

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

UZMANĪBU! Tikai ASV eksportam

IVD Lietošanai *in vitro* diagnostikā sistēmās NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems

leliktna atjauninājums 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 CMV Quant Assay ir automatizēts *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests citomegalovīrusa (CMV) DNS kvantitatīvai noteikšanai cilvēka plazmas parauga materiālos, lai cilvēkiem, kas inficējušies ar CMV, noteiktu CMV genotipus no gB1 līdz gB4. NeuMoDx CMV Quant Assay, ar ko veic testēšanu sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(-s)), ietver automatizētu DNS ekstrahēšanu, lai no parauga materiāla izolētu mērķa nukleīnskābi, un reāllaika polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), lai mērķētu uz ļoti labi saglabātajām sekvencēm citomegalovīrusa genomā.

NeuMoDx CMV Quant Assay ir paredzēts citomegalovīrusa (CMV) DNS kvantitatīvai noteikšanai *in vitro* svaigos un sasaldētos cilvēka plazmas parauga materiālos, izmantojot NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems. Šo analīzi kopā ar klīnisko ainu un citiem slimības gaitas laboratoriskajiem marķieriem paredzēts izmantot CMV infekcijas klīniskajā ārstēšanā un kontrolē. Analīzi nav paredzēts izmantot kā skrīninga testu, lai noteiktu CMV klātbūtni asinīs vai asins preparātos.

KOPSAVILKUMS UN SKAIDROJUMS

Cilvēka pilnasinis, kas paņemtas sterilos asins paņemšanas stobriņos, kuros kā pretsarecēšanas līdzekļi ir EDTA vai ACD, var izmantot plazmas sagatavošanai. Lai sagatavotos testēšanai un sāktu apstrādi, plazmu parauga materiāla stobriņā, kas sader ar NeuMoDx System, ievieto sistēmā NeuMoDx System, izmantojot tam īpaši paredzētu parauga materiālu stobriņu turētāju. Katra plazmas parauga materiāla 550 µl alikvoto daļu sajauc ar NeuMoDx Lysis Buffer 1, un NeuMoDx System automātiski veic visas darbības, kas nepieciešamas, lai ekstrahētu mērķa nukleīnskābi, sagatavotu izolēto DNS reāllaika PĶR amplifikācijai un amplificētu un noteiktu amplifikācijas produktus, ja tādi ir (CMV genoma mērķa daļas ļoti labi saglabātajos reģionos). NeuMoDx CMV Quant Assay ietver DNS paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai palīdzētu uzraudzīt iespējamu inhibitoru klātbūtni, kā arī NeuMoDx System vai reaģentu kļūdas, kas var rasties ekstrahēšanas un amplifikācijas procesa laikā.

CMV ir izplatīts cilvēka herpesvīrusu dzimtas divpavedienu DNS vīruss, kas inficē visu vecumu cilvēkus. Novērtēts, ka līdz 40 gadu vecumam vairāk nekā puse populācijas būs inficējušies ar CMV.¹ CMV izplatās ar ķermeņa šķidrumiem, piemēram, siekalām, urīnu, asinīm, asarām, spermam un mātes pienu. Imūnkompetenti cilvēkiem, kas ir inficējušies ar CMV, parasti nav simptomu, taču mazuliem un cilvēkiem ar novājinātu imūnsistēmu inficēšanās ar šo vīrusu var būt smaga. Grūtnieces var nodot CMV saviem vēl nedzimušajiem bērniem un izraisīt iedzimtu CMV, kā rezultāts var būt dzirdes zudums un citi attīstības un motorikas aizkavēšanās traucējumi. CMV ir nozīmīgs patogēns pacientiem ar imūndeficītu, tostarp parenhimatozo orgānu transplantāta saņēmējiem, asinsrades šūnu transplantāta saņēmējiem, pacientiem, kas ir inficējušies ar HIV, un pacientiem, kas ārstējas ar imūnmodulatoriem.² CMV vīrusa slodzi kontrolē galvenokārt šīm populācijām ar imūndeficītu, kam tas izraisa daudzas slimības, tostarp plaušu karsoni, kuņģa-zarnu trakta slimību, hepatītu un encefalītu, kā arī palielina orgāna atgrūšanas un citu oportūnistisku infekciju iespējamību.

CMV infekcijas diagnosticēšanas pamatā nav tikai nukleīnskābju tests (nucleic acid testing, NAT); NAT izmanto papildus antigēnu testēšanai, kas ietver segmentkodolaino leikocītu (polymorphonuclear leukocyte, PMN) iekrāsošanu, lai konstatētu CMV agrīnu apakšējās matricēs struktūrproteīnu, kā arī citu pacientam iespējami esošu simptomu noteikšanai. CMV vīrusa slodzi testus parasti veic, lai noteiktu, kad ir nepieciešama pretvīrusu terapija, kā arī lai kontrolētu šādas ārstēšanas efektivitāti.³ Kaut arī spēkā esošajās vadlīnijās CMV infekciju pārvaldīšanai un ārstēšanai cilvēkiem ar imūndeficītu nav skaidri noteikts, kad jāsāk pretvīrusu terapija, tajās visās prasīta pastāvīga vīrusa slodzi kontrole pēc pretvīrusu terapijas sākšanas, lai palīdzētu mazināt zāļu smagās blakusparādības šīm populācijām.

PROCEDŪRAS PRINCIPI

NeuMoDx CMV Quant Assay sistēmā NeuMoDx System analizēšanai izmanto NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 un NeuMoDx vispārējās lietošanas reaģentus. NeuMoDx CMV Quant Assay apvieno automatizētu DNS ekstrahēšanu, amplifikāciju un noteikšanu, izmantojot reāllaika PĶR. Lai sagatavotu plazmu, pilnasiņu parauga materiālus paņem stobriņos ar EDTA vai ACD. Plazmas parauga materiālu ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ievieto parauga materiālu stobriņu turētājā, ko pēc tam ievieto sistēmā NeuMoDx System apstrādei. Pēc tam operatoram vairs nav jāiesaistās.

NeuMoDx Systems izmanto siltuma, lizējoša enzīma un ekstrahēšanas reaģentu kombināciju, lai automātiski lizētu šūnas, ekstrahētu DNS un likvidētu inhibitorus. Paramagnētiskās daļiņas piesaista atbrīvojušās nukleīnskābes. Daļiņas ar piesaistītajām nukleīnskābēm ievieto kasetnē NeuMoDx Cartridge, kur nesaisītās sastāvdaļas, kas nav DNS, papildus aizskalo ar NeuMoDx Wash Reagent, un saistīto DNS eluē, izmantojot NeuMoDx Release Reagent. Pēc tam NeuMoDx Systems izmanto eluēto DNS, lai rehidratētu patentētos NeuDry™ amplifikācijas reaģentus, kas satur visus elementus, kuri ir nepieciešami CMV specifisko un SPC1 mērķu PĶR amplifikācijai. Kad NeuDry PĶR reaģenti izšķīdināti, sagatavoto PĶR gatavo maisījumu NeuMoDx System iepilda kasetnē NeuMoDx Cartridge. Kontrolmateriāla un mērķa DNS sekvenču (ja tādas ir) amplifikācija un noteikšana notiek NeuMoDx Cartridge PĶR kamera zonā. Kasetnē NeuMoDx Cartridge arī ir paredzēts ietvert amplikonu pēc reāllaika PĶR, būtībā novēršot kontaminācijas risku pēc amplifikācijas.

Amplificētos mērķus nosaka reāllaikā, izmantojot hidrolīzes zondes ķīmiju (ko parasti sauc par TaqMan® ķīmiju), kurā tiek izmantotas amplifikācijai specifiskas fluorogēnās oligonukleotīdu zondes molekulas to attiecīgajiem mērķiem.

