

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

UZMANĪBU! Tikai ASV eksportam

IVD Lietošanai *in vitro* diagnostikā sistēmās NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems*Ieliktņa atjauninājumus skatiet vietnē: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600108**Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 96 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600317*

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

NeuMoDx HCV Quant Assay ir automatizēts, *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests C hepatīta vīrusa (HCV) RNS kvantitatīvai noteikšanai cilvēka plazmas un seruma parauga materiālos, lai cilvēkiem, kas inficējušies ar HCV, noteiktu HCV antivielu pozitīvus genotipus no 1 līdz 6. NeuMoDx HCV Quant Assay, ar ko veic testēšanu sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(-s)), ietver automatizētu RNS ekstrahēšanu, lai no parauga materiāla izolētu mērķa nukleīnskābi, un reāllaika reversās transkriptāzes polimerāzes ķēdes reakciju (RT-PĶR), lai mērķētu uz ļoti labi saglabātajām sekvencēm C hepatīta vīrusa genomā.

NeuMoDx HCV Quant Assay ir paredzēts izmantot kā palīg līdzekli pacientu ar HCV infekcijām ārstēšanā. NeuMoDx HCV Quant Assay rezultāti ir jāinterpretē kontekstā ar visām attiecīgajām klīniskajām un laboratoriskajām atradēm. NeuMoDx HCV Quant Assay nav paredzēts izmantot kā asins vai asins pagatavojuumu skrīninga testu vai HCV infekcijas klīniskā statusa diagnosticēšanai.

KOPSAVILKUMS UN SKAIDROJUMS

Cilvēka pilnasinis, kas paņemtas sterilos asins paņemšanas stobriņos, kuros kā pretsārcēšanas līdzekļi ir etilēndiamīntetraetiķskābe (EDTA) vai skābes-citrāta-dekstrozes šķīdums (acid citrate-dextrose, ACD), vai plazmas sagatavošanas stobriņos (plasma preparation tubes, PPT), var izmantot plazmas sagatavošanai, bet serums jāpaņem seruma stobriņos vai seruma atdalīšanas stobriņos (serum separation tube, SST). Sagatavojot testēšanai, plazmu vai serumu sekundārajā parauga materiāla stobriņā vai frakcionētas asinis primārajā parauga materiāla stobriņā, kas sader ar NeuMoDx System, ievieto sistēmā NeuMoDx System, izmantojot tam īpaši paredzētu parauga materiālu stobriņu turētāju. Katra plazmas/seruma parauga materiāla alikvoto daļu sajauc ar NeuMoDx Lysis Buffer 3, un NeuMoDx System automātiski veic visas darbības, kas nepieciešamas, lai ekstrahētu mērķa nukleīnskābi, sagatavotu izolēto RNS reāllaika RT-PĶR amplifikācijai un amplificētu un noteiktu amplifikācijas produktus, ja tādi ir. NeuMoDx HCV Quant Assay mērķē uz diviem ļoti labi saglabātiem HCV genoma reģioniem, palielinot analīzes noturību. NeuMoDx HCV Quant Assay ietver arī RNS paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC2), lai palīdzētu uzraudzīt iespējamu inhibitorvielu klātbūtni, kā arī NeuMoDx System vai reaģentu kļūdas, kas var rasties ekstrakcijas un amplifikācijas procesa laikā.

HCV ir vienpavediena pozitīvas polaritātes RNS vīruss, kas spēj izraisīt gan akūtu, gan hronisku infekciju.¹ Pašlaik nav vakcīnas pret C hepatītu. Lai gan akūta infekcija parasti ir bez simptomiem un ļoti reti saistīta ar dzīvībai bīstamu slimību, vairāk nekā pusei cilvēku, kas inficējušies ar HCV, var attīstīties hroniska infekcija. Cilvēkiem ar hronisku HCV infekciju aknu cirozes attīstības risks ir 15–30% 20 gadu laikā. Novērtēts, ka visā pasaulē 71 miljonom cilvēku varētu būt hroniska HCV infekcija, un paredzams, ka nozīmīgam skaitam šo cilvēku attīstīsies ciroze vai aknu vēzis.²⁻⁴ HCV kā ar asinīm pārnesams vīruss galvenokārt tiek pārnestas ar asinīm un asins pagatavojuumiem. Asins skrīninga testu plaša ieviešana ir ievērojami samazinājusi ziedoto asinju izraisītu infekciju sastopamību.¹

Antivielu pret HCV noteikšana neatšķir aktīvu infekciju no pārvarētas infekcijas. Tāpēc HCV laboratoriskās testēšanas algoritmi prasa diagnosticēt aktīvas HCV infekcijas cilvēkiem ar pozitīvu antivielu testu, nosakot HCV RNS plazmā vai serumā, pirms sāk ārstēšanu (ja nepieciešams). Tagad, definējot un kontrolējot sekmīgu HCV izārstēšanu, parasti kvantitatīvi nosaka HCV RNS (vīrusa slodzi).

Spēkā esošajās vadlīnijās HCV infekciju pārvaldīšanai un ārstēšanai kvantitatīva HCV RNS testēšana ieteikta pirms pretvīrusu terapijas sākuma, lai konstatētu bāzes līniju, un 12 nedēļas vai vēlāk pēc ārstēšanas beigām. Dažreiz var būt ieteicami papildu laika brīži. Ilgstoša viroloģiskā atbildes reakcija (sustained virologic response, SVR) ir HCV terapijas mērķis, un tā ir definēta kā nenosakāma HCV RNS (ar analīzi, kura noteikšanas robeža ir <25 SV/ml) pēc terapijas.⁵⁻⁷ Aknu slimību izpētes Amerikas asociācijas (American Association for the Study of Liver Diseases) jaunākajās vadlīnijās ierosināts testēt HCV RNS ne tikai bāzes līnijā, bet arī periodiski ārstēšanas laikā (t.i., 4 nedēļas) un 12 nedēļas pēc ārstēšanas beigām. Aktīvas HCV infekcijas konstatēšanai izmanto testus HCV RNS noteikšanai kopā ar seroloģiskajiem testiem.⁶

PROCEDŪRAS PRINCIPI

NeuMoDx HCV Quant Assay apvieno automatizētu RNS ekstrakciju, amplifikāciju un noteikšanu, izmantojot reāllaika RT-PĶR. Pilnasiņu parauga materiālus paņem EDTA, ACD vai PPT stobriņos plazmas sagatavošanai un/vai SST stobriņos seruma sagatavošanai. Primāro (frakcionētu) asins parauga materiālu vai plazmas/seruma alikvoto daļu saderīgā sekundārajā parauga materiālu stobriņā marķē ar svītrkoda uzlīmi un ievieto sistēmā NeuMoDx System. NeuMoDx System automātiski aspirē plazmas/seruma alikvoto daļu, kas sajaucama ar NeuMoDx Lysis Buffer 3 un platē NeuMoDx Extraction Plate esošajiem līdzekļiem, lai sāktu apstrādi. NeuMoDx System automatizē un integrē RNS ekstrakciju un koncentrāciju, reaģenta sagatavošanu un nukleīnskābes mērķa sekvenču amplifikāciju/noteikšanu, izmantojot reāllaika RT-PĶR. Iekļautais paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC2) palīdz uzraudzīt inhibitorvielu klātbūtni un sistēmas, apstrādes vai reaģentu kļūdas. Pēc parauga materiāla ievietošanas sistēmā NeuMoDx System operatoram vairs nav jāiesaistās.

NeuMoDx System izmanto siltuma, lizējoša enzīma un ekstrahēšanas reaģentu kombināciju, lai automātiski lizētu, ekstrahētu RNS un likvidētu inhibitorus. Paramagnētiskās daļiņas piesaista atbrīvojušās nukleīnskābes. Daļiņas ar piesaistīto nukleīnskābi ievieto kasetnē NeuMoDx Cartridge, kur nesaistītos elementus aizskalo ar NeuMoDx Wash Reagent. Pēc tam saistīto RNS eluē, izmantojot NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System izmanto eluēto RNS, lai rehidratētu patentētos NeuDry™ amplifikācijas reaģentus, kas satur visus elementus, kuri ir nepieciešami HCV un SPC2 mērķu amplifikācijai. Tādējādi iespējama gan mērķa, gan kontroles RNS sekvenču vienlaicīga amplifikācija un noteikšana. Kad sausie RT-PQR reaģenti izšķīdināti, sagatavoto RT-PQR gatavo maisījumu NeuMoDx System iepilda NeuMoDx Cartridge vienā PQR kamerā (atbilstoši parauga materiālam). Kontroles un mērķa sekvenču (ja tādas ir) reversā transkripcija, amplifikācija un noteikšana notiek PQR kamerā. Kasetnē NeuMoDx Cartridge ir paredzēts ietvert aplikonu pēc PQR, būtībā novēršot piesārņošanas risku pēc amplifikācijas.

Amplificētos mērķus nosaka reāllaikā, izmantojot hidrolīzes zondes ķīmiju (ko parasti sauc par TaqMan® ķīmiju) ar fluorogēnās oligonukleotīdu zondes molekulām, kas ir specifiskas to attiecīgo mērķu amplikoniem. TaqMan zondes satur fluoroforu, kas kovalenti saistīts ar oligonukleotīda zondes 5' galu, un dzēsēju 3' galā. Kamēr zonde ir neskarta, fluorofors un dzēsējs ir tuvu viens otram, tāpēc dzēsēja molekula var aplāpēt fluorofora izstaroto fluorescenci Fōrstera rezonanses enerģijas pārnesei (Fōrster Resonance Energy Transfer, FRET) ceļā.

TaqMan zondēm ir paredzēts piesaistīties DNS reģionā, kas amplificēts ar īpašu praimeru kopumu. Taq DNS polimerāzei pagarinot praimeru un sintezējot jauno pavedienu, Taq DNS polimerāzes 5'–3' eksonukleāzes aktivitāte noārda zondi, kas ir piesaistījusies pie matricē. Zondei noārdoties, atbrīvojas fluorofors, un tā vairs nav tuvu dzēsējam, tādējādi FRET dēļ zūd dzēsēšanas efekts un ir iespējams noteikt fluoroforu. Iegūtais fluorescences signāls, kas noteikts NeuMoDx System kvantitatīvās RT-PQR amplifikatorā, ir tieši proporcionāls atbrīvotajam fluoroforam, un to var saistīt ar esošā mērķa daudzumu.

TaqMan zondi, kas ir iezīmēta ar fluoroforu (ierosme: 490 nm un izstarošana: 521 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā, izmanto HCV RNS noteikšanai. SPC2 noteikšanai TaqMan zonde ir iezīmēta ar citu fluorescentu krāsvielu (ierosme: 535 nm un izstarošana: 556 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā. NeuMoDx System programmatūra uzrauga fluorescences signālu, ko katra amplifikācijas cikla beigās izstaro TaqMan zondes. Kad amplifikācija pabeigta, NeuMoDx System programmatūra analizē datus un ziņo galīgo rezultātu (POSITIVE (Pozitīvs)/NEGATIVE (Negatīvs)/INDETERMINATE (Neskaidrs)/UNRESOLVED (Neatrisināts)/NO RESULT (Nav rezultāta)). Ja rezultāts ir pozitīvs un aprēķinātā koncentrācija atbilst kvantitatīvās noteikšanas robežvērtībām, NeuMoDx System programmatūra sniedz arī paraugu saistīto kvantitatīvo vērtību.

