SD järjestelmän sisällä	SD päivän sisällä	SD ajon sisällä	Yhteensä (laboratorion sisällä)
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

Erienvälinen uusittavuus

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen erienvälinen uusittavuus määritettiin arvioimalla 3 erää NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 -testiliuskoja osana Within Lab Precision (Tarkkuus laboratorion sisällä) -tutkimusta. Kuusiosaista EBV-positiivisen plasman paneelia käytettiin suorituskyvyn arvioimisessa (*Taulukko 10*). Erien tulokset analysoitiin, ja ne esitetään *taulukossa 10*. Suurin vinouma oli 0,29 Log₁₀ IU/ml, ja suurin SD oli 0,18 Log₁₀ IU/ml NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0 -testiliuskojen osalta. Samanveroinen suorituskyky osoitettiin erien välillä, sillä kaikkien paneelin osien kvantitointi oli toleranssimääritysten sisällä.

Taulukko 10: Erienvälinen toistettavuus – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritys, Test Strip -testiliuska

Odotettu pit. (Log ₁₀ IU/ml)	Erä 1			Erä 2			Erä 3		
	Keskimääräinen pit. (Log ₁₀ IU/ml)	Log. pit. SD	Abs. vin.	Keskimääräinen pit. (Log ₁₀ IU/ml)	Log. pit. SD	Abs. vin.	Keskim. pit. (Log ₁₀ IU/ml)	Log. pit. SD	Abs. vin.
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

Näytteen prosessikontrollin tehokkuus

Näytteen prosessikontrolli (Sample Process Control, SPC1) on sisällytetty NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määritykseen, jotta voidaan ilmoittaa määrityksen suorituskykyyn vaikuttavista prosessivaiheen virheistä tai estymisestä. SPC1:n tehokkuutta plasmanäytteisiin testattiin käyttämällä NeuMoDx CMV Quant Assay -määritystä mallina olosuhteissa, jotka vastasivat prosessin kriittisten vaiheiden epäonnistumisia, joita voi tapahtua näytteenkäsittelyn aikana ja joita NeuMoDx System -järjestelmän toimintaa valvovat anturit *eivät välttämättä havaitse*. Sytomegaloviruspositiiviset (pitoisuudella 3 Log₁₀ IU/ml) ja negatiiviset näytteet testattiin seuraavissa olosuhteissa: estäjän läsnäolo, ei pesuliuksen käyttöä eikä pesun ulospuhallusta. Prosessin epätehokkuuksia, joilla oli haitallinen vaikutus viruskohteen havaitsemiseen/kvantitointiin, heijasti SPC1-kohteen suorituskyky, kuten *taulukossa 11* on esitetty. Kaikissa testatuissa tapauksissa osoitettiin, että joko näytteen prosessikontrolli tarkkaili prosessin epätehokkuuksia ja estäjien läsnäoloa riittävästi tai odotetulla prosessin epätehokkuudella ei ole merkittävää haittavaikutusta SPC1:n havaitsemiseen eikä viruskohteen havaitsemiseen ja kvantitointiin. Siksi SPC1 osoitautui onnistuneesti seuraavan määrityksen toimintaa NeuMoDx System -järjestelmässä.

Taulukko 11: Näytteen prosessikontrollin tehokkuus plasman sisältämän viruksen DNA:n osalta*

Prosessin vaiheen testattu virhe	Näytteen prosessikontrollin 1 monistustila	CMV-kohteen monistustila	Määritystulos
Presence of Inhibitor (Estäjän läsnäolo)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Delivered (Pesua ei tehty)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Blowout (Ei pesun tyhjennystä)	Amplified (Monistettu)	Amplified (Monistettu)	Positive with Quantitation within 0.3 Log ₁₀ IU/mL of Control (Positiivinen, kvantitointi 0,3 log ₁₀ IU/ml:n sisällä kontrollista)

*Plasmanäytteisiin lisättyä sytomegalovirusta (Cytomegalovirus, CMV) käytettiin mallijärjestelmänä näytteen prosessikontrollin tehokkuuden arvioimisessa.

Ristikontaminaatio

Plasmanäytteiden ristikontaminaatioaste määritettiin käsittelemällä vaihtelevia erittäin positiivisia ja negatiivisia EBV-näytteitä. Viisi tällaista shakkiruututestijoukkoa tehtiin, ja nämä sisälsivät 60 replikaattia EBV-negatiivista plasmata ja 60 replikaattia EBV-lisättyä plasmata pitoisuudella 6,0 Log₁₀ IU/ml sekä NeuMoDx 288- että 96 Molecular Systems -järjestelmällä. Kummassakin järjestelmätyypissä negatiivisen näytteen kaikki 120 replikaattia raportoitettiin negatiivisiksi, mikä osoittaa, että ristikontaminaatiota ei tapahtunut NeuMoDx System -järjestelmässä näytteenkäsittelyn aikana.

Näytematriisin ekvivalenssi

Testauksella osoitettiin tuoreiden ja pakastettujen plasmanäytteiden ekvivalenssi käyttämällä samankaltaista veressä olevaa virusta, CMV:tä, mallina. Tuoreita näytteitä säilytettiin 4 °C:ssa, kunnes niihin lisättiin kolme CMV-tasoa, ja niiden ekvivalenssi testattiin. Näytteet pakastettiin vähintään 24 tunniksi –20 °C:seen. Tämän jäädytettynä säilyttämisen jälkeen näytteet sulatettiin ja testattiin uudelleen. Tuoreiden ja pakastettujen näytteiden tulosten vastaavuutta verrattiin regressioanalyysillä. Tiedot osoittivat erinomaista ekvivalenssia tuoreiden ja pakastettujen plasmanäytteiden osalta kulmakertoimella 1,0 ja erittäin heikolla vinoumalla (poikkileikkauspiste), kuten *taulukko 12* jäljempänä osoittaa.