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, un dzēsēja molekula dzēš fluorofora izstaroto fluorescenci Fērstera rezonanses enerģijas pārnesei (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) ceļā.

TaqMan zondēm 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 dzēšanas efekts un ir iespējams noteikt fluorofora fluorescenci. Iegūtais fluorescences signāls, kas noteikts NeuMoDx System kvantitatīvās PĶR amplifikatorā, ir tieši proporcionāls atbrīvotajam fluoroforam, un to var saistīt ar esošās mērķa DNS daudzumu.

TaqMan zondi, kas ir iezīmēta ar fluoroforu (ierosme: 490 nm un izstarošana: 521 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā, izmanto CMV DNS noteikšanai. SPC1 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)). Ja rezultāts ir POSITIVE (Pozitīvs), NeuMoDx System programmatūra sniedz arī ar paraugu saistīto kvantitatīvo vērtību vai ziņo, vai aprēķinātā koncentrācija atbilst kvantitatīvās noteikšanas robežvērtībām.

REAĢENTI/PALĪGMATERIĀLI

Nodrošinātais materiāls

ATS	Saturs	Testi vienībā	Testi iepakojumā
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip Sausie PĶR reaģenti, kas satur CMV specifiskas TaqMan zondes un praimerus, SPC1 specifisku TaqMan zondi un praimerus.	16	96

Nepieciešamie reaģenti un palīgmateriāli, kas nav piegādāti (pieejami atsevišķi no NeuMoDx)

ATS	Saturs
100200	NeuMoDx Extraction Plate Sausas paramagnētiskas daļiņas, lizējošs enzīms un paraugu apstrādes kontrolmateriāli
800400	NeuMoDx CMV Calibrators Vienreizlietojami CMV augšējo un apakšējo vērtību kalibratoru komplekti standarta līknes derīguma noteikšanai
900401	NeuMoDx CMV External Controls Vienreizlietojami CMV pozitīvu un negatīvu kontrolmateriālu komplekti NeuMoDx CMV Quant Assay ikdienas derīguma noteikšanai
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgaļi (300 µl) ar filtriem
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgaļi (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 CMV Quant Test Strip ir paredzēta lietošanai *in vitro* diagnostikā tikai sistēmās NeuMoDx Systems.
- Reaģentus un palīgmateriālus nedrīkst lietot pēc norādītā derīguma termiņa beigām.
- Reaģentus nedrīkst lietot, ja drošības noslēgs ir saplīsis vai saņemšanas brīdī iepakojums ir bojāts.
- Palīgmateriālus un reaģentus nedrīkst lietot, ja saņemšanas brīdī aizsargmaisīņš ir atvērts vai saplīsis.
- Jābūt pieejamai derīgai testa kalibrācijai (ko ģenerē, apstrādājot augšējo un apakšējo vērtību kalibratorus no NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]), tikai pēc tam var iegūt testu rezultātus klīniskajiem paraugiem.
- NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx CMV Quant Assay.

- Parauga materiāla minimālais tilpums ir 1 ml EDTA/ACD plazmas, ja izmanto 32 stobriņu turētāju; ja tilpums ir mazāks nekā 1 ml, var rasties NeuMoDx System kļūda.
- Ja CMV analīzi ar testa strēmelīti NeuMoDx CMV Quant Test Strip veic ar parauga materiāliem, kas glabāti neatbilstošā temperatūrā vai ilgāk par norādīto laiku, iegūtie rezultāti var būt nederīgi vai kļūdaini.
- Vienmēr jāizvairās no visu reaģentu un palīgmateriālu mikrobioloģiskā un dezoksiribonukleāžu (DNāze) piesārņojuma. Ieteicams izmantot sterilas DNāzi 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 neizņem kasetnes NeuMoDx Cartridges no bioloģiski bīstamo atkritumu konteineru (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 PĶR testus ar atvērtiem stobriņiem, jāuzmanās, lai nepiesārņotu NeuMoDx CMV Quant Test Strip, testēšanai nepieciešamos papildu palīgmateriālus un reaģentus, individuālos aizsardzības līdzekļus, piemēram, cimdus un laboratorijas uzsvārcus, kā arī NeuMoDx System.
- Rīkojoties ar NeuMoDx reaģentiem un palīgmateriāliem, jāvakā tīri nitrila cimdi bez pulvera. Jāuzmanās, lai nepieskartos NeuMoDx Cartridge augšējai virsmai, NeuMoDx CMV Quant Test Strip vai NeuMoDx Extraction Plate folijas noslēgvirsmi vai NeuMoDx Lysis Buffer 1 augšējai virsmai; rīkojoties ar palīgmateriāliem un reaģentiem, drīkst pieskarties tikai sānu virsmām.
- Drošības datu lapas (DDL) ir pieejamas pēc pieprasījuma.
- Pēc testa veikšanas rūpīgi nomazgāt rokas.
- Vietas nedrīkst iesūkt pipetē ar muti. Zonās, kur notiek darbības ar parauga materiāliem vai reaģentiem, nedrīkst smēķēt, dzert vai ēst.
- Ar parauga materiāliem vienmēr jārīkojas tā, it kā tie būtu inficēti, un saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, piemēram, tām, kas aprakstītas dokumentā *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ un CLSI dokumentā M29-A4.⁵
- Neizlietotie reaģenti un atkritumi jālikvidē saskaņā ar valsts, federālajiem, pašvaldības, pavalsts un vietējiem noteikumiem.

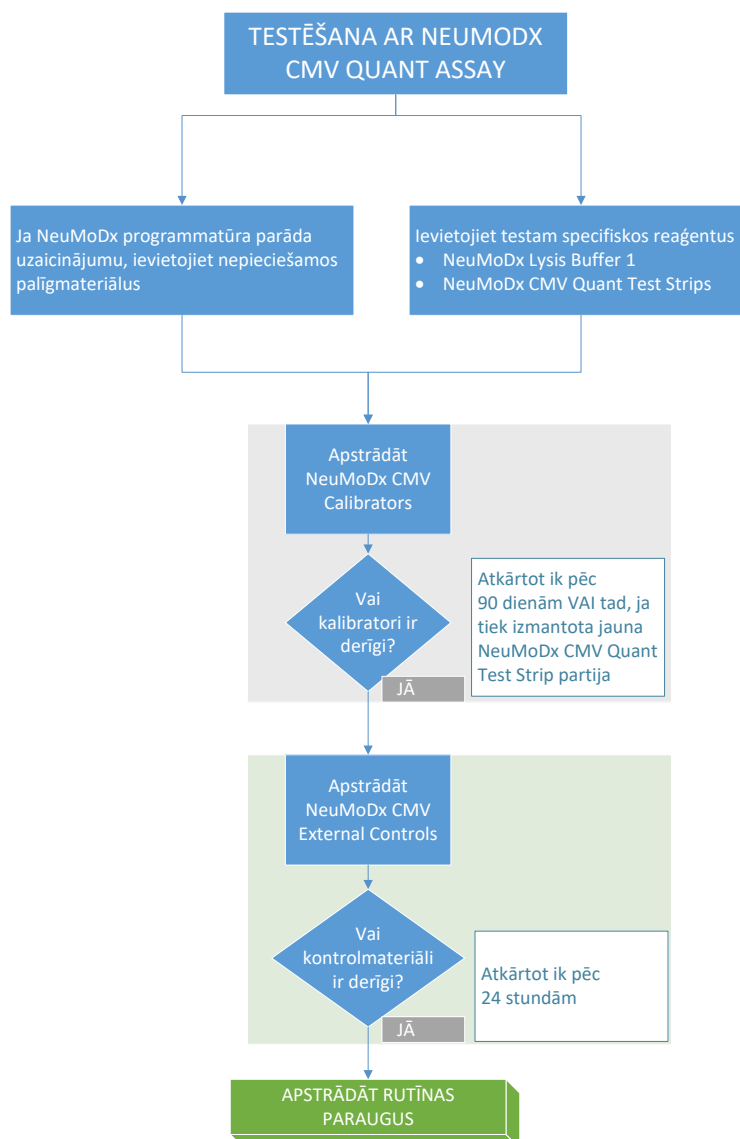
PRODUKTA GLABĀŠANA, APIEŠANĀS AR TO UN STABILITĀTE

- Primārajā iepakojumā visi NeuMoDx reaģenti un palīgmateriāli (izņemot ārējos kontrolmateriālus un kalibratorus) ir stabili no 18 līdz 23°C temperatūrā visu derīguma termiņu, kas norādīts uz preparāta tiešās uzlīmes.
- Sistēmā NeuMoDx System ievietota NeuMoDx CMV Quant Test Strip ir stabila 14 dienas; NeuMoDx System programmatūra parādīs uzaicinājumu izņemt testa strēmelītes, kas sistēmā NeuMoDx System bijušas ilgāk par 14 dienām, tad būs jāatver un jāievieto sistēmā NeuMoDx System jaunas NeuMoDx CMV Quant Test Strips.
- NeuMoDx kalibratori un kontrolmateriāli nav infekciozi, taču pēc lietošanas tie jāizmet kopā ar laboratorijas bioloģiski bīstamajiem atkritumiem, jo pēc apstrādes sistēmā tie saturēs mērķa materiālu, kas var izraisīt kontamināciju, ja neapietas pareizi.

PARAUGA MATERIĀLA PAŅEMŠANA, TRANSPORTĒŠANA UN GLABĀŠANA

1. Ar visiem parauga materiāliem jāapietas tā, it kā tie varētu pārnest infekcijas izraisītājus.
2. Nedrīkst sasaldēt pilnasinis un nevienu parauga materiālu, ko glabā primārajos stobriņos.
3. Lai sagatavotu plazmas parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem sterilos stobriņos, kā antikoagulantus izmantojot EDTA vai ACD. Jārīkojas atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.
4. Pilnasinis, kas paņemtas iepriekš norādītajās ierīcēs, pirms plazmas sagatavošanas var glabāt un/vai transportēt līdz 24 stundām no 2 °C līdz 25 °C temperatūrā. Plazma jāgatavo atbilstīgi ražotāja norādījumiem.
5. Sagatavoti plazmas parauga materiāli sistēmā NeuMoDx System var palikt līdz 8 stundām pirms apstrādes. Ja nepieciešams papildu glabāšanas laiks, parauga materiālus ieteicams atdzēsēt vai sasaldēt.
6. Sagatavoti plazmas parauga materiāli jāglabā no 2 līdz 8 °C temperatūrā ne ilgāk kā 7 dienas pirms testēšanas un ne ilgāk kā 8 stundas istabas temperatūrā.
7. Sagatavotos parauga materiālus pirms apstrādes var glabāt ≤ -20 °C temperatūrā līdz 26 nedēļām; plazmas paraugus pirms lietošanas nedrīkst pakļaut vairāk kā 2 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem.
 - a. Ja paraugi ir sasaldēti, jānogaida, līdz paraugi istabas temperatūrā (15–30 °C) pilnībā atkūst, pēc tam jāsamaisa virpuļmikserī, lai iegūtu vienmērīgi izkliedētu paraugu.
 - b. Kad sasaldētie paraugi atkusuši, tie jātestē 8 stundu laikā.
8. Ja parauga materiālus pārvadā, tie jāiesaiņo un jāmarķē saskaņā ar piemērojamiem valsts un/vai starptautiskajiem noteikumiem.
9. Parauga materiāli skaidri jāmarķē, un jānorāda, ka parauga materiāli ir paredzēti CMV testēšanai.
10. Pārejiet pie sadaļas *Testa sagatavošana*.

Vispārīgā gaita, kā notiek testēšana ar NeuMoDx CMV Quant Assay, ir apkopota tālāk šeit: *1. attēls*.



1. attēls. Testēšana ar NeuMoDx CMV Quant Assay: darbplūsmas

LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

Testa sagatavošana

- Ar NeuMoDx System saderīgam parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svitrkoda uzlīmi.
- Ar pārneses pipeti parauga materiāla (sekundārajā) stobriņā ar svitrkodu pārnesiet ≥ 1 ml plazmas, ja izmantojat 32 stobriņu turētāju, vai > 2 ml, ja izmantojat 24 stobriņu turētāju. Jāuzmanās, lai parauga materiāla stobriņā nepārnestu recekļus no plazmas parauga. Katram parauga materiālam jāizmanto cita pārneses pipete.
- Sekundārajam stobriņam jāatbilst tālāk norādītajām ar NeuMoDx System saderīga stobriņa specifikācijām atbilstoši apstrādei izmantotajam parauga materiālu stobriņu turētāja lielumam.
 - 32 stobriņu turētājs: diametrs no 11 mm līdz 14 mm un augstums no 60 mm līdz 120 mm
 - 24 stobriņu turētājs: diametrs no 14,5 mm līdz 18 mm un augstums no 60 mm līdz 120 mm

Darbs ar NeuMoDx™ System

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

1. Piepildiet vienu vai vairākus turētājus NeuMoDx System Test Strip Carrier ar testa strēmelītēm NeuMoDx CMV Quant Test Strip un izmantojiet skārienekrānu, lai testa strēmelīšu turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
2. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, NeuMoDx System palīgmateriālu turētājos ievietojiet nepieciešamos palīgmateriālus un izmantojiet skārienekrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
3. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, nomainiet NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, iztukšojiet uzpildes atkritumus vai bioloģiski bīstamo atkritumu konteineru (pēc vajadzības).
4. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, apstrādājiet attiecīgi kalibratorus [REF 800400] un/vai ārējos kontrolmateriālus [REF 900401]. Papildinformācija par kalibratoriem un kontrolmateriāliem atrodama sadaļā *Rezultātu apstrāde*.
5. Parauga materiālu/kalibratoru/kontrolmateriālu stobriņus ievietojiet standarta 32 stobriņu turētājā un visiem parauga materiālu stobriņiem noteikti noņemiet vāciņus.
6. Parauga materiālu stobriņu turētāju ievietojiet jebkurā brīvā vietā automātiskās ievietošanas ierīces plauktā un izmantojiet skārienekrānu, lai turētāju ielādētu sistēmā NeuMoDx System. Tādējādi sāksies ielādēto parauga materiālu apstrāde ar norādītajiem testiem.

IEROBEŽOJUMI

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip var izmantot tikai ar NeuMoDx Systems.
- NeuMoDx CMV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta plazmas parauga materiāliem, kas sagatavoti no pilnasinīm, tās paņemot stobriņā ar EDTA/ACD kā antikoagulantu; NeuMoDx CMV Quant Test Strip lietošana ar citu veidu klīniskajiem parauga materiāliem nav novērtēta, un testa darbības efektivitātes raksturlielumi citu veidu parauga materiāliem nav zināmi.
- CMV noteikšana ir atkarīga no organisma skaita paraugā, tāpēc rezultātu ticamība ir atkarīga no parauga materiālu pareizas paņemšanas, rīcības ar tiem un glabāšanas.
- Pirms rutīnas klīnisko paraugu apstrādes jāapstrādā kalibratori un ārējie kontrolmateriāli, kā ieteikts to lietošanas pamācībā un ja šādu uzaicinājumu parāda NeuMoDx System programmatūra.
- Kļūdainu rezultātu iemesls var būt parauga materiālu nepareiza paņemšana, rīcība ar tiem, glabāšana, tehniska kļūme vai parauga materiālu stobriņu sajaukšana. Vēl kļūdaini negatīvi rezultāti iespējami tad, ja vīrusa daļiņu skaits paraugā ir zem NeuMoDx CMV Quant Assay noteikšanas robežas.
- Strādāt ar NeuMoDx System drīkst tikai darbinieki, kas ir apguvuši zināšanas par NeuMoDx System lietošanu.
- Ja gan CMV mērķis, gan SPC1 mērķis neamplificē, tiek ziņots nederīgs rezultāts (Indeterminate (Neskaidrs) vai Unresolved (Neatrisināts)), un tests ir jāatkārto.
- Ja NeuMoDx CMV Quant Assay rezultāts ir Positive (Pozitīvs), bet kvantitatīvās noteikšanas vērtība pārsniedz kvantitatīvās noteikšanas robežas, NeuMoDx System ziņos, vai noteiktais CMV bija *zem* kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *virs* kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Ja noteiktais CMV bija zem LLoQ, NeuMoDx CMV Quant Assay var atkārtot (ja vēlams) ar citu parauga materiāla alikvoto daļu.
- Ja noteiktais CMV ir virs ULoQ, NeuMoDx CMV Quant Assay var atkārtot ar sākotnējā parauga materiāla atšķaidītu alikvoto daļu. Ieteicams atšķaidījums attiecībā 1:100 vai 1:1000 CMV negatīvā plazmā vai atšķaidītājā Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Sākotnējā parauga materiāla koncentrāciju var aprēķināt šādi:

$$\text{sākotnējā parauga materiāla koncentrācija} = \log_{10}(\text{atšķaidījuma koeficients}) + \text{atšķaidītā parauga ziņotā koncentrācija.}$$

- PQR inhibitoru gadījuma rakstura klātbūtne plazmā var izraisīt sistēmas kvantitatīvās noteikšanas kļūdu; ja tā noticis, testu ieteicams atkārtot ar to pašu parauga materiālu, kas atšķaidīts atšķaidītājā Basematrix attiecībā 1:10 vai 1:100.
- Pozitīvs rezultāts ne vienmēr liecina par dzīvotspējīgu organismu klātbūtni. Tomēr pozitīva rezultāta gadījumā iespējama citomegalovīrusa DNS klātbūtne.
- Delēcija vai mutācijas saglabātajos reģionos, uz ko mērķē NeuMoDx CMV Quant Assay, var ietekmēt noteikšanu, vai var iegūt kļūdainu rezultātu, izmantojot NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- NeuMoDx CMV Quant Assay iegūtie rezultāti jāizmanto kā papildinājums klīniskajiem novērojumiem un citai ārstam pieejamajai informācijai; tests nav paredzēts infekcijas diagnosticēšanai.
- 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 CMV Quant Assay rezultātus automātiski ģenerē NeuMoDx System programmatūra, izmantojot lēmuma algoritmu un rezultātu apstrādes parametrus, kas norādīti NeuMoDx CMV Assay definīcijas failā (CMV ADF). NeuMoDx CMV Quant Assay ziņotais rezultāts atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un parauga apstrādes kontrolmateriālam var būt šāds: Negative (Negatīvs), Positive (Pozitīvs) ar ziņotu CMV koncentrāciju, Positive (Pozitīvs) virs ULoQ, Positive (Pozitīvs) zem LLoQ, Indeterminate (Neskaidrs) vai Unresolved (Neatrisināts). Rezultāti tiek ziņoti, pamatojoties uz lēmuma algoritmu, kas ir norādīts šeit: 1. tabula.

1. tabula. NeuMoDx CMV Quant Assay lēmuma algoritms

Rezultāts	CMV	Paraugu apstrādes kontrolmateriāls (SPC1)
Positive (Pozitīvs)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ UN } BPK > 2 \text{ UN } BP \geq 1500]$ OR (VAI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ UN } BP \geq 1500]$	N/A (Nav attiecināms)
Positive (Pozitīvs), virs kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas [ULoQ] (\log_{10} SV/ml)	[KONC] $> 8,0 \log_{10}$ SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
Positive (Pozitīvs), zem kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas [LLoQ] (\log_{10} SV/ml)	[KONC] $< 1,3 \log_{10}$ SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
Negative (Negatīvs)	N/A VAI $[2 \leq Ct < 9 \text{ UN } BPK \leq 2]$ OR (VAI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ UN } BP < 1500]$ VAI $Ct > 41$	AMPLIFIED (Ir amplificēts) ($28 \leq Ct \leq 34$) un BP ≥ 2000
Indeterminate (Neskaidrs)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (Nav amplificēts/Pamanīts sistēmas kļūdas)	
Unresolved (Neatrisināts)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (Nav amplificēts/Nav pamanītu sistēmas kļūdu)	

BP = beigu punkta fluorescence (pēc bāzes līnijas korekcijas); BPK = beigu punkta fluorescences koeficients; C_t = cikla sliekšnis (Cycling Threshold);

Kvant = aprēķinātais esošā CMV daudzums, kas izteikts \log_{10} SV/ml. Skatīt tālāk testa aprēķinus.

Testa aprēķini

- Paraugiem, kas atbilst NeuMoDx CMV Quant Assay kvantitatīvās noteikšanas diapazonam, CMV DNS koncentrāciju paraugos aprēķina, izmantojot saglabāto standarta līkni kopā ar kalibrācijas koeficientu.
 - Kalibrācijas koeficientu aprēķina atbilstīgi rezultātiem, kas iegūti, apstrādājot NeuMoDx CMV Calibrators, lai noteiktu standarta līknes derīgumu konkrētai NeuMoDx CMV Quant Test Strip partijai konkrētā NeuMoDx System.
 - Kalibrācijas koeficients ir iekļauts CMV DNS koncentrācijas galīgajā noteikšanā.
- NeuMoDx CMV Quant Assay rezultāti tiek ziņoti mērvienībā \log_{10} SV/ml.
- Nezināmo paraugu iegūtā kvantitatīvā noteikšana ir izsekojama atbilstoši PVO 1. CMV starptautiskajam standartam.

Testa kalibrēšana

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

Ārējie kalibratori

- NeuMoDx CMV Calibrators piegādā komplektā [REF 800400], un tie satur atšķaidītājā Basematrix sagatavotu neinfekciozu iekapsulētu CMV mērķi.
- CMV kalibratoru komplekts jāapstrādā ar katru jaunu NeuMoDx CMV Quant Test Strips partiju vai tad, ja sistēmā NeuMoDx System augšupielādē jaunu CMV Assay definīcijas failu, vai tad, ja pašreizējā kalibratoru komplekta derīguma termiņš ir beidzies (pašlaik iestatīts 90 dienas), vai tad, ja 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.

4. Tālāk aprakstīts, kā tiek noteikts kalibrācijas derīgums:
 - a) Lai noteiktu derīgumu, jāapstrādā divu kalibratoru komplekts: augšējās un apakšējās vērtības kalibrators.
 - b) Lai ģenerētu derīgus rezultātus, vismaz 2 atkārtojumu rezultātiem no 3 atkārtojumiem jāatbilst iepriekšnoteiktajiem parametriem. Apakšējās vērtības kalibrators nominālais mērķis ir $3 \log_{10} \text{SV/ml}$, un augšējās vērtības kalibrators nominālais mērķis ir $5 \log_{10} \text{SV/ml}$.
 - c) Aprēķina kalibrācijas koeficientu, lai ņemtu vērā paredzamās atšķirības starp testa strēmelišu partijām; šo kalibrācijas koeficientu izmanto galīgās CMV koncentrācijas noteikšanai.
5. 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 kalibrators pārbaudi, jo sistēma neprasa, lai lietotājs vēlreiz analizētu abus kalibrators.
6. Ja kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga otrreiz 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 nepārveidotai apstiprinātai testu sistēmai, jānosaka, cik reizi, kādā veidā un cik bieži jātestē kontrolmateriāli.

Ārējie kontrolmateriāli

1. Ārējos kontrolmateriālus, kas pozitīviem kontrolmateriāliem satur neinfekciozu iekapsulētu CMV mērķi atšķaidītājā Basematrix, komplektā, kurā ir NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401], piegādā NeuMoDx Molecular, Inc.
2. Pozitīvi un negatīvi ārējie kontrolmateriāli jāapstrādā ik pēc 24 stundām. Ja nav derīgu ārējo kontrolmateriālu kopas, NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu lietotājam apstrādāt kontrolmateriālus, lai varētu ziņot paraugu rezultātus.
3. Ja nepieciešami ārējie kontrolmateriāli, ārējo kontrolmateriālu komplekts jāizņem no saldētavas, un flakoniem jānostāvas istabas temperatūrā ($15\text{--}30^\circ \text{C}$), līdz to saturs ir pilnībā atkusis. Uzmanīgi maisiet virpuļmikserī, lai materiāls būtu viendabīgs.
4. Izmantojot skārienkrānu un automātiskās ievietošanas ierīces plauktā ievietotu parauga materiālu stobriņu turētāju, pozitīvo un negatīvo kontrolmateriālu flakonus ielādējiet sistēmā NeuMoDx System. NeuMoDx System atpazīs svītrkodu un sāks parauga materiālu stobriņu apstrādi, ja būs pieejami testēšanai nepieciešamie reaģenti vai palīgmateriāli.
5. Ārējo kontrolmateriālu derīgumu NeuMoDx System novērtē, ņemot vērā paredzamo rezultātu. Ar pozitīvo kontrolmateriālu jāiegūst CMV pozitīvs rezultāts, un ar negatīvo kontrolmateriālu jāiegūst CMV negatīvs rezultāts.
6. Tālāk aprakstīts, kā jārikojas, ja ārējo kontrolmateriālu rezultāti nav atbilstoši.
 - a) Pozitīvs testa rezultāts, kas ziņots negatīvam kontrolmateriāla paraugam, liecina par parauga materiāla kontaminācijas problēmu.
 - b) Negatīvs testa rezultāts, kas ziņots pozitīvam kontrolmateriāla paraugam, var liecināt par problēmu, kas ir saistīta ar reaģentu vai iekārtu.
 - c) Abos iepriekš minētajos gadījumos nesekmīgā rezultāta NeuMoDx CMV External Control jāapstrādā atkārtoti, izmantojot svaigi atkausētu to kontrolmateriālu flakonu, kuru derīguma pārbaude bijusi nesekmīga.
 - d) Ja pozitīva NeuMoDx CMV External Control rezultāts aizvien ir negatīvs, sazinieties ar NeuMoDx klientu apkalpošanas dienestu.
 - e) Ja negatīva NeuMoDx CMV External Control rezultāts aizvien ir pozitīvs, mēģiniet likvidēt visus iespējama piesārņojuma avotus, tostarp nomainiet VISUS reaģentus, tikai pēc tam sazinieties ar NeuMoDx klientu apkalpošanas dienestu.

Paraugu apstrādes (iekšējie) kontrolmateriāli

Platē NeuMoDx Extraction Plate ir iestrādāts eksogēns paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC1), kas ir pakļauts visam nukleīnskābes ekstrahēšanas un reāllaika PQR amplifikācijas procesam katram paraugam. Katrā testa strēmelītē NeuMoDx CMV Quant Test Strip ir iekļauti arī SPC1 specifiski praimeru un zonde, tādējādi daudzkārtīgas reāllaika PQR ceļā ir iespējama SPC1 klātbūtnes un mērķa CMV DNS (ja tāda ir) noteikšana. SPC1 amplifikācijas noteikšanas dēļ sistēmas NeuMoDx System programmatūra var pārraudzīt DNS ekstrahēšanas un PQR amplifikācijas procesa efektivitāti.

Nederīgi rezultāti

Ja sistēmā NeuMoDx System veiktas analīzes NeuMoDx CMV Quant Assay iegūtais rezultāts nav derīgs, tas atbilstoši radušās kļūdas veidam tiks ziņots kā Indeterminate (Neskaidrs) (IND) 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.

UNR rezultāts tiks ziņots, ja nebūs konstatēta CMV DNS vai SPC1 derīga amplifikācija, kas liecina par iespējamu reaģenta kļūdu vai inhibitoru klātbūtni. Gadījumā, ja tiek ziņots UNR rezultāts, kā pirmā darbība var būt atkārtota testēšana. Ja atkārtota testēšana ir nesekmīga, jebkādas parauga inhibīcijas efektu mazināšanai var izmantot atšķaidītu parauga materiālu.

DARBĪBAS EFEKTIVĪTES RAKSTURLIELUMI

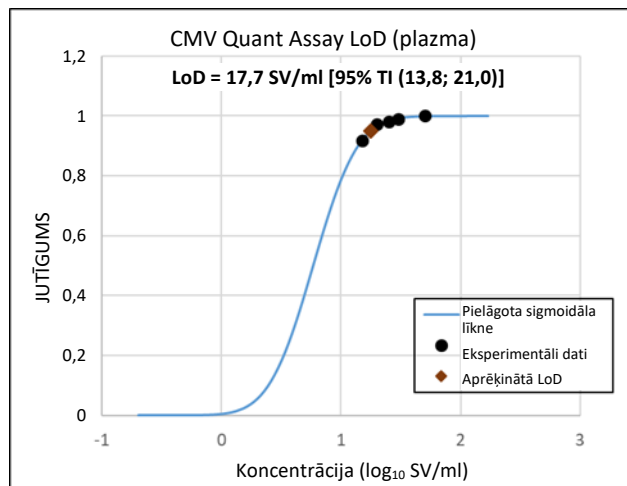
Analītiskais jutīgums – noteikšanas robeža, izmantojot PVO standartu

NeuMoDx CMV Quant Assay analītisko jutīgumu raksturoja, testējot negatīvus parauga materiālus un PVO 1. starptautiskā standarta atšķaidījumu sēriju atsijātā negatīvā cilvēka plazmā, 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 dienā apstrādāja 18 atkārtojumus katrā atšķaidījuma līmenī. Noteikšanas rādītāji ir norādīti šeit: 2. tabula.

2. tabula. NeuMoDx CMV Quant Assay LoD pozitīvi noteikšanas rādītāji

Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [\log_{10} SV/ml]	PLAZMA		
		Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
50	1,70	108	108	100,0%
30	1,48	108	107	99,1%
25	1,40	108	106	98,1%
20	1,30	108	105	97,2%
15	1,18	108	99	91,7%
NEG.	---	108	0	0,0%

NeuMoDx CMV Quant Assay noteiktā LoD gB1 variantam plazmā bija 17,7 SV/ml ($1,25 \log_{10}$ SV/ml) ar 95% ticamības intervālu (TI) 13,8–21,0 SV/ml, ($1,14$ – $1,32 \log_{10}$ SV/ml) [2. attēls]. Ar trāpījumu procenta analīzi noteiktā LoD dažādiem genotipiem ir 20,0 SV/ml ($1,30 \log_{10}$ SV/ml).



2. attēls. Probita analīze, kas izmantota NeuMoDx CMV Quant Assay LoD noteikšanai plazmas paraugos

Analītiskais jutīgums – kvantitatīvās noteikšanas robeža – kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ)

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

$$SAK = \text{novirze} + 2 * SN \text{ (Westgard statistika)}$$

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 izmantoto CMV (gB1 varianta) plazmas parauga materiālu 5 līmeņiem, ir parādīti šeit: 3. tabula. Atbilstoši šai datu kopai un iepriekš noteiktajai LoD noteiktā LLOQ bija 20,0 SV/ml ($1,30 \log_{10}$ SV/ml), un to apstiprināja dažādiem genotipiem.

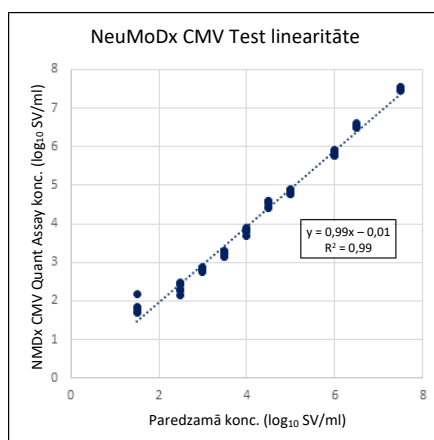
3. tabula. NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ ar novirzi un SAK

Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [\log_{10} SV/ml]	Plazma				
		Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Pamatojoties uz šo pētījumu iznākumu, NeuMoDx CMV Quant Assay noteiktā LoD un LLoQ bija 20,0 SV/ml [$1,30 \log_{10}$ SV/ml].

Linearitāte un kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (ULOQ) noteikšana

NeuMoDx CMV Quant Assay linearitāti un kvantitatīvās noteikšanas augšējo robežu (ULOQ) noteica plazmā, atšķaidījumu sērijas sagatavošanai izmantojot NeuMoDx iekapsulētu CMV mērķi un Exact CMV pozitīvo kontrolmateriālu (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ar noteiktu izsekojamību atbilstoši PVO 1. starptautiskajam standartam. CMV negatīvas plazmas kopparaugā sagatavoja 9 elementu paneli, radot paneli, kas aptvertu koncentrāciju diapazonu $8-1,7 \log_{10}$ SV/ml. NeuMoDx CMV Quant Assay noteiktā ULOQ bija $8,0 \log_{10}$ SV/ml. NeuMoDx System ziņotās CMV analīzes koncentrācijas, salīdzinot ar paredzamajām vērtībām, ir parādītas šeit: 3. attēls.

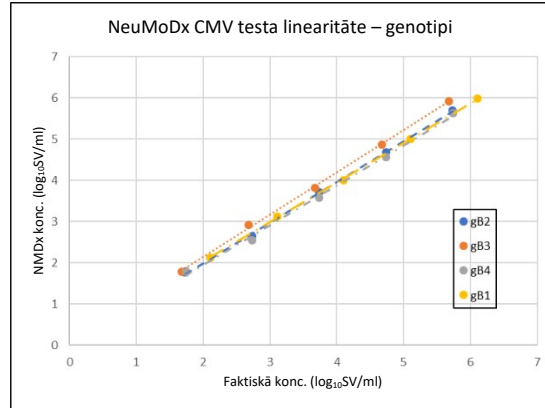

3. attēls. NeuMoDx CMV Quant Assay linearitāte

Linearitāte dažādiem genotipiem

NeuMoDx CMV Quant Assay linearitāti četriem CMV genotipiem (gB1, gB2, gB3 un gB4) raksturoja, testējot piecas dažādas katra CMV genotipa koncentrācijas, ko sagatavoja CMV negatīvas plazmas kopparaugā. Šajā pētījumā testētie CMV mērķa līmeņi bija atkarīgi no avota parauga materiāla koncentrācijas, tāpēc dažādiem genotipiem tās atšķīrās. Pētījumā testēja visu 4 genotipu 6 atkārtojumus 5 koncentrācijās. Linearitāte četriem CMV genotipiem ir parādīta šeit: 4. tabula un 4. attēls.

4. tabula. NeuMoDx CMV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

Genotips	Linearitātes vienādojums $y = \text{NeuMoDx CMV Assay kvantitatīvā noteikšana}$ $x = \text{paredzamā kvantitatīvā noteikšana}$	R ²
gB1	$y = 0,960x + 0,103$	0,994
gB2	$y = 0,989x + 0,009$	0,996
gB3	$y = 1,023x + 0,099$	0,967
gB4	$y = 0,968x + 0,004$	0,992



4. attēls. NeuMoDx CMV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

Analītiskais specifiskums – krusteniskā reaģētspēja

Analītisko specifiskumu pierādīja, atslējot 35 organismus, kas parasti ir sastopami asins/plazmas parauga materiālos, kā arī CMV filoģenētiski līdzīgas sugas, lai noteiktu krustenisko reaģētspēju. Organismus sagatavoja kopparaugos pa 5–6 organismiem un testēja augstā koncentrācijā. Testētie organismi ir norādīti šeit: 5. tabula. Nevienam testētajam organismam nenovēroja krustenisko reaģētspēju, kas apstiprina NeuMoDx CMV Quant Assay 100% analītisko specifiskumu.

5. tabula. Patogēni, kurus izmantoja analītiskā specifiskuma pierādīšanai

Organismi, kas nav mērķa					
Poliomas BK vīruss	Adenovīrusa 5. tips	Herpesvīrusa 1. tips	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epšteina-Barra vīruss	C hepatīta vīruss	Herpesvīrusa 2. tips	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Cilvēka herpesvīrusa 6. tips	Parvovīruss B19	Varicella-Zoster vīruss	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Cilvēka herpesvīrusa 7. tips	JC vīruss	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Cilvēka herpesvīrusa 8. tips	Cilvēka papilomas vīruss 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
B hepatīta vīruss	Cilvēka papilomas vīruss 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, komensāli organismi

NeuMoDx CMV 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: 5. tabula. Negatīvai CMV plazmai pievienoja organismus, ko apkopojā grupās pa 4–7, kā arī CMV mērķi koncentrācijā $3 \log_{10}$ 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 CMV Quant Assay novērtēja tādu tipisku eksogēno un endogēno traucējošo vielu klātbūtnē, ko konstatē CMV klīniskajos plazmas parauga materiālos. Šīs vielas ietvēra neparasti augstus asins komponentu līmeņus, kā arī parastas pretvīrusu zāles, kuras klasificētas šeit: 6. tabula. Katru vielu pievienoja atslēgtai CMV negatīvai cilvēka plazmai, kam pievienotas $3 \log_{10}$ SV/ml CMV, un paraugus analizēja, lai noteiktu interferenci. Lai noteiktu iespējamu interferenci, testēja arī ar CMV infekciju saistītu parastu slimības stāvokļa plazmu. Visu testēto vielu vidējā koncentrācija un novirze salīdzinājumā ar kontrolmateriāla paraugiem, kam pievienots CMV tādā pašā līmenī, ir parādīta šeit: 7. tabula. Neviens eksogēnā un endogēnā viela neietekmēja NeuMoDx CMV Quant Assay specifiskumu.