REAĢENTI/PALĪGMATERIĀLI

Nodrošinātais materiāls

ATS	Saturs	Vienības iepakojumā	Testi vienībā	Testi iepakojumā
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip <i>Sausie RT-PQR reaģenti, kas satur HCV un SPC2 specifiskas TaqMan zondes un praimerus</i>	6	16	96

Nepieciešamie materiāli, kas jāiegādājas atsevišķi (iegādājami atsevišķi no NeuMoDx)

ATS	Saturs
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Sausas paramagnētiskas daļiņas, lizējošs enzīms un paraugu apstrādes kontrolmateriāli</i>
800200 vai 800202	NeuMoDx HCV Calibrators <i>Vienreizlietojami HCV augšējo un apakšējo vērtību kalibratoru komplekti kalibrācijas līknes derīguma noteikšanai</i>
900201 vai 900202	NeuMoDx HCV External Controls <i>Vienreizlietojami HCV pozitīvu un negatīvu kontrolmateriālu komplekti</i>
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgāji (300 µl) ar filtriem
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgāji (1000 µl) ar filtriem

Nepieciešamie piederumi

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

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- Testa strēmēlīte NeuMoDx HCV Quant Test Strip ir paredzēta lietošanai *in vitro* diagnostikā tikai sistēmās NeuMoDx Systems.
- Reāģentus un palīgmateriālus nedrīkst lietot pēc norādītā derīguma termiņa beigām.
- Reāģentus nedrīkst lietot, ja drošības noslēgs ir saplīsis vai saņemšanas brīdī iepakojums ir bojāts.
- Palīgmateriālus un reāģentus nedrīkst lietot, ja saņemšanas brīdī aizsargmaisīnš ir atvērts vai saplīsis.
- Jābūt pieejamai derīgai testa kalibrācijai (ko ģenerē, apstrādājot augšējo un apakšējo vērtību kalibratorus no NeuMoDx HCV Calibrators), tikai pēc tam var iegūt testu rezultātus klīniskajiem paraugiem.
- NeuMoDx HCV External Controls jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Sekundāro alikvoto daļu parauga materiāla minimālais tilpums ir atkarīgs no stobriņa lieluma, parauga materiālu stobriņu turētāja un apstrādājamā parauga materiāla tilpuma, kā norādīts tālāk. Ja tilpums ir mazāks par norādīto minimālo tilpumu, var rasties kļūda "Quantity Not Sufficient" (Daudzums nav pietiekams).
- Ja izmanto parauga materiālus, kas glabāti neatbilstošā temperatūrā, vai pēc norādītā glabāšanas laika, iegūtie rezultāti var būt nederīgi vai kļūdaini.
- Vienmēr jāizvairās no visu reāģentu un palīgmateriālu mikrobioloģiskā un ribonukleāžu (RNāze) piesārņojuma. Lietojot sekundāros parauga materiālu stobriņus, ieteicams izmantot sterilas RNāzi nesaturošas vienreizlietojamas pārneses pipetes. Katram parauga materiālam jāizmanto jauna pipete.
- Lai izvairītos no piesārņošanas, pēc amplifikācijas nedrīkst rīkoties ar NeuMoDx Cartridge vai to izjaukt. Nekādā gadījumā neizņemt kasetnes NeuMoDx Cartridges no bioloģiski bīstamo atkritumu konteina (NeuMoDx 288 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertnes (NeuMoDx 96 Molecular System). Kasetne NeuMoDx Cartridge ir izveidota tā, lai nepieļautu kontamināciju.
- Ja laboratorijā veic arī PQR testus ar atvērtiem stobriņiem, jāuzmanās, lai nepiesārņotu NeuMoDx HCV Quant Test Strip, testēšanai nepieciešamos papildu palīgmateriālus un reāģentus, individuālos aizsardzības līdzekļus, piemēram, cimdus un laboratorijas uzsvārcus, kā arī NeuMoDx System.
- Rīkojoties ar NeuMoDx reāģentiem un palīgmateriāliem, jāvalkā tīri nitrila cimdi bez pulvera. Jāuzmanās, lai nepieskartos NeuMoDx Cartridge augšējai virsmai, NeuMoDx HCV Quant Test Strip un NeuMoDx Extraction Plate folijas noslēgvirsmi vai NeuMoDx Lysis Buffer 3 augšējai virsmai; rīkojoties ar palīgmateriāliem un reāģentiem, drīkst pieskarties tikai sānu virsmām.
- Drošības datu lapas (DDL) katram reāģentam (attiecīgā gadījumā) atrodamas tīmekļa vietnē www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Pēc testa veikšanas rūpīgi nomazgāt rokas.
- Vietas nedrīkst iesūkt pipetē ar muti. Zonās, kur notiek darbības ar parauga materiāliem vai reāģentiem, nedrīkst smēķēt, dzert vai ēst.
- Ar parauga materiāliem vienmēr jārikojas tā, it kā tie būtu inficēti, un saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, piemēram, tām, kas aprakstītas dokumentā *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ un CLSI dokumentā M29-A4.⁹
- Neizlietotie reāģenti un atkritumi jālikvidē saskaņā ar valsts, federālajiem, pašvaldības, pavalsts un vietējiem noteikumiem.
- Nelietot atkārtoti.

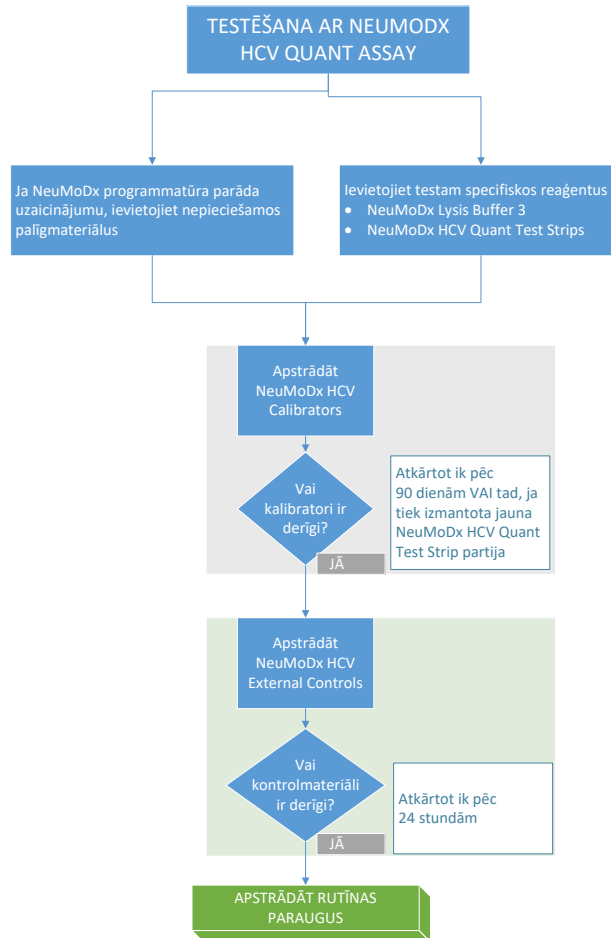
PRODUKTA GLABĀŠANA, APIEŠANĀS AR TO UN STABILITĀTE

- Primārajā iepakojumā NeuMoDx HCV Quant Test Strips ir stabilas visu derīguma termiņu, kas norādīts uz preparāta tiešās uzlīmes, ja tiek glabātas 4–28 °C temperatūrā.
- Nedrīkst lietot palīgmateriālus un reāģentus, kuru norādītais derīguma termiņš ir beidzies.
- Nevienu testa preparātu nedrīkst lietot, ja ir redzami primārā vai sekundārā iepakojuma bojājumi.
- Nevienu testa produktu, kas iepriekš bijis ievietots citā NeuMoDx System, nedrīkst ievietot atkārtoti.
- Pēc ielādēšanas NeuMoDx HCV Quant Test Strip sistēmā NeuMoDx System var palikt līdz 14 dienas. Programmatūra reāllaikā izseko un ziņo lietotājam par ielādēto testa strēmēlīšu atlikušo glabāšanas ilgumu. Sistēma parādīs uzaicinājumu izņemt testa strēmēlīti, kas tiek lietota ilgāk par pieļaujamo periodu.

PARAUGA MATERIĀLA PAŅEMŠANA, TRANSPORTĒŠANA UN GLABĀŠANA

1. Ar visiem parauga materiāliem, kalibratoriem un kontrolmateriāliem jārikojas tā, it kā tie varētu pārnest infekcijas izraisītājus.
2. Nedrīkst sasaldēt pilnasinis nevienu parauga materiālu, ko glabā primārajos stobriņos.
3. Lai sagatavotu plazmas parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem sterilos stobriņos, kā antikoagulantus izmantojot EDTA vai ACD, vai plazmas sagatavošanas stobriņos (PPT). Parauga materiāls jāsaņem un jāglabā atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.
4. Lai sagatavotu seruma parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem seruma stobriņos vai SST stobriņos. Parauga materiāls jāsaņem un jāglabā atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.

5. Parauga materiālus var testēt primārajos paņemšanas stobriņos vai sekundārajos parauga materiālu stobriņos. Ieteicamie stobriņi testēšanai primārajos stobriņos norādīti tālāk.
 - a. Plazmas parauga materiāli: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂ EDTA Tube (BD Nr. 368589) vai BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD Nr. 362799).
 - b. Seruma parauga materiāli: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD Nr. 367820) vai BD Vacutainer SST™ Tube (BD Nr. 367988).
 6. Sagatavotus parauga materiālus sistēmā NeuMoDx System var glabāt līdz 8 stundām pirms apstrādes. Ja nepieciešams papildu glabāšanas laiks, parauga materiālus ieteicams atdzesēt vai sasaldēt sekundārās alikvotajās daļās.
 7. Sagatavoti parauga materiāli jāglabā 2–8 °C temperatūrā ne ilgāk kā 7 dienas pirms testēšanas un ne ilgāk kā 8 stundas istabas temperatūrā.
 8. Sagatavotus parauga materiālus sekundārajos stobriņos pirms apstrādes var glabāt ≤-20 °C temperatūrā līdz 24 nedēļām; sasaldētos parauga materiālus pirms lietošanas nedrīkst pakļaut vairāk kā diviem (2) sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem.
 - a. Plazmas parauga materiālus, kas ir sasaldēti un pakļauti vienam (1) sasaldēšanas/atkausēšanas ciklam, sistēmā var glabāt vēl 8 stundas.
 - b. Plazmas parauga materiālus, kas ir sasaldēti un pakļauti diviem (2) sasaldēšanas/atkausēšanas ciklam, sistēmā nedrīkst glabāt ilgāk par 4 stundām.
 - c. Seruma parauga materiāli, kas ir sasaldēti un pakļauti vienam (1) vai diviem (2) sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem, jātestē tūlīt pēc atkausēšanas.
 - d. Ja paraugi ir sasaldēti, jānogaida, līdz paraugi istabas temperatūrā (15–30 °C) pilnībā atkūst, pēc tam jāsamaisa virpuļmikserī, lai iegūtu vienmērīgi izkliedētu paraugu.
 - e. Plazmu/serumu nav ieteicams sasaldēt primārajos paņemšanas stobriņos.
 9. Ja parauga materiālus pārvadā, tie jāiesaiņo un jāmarķē saskaņā ar piemērojamiem valsts un/vai starptautiskajiem noteikumiem.
 10. Parauga materiāli skaidri jāmarķē, un jānorāda, ka parauga materiāli ir paredzēti HCV testēšanai.
 11. Pārejiet pie sadaļas *Testa sagatavošana*.
- Vispārīgā gaita, kā notiek testēšana ar NeuMoDx HCV Quant Assay, ir apkopota šeit: *1. attēls*.



1. attēls. Testēšana ar NeuMoDx HCV Quant Assay: darbplūsmā

LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

Testa sagatavošana

Testēt ar NeuMoDx HCV Quant Assay var tieši no primārajiem asins paņemšanas stobriņiem vai no parauga materiālu alikvotajām daļām sekundārajos stobriņos. Apstrādāt var, izmantojot vienu no divām apstrādājamo parauga materiālu tilpuma darbplūsmām: 550 μ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmu vai 200 μ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmu.

1. Ar NeuMoDx System saderīgam parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svītrkoda uzlīmi. Pēc centrifugēšanas atbilstoši ražotāja norādījumiem primāro asins paņemšanas stobriņu var marķēt un ievietot tieši 32 parauga materiālu stobriņu turētājā. Plazmas alikvoto daļu var arī pārnest uz sekundāro stobriņu apstrādei sistēmā NeuMoDx System.
2. Ja parauga materiālu testē primārajā paņemšanas stobriņā, stobriņu ar svītrkodu ievietojiet parauga materiālu stobriņu turētājā un pirms ievietošanas sistēmā NeuMoDx System noteikti noņemiet vāciņu. Minimālais tilpums **virs** centrifugāta slāņa ir noteikts tālāk, un tas būs atbilstošs, ja parauga materiāli paņemti un apstrādāti saskaņā ar stobriņu ražotāja norādījumiem. Darbības efektivitāte nepareizi paņemtiem parauga materiāliem nav garantēta.

Stobriņa veids	Minimālais nepieciešamais parauga materiāla tilpums	
	550 µl darbplūsma	200 µl darbplūsma
SST – 3,5 ml	1550 µl	1200 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1450 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2200 µl
K ₂ EDTA/serums – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/serums – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/serums – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Ja izmantojat sekundāro stobriņu, rīkojieties, kā aprakstīts tālāk.
 - a. Parauga materiālu uzmanīgi maisiet virpuļmikserī, lai iegūtu vienmērīgu izkledi.
 - b. Katram parauga materiālam izmantojot jaunu pārneses pipeti, plazmas vai seruma alikvoto daļu pārnesiet ar NeuMoDx System uz saderīgu parauga materiāla stobriņu ar svītrkodu atbilstoši tālāk noteiktajiem tilpumiem.

Parauga materiālu stobriņu turētājs	Stobriņa lielums	Minimālais nepieciešamais parauga materiāla tilpums	
		550 µl darbplūsma	200 µl darbplūsma
32 parauga materiālu stobriņu turētājs	diametrs 11–14 mm, augstums 60–120 mm	700 µl	400 µl
24 parauga materiālu stobriņu turētājs	diametrs 14,5–18 mm, augstums 60–120 mm	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Maza tilpuma parauga materiālu stobriņu turētājs)	1,5 ml mikrocentrifūgas stobriņš ar konisku apakšu	650 µl	300 µl

- c. Jāuzmanās, lai parauga materiāla stobriņā nepārnestu recekļus no parauga.

NeuMoDx System darbība

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

1. Atbilstoši vēlamajai parauga materiāla tilpuma darbplūsmai un parauga materiāla stobriņa veidam ielādējiet testa pasūtījumu sistēmā NeuMoDx System.
 - 550 µl parauga materiāla tilpumu testē, parauga materiāla veidu nosakot kā **“Plasma”** (Plazma) vai **Serum** (Serums)
 - 200 µl parauga materiāla tilpumu testē, parauga materiāla veidu nosakot kā **“Plasma2”** (Plazma Nr. 2) vai **Serum2** (Serums Nr. 2)
 - Ja testa pasūtījumā nenorāda veidu, pēc noklusējuma tiks izmantots parauga materiāla veids **Plasma** (Plazma) stobriņā **Secondary Tube** (Sekundārais stobriņš).
2. Piepildiet vienu vai vairākus turētājus NeuMoDx System Test Strip Carrier ar testa strēmeliņiem NeuMoDx HCV Quant Test Strip un izmantojiet skārienkrānu, lai testa strēmeliņu turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
3. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, NeuMoDx System palīgmateriālu turētājos ievietojiet nepieciešamos palīgmateriālus un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
4. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu un ja vajadzīgs, nomainiet NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, iztukšojiet uzpildes atkritumus, bioloģiski bīstamo atkritumu konteineru (tikai NeuMoDx 288 Molecular System), uzgaļu atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System).
5. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, apstrādājiet NeuMoDx HCV Calibrators un/vai NeuMoDx HCV External Controls. Papildinformācija par kalibratoriem un kontrolmateriāliem atrodama sadaļā *Rezultātu apstrāde*.
6. Parauga materiālu/kalibratoru/kontrolmateriālu stobriņus ievietojiet parauga materiālu stobriņu turētājā un visiem stobriņiem noteikti noņemiet vāciņus.
7. Parauga materiālu stobriņu turētājus ievietojiet automātiskās ievietošanas ierīces plauktā un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System. Tādējādi sāksies ielādēto parauga materiālu apstrāde ar norādītajiem testiem, pieņemot, ka sistēmā ir derīgs testa pasūtījums.

IEROBEŽOJUMI

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip var izmantot tikai ar NeuMoDx Systems.
2. NeuMoDx HCV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta plazmas parauga materiāliem, kas sagatavoti ar EDTA/ACD kā antikoagulantu, vai seruma parauga materiāliem, kas sagatavoti seruma atdalīšanas stobriņos. NeuMoDx HCV Quant Test Strip lietošana ar citiem avotiem nav novērtēta, un darbības efektivitātes raksturlielumi citu veidu parauga materiāliem nav zināmi.
3. NeuMoDx HCV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta testēšanai primārajos stobriņos, izmantojot BD Vacutainer Plus Plastic K₂ EDTA Tubes, BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube un BD SST Tube.
4. Parauga materiālu izmantošana, pārkāpjot glabāšanas nosacījumus, var negatīvi ietekmēt NeuMoDx HCV Quant Assay kvantitatīvo precizitāti, taču mazāk ticams, ka tas ietekmē kvalitatīvā (Positive (Pozitīvs)/Negative (Negatīvs)) rezultāta rādītāju.
5. Seruma parauga materiālu glabāšana sistēmā pēc ilgstošas glabāšanas saldētavā un pakļaušana diviem sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem, tos tūlīt netestējot, var negatīvi ietekmēt NeuMoDx HCV Quant Assay kvantitatīvo precizitāti.
6. Izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, novērota neliela NeuMoDx HCV Quant Assay noteikšanas robežas un kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas palielināšanās.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay nedrīkst izmantot paraugiem, kas iegūti no heparinizētiem cilvēka paraugiem.
8. HCV noteikšana ir atkarīga no mērķa RNS vīrusa daļiņu skaita paraugā, tāpēc rezultātu ticamība ir atkarīga no parauga materiālu pareizas paņemšanas, rīcības ar tiem un glabāšanas.
9. Pirms rutīnas klīnisko paraugu apstrādes jāapstrādā NeuMoDx HCV Calibrators un NeuMoDx HCV External Controls, kā ieteikts to lietošanas pamācībā, ja NeuMoDx System programmatūra parāda šādu uzaicinājumu.
10. Kļūdainu rezultātu iemesls var būt parauga materiālu nepareiza paņemšana, rīkošanās ar tiem, glabāšana, tehniska kļūme vai parauga materiālu stobriņu sajaukšana. Vēl kļūdaini negatīvi rezultāti iespējami tad, ja vīrusa daļiņu skaits paraugā ir zem NeuMoDx HCV Quant Assay noteikšanas robežas.
11. Strādāt ar NeuMoDx System drīkst tikai darbinieki, kas ir apguvuši zināšanas par NeuMoDx System lietošanu.
12. Ja gan HCV mērķis, gan SPC2 mērķis neamplificē, tiek ziņots nederīgs rezultāts (Indeterminate (Neskaidrs), No Result (Nav rezultāta) vai Unresolved (Neatrisināts)), un tests ir jāatkārto.
13. Ja NeuMoDx HCV Quant Assay rezultāts ir Positive (Pozitīvs), bet kvantitatīvās noteikšanas vērtība pārsniedz kvantitatīvās noteikšanas robežas, NeuMoDx System ziņo, vai noteiktais HCV ir *zem* kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *virs* kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
14. Ja noteiktais HCV ir *zem* LLoQ, NeuMoDx HCV Quant Assay var atkārtot (ja vēlams) ar citu parauga materiāla alikvoto daļu.
15. Ja noteiktais HCV ir *virs* ULoQ, NeuMoDx HCV Quant Assay var atkārtot ar sākotnējā parauga materiāla atšķaidītu alikvoto daļu. Ieteicams atšķaidījums attiecībā 1:100 vai 1:1000 HCV negatīvā plazmā vai atšķaidītājā Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Sākotnējā parauga materiāla koncentrāciju aprēķina šādi:
$$\text{sākotnējā parauga materiāla koncentrācija} = \log_{10}(\text{atšķaidījuma koeficients}) + \text{atšķaidītā parauga ziņotā koncentrācija}$$
16. PQR inhibitoru gadījuma rakstura klātbūtne plazmā un serumā var izraisīt sistēmas kvantitatīvās noteikšanas kļūdu. Ja tā notiek, testu ieteicams atkārtot ar to pašu parauga materiālu, kas atšķaidīts atšķaidītājā Basematrix attiecībā 1:10 vai 1:100.
17. Pozitīvs rezultāts ne vienmēr liecina par dzīvotspējīgu organismu klātbūtni. Tomēr pozitīva rezultāta gadījumā iespējama C hepatīta vīrusa RNS klātbūtne.
18. Delēcija vai mutācijas saglabātajos reģionos, uz ko mērķē NeuMoDx HCV Quant Assay, var ietekmēt noteikšanu, vai var iegūt kļūdainu rezultātu, izmantojot NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. NeuMoDx HCV Quant Assay iegūtie rezultāti jāizmanto kā papildinājums klīniskajiem novērojumiem un citai ārstam pieejamajai informācijai; tests nav paredzēts infekcijas diagnosticēšanai.
20. Lai novērstu piesārņojumu, ieteicams ievērot labu laboratoriju praksi, tostarp pēc darba ar katra pacienta parauga materiāliem mainīt cimdus.

REZULTĀTU APSTRĀDE

Pieejamos rezultātus var apskatīt vai izdrukāt cilnē "Results" (Rezultāti), kas atrodama NeuMoDx System skārienekrāna logā Results (Rezultāti). NeuMoDx HCV Quant Assay rezultātus automātiski ģenerē NeuMoDx System programmatūra, izmantojot lēmuma algoritmu un rezultātu apstrādes parametrus, kas norādīti NeuMoDx HCV Assay definīcijas failā (HCV ADF). Ziņotais rezultāts atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un parauga apstrādes kontrolmateriālam var būt šāds: Negative (Negatīvs), Positive (Pozitīvs) ar ziņotu HCV koncentrāciju, Positive (Pozitīvs) virs ULoQ, Positive (Pozitīvs) zem LLoQ, Indeterminate (Neskaidrs) (IND), Unresolved (UNR) (Neatrisināts) vai No Result (Nav rezultāta) (NR). Rezultāti tiek ziņoti, pamatojoties uz ADF lēmuma algoritmu, kas apkopots tālāk šeit: 1. tabula.

1. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay lēmuma algoritma kopsavilkums

REZULTĀTS	HCV mērķis	Paraugu apstrādes kontrolmateriāls (SPC2)	Rezultāta interpretēšana
Positive (Pozitīvs) ar ziņotu koncentrāciju	Amplified (Amplificēts) $0,9 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (550 μl darbplūsma) $1,5 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (200 μl darbplūsma)	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HCV RNS noteikts kvantitatīvās noteikšanas diapazonā
Positive (Pozitīvs), virs ULoQ	Amplified (Amplificēts) [HCV] $> 8,2 \log_{10} \text{ SV/ml}$	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HCV RNS noteikts virs kvantitatīvās noteikšanas diapazona
Positive (Pozitīvs), zem LLoQ	Amplified (Amplificēts) [HCV] $< 0,9 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (550 μl darbplūsma) [HCV] $< 1,5 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (200 μl darbplūsma)	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HCV RNS noteikts zem kvantitatīvās noteikšanas diapazona
Negative (Negatīvs)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	HCV RNS nav noteikts
Indeterminate (Neskaidrs)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Nav amplificēts, Konstatēta sistēmas kļūda, Parauga apstrāde pabeigta)		Visi mērķa rezultāti bija nederīgi; paraugu testēt atkārtoti†
No Result (Nav rezultāta)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Nav amplificēts, Konstatēta sistēmas kļūda, Parauga apstrāde pārtraukta)		Parauga apstrāde tika pārtraukta; paraugu testēt atkārtoti†
Unresolved (Neatrisināts)	Not Amplified, No System Error Detected (Nav amplificēts, Nav konstatētu sistēmas kļūdu)		Visi mērķa rezultāti bija nederīgi; paraugu testēt atkārtoti†

* Karodziņš No Result (Nav rezultāta) tiek ziņots tikai NeuMoDx System programmatūras versijā 1.8 un jaunākās versijās.

† NeuMoDx System ir aprīkota ar automātiskas atkārtotas apstrādes/atkārtošanas iespēju, ko galalietotājs var izvēlēties izmantot, lai IND/UNR/NR rezultāta gadījumā tests tiktu automātiski atkārtoti apstrādāts un tādējādi mazinātu rezultātu ziņošanas aizkavēšanos.

Testa aprēķini

- Paraugiem, kas atbilst NeuMoDx HCV Quant Assay kvantitatīvās noteikšanas diapazonam, HCV RNS koncentrāciju paraugos aprēķina, izmantojot saglabāto standarta līkni kopā ar kalibrācijas koeficientu un parauga materiāla tilpumu.
 - Kalibrācijas koeficientu aprēķina atbilstīgi rezultātiem, kas iegūti, apstrādājot NeuMoDx HCV Calibrators, lai noteiktu standarta līknes derīgumu konkrētai NeuMoDx HCV Quant Test Strip partijai konkrētā sistēmā NeuMoDx System.
 - Kalibrācijas koeficients ir iekļauts HCV RNS koncentrācijas galīgajā noteikšanā.
 - NeuMoDx Software, nosakot HCV RNS koncentrāciju mililitrā parauga materiāla, nosaka parauga materiāla ievades tilpumu.
- NeuMoDx HCV Quant Assay rezultāti tiek ziņoti mērvienībā $\log_{10} \text{ SV/ml}$.
- Nezināmo paraugu iegūtā kvantitatīvā noteikšana ir izsekojama atbilstoši PVO 5. HCV starptautiskajam standartam.

Testa kalibrēšana

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

Kalibratori

- NeuMoDx HCV Calibrators komplekts jāapstrādā ar katru jaunu NeuMoDx HCV Quant Test Strips partiju, ja sistēmā NeuMoDx System augšupielādē jaunu HCV Assay definīcijas failu, ja pašreizējā kalibratoru komplekta derīguma termiņš ir beidzies (pašlaik iestatīts 90 dienas) vai ja tiek modificēta NeuMoDx System programmatūra.
- NeuMoDx System programmatūra lietotāju informēs, kad būs jāapstrādā kalibratori. Jaunu testa strēmelišu partiju nevarēs izmantot testēšanai, kamēr kalibratori nebūs sekmīgi apstrādāti.

- Tālāk aprakstīts, kā tiek noteikts kalibrācijas derīgums:
 - Lai noteiktu derīgumu, jāapstrādā divu kalibratoru komplekts: viens (1) augšējās un viens (1) apakšējās vērtības kalibrators.
 - Vismaz divu (2) atkārtojumu rezultātiem no trim (3) atkārtojumiem jāatbilst iepriekšnoteiktajiem parametriem. Apakšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir $3 \log_{10} \text{SV/ml}$, un augšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir $5 \log_{10} \text{SV/ml}$.
 - Aprēķina kalibrācijas koeficientu, lai ņemtu vērā paredzamās atšķirības starp testa strēmelišu partijām. Kalibrācijas koeficientu izmanto HCV galīgās koncentrācijas noteikšanā.
- Ja viena vai abu kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga, atkārtoti apstrādājiet nesekmīgo kalibratoru, izmantojot jaunu flakonu. Ja derīguma pārbaude ir nesekmīga vienam kalibratoram, var atkārtot tikai nesekmīgā kalibratora pārbaudi, jo sistēma neprasa, lai lietotājs vēlreiz analizētu abus kalibratorus.
- Ja kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga vairākas reizes pēc kārtas, sazinieties ar NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitātes kontrole

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

Ārējie kontrolmateriāli

- Pozitīvi un negatīvi ārējie kontrolmateriāli jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx HCV Quant Assay. Ja nav derīgu ārējo kontrolmateriālu rezultātu kopas, NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu lietotājam apstrādāt kontrolmateriālus, lai varētu ziņot paraugu rezultātus.
- Ārējo kontrolmateriālu derīgumu NeuMoDx System novērtē, ņemot vērā paredzamo rezultātu. Ar pozitīvo kontrolmateriālu jāiegūst HCV pozitīvs rezultāts, un ar negatīvo kontrolmateriālu jāiegūst HCV negatīvs rezultāts.
- Tālāk aprakstīts, kā jārikojas, ja ārējo kontrolmateriālu rezultāti nav atbilstoši.
 - Pozitīvs testa rezultāts, kas ziņots negatīvam kontrolmateriāla paraugam, liecina par parauga materiāla kontaminācijas problēmu.
 - Negatīvs testa rezultāts, kas ziņots pozitīvam kontrolmateriāla paraugam, var liecināt par problēmu, kas ir saistīta ar reaģentu vai iekārtu.
 - Abos iepriekš minētajos gadījumos vai ja rezultāts ir Indeterminate (Neskaidrs) (IND) vai No Result (Nav rezultāta) (NR), NeuMoDx HCV External Controls jāapstrādā atkārtoti, izmantojot jaunus to kontrolmateriālu flakonus, kuru derīguma pārbaude bijusi nesekmīga.
 - Ja pozitīva NeuMoDx HCV External Control rezultāts aizvien ir negatīvs, sazinieties ar NeuMoDx tehnisko dienestu.
 - Ja negatīva NeuMoDx HCV External Control rezultāts aizvien ir pozitīvs, mēģiniet likvidēt visus iespējama piesārņojuma avotus, tostarp nomainiet visus reaģentus, tikai pēc tam sazinieties ar NeuMoDx tehnisko dienestu.

Paraugu apstrādes (iekšējie) kontrolmateriāli

Platē NeuMoDx Extraction Plate ir iestrādāts eksogēns paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC2), kas ir pakļauts visam nukleīnskābes ekstrakcijas un reāllaika RT-PKR amplifikācijas procesam katram paraugam. Katrā testa strēmeliņē NeuMoDx HCV Quant Test Strip ir iekļauti arī SPC2 specifiski praimeris un zonde, tādējādi daudzkārtīgas reāllaika RT-PKR ceļā ir iespējama SPC2 klātbūtnes un mērķa HCV RNS (ja tāda ir) noteikšana. SPC2 amplifikācijas noteikšanas dēļ sistēmas NeuMoDx System programmatūra var pārraudzīt RNS ekstrakcijas un RT-PKR amplifikācijas procesu efektivitāti.

Nederīgi rezultāti

Ja sistēmā NeuMoDx System veiktas analīzes NeuMoDx HCV Quant Assay iegūtais rezultāts pēc parauga apstrādes beigām nav derīgs, tas atbilstoši radušās kļūdas veidam tiek ziņots kā Indeterminate (Neskaidrs) (IND), No Result (Nav rezultāta) (NR) vai Unresolved (Neatrisināts) (UNR).

Rezultāts IND tiek ziņots, ja parauga apstrādes laikā tiek konstatēta NeuMoDx System kļūda. Ja tiek ziņots IND rezultāts, ieteicama atkārtota testēšana.

Ja netiek konstatēta HCV RNS vai SPC2 derīga amplifikācija un nav arī sistēmas kļūdu, tiek ziņots UNR rezultāts, kas liecina par iespējamu reaģenta kļūdu vai inhibitoru klātbūtni. Gadījumā, ja tiek ziņots UNR rezultāts, kā pirmā darbība ieteicama atkārtota testēšana. Ja atkārtota testēšana ir nesekmīga, jebkādas parauga inhibīcijas efektu mazināšanai var izmantot atšķaidītu parauga materiālu.

Ja sistēmā NeuMoDx System veiktas analīzes NeuMoDx HCV Quant Assay iegūtais rezultāts nav derīgs un parauga apstrāde pārtraukta pirms pabeigšanas, tas tiek ziņots kā No Result (Nav rezultāta). Gadījumā, ja tiek ziņots NR rezultāts, ieteicama atkārtota testēšana.

DARBĪBAS EFEKTIVĪTĒS RAKSTURLIELUMI

Analītiskais jutīgums – noteikšanas robeža, izmantojot PVO standartu

NeuMoDx HCV Quant Assay analītisko jutīgumu raksturoja, testējot negatīvus parauga materiālus un PVO 5. starptautiskā standarta (1. genotips) atšķaidījumu sēriju atsijātā negatīvā cilvēka plazmā un serumā, lai noteiktu noteikšanas robežu (Limit of Detection, LoD) sistēmās NeuMoDx Systems. LoD definēja kā zemāko noteikto mērķa līmeni ar rādītāju 95%, nosakot ar probita analīzi. Pētījumu veica 3 dienas ar vairākām sistēmām un vairākām NeuMoDx reaģentu partijām. Ar katru sistēmu (N288 un N96) dienā apstrādāja 18 atkārtojumus katrā atšķaidījuma līmenī. Noteikšanas rādītāji ir norādīti šeit: 2. tabula. Lai noteiktu NeuMoDx HCV Quant Assay LoD, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, veica papildu pētījumu, kura rezultāti ir parādīti šeit: 3. tabula.

2. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay LoD pozitīvi noteikšanas rādītāji – 550 µl darbplūsma

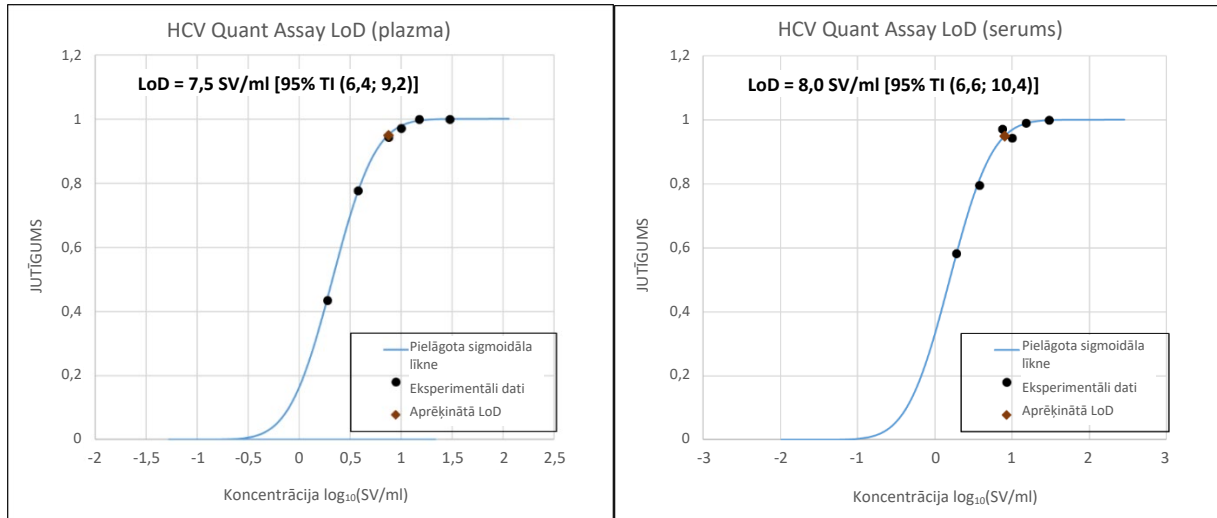
Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [\log_{10} SV/ml]	PLAZMA			SERUMS		
		Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs	Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
30	1,48	108	108	100%	108	108	100%
15	1,18	108	108	100%	108	107	99%
10	1,00	108	105	97%	108	102	94%
7,5	0,88	108	102	94%	108	105	97%
3,75	0,57	108	84	78%	108	86	80%
1,875	0,27	108	47	44%	108	63	58%
NEG.	0	108	0	0%	107	1	0,93%

3. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay LoD pozitīvi noteikšanas rādītāji – 200 µl darbplūsma

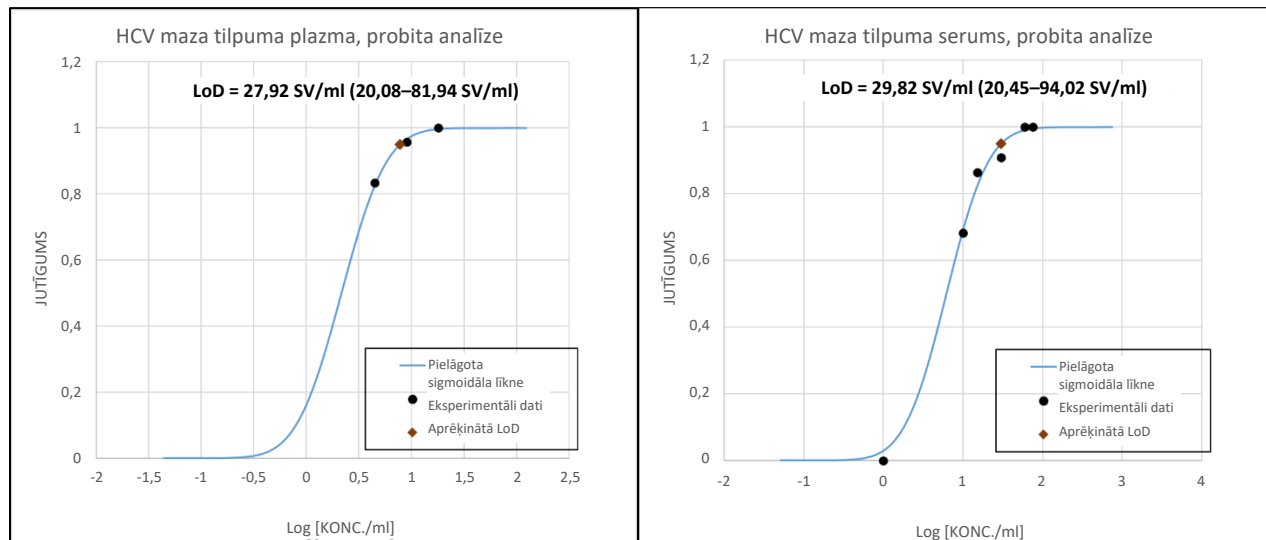
Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [\log_{10} SV/ml]	PLAZMA			SERUMS		
		Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs	Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
75	1,88	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	22	22	100%
60	1,78	22	22	100%	22	22	100%
30	1,48	22	21	95,5%	22	20	90,9%
15	1,18	22	17	77,3%	22	19	86,4%
10	1,00	22	13	59,1%	22	15	68,2%
NEG.	0	22	0	0%	22	0	0%

NeuMoDx HCV Quant Assay noteiktā LoD plazmā visiem genotipiem bija 7,5 SV/ml (95% TI no 6,4 līdz 9,2 SV/ml) [(0,9 \log_{10} SV/ml) (95% TI no 0,8 līdz 1,0 \log_{10} SV/ml)], testējot sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu (2. attēls). NeuMoDx HCV Quant Assay noteiktā LoD seruma parauga materiāliem bija 8,0 SV/ml (95% TI no 6,6 līdz 10,4 SV/ml) [(0,9 \log_{10} SV/ml) (95% TI 0,8–1,0 \log_{10} SV/ml)], izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu (2. attēls); LoD abu veidu parauga materiāliem, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, ir **8,0 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml)**.

NeuMoDx HCV Quant Assay konstatētā LoD, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, bija 27,9 SV/ml (95% TI 20,1–81,9) plazmas parauga materiāliem un 29,8 SV/ml (95% TI 20,5–94,0) seruma parauga materiāliem (3. attēls); LoD abu veidu parauga materiāliem, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, ir **30,0 SV/ml (1,5 \log_{10} SV/ml)**.



2. attēls. Probīta analīze, kas izmantota NeuMoDx HCV Quant Assay LoD noteikšanai, plazma (pa kreisi) un serums (pa labi) – 550 µl darblūsma



3. attēls. Probīta analīze, kas izmantota NeuMoDx HCV Quant Assay LoD noteikšanai, plazma (pa kreisi) un serums (pa labi) – 200 µl darblūsma

Anālītiskais jutīgums – kvantitatīvās noteikšanas robeža – kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ), izmantojot PVO standartu

Kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ) ir definēta kā zemākais mērķa līmenis, kādā sasniedz >95% noteikšanu, UN SAK ≤1,0. Lai noteiktu LLOQ, aprēķināja summāro analīzes kļūdu (SAK) katram HCV mērķa līmenim, kam ziņotā noteikšana bija >95%, aprēķinot LoD. SAK ir definēta šādi:

$$\text{SAK} = \text{novirze} + 2 \cdot \text{SN} \text{ [Westgard statistika]}$$

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

Apkopotie rezultāti, kas iegūti LLOQ pētījumā testēto HCV plazmas un seruma parauga materiālu 6 līmeņiem, izmantojot 1. genotipu un 550 µl parauga materiāla tilpuma darblūsma, ir parādīti šeit: 4. tabula. Papildu testēšanas rezultāti, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darblūsma, ir parādīti šeit: 5. tabula.

4. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ ar novirzi un SAK – 550 µl darbplūsmā

Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [\log_{10} SV/ml]	Plazma					Serums				
		Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK	Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK
30,00	1,48	1,41	100	0,32	0,07	0,71	1,39	100	0,30	0,08	0,69
15,00	1,18	1,24	100	0,36	0,06	0,79	1,23	99	0,32	0,06	0,70
10,00	1,00	1,07	97	0,35	0,07	0,77	1,14	94	0,36	0,14	0,85
7,50	0,88	1,01	94	0,44	0,13	1,02	1,12	97	0,25	0,25	1,09
3,75	0,57	1,08	78	0,43	0,51	1,38	1,17	80	0,58	0,59	1,76
1,88	0,27	1,11	44	0,36	0,83	1,55	1,11	58	0,69	0,84	2,22

5. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ ar novirzi un SAK – 200 µl darbplūsmā

Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [\log_{10} SV/ml]	Plazma					Serums				
		Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK	Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK
75	1,88	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	N/A (Nav attiecināms)	1,56	100	0,23	0,32	0,78
60	1,78	1,93	100	0,39	0,15	0,93	1,56	100	0,27	0,22	0,76
30	1,48	1,35	96	0,44	0,11	0,99	1,45	91	0,41	0,03	0,85
15	1,18	1,37	77	0,42	0,18	1,03	1,36	86	0,53	0,18	1,25
10	1,00	1,26	59	0,56	0,25	1,36	1,15	68	0,53	0,15	1,21

LLoQ analīzei NeuMoDx HCV Quant Assay ir 7,7 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml) plazmai un 8,4 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml) serumam, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu; LLoQ gan plazmai, gan serumam ir **8,4 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml)**, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu.

NeuMoDx HCV Quant Assay noteiktā LLoQ, izmantojot PVO standartu, ir 30,0 SV/ml (1,5 \log_{10} SV/ml) plazmai un 29,8 SV/ml (1,37 \log_{10} SV/ml) serumam, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu; noteiktā LLoQ gan plazmai, gan serumam ir **30,0 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml)**, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu.

Analītiskais jutīgums – LoD un LLoQ dažādiem HCV genotipiem

Sākumā LoD noteica 1. genotipam (PVO 5. starptautiskais standarts), pēc tam ap noteikto LoD veica papildu testus, izmantojot visus pārējos 5 genotipus. Trīsdesmit sešus (36) atkārtojumus līmeņos, kas atbilst 2X, 1X un 0,5X 95% TI LoD augšējai robežai, testēja ar 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, izmantojot NeuMoDx HCV Quant Assay un plazmu. Katra genotipa pozitīvos rādītājus (procentos) katrā testētajā līmenī sakārtoja tabulā un izmantoja LoD aprēķināšanai, izmantojot probita analīzi.

Šajos testētajos līmeņos aprēķināja arī summāro analīzes kļūdu. Par genotipa LLoQ uzskatīja zemāko līmeni ar 95% pozitīvu noteikšanu un aprēķināto SAK $\leq 1,0$. Šie rezultāti apstiprina, ka NeuMoDx HCV Quant Assay noteikšanas efektivitāte ir teicama un līdzvērtīga visiem sešiem genotipiem, diapazons ir 4,5–7,5 SV/ml, ieskaitot rezultātus, kas iegūti ar PVO 5. starptautisko standartu (1. genotips). Kopumā NeuMoDx HCV Quant Assay noteiktā LoD visiem genotipiem ir 7,5 SV/ml (0,88 \log_{10} SV/ml), un noteiktā LLoQ ir augstākā vērtība, proti, 7,7 SV/ml (0,9 \log_{10} SV/ml), kas ziņota PVO 5. starptautiskajam standartam (1. genotips, iepriekš). Šeit: 6. tabula parādīti LoD un LLoQ rezultāti, kas iegūti, testējot visus HCV genotipus un izmantojot plazmu.

6. tabula. Plazmā testētie HCV genotipi, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu

GENOTIPS	LoD [SV/ml]	LLoQ [SV/ml]
1	7,5	7,7
2	4,5	5,2
3	7,5	7,5
4	6,0	6,0
5	4,8	5,5
6	4,5	6,7

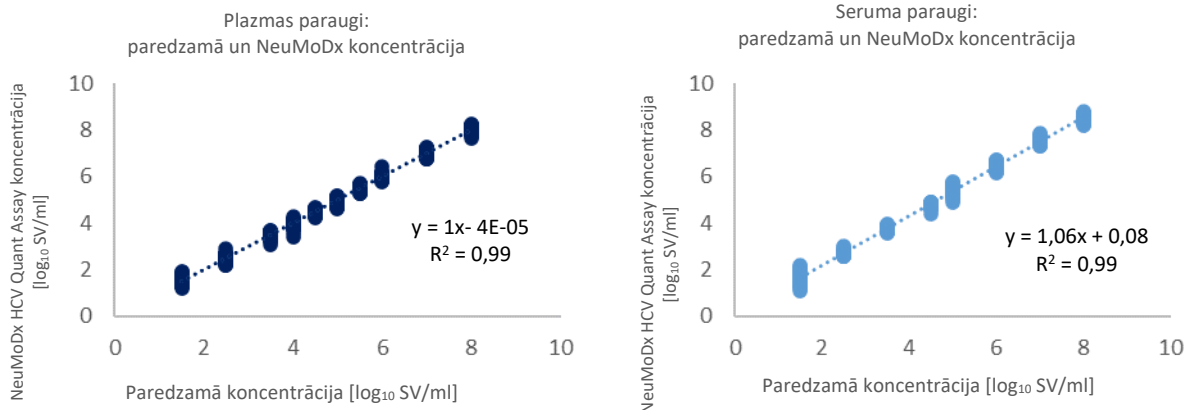
Pamatojoties uz iepriekš minēto pētījumu iznākumu, NeuMoDx apstiprina, ka NeuMoDx HCV Quant Assay LoD ir **8,0 SV/ml (0,9 log₁₀ SV/ml)** un LLoQ ir **8,4 SV/ml (0,9 log₁₀ SV/ml) plazmā un serumā**, izmantojot 550 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu.

NeuMoDx HCV Quant Assay LoD un LLoQ abu veidu parauga materiāliem (*plazmai un serumam*), izmantojot 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, ir **30,0 SV/ml (1,5 log₁₀ SV/ml)**.

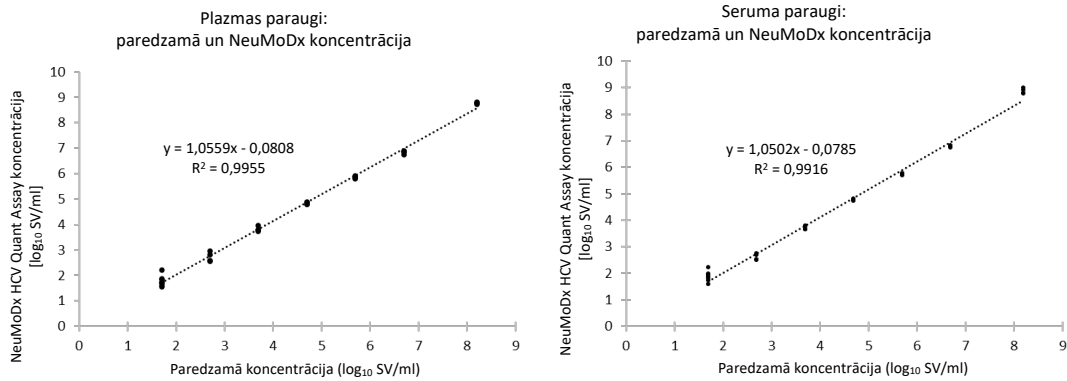
Anālītiskais jutīgums – linearitāte un kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (ULOQ) noteikšana

NeuMoDx HCV Quant Assay linearitāti un kvantitatīvās noteikšanas augšējo robežu (ULOQ) noteica plazmā, atšķaidījumu sērijas sagatavošanai izmantojot HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) un AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) ar noteiktu izsekojamību atbilstoši PVO 5. starptautiskajam standartam. HCV negatīvas plazmas kopparaugā sagatavoja 11 elementu paneli, radot paneli, kas aptvertu koncentrāciju diapazonu 8,2–1,5 log₁₀ SV/ml. NeuMoDx HCV Quant Assay parādīja spēju noteikt HCV daudzumu 8 log₁₀ lineārajā diapazonā ar precizitāti ±0,3 log₁₀ SV/ml, pamatojoties uz standartkļūdu, kas aprēķināta ar 95% ticamības intervālu. Izmantojot 2. un 3. kārtas regresijas pielāgojumus, nozīmīga ieguvuma nebija. Noteiktā ULOQ plazmā bija 8,2 log₁₀ SV/ml. Pēc tam veica pētījumu, lai pierādītu matricēs līdzvērtīgumu, un analizē salīdzināja NeuMoDx HCV kvantitatīvos rezultātus plazmā un serumā sagatavotiem paraugiem, izmantojot divus dažādus regresijas pielāgojuma modeļus, tostarp MS Excel regresijas rīku un Passinga-Babloka regresiju. Rezultāti uzrādīja spēcīgu korelāciju, par ko liecināja ļoti tuvas virziena koeficienta un regresijas konstantes vērtības: attiecīgi 1,00 un 0,00, un R² vērtība bija 0,99 (MS Excel regresijas rīks) vai p vērtība bija 0,600 (Passinga-Babloka regresija). NeuMoDx System ziņotās HCV analīzes koncentrācijas, salīdzinot ar paredzamajām vērtībām, ir parādītas šeit: 4. attēls.

Pēc tam linearitāti un ULOQ novērtēja ar 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu. NeuMoDx Software ziņoto koncentrāciju līdzvērtīgumu salīdzināja gan 200 μl, gan 550 μl darbplūsmai. Deminga un Passinga-Babloka regresijas analizē iegūtie dati uzrādīja teicamu korelāciju, ziņoto koncentrāciju virziena koeficientu tuvu 1 un minimālas regresijas konstantes (novirzes) gan plazmas, gan seruma paraugiem visā lineārajā diapazonā. Ziņotās koncentrācijas 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmai un vidējās ziņotās koncentrācijas 200 μl un 550 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmām salīdzinājums pēc Blenda (Bland) un Altmena (Altman) metodes uzrādīja minimālu novirzi, piešķirot precizitāti algoritmam, ko izmantoja rezultātu ģenerēšanai no 200 μl darbplūsmas. Turklāt vienkāršā lineārā regresijā, paredzamo koncentrāciju salīdzinot ar ziņoto koncentrāciju 200 μl darbplūsmai, virziena koeficients bija tuvu 1, kas pierāda teicamu korelāciju (5. attēls). Kopumā šie salīdzinājumi pierāda, ka HCV kvantitatīvā noteikšana NeuMoDx HCV Quant Assay visā lineārajā diapazonā, izmantojot 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, ir precīza.



4. attēls. NeuMoDx HCV Quant Assay lineārais diapazons, plazma (pa kreisi) un serums (pa labi) – 550 μl darbplūsma



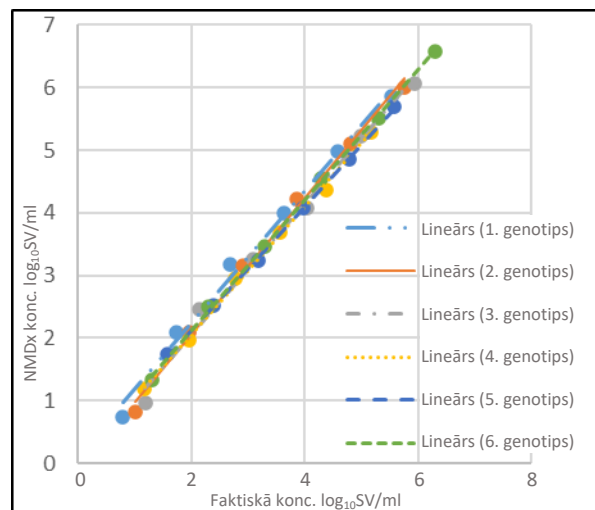
5. attēls. NeuMoDx HCV Quant Assay lineārais diapazons, plazma (pa kreisi) un serums (pa labi) – 200 µl darblūšma

Analītiskais jutīgums – linearitāte dažādiem genotipiem

NeuMoDx HCV Quant Assay linearitāti sešiem HCV genotipiem raksturoja, testējot vismaz četras (4) dažādas katra HCV genotipa koncentrācijas, ko sagatavoja HCV negatīvas plazmas kopparaugā. Šajā pētījumā testētie HCV mērķa līmeņi bija atkarīgi no avota parauga materiāla koncentrācijas, tāpēc dažādiem genotipiem tās atšķirās. Pētījumu veica ar katru genotipu, izmantojot 6 atkārtojumus katrā līmenī. Linearitāte sešiem HCV genotipiem ir parādīta šeit: 7. tabula un 6. attēls.