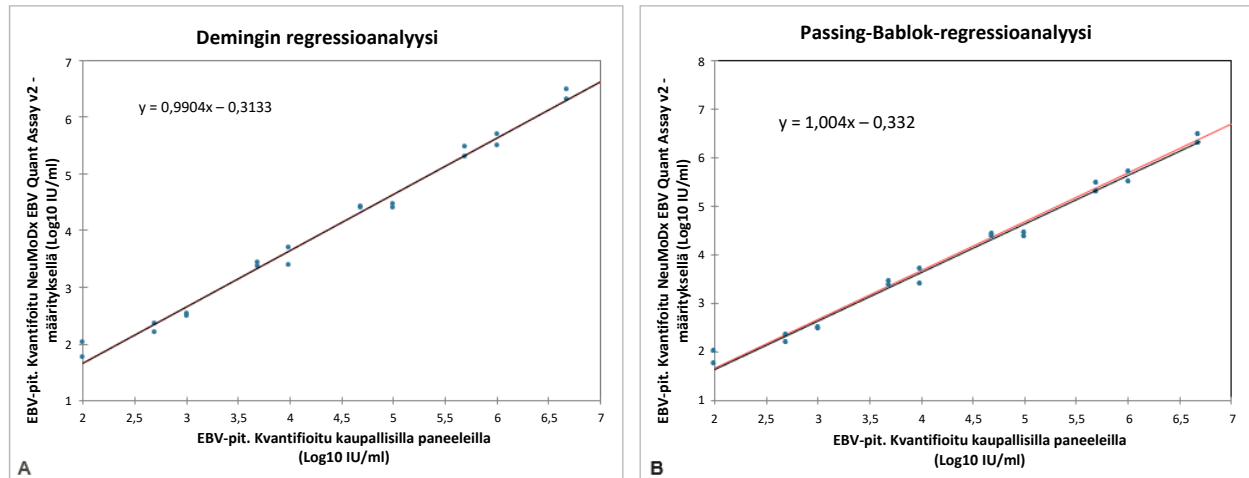
Taulukko 12: Näytematriisin ekvivalenssi

Parametrivaatimus	Tuore vs. pakastettu EDTA
Kulmakerroin [0,9–1,1]	1,000
Leikkauspiste < 0,5 Log ₁₀ IU/ml	0,020
p-arvo > 0,05	0,631

Kvantitatiiviset suorituskykyominaisuudet

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen kvantitointisuorituskyky luokiteltiin käsittelemällä kaksi kaupallista EBV-verifointipaneelia AcroMetrixiltä ja Exact Diagnosticsilta (jäljitettävissä WHO:n 1. kansainväliseen EBV-standardiin) NeuMoDx Molecular System -järjestelmissä.

Erinomainen korrelaatio saatiin NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksen ja kahden kaupallisen EBV-verifointipaneelin (kuva 4) välillä, kun analyysi tehtiin joko Demingin regressiolla (kuva 4A) tai Passing-Bablokin menetelmällä (kuva 4B).



Kuva 4. Ekvivalenssikaavio AcroMetrixin ja Exact Diagnosticsin verifointipaneelien ja NeuMoDx EBV Quant Assay -määrityksen välillä. A. Lineaarinen regressioanalyysi Demingin menetelmällä. B. Lineaarinen regressioanalyysi Passing-Bablokin menetelmällä.

Deming-regressiosovituksen laatu on esitetty kulmakertoimella 0,990 ja leikkauspisteellä (vinouma) -0,313, mikä osoittaa, että NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksellä ja EBV-verifointipaneeleilla saadut pitoisuustulokset ovat erittäin korreloivia ja hyväksyttävän vinouman sisällä. Myös Passing-Bablokin lineaarinen sovitus tukee korrelaation merkittävyyttä NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 -määrityksestä ja EBV-verifointipaneeleista saatujen tulosten välillä kulmakertoimen ollessa 1,004 ja leikkauspisteen (vinouman) -0,332. Passing-Bablok-analyysin *p*-arvoksi laskettiin 0,988.

Taulukko 13: Demingin ja Passing-Bablokin lineaarisen regressioanalyysin yhteenveto

Deming-analyysi		Passing-Bablok-analyysi	
Leikkaus	Kulmakerroin	Leikkaus	Kulmakerroin
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95 %:n CI (-0,620; -0,007)	95 %:n CI (0,928; 1,053)	95 %:n CI (-0,548;-0,116)	95 %:n CI (0,950; 1,047)

LÄHDEVIITTEET

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.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.










NeuDry™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.

Seracare® on Seracare Life Sciences, Inc:n tavaramerkki.

TaqMan® on Roche Molecular Systems, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.

Kaikki muut tuotenimet, tavaramerkit ja rekisteröidyt tavaramerkit, joita mahdollisesti tässä asiakirjassa mainitaan, ovat omien omistajiensa omaisuutta.

SYMBOLIEN SELITYKSET

R only	Vain lääkärin määräyksestä		Sisältö riittää <n> testiin
	Valmistaja		Lue käyttöohjeet
IVD	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen laite		Huomio
EC REP	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä		Terveysten kohdistuva vaara
REF	Luettelonumero	CE	CE-merkki
LOT	Eräkoodi	CONT	Sisältää
	Viimeinen käyttöpäivämäärä		Sisältää eläinperäistä biologista materiaalia
	Lämpötilarajoitus	Boric Acid	Boorihappo
	Ei saa käyttää uudelleen		



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



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

Tekninen tuki / valvontailmoitukset: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents