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

Kopparaugs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija	Kopparaugs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija
1. kopparaugs	Azatiopriņš	Imūnsupresants	4. kopparaugs	Trimetopriņš	Antibiotika
	Ciklosporīns	Imūnsupresants		Vankomicīns	Antibiotika
	Foskarnets	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)		Takrolīms	Imūnsupresants
	Ganciklovīrs	Pretvīrusu zāles (CMV)		Everolīms	Imūnsupresants
	Valganciklovīra hidrohlorīds	Pretvīrusu zāles (CMV)		Kālija klavulanāts	Antibiotika
2. kopparaugs	Prednizons	Kortikosteroīds/imūnsupresants	5. kopparaugs	Famotidīns	Histamīna receptoru antagonists
	Cidofovīrs	Pretvīrusu zāles (CMV)		Sulfametoksazols	Antibiotika
	Cefotetāns	Antibiotika (plaša spektra)		Valacilovīrs	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)
	Cefotaksīms	Antibiotika (plaša spektra)		Letermovīrs	Pretvīrusu zāles (CMV)
	Flukonazols	Pretsēnišu līdzeklis		Tikarcilīna dinātrija sāls	Antibiotika
3. kopparaugs	Mikofenolāta mofetils	Imūnsupresants	Leflunomīds	Imūnsupresants	
	Mikofenolāta nātrija sāls	Imūnsupresants			
	Piperacilīns	Antibiotika			
	Sirolīms/rapamicīns	Imūnsupresants			
	Tazobaktāms	Modificēta antibiotika			

7. tabula. Interferences testēšana – eksogēnās un endogēnās vielas

Endogēnā	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
Hemoglobīns	2,97	0,07
Triglicerīdi	3,03	0,13
Bilirubīns	3,01	0,11
Albumīns	2,88	-0,02
Eksogēnā (zāles)	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
1. kopparaugs: azatiopriņš, ciklosporīns, foskarnets, ganciklovīrs, valganciklovīra hidrohlorīds	2,88	-0,02
2. kopparaugs: prednizons, cidofovīrs, cefotetāns, cefotaksīms, flukonazols	2,91	0,01
3. kopparaugs: mikofenolāta mofetils, mikofenolāta nātrija sāls, piperacilīns, sirolīms/rapamicīns, tazobaktāms	2,98	0,08
4. kopparaugs: trimetopriņš, vankomicīns, takrolīms, everolīms, kālija klavulanāts	3,05	0,15
5. kopparaugs: famotidīns, sulfametoksazols, letermovīrs, valacilovīrs, tikarcilīna dinātrija sāls, leflunomīds	2,87	-0,03
Slimības stāvoklis	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
Antinukleārās antivielas (ANA)	2,90	0,00
Sistēmiska sarkanā vilkēde (SSV)	3,04	0,14
Reimatoīdais artrīts	2,99	0,09

Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte

NeuMoDx CMV Quant Assay precizitāti noteica, CMV parauga materiālu, kas sagatavoti ar Exact CMV pozitīvo kontrolmateriālu (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), 4 elementu paneļa 3 atkārtojumus testējot divreiz dienā divās NeuMoDx 288 Systems un vienā NeuMoDx 96 System 12 dienas. Tika raksturota vienas testēšanas reizes, vienas dienas un vienas sistēmas precizitāte, un noteiktā vispārējā standartnovirze bija $\leq 0,15 \log_{10}$ SV/ml. Dažādās sistēmās, dienās vai testēšanas reizēs precizitāte bija teicama, kā parādīts šeit: 8. tabula. Precizitāte starp operatoriem netika raksturota, jo operatora darbības paraugu apstrādē, izmantojot NeuMoDx System, nav nozīmīgas.

8. tabula. Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte – NeuMoDx CMV Quant Assay sistēmās NeuMoDx Systems

Mērķa CMV konc. [\log_{10} SV/ml]	Vidējā CMV konc. [\log_{10} SV/ml]	Vienas sistēmas SN	Vienas dienas SN	Vienas izpildes SN	Kopējais (vienas laboratorijas) SN
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

Reproducējamība ar dažādām partijām

NeuMoDx CMV Quant Assay reproducējamību ar dažādām partijām noteica, izmantojot trīs dažādas galveno reaģentu partijas: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates un NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Darbības efektivitātes novērtēšanai izmantoja CMV 4 elementu paneli, kas sagatavots ar Exact CMV kontrolmateriālu. Testēšanā izmantoja trīs reaģentu partijas trijās sistēmās 6 dienas. Analizēja vienas partijas un dažādu partiju atšķirības, un rezultāti ir parādīti šeit: 9. tabula. Maksimālā vispārējā novirze bija $0,12 \log_{10}$ SV/ml, un maksimālā vispārējā SN bija $0,39 \log_{10}$ SV/ml. Dažādām partijām darbības efektivitāte bija teicama, jo visu paneļa elementu kvantitatīvā noteikšana atbilda pielaišanas specifikācijai.

9. tabula. Reproducējamība ar dažādām partijām – NeuMoDx CMV Quant Assay

Mērķa CMV konc. [\log_{10} SV/ml]	Vidējā CMV konc. [\log_{10} SV/ml]	N (Derīgie rezultāti partijā)	Novirze	SN starp partijām	Vienas partijas SN	Kopējais SN
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

Kontrolmateriālu efektivitāte

NeuMoDx CMV Quant Assay ietver SPC1, 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 pārbaudītie sensori. Pozitīvus (koncentrācijā $3 \log_{10}$ SV/ml) un negatīvus parauga materiālus pārbaudīja kontrolmateriāla klātbūtnē šādos apstākļos: inhibitora klātbūtne, netiek pievadīts skalošanas šķīdums un nenotiek skalošanas izpūšana. Apstrādes neefektivitāti, kas nelabvēlīgi ietekmēja CMV noteikšanu/kvantitatīvo noteikšanu, atspoguļoja SPC1 mērķa darbība, kā parādīts šeit: 10. 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 SPC1 noteikšanu un uz CMV noteikšanu un kvantitatīvo noteikšanu nebija nozīmīga. Tādējādi tika pierādīts, ka SPC1 sekmīgi un efektīvi uzrauga analīzes darbības efektivitāti sistēmā NeuMoDx System.

10. tabula. Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte

Pārbaudītā apstrādes darbības kļūda	1. paraugu apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas statuss	CMV 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 kvantitatīvo noteikšanu vienā kontrolē $0,3 \log_{10}$ SV/ml

Derīgo rezultātu rādītājs

Datus, kas iegūti, novērtējot NeuMoDx CMV 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 1100 atsevišķus NeuMoDx CMV Assay rezultātus, un šie dati bija iegūti par abām sistēmām: NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Systems. Noteiktais UNR rādītājs bija 0,91% (10/1100), un noteiktais IND rādītājs bija 0,36% (4/1100); tie atbilst analīzes akceptēšanas kritērijiem. Tāpēc secināja, ka NeuMoDx CMV Assay derīgo rezultātu rādītājs dažādās sistēmās NeuMoDx Systems ir 98,7% ar 95% TI (97,9–99,2).

Krusteniskā kontaminācija

NeuMoDx CMV Quant Assay krusteniskās kontaminācijas rādītāju noteica, pārmaiņus testējot trīs ļoti pozitīvu un negatīvu CMV parauga materiālu kopas. Pavisam testēja 108 CMV negatīva plazmas atkārtojumus un 108 plazmas atkārtojumus, kam pievienots CMV koncentrācijā 6,0 log₁₀ SV/ml. Visu negatīvā parauga materiāla 108 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 etilēndiamīntetraetiķskābi (EDTA), gan ar skābes-citrāta-dekstrozes šķīdumu (ACD) plazmas sagatavošanai. Lai noteiktu līdzvērtīgumu, testēja arī svaigos un sasaldētus plazmas parauga materiālus (kas paņemti abu veidu stobriņos). Svaigos parauga materiālus glabāja 4 °C temperatūrā, līdz tiem pievienoja CMV trīs 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 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 un svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu teicamu līdzvērtīgumu, virziena koeficienti atbilda 0,02 no 1,0, un novirze (regresijas konstante) bija ļoti maza, kā parādīts tālāk šeit: 11. tabula.