7. tabula. NeuMoDx HCV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

Genotips	Linearitātes vienādojums $y = \text{NeuMoDx HCV Assay kvantitatīvā noteikšana}$ $x = \text{paredzamā kvantitatīvā noteikšana}$	R^2
1	$y = 1,054x + 0,1325$	0,979
2	$y = 1,0792x - 0,0748$	0,985
3	$y = 1,0423x - 0,0439$	0,981
4	$y = 1,0158x + 0,0292$	0,973
5	$y = 0,9873x + 0,1524$	0,994
6	$y = 1,0393x + 0,0396$	0,997



6. attēls. NeuMoDx HCV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

Analītiskais specifiskums – krusteniskā reaģētspēja

Analītisko specifiskumu pierādīja, atslējot 33 organismus, kas parasti ir sastopami asins/plazmas parauga materiālos, kā arī HCV filoģenētiski līdzīgas sugas, lai noteiktu krustenisko reaģētspēju. Organismus sagatavoja kopparaugos pa 4–6 organismiem un testēja augstā koncentrācijā. Testētie organismi ir norādīti šeit: *8. tabula*. Nevienam testētajam organismam nenovēroja krustenisko reaģētspēju, kas apstiprina NeuMoDx HCV Quant Assay 100% analītisko specifiskumu.

8. tabula. Patogēni, kurus izmantoja analītiskā specifiskuma pierādīšanai

Organismi, kas nav mērķa						
Adenovīruss 2	Denges drudzis V1	A hepatīts	Cilvēka imūndeficīta vīruss 2	Cilvēka T-limfotropiskais vīruss 1	Propionibacterium acnes	Rietumnilas vīruss
Adenovīruss 5	Denges drudzis V2	B hepatīts	Cilvēka papilomas vīruss 16	Cilvēka T-limfotropiskais vīruss 2	Masaliņas	Dzeltenais drudzis
Candida albicans	Denges drudzis V3	Herpes simplex vīruss (HSV) 1	Cilvēka papilomas vīruss 18	A tipa gripa	Sentluisas encefalīts	Zikas vīruss
Chlamydia trachomatis	Denges drudzis V4	Herpes simplex vīruss (HSV) 2	Cilvēka herpesvīruss 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Citomegalovīruss	Epšteina-Barra vīruss	Cilvēka imūndeficīta vīruss 1	Cilvēka herpesvīruss 8	Parvovīruss B19	Staphylococcus epidermidis	

Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, komensāli organismi

NeuMoDx HCV Quant Assay novērtēja, lai noteiktu interferenci ne mērķa organismu klātbūtnē, izmantojot tos pašus organismu kopparaugus, ko sagatavoja krusteniskās reaģētspējas testēšanai un kas ir norādīti iepriekš šeit: *8. tabula*. Negatīvai HCV plazmai pievienoja organismus, ko apkopoja grupās pa 4–6, kā arī HCV pozitīvu kontrolmateriālu koncentrācijā $1,4 \log_{10} \text{SV/ml}$. Šo komensālo organismu klātbūtnē nenovēroja nozīmīgu interferenci, par ko liecina kvantitatīvās noteikšanas minimāla novirze no kontrolmateriālu parauga materiāliem, kas nesaturēja nevienu traucējošu vielu.

Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, endogēnās un eksogēnās vielas

NeuMoDx HCV Quant Assay novērtēja tādu tipisku eksogēno un endogēno traucējošo vielu klātbūtnē, ko konstatē HCV klīniskajos plazmas parauga materiālos. Šīs vielas ietvēra neparasti augstus asins komponentu līmeņus, kā arī parastas pretvīrusu zāles, kuras klasificētas šeit: *9. tabula*. Katru vielu pievienoja atslēgtai HCV negatīvai cilvēka plazmai, kam pievienotas $1,7 \log_{10} \text{SV/ml}$ HCV, un paraugus analizēja, lai noteiktu interferenci. Lai noteiktu iespējamu interferenci, testēja arī ar C hepatīta infekciju saistītu parastu slimības stāvokļa plazmu. Visu testēto vielu vidējā koncentrācija un novirze ir parādīta šeit: *10. tabula*. Neviena eksogēnā un endogēnā viela neietekmēja NeuMoDx HCV Quant Assay specifiskumu.

9. tabula. Interferences testēšana – eksogēnās vielas (zāļu klasifikācija)

	Produkts	Klasifikācija		Produkts	Klasifikācija
1. kopparaugs	Sofosbuvīrs	Tiešas iedarbības HCV pretvīrusu līdzeklis	2. kopparaugs	Paritaprevīrs	HCV NS3/4A proteāzes inhibitors
	Ledipasvīrs	HCV inhibitors		Ombitasvīrs	HCV pretvīrusu līdzeklis
	Velpatasvīrs	HCV NS5A inhibitors		Ritonavīrs	HIV proteāzes inhibitors
	Klaritromicīns	Antibiotika		Abakavīra sulfāts	Reversās transkriptāzes inhibitors
	Alfa-2a interferons	Imūnmodulators		Ribavīrīns	Imūnmodulators
3. kopparaugs	Grazoprevīrs	HCV NS3/4A proteāzes inhibitors	4. kopparaugs	Efavirens	Reversās transkriptāzes inhibitors
	Elbasvīrs	HCV NS5A inhibitors		Lopinavīrs	Proteāzes inhibitors
	Tenofovīra disoproksils	HBV/HIV pretvīrusu līdzeklis		Azitromicīns	Antibiotika
	Lamivudīns	HBV/HIV pretvīrusu līdzeklis		Dolutegravīrs	HIV pretvīrusu līdzeklis
	Valganciklovīrs	CMV pretvīrusu līdzeklis		Simeprevīrs	HCV NS3/4A proteāzes inhibitors
5. kopparaugs	Emtricitabīns	HIV pretvīrusu līdzeklis			
	Raltegravīrs	HIV pretvīrusu līdzeklis			
	Amoksicilīns	Antibiotika			
	Rilpivirīns	HIV pretvīrusu līdzeklis			
	Dasabuvīrs	HCV tiešas iedarbības pretvīrusu līdzeklis			
	Glekaprevīrs	HCV NS3/4A proteāzes inhibitors			

10. tabula. Interferences testēšana – eksogēnās un endogēnās vielas

Endogēnā	Vidējā konc. log ₁₀ SV/ml	Novirze log ₁₀ SV/ml
Hemoglobīns	1,61	0,28
Triglicerīdi	1,31	-0,02
Bilirubīns	1,47	0,14
Albumīns	1,47	0,14
Eksogēnā (zāles)	Vidējā konc. log ₁₀ SV/ml	Novirze log ₁₀ SV/ml
1. kopparaugs: zidovudīns (ZDV), sahinavīrs, ritonavīrs, klaritromicīns, alfa-2a interferons, alfa-2b interferons	1,48	0,15
2. kopparaugs: abakavīra sulfāts, amprenavīrs, ribavīrīns, entekavīrs, fluoksetīns, valaciklovīra hidrohlorīds	1,40	0,07
3. kopparaugs: tenofovīra disoproksils, lamivudīns, ganciklovīrs, valganciklovīrs, nevirapīns	1,40	0,07
4. kopparaugs: efavirens, lopinavīrs, enfuvirtīds, ciprofloksacīns, paroksetīns	1,51	0,18
5. kopparaugs: adefovīrs (dipivoksīls), azitromicīns, indinavīra sulfāts, sertralīns	1,40	0,07
Slimības stāvoklis	Vidējā konc. log ₁₀ SV/ml	Novirze log ₁₀ SV/ml
Antinukleārās antivielas (ANA)	1,53	0,18
Sistēmiska sarkanā vilkēde (SSV)	1,29	-0,06
Reimatoīdais artrīts	1,39	0,04
HBV antivielas	1,45	0,10
Alkohola ciroze	1,43	0,08
Reimatoīdais faktors	1,43	0,08
Alkohola neizraisīts steatohepatīts (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)	1,32	-0,03

Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte

NeuMoDx HCV Quant Assay precizitāti noteica, HCV parauga materiālu 7 elementu paneli (iekļauts gan HCV Armored RNA gan AcroMetrix HCV Control) testējot trijās NeuMoDx Systems 12 dienas. Tika raksturota vienas testēšanas reizes, vienas dienas un vienas sistēmas precizitāte, un noteiktā vispārējā standartnovirze bija $\leq 0,26 \log_{10} \text{ SV/ml}$. Dažādās sistēmās, dienās vai testēšanas reizēs darbības efektivitātes nozīmīgas atšķirības nekonstatēja, kā parādīts šeit: 11. tabula. Precizitāte starp operatoriem netika raksturota, jo operatora darbības paraugu apstrādē, izmantojot NeuMoDx System, nav nozīmīgas.

11. tabula. Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte – NeuMoDx HCV Quant Assay sistēmās NeuMoDx Systems

	Mērķa konc. [log ₁₀ SV/ml]	Vid. konc. [log ₁₀ SV/ml]	Vienas sistēmas SN	Vienas dienas SN	Vienas izpildes SN	Vienas laboratorijas (vispārējā) SN
ARMORED	6	5,95	0,17	0,13	0,10	0,17
	5	4,87	0,20	0,14	0,12	0,20
	3	2,89	0,19	0,17	0,17	0,19
ACROMETRIX	4,4	4,45	0,12	0,10	0,08	0,13
	3,4	3,45	0,12	0,12	0,11	0,13
	2,4	2,41	0,17	0,15	0,15	0,17
	1,4	1,40	0,26	0,25	0,25	0,24

Reproducējamība ar dažādām partijām

NeuMoDx HCV Quant Assay reproducējamību ar dažādām partijām noteica, izmantojot trīs dažādas galveno reaģentu partijas: NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates un NeuMoDx HCV Quant Test Strips. Darbības efektivitāti novērtēja ar HCV 7 elementu paneli (iekļauts gan HCV Armored RNA gan AcroMetrix HCV Control). Testēšanā izmantoja trīs reaģentu partijas trijās sistēmās 6 dienas. Analizēja vienas partijas un dažādu partiju atšķirības, un rezultāti ir parādīti šeit: 12. tabula. Maksimālā vispārējā novirze bija $0,24 \log_{10} \text{ SV/ml}$, un maksimālā vispārējā SN bija $0,33 \log_{10} \text{ SV/ml}$. Darbības efektivitātes nozīmīgas atšķirības starp dažādām partijām nekonstatēja, jo visu paneļa elementu kvantitatīvā noteikšana atbilda pielaišanas specifikācijai.

12. tabula. Reproducējamība ar dažādām partijām – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Mērķa konc. [log ₁₀ SV/ml]	Vidējā konc. kopā [log ₁₀ SV/ml]	n (Derīgie rezultāti partijā)	ABS NOVIRZE	Dažādu partiju SN	Vienas partijas SN	Vispārējā SN
ARMORED	6	5,76	36	0,24	0,35	0,13	0,37
	5	4,84	36	0,16	0,16	0,22	0,27
	3	2,81	36	0,19	0,31	0,16	0,35
ACROMETRIX	4,4	4,35	36	0,05	0,21	0,11	0,24
	3,4	3,31	36	0,09	0,17	0,11	0,20
	2,4	2,33	36	0,07	0,24	0,13	0,27
	1,4	1,38	36	0,02	0,23	0,13	0,33

Kontrolmateriālu efektivitāte

NeuMoDx HCV Quant Assay ietver SPC2, lai ziņotu par apstrādes darbību kļūdām vai par inhibīciju, kas ietekmē analīzes darbības efektivitāti. Efektivitāti testēja apstākļos, kas ir raksturīgi kritiski būtiskām apstrādes darbību kļūdām, kas varētu rasties paraugu apstrādes laikā un ko var nekonstatēt NeuMoDx System darbības efektivitāti pārraugošie sensori. Pozitīvus ($3 \log_{10} \text{ SV/ml}$) un negatīvus parauga materiālus pārbaudīja kontrolmateriāla klātbūtnē šādos apstākļos: inhibitora klātbūtnē, netiek pievadīts skalošanas reaģents un nenotiek skalošanas izpūšana. Apstrādes neefektivitāti, kas nelabvēlīgi ietekmēja HCV noteikšanu/kvantitatīvo noteikšanu, atspoguļoja SPC2 mērķa darbība, kā parādīts šeit: 13. tabula. Visos testēšanas gadījumos tika pierādīts, ka vai nu paraugu apstrādes kontrolmateriāls pienācīgi uzraudzīja apstrādes neefektivitāti un inhibitoru klātbūtni, vai arī paredzamās apstrādes neefektivitātes nelabvēlīgā ietekme uz SPC2 noteikšanu un uz HCV noteikšanu un kvantitatīvo noteikšanu nebija nozīmīga. Tādējādi tika pierādīts, ka SPC2 sekmīgi un efektīvi uzrauga analīzes darbības efektivitāti sistēmā NeuMoDx System.

13. tabula. Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte

Pārbaudītā apstrādes darbības kļūda	Praugu apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas statuss	HCV mērķa amplifikācijas statuss	Analīzes rezultāts
Presence of Inhibitor (Inhibitora klātbūtne)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Delivered (Nav skalošanas)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Blowout (Nenotiek skalošanas izpūšana)	Amplified (Amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	Positive (Pozitīvs) ar kontrolmateriāla kvantitatīvo noteikšanu 0,3 log ₁₀ SV/ml

Derīgo rezultātu rādītājs

Datus, kas iegūti, novērtējot NeuMoDx HCV Quant Assay darbības efektivitāti sistēmās NeuMoDx Systems, retrospektīvi analizēja, lai noteiktu derīgo rezultātu īpatsvaru. Derīgus testa rezultātus ziņo šādi: Positive (Pozitīvs) vai Negative (Negatīvs); nederīgus testa rezultātus atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un paraugu apstrādes kontrolmateriālam var ziņot šādi: Indeterminate (Neskaidrs) (IND) vai Unresolved (Neatrisināts) (UNR). IND rezultāta cēlonis parasti ir iekārtas kļūda, kas izraisa to, ka mērķis un/vai iekšējais apstrādes kontrolmateriāls neamplificē. UNR rezultātu piešķir paraugiem tad, ja neamplificē ne mērķis, ne iekšējais apstrādes kontrolmateriāls un nav konstatēta iekārtas kļūda. Retrospektīvajā analizē iekļāva 1962 atsevišķus NeuMoDx HCV Quant Assay rezultātus, un tajos ietilpa dati, kas bija iegūti seruma un plazmas parauga materiāliem ar NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Systems. Noteiktais UNR rādītājs bija 0,61% (12/1962), un noteiktais IND rādītājs bija 0,41% (8/1962); tie atbilst analīzes akceptēšanas kritērijiem. Tāpēc secināja, ka NeuMoDx HCV Quant Assay derīgo rezultātu rādītājs dažādām klīniskajām matricēm un dažādās NeuMoDx Systems ir 99,0% ar 95% TI (98,4–99,3).

Krusteniskā kontaminācija

NeuMoDx HCV Quant Assay krusteniskās kontaminācijas rādītāju noteica, pārmaiņus testējot trīs ļoti pozitīvu un negatīvu HCV parauga materiālu kopas. Pavisam testēja 144 HCV negatīva cilvēka parauga materiāla atkārtojumus un 144 augsta titra HCV parauga materiāla atkārtojumus koncentrācijā 8,2 log₁₀ SV/ml. Visu negatīvu parauga materiāla 144 atkārtojumu ziņotie rezultāti bija negatīvi, kas pierāda, ka paraugu apstrādes laikā sistēmā NeuMoDx System krusteniskā kontaminācija nenotiek.

Parauga materiālu matricēs līdzvērtīgums

Lai pierādītu parauga materiālu matricēs līdzvērtīgumu, testēja pilnasinis, kas paņemtas stobriņos gan ar etilēndiamintetraetiķskābi (EDTA), gan ar skābes-citrāta-dekstrozes šķīdumu (ACD) plazmas sagatavošanai. Lai noteiktu līdzvērtīgumu, testēja arī svaigus un sasaldētus plazmas parauga materiālus (kas paņemti abu veidu stobriņos), kā arī svaigus un sasaldētus seruma parauga materiālus. Svaigos parauga materiālus glabāja 4 °C temperatūrā, līdz tiem pievienoja HCV četrus līmeņos un testēja, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Pēc tam paraugus sasaldēja uz vismaz 24 stundām -20 °C temperatūrā. Pēc glabāšanas saldētavā parauga materiālus atkausēja un testēja vēlreiz. Svaigo un sasaldēto seruma un plazmas parauga materiālu, kā arī plazmas parauga materiālu ar EDTA un ACD rezultātus salīdzināja, izmantojot regresijas analīzi, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Dati uzrādīja plazmas parauga materiālu ar EDTA un ACD, svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu un svaigo un sasaldēto seruma parauga materiālu teicamu līdzvērtīgumu.

Lai pierādītu NeuMoDx HCV Quant Assay darbības efektivitātes līdzvērtīgumu, testēja arī parauga materiālus primārajos un sekundārajos stobriņos. Vispirms apstrādāja HCV negatīvu donoru parauga materiālu paneļus, kam pievienots HCV mērķis (AccuPlex™ Recombinant HCV Control), un HCV pozitīvu donoru parauga materiālu paneļus no primārajiem parauga materiālu stobriņiem. Pēc primāro stobriņu apstrādes katra parauga materiāla atlikušās plazmas vai seruma alikvoto daļu iepildīja sekundārajā parauga materiāla stobriņā un atkārtoti apstrādāja. Primāro un sekundāro parauga materiāla stobriņu ziņotajos apstrādes rezultātos nozīmīgas atšķirības nekonstatēja.

Klīnisko metožu salīdzinājums

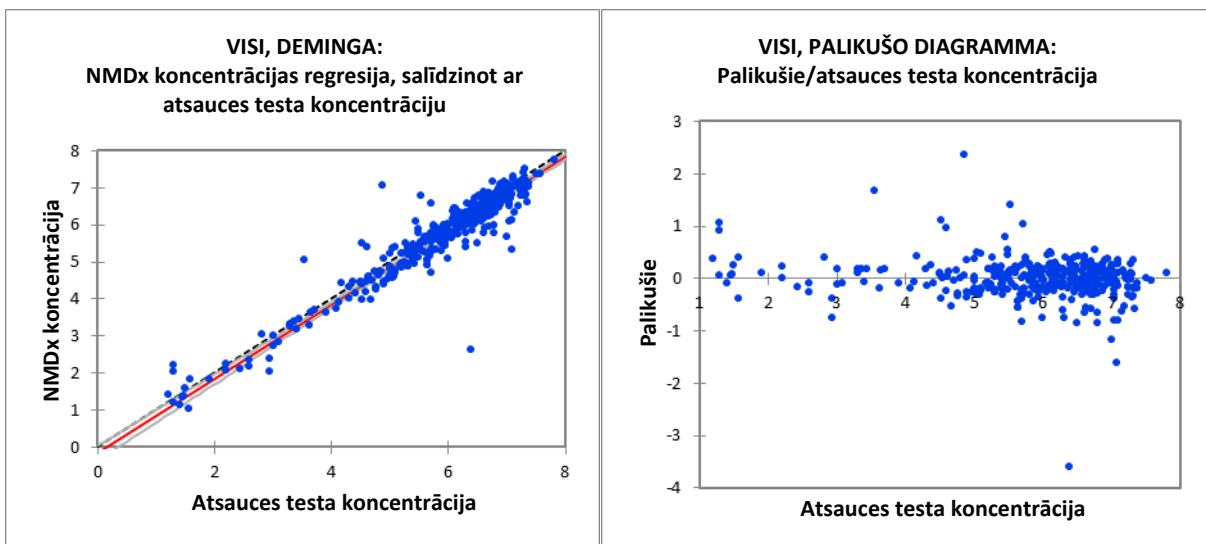
NeuMoDx HCV Quant Assay kvalitatīvo un kvantitatīvo darbības efektivitāti novērtēja, ar FDA/CE apstiprinātām salīdzinājuma analizēm testējot neatšķaidītus klīniskos parauga materiālus no pacientiem, kas inficējušies ar HCV. Testēšanu veica iekšēji uzņēmumā NeuMoDx vienkārši maskēta pētījuma veidā, izmantojot palikušos klīniskos parauga materiālus bez identificējošās informācijas, kas iegūti no sešām ārējām atsaucēs laboratorijām. Ar NeuMoDx HCV Quant Assay (vienkārši) maskētā veidā vairākās NeuMoDx Molecular Systems apstrādāja pavisam 323 plazmas parauga materiālus un 336 seruma parauga materiālus. No šiem paraugiem 35 plazmas paraugus un 13 seruma paraugus apstrādāja ABAS NeuMoDx 288 un 96 Molecular Systems. Dažus paraugus, kuru rezultāts bija INVALID (Nederīgs), nevarēja testēt atkārtoti, jo nebija pietiekami daudz parauga.

Dažādajās NeuMoDx Molecular Systems iegūtās apstrādes un sistēmas kļūdas bija minimālas un atbilda kritērijiem. Sākumā plazmas paraugiem ieguva pavisam 4 rezultātus Indeterminate (Neskaidrs) (IND), un seruma paraugiem ieguva 4 rezultātus Indeterminate (Neskaidrs) IND, tādējādi vispārējais sākotnējais IND rādītājs bija 1% (95% TI 0,5%–3%) plazmai un 1% (95% TI 0,4%–3%) serumam. Sākumā plazmas paraugiem ieguva pavisam 3 rezultātus UNRESOLVED (Neatrisināts) (UNR), un seruma paraugiem ieguva 5 rezultātus UNR, iegūstot vispārējo rādītāju 1% (95% TI 0,2%–3%) plazmai un 1% (95% TI 0,6%–4%) serumam.

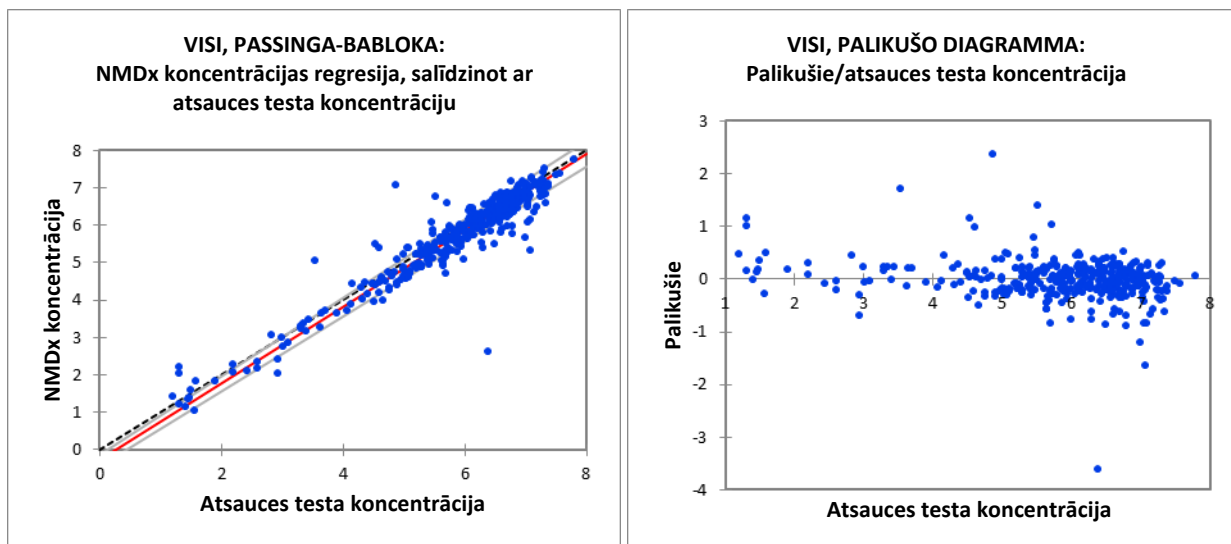
Parauga materiālus, kuru rezultāti bija nederīgi (IND/UNR) vai kam bija “kvantitatīvās noteikšanas kļūda”, testēja atkārtoti, ja bija atlicis pietiekami daudz parauga; dažus paraugus atšķaidīja, lai iegūtu derīgus rezultātus. 13 parauga materiāliem, kuru tilpums bija pietiekams atkārtotai testēšanai (atšķaidīts VAI neatšķaidīts), ieguva derīgu rezultātu.

Plazmas parauga materiāliem ieguva 321 derīgu rezultātu un seruma paraugiem ieguva 334 derīgus rezultātus, no tiem 206 plazmas paraugiem un 154 seruma paraugiem NeuMoDx HCV Quant Assay ziņotais rezultāts bija POSITIVE (Pozitīvs), atbilstošas koncentrācijas vērtības nosakot atbilstīgi atsauces testiem. Deminga regresijas un Passinga-Babloka regresijas analīzes izmantoja, lai gan plazmas, gan seruma paraugiem NeuMoDx HCV Quant Assay koncentrācijas vērtības korelētu ar atsauces testu ziņotajām vērtībām.

Lai attēlotu korelāciju starp NeuMoDx HCV Quant Assay koncentrācijām un atsauces testa koncentrācijas vērtībām visiem testētajiem paraugiem, izveidoja līdzvērtīguma diagrammas, izmantojot Deminga regresijas pielāgojumu un Passinga-Babloka pielāgojumu, kas ir parādīts šeit: **7. attēls** un **8. attēls**. Deminga regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 1,00 ar 95% TI (0,97; 1,03) un regresijas konstante (novirze) -0,16 ar 95% TI (-0,37; 0,06), kas pierāda, ka ar NeuMoDx HCV Quant Assay un atsauces testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi. Passinga-Babloka lineārās regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 1,02 ar 95% TI (0,99; 1,05) un regresijas konstante (novirze) -0,28 ar 95% TI (-0,43; -0,14), kas pierāda, ka ar NeuMoDx HCV Quant Assay un atsauces testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi, kā parādīts šeit: **14. tabula**.



7. attēls. Līdzvērtīguma (pa kreisi) un palikušo paraugu (pa labi) diagrammas – NeuMoDx HCV Quant Assay rezultātu kumulatīvā analīze (abām NeuMoDx Systems) salīdzinājumā ar atsauces testu rezultātiem VISIEM paraugiem, pamatojoties uz Deminga regresijas analīzi.