11. tabula. Parauga materiālu matricēs līdzvērtīgums

Prasība parametram	ACD, salīdzinot ar K2EDTA		Svaigs, salīdzinot ar sasaldētu	
	Svaigs	Sasaldēts	ACD	EDTA
Virziena koeficients [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Regresijas konstante [$<0,5 \log_{10}$ SV/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
<i>p</i> vērtība $>0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

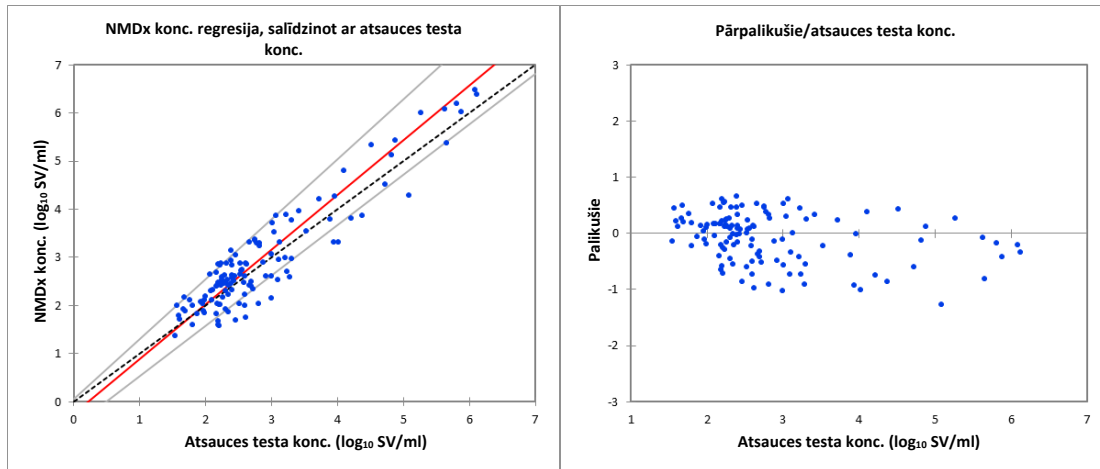
Klīnisko metožu salīdzinājums

NeuMoDx CMV Quant Assay kvantitatīvo darbības efektivitāti novērtēja, ar FDA/CE apstiprinātām salīdzinājuma analīzēm testējot neatšķaidītus klīniskos parauga materiālus no pacientiem, kas inficējušies ar CMV. Testēšanu veica iekšēji uzņēmumā NeuMoDx vienkārši maskēta pētījuma veidā, izmantojot pārpalikušus klīniskos parauga materiālus bez identificējošas informācijas, kas iegūti no četrām ārējām atsaucēs laboratorijām. Ar NeuMoDx CMV Quant Assay (vienkārši) maskētā veidā vairākās NeuMoDx Molecular Systems apstrādāja pavisam 284 plazmas parauga materiālus.

Dažādajās NeuMoDx Molecular Systems iegūtās apstrādes un sistēmas kļūdas bija minimālas un atbilda kritērijiem. Paraugiem ieguva pavisam 3 rezultātus Indeterminate (Neskaidrs) (IND), tādējādi vispārējais sākotnējais IND rādītājs bija 1% ar 95% TI (0,27–3,32%). Tilpums nebija pietiekams, lai šos 3 parauga materiālus apstrādātu atkārtoti normālas darbības apstākļos. Sākumā ieguva 10 rezultātus Unresolved (Neatrisināts) (UNR), bet, izpildot CMV Quant Assay ieteikto procedūru par atšķaidīšanu attiecībā 1:10 atšķaidītājā Basematrix, ja rezultāti ir UNR, proti, atkārtoti testējot visus 10 atbilstoši atšķaidītus UNR paraugus, ieguva derīgus rezultātus. Tādējādi kopējais apstrādes kļūdas rādītājs bija 1,06% ar 95% TI (0,27%–3,3%), jo paraugus ar rezultātu Indeterminate (Neskaidrs) nepietiekamā tilpuma dēļ nebija iespējams testēt atkārtoti.

4 paraugiem tika ģenerēts kvantitatīvās noteikšanas kļūdas karodziņš, un 3 no šiem 4 paraugiem varēja testēt atkārtoti atbilstoši ieteiktajai procedūrai, izmantojot parauga atšķaidījumu attiecībā 1:10 atšķaidītājā Basematrix, lai iegūtu derīgu kvantitatīvo rezultātu. No pētījumā iegūtajiem 283 derīgajiem rezultātiem 129 paraugiem ar NeuMoDx CMV Assay ziņotais rezultāts bija Positive (Pozitīvs), atbilstošas koncentrācijas vērtības nosakot atbilstīgi atsaucēs testiem. Sešiem no šiem paraugiem atsaucēs testā piecu paraugu rezultāts bija zem LLoQ, bet viena parauga rezultāts bija virs ULoQ, tāpēc pavisam 123 paraugiem bija atbilstošas koncentrācijas vērtības, kas noteiktas ar NeuMoDx CMV Quant Assay un atsaucēs CE-IVD testiem, un tos izmantoja kvantitatīvās korelācijas analīzei. Deminga regresijas un Passinga-Babloka regresijas analīzes izmantoja, lai NeuMoDx CMV Assay koncentrācijas vērtības korelētu ar atsaucēs testu ziņotajām vērtībām.

Lai attēlotu korelāciju starp NeuMoDx CMV Quant Assay koncentrācijām un atsaucēs testu koncentrācijas vērtībām visiem testētajiem paraugiem, izveidoja līdzvērtīguma diagrammas, izmantojot Deminga regresijas pielāgojumu un Passinga-Babloka pielāgojumu, kas ir parādīts šeit: 5. attēls.



5. attēls. Līdzvērtīguma (*pa kreisi*) un pārpalikušo paraugu (*pa labi*) diagrammas – NeuMoDx CMV Quant Assay rezultātu kumulatīvā analīze (abām NeuMoDx Systems) salīdzinājumā ar atsaucē testu rezultātiem VISIEM paraugiem, pamatojoties uz Passinga-Babloka regresijas analīzi.

Deminga regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 1,1 ar 95% TI (1,0; 1,2) un regresijas konstante (novirze) -0,18 ar 95% TI (-0,39; 0,03), kas pierāda, ka ar NeuMoDx CMV Quant Assay un atsaucē testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi. Passinga-Babloka lineārās regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 1,1 ar 95% TI (1,0; 1,2) un regresijas konstante (novirze) -0,24 ar 95% TI (-0,51; 0,06), kas pierāda, ka ar NeuMoDx CMV Quant Assay un atsaucē testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi, kā parādīts šeit: **12. tabula**.

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

Deminga analīze		Passinga-Babloka analīze	
Regresijas konstante	Virziena koeficients	Regresijas konstante	Virziena koeficients
-0,18	1,1	-0,24	1,1
95% TI (-0,39; 0,03)	95% TI (1,0; 1,2)	95% TI (-0,51; 0,06)	95% TI (1,0; 1,2)

ATSAUCES

1. Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
2. Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
3. A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
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.

PREČU ZĪMES











NeuMoDx™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.

NeuDry™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.

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.

APZĪMĒJUMI

APZĪMĒJUMS	NOZĪME
R only	Lietošanai tikai ar recepti
	Ražotājs
IVD	Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
EC REP	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā
REF	Kataloga numurs
LOT	Partijas kods
	Derīguma termiņš
	Temperatūras robežvērtība
	Mitruma ierobežojums
	Nelietot atkārtoti
	Satur pietiekami daudz materiāla <n> testiem
	Skatīt lietošanas instrukciju
	Uzmanību!
	Bioloģiskie riski
	CE zīme

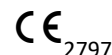


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

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