8. attēls. Līdzvērtīguma (pa kreisi) un palikušo paraugu (pa labi) diagrammas – NeuMoDx HCV Quant Assay rezultātu kumulatīvā analīze (abām NeuMoDx Systems) salīdzinājumā ar atsauces testu rezultātiem VISIEM paraugiem, pamatojoties uz Passinga-Babloka regresijas analīzi.

14. tabula. Deminga un Passinga-Babloka lineārās regresijas analīzes kopsavilkums

	Deminga analīze		Passinga-Babloka analīze	
	Regresijas konstante	Virziena koeficients	Regresijas konstante	Virziena koeficients
KUMULATĪVI (Visi plazmas + seruma paraugi)	-0,16 95% TI (-0,37; 0,06)	1,00 95% TI (0,97; 1,03)	-0,28 95% TI (-0,43; -0,14)	1,02 95% TI (0,99; 1,05)

Plazmas un seruma parauga materiāliem ar NeuMoDx HCV Quant Assay ieguva 655 derīgus rezultātus, no tiem atsauces testos 361 rezultāts bija HCV pozitīvs un 294 rezultāti bija negatīvi. NeuMoDx HCV Quant Assay jutīgumu un specifiskumu aprēķināja, izmantojot visu derīgo klīnisko paraugu datus salīdzinājumā ar atsauces testu, dati ir apkopoti un parādīti šeit: 15. tabula. No 361 testētā pozitīvā parauga 360 paraugu ziņotais rezultāts bija pozitīvs arī ar NeuMoDx HCV Quant Assay, kas pierāda 99,7% jutīgumu ar 95% TI (98,2%–100%). No 294 testētajiem negatīvajiem paraugiem 271 parauga ziņotais rezultāts bija negatīvs arī ar NeuMoDx HCV Quant Assay, kas pierāda 92,2% specifiskumu ar 95% TI (88,3%–94,9%).

NeuMoDx HCV Quant Assay līdzvērtīgumu pierādīja ļoti korelējoši analīzes darbības efektivitātes rezultāti sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System, sistēmā NeuMoDx 96 Molecular System un atsauces testā gan plazmas, gan seruma parauga materiāliem.

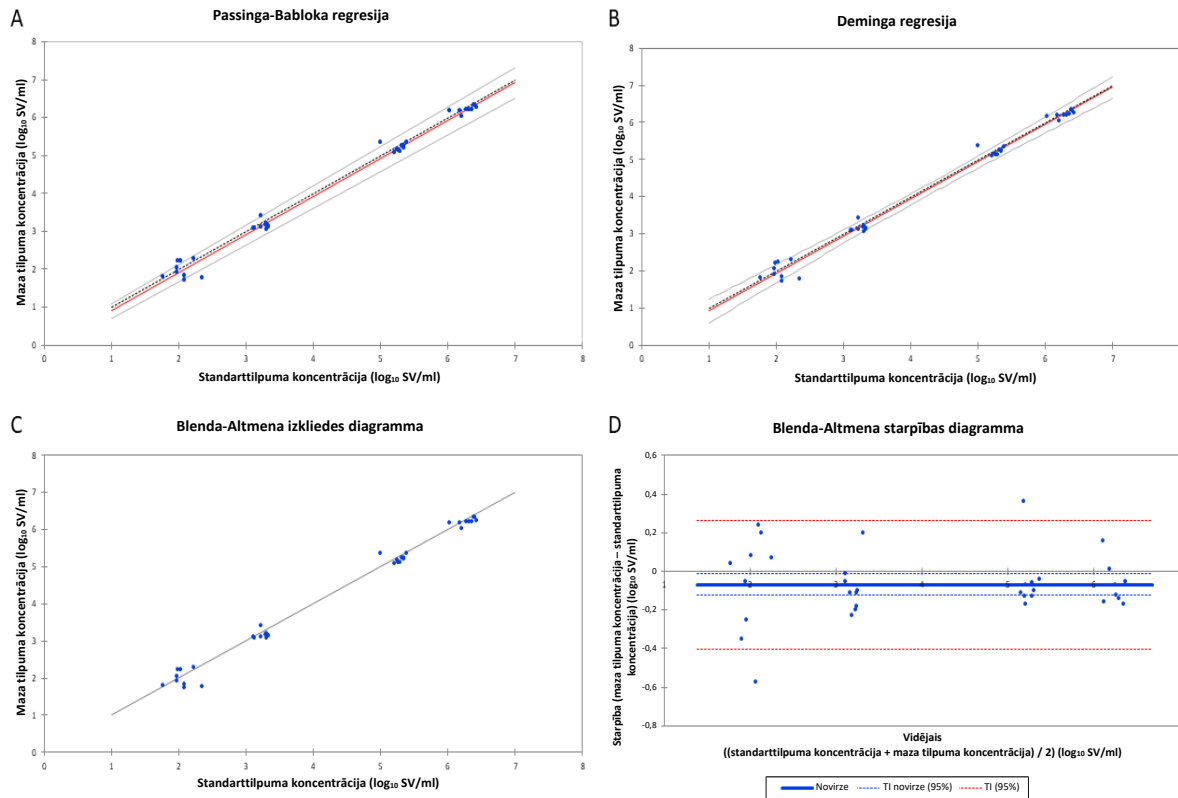
15. tabula. Kvalitatīvo metožu salīdzinājuma rezultāti analīzei NeuMoDx HCV Quant Assay salīdzinājumā ar atsauces testiem – plazma un serums

	Atsauces analīze (POS)	Atsauces analīze (NEG)	KOPĀ
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
KOPĀ	361	294	655
JUTĪGUMS = 99,7% 95% TI (98,2%–100%) *SPECIFISKUMS = 92,2% 95% TI (88,3%–94,9%)			

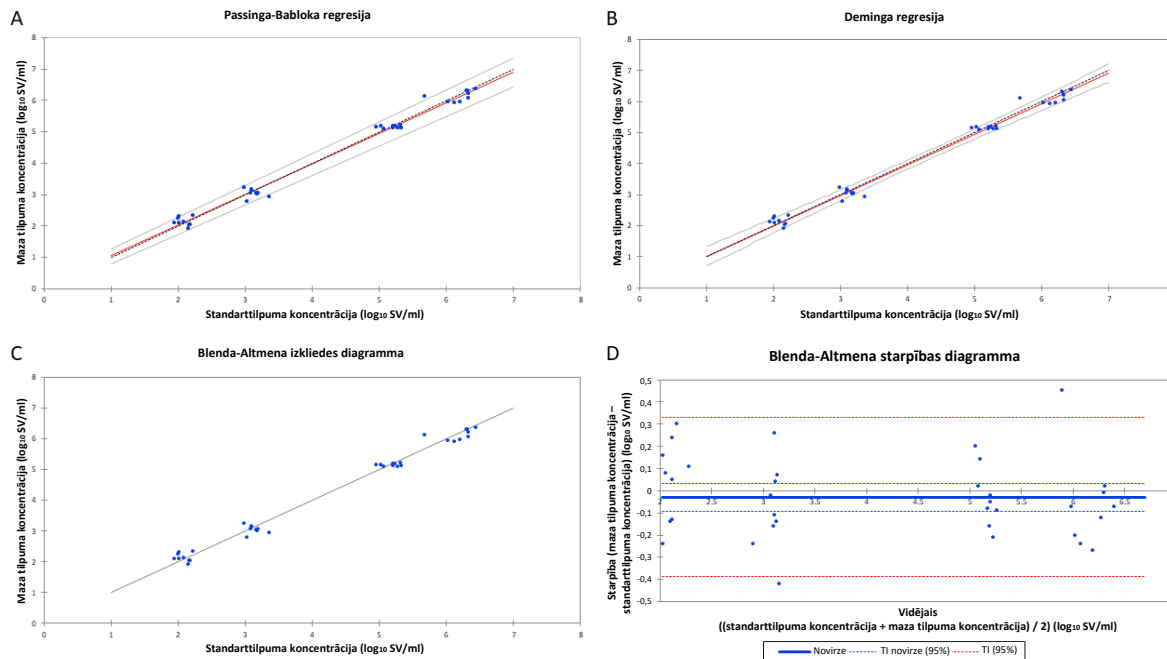
*** PIEZĪME.** NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ ir 0,9 log₁₀ SV/ml, kas ir mazāka vērtība nekā atsaucēi izmantotā salīdzinājuma analīzei. Pēc tam datus analizēja, neietverot 9 paraugus, kuros HCV noteica ar NeuMoDx, bet kuri salīdzinājuma analīzē bija negatīvi. Neietverot šos 9 paraugus, NeuMoDx HCV Quant Assay atkārtoti aprēķinātais specifiskums bija 95,1% ar 95% TI (91,7–97,2).

Īpaši izveidotu parauga materiālu testēšana – 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsma

Kvantitatīvo korelāciju starp 200 μl un 550 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmām apstiprināja, izmantojot paneli, kurā bija atsevišķi HCV negatīvi plazmas un seruma paraugi, kam pievienots Accuplex HCV kontrolmateriāls četros zināmos līmeņos un kas ir izsekojams atbilstoši PVO 5. starptautiskajam standartam HCV RNS nukleīnskābju testiem. Šos atsevišķos plazmas un seruma parauga materiālus apstrādāja ar 550 μl un 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, veicot pavisam 324 testus. NeuMoDx Software ziņoto koncentrāciju līdzvērtīgumu īpaši izveidotajam panelim 200 μl un 550 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmās salīdzināja, pamatojoties uz atsevišķu paraugu rezultātiem. Deminga un Passinga-Babloka regresijas analīzē virziena koeficients bija attiecīgi 1,003 un 1,000 ar regresijas konstantēm -0,082 un -0,085 plazmā un attiecīgi 0,974 un 0,984 ar regresijas konstantēm 0,086 un 0,037 serumā, kas pierāda, ka abām apstrādājamā tilpuma darbplūsmām HCV kvantitatīvās noteikšanas atbilstība ir teicama. Salīdzinājums pēc Blenda un Altmena metodes uzrādīja minimālu novirzi starp abām darbplūsmām. Turklāt 200 μl darbplūsmai paredzamās koncentrācijas un ziņotās koncentrācijas vienkāršās lineārās regresijas analīzēs virziena koeficients bija 1,0432, un korelācijas koeficients bija 0,994 (plazma), un attiecīgi 1,0007 un 0,993 (serums), kas papildus apliecina teicamo darbības efektivitāti, analīzei NeuMoDx HCV Quant Assay izmantojot 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu. Šo pētījumu rezultāti ir apkopoti tālāk šeit: 9. attēls un 10. attēls.



9. attēls. 200 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmas ziņoto koncentrāciju un 550 μl parauga materiāla tilpuma darbplūsmas ziņoto koncentrāciju līdzvērtīguma diagrammas salīdzinājums. A) Passinga-Babloka regresija B) Deminga regresija C) Blenda-Altmena izkliedes diagramma D) Blenda-Altmena starpības diagramma – plazmas parauga materiāli



10. attēls. 200 μ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmas ziņoto koncentrāciju un 550 μ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmas ziņoto koncentrāciju līdzvērtīguma diagrammas salīdzinājums. A) Passing-Bablok regresija B) Deminga regresija C) Blenda-Altmena izkļiedes diagramma D) Blenda-Altmena starpības diagramma – seruma parauga materiāli

ATSAUCES

1. Rachel H. Westbrook, Geoffrey Dusheiko. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology Update: Hepatitis C*, Volume 61, Issue 1, Supplement, November 2014, Pgs S58-S68.
2. Annual Epidemiological Report for 2016, Hepatitis C, European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. (<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>)
3. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.
4. Surveillance for Viral Hepatitis – United States, 2016, CDC. <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/index.htm>
5. Diagnosis and management of hepatitis C virus-infected children. Javeri R. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2011;30(11):983 – 985.
6. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) and Infectious Disease Society of America (IDSA), HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C, Sept 21, 2017. (www.hcvguidelines.org)
7. Centers for Disease Control (CDC), Testing for HCV Infection: An Update of Guidance for Clinicians and Laboratorians Recommendations and Reports MMWR / Vol. 62 / May 7, 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014


PREČU ZĪMES


NeuMoDx™ un NeuDry™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīmes.
 AcroMetrix™ ir Thermo Fisher Scientific preču zīme.
 Armored RNA® ir Asuragen, Inc. reģistrēta preču zīme.
 BD Vacutainer® ir Becton, Dickinson and Company reģistrēta preču zīme.
 BD, PPT™ un SST™ ir Becton, Dickinson and Company preču zīmes.
 TaqMan® ir Roche Molecular Systems, Inc. reģistrēta preču zīme.


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


SIMBOLU SKAIDROJUMS


R only Lietošanai tikai ar recepti


 Ražotājs


 Medicīniska ierīce *in vitro* diagnostikai

 Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā


 Kataloga numurs


 Partijas kods


 Derīguma termiņš


 Temperatūras robežvērtība


 Nelietot atkārtoti

 Satur pietiekami daudz materiāla <n> testiem

 Skatīt lietošanas instrukciju

 Uzmanību!

 Bioloģiskie riski

 CE zīme



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

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



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



Tehniskais atbalsts/uzraudzības ziņojumiem: support@qiagen.com

Patents: www.neumodx.com/patents