

REF
201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0
R only

FIGYELEM! Kizárólag az Egyesült Államokból történő exportra

IVD
***In vitro* diagnosztikai használatra a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékekkel**

 A terméktájékoztatóval kapcsolatos frissítések a következő weboldalon találhatóak: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvét; cikkszám: 40600108.

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvét; cikkszám: 40600317.

ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 egy automatizált, *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a humán Epstein–Barr-vírus (EBV) DNS mennyiségi meghatározására transzplantáción átesett, immunkomprimált betegektől származó EDTA-s plazmában.

A NeuMoDx 288 Molecular System és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékeken használt NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 részét képezi a célnukleinsavak mintából történő izolálására szolgáló automatikus DNS-extrakció, valamint az EBV genomban található két, erősen konzervált régiót megcélzó valós idejű PCR).

Az assay rendeltetése, hogy segítségül szolgáljon a perifériás vér EBV DNS-szintjének monitorozásában a vírusellenes kezelésre adott terápiás válasz felmérése céljából. Ezt az assay-t a klinikai képpel és a betegségprogresszió más laboratóriumi markereivel együtt kell értékelni az EBV-fertőzés klinikai kezeléséhez és monitorozásához.

Ez az assay nem használható az EBV DNS vérben vagy vércsökkentvényekben való jelenlétének szűrésére. A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tesztet olyan szakképzett klinikai laboratóriumi személyzet használhatja, aki speciális képzéssel és gyakorlattal rendelkezik a valós idejű PCR-technikák és az *in vitro* diagnosztikai eljárások és/vagy a NeuMoDx Molecular System készülékek terén. A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 nem használható öntesztelésre, és nem alkalmazható betegség mellett.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril vérvételi csövekbe gyűjtött humán teljes vér használható. A vizsgálat elkezdéséhez a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőben található plazmát mintacsőtartóba kell helyezni és betölteni a NeuMoDx System munkaasztalra. Minden minta esetében a plazmaminta egy 550 µl-es alikvotját össze kell keverni NeuMoDx Lysis Buffer 1 lízispufferrel, majd a NeuMoDx System automatikusan elvégzi a célnukleinsav extrakciójához szükséges valamennyi lépést, előkészíti az izolált DNS-t a valós idejű PCR-amplifikációra, és ha jelen vannak, amplifikálja és kimutatja az amplifikációs termékeket (az EBV genom két erősen konzervált régióját). A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 részét képezi egy DNS-mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1), amely segíti a potenciálisan gátló anyagok jelenlétének, illetve az extrakciós és az amplifikációs folyamat során a NeuMoDx System készülék és a reagensek esetében észlelhető hibák monitorozását.

Az EBV a humán herpeszvírus családnhoz tartozó, gyakran előforduló, kettős szálú DNS-vírus, amely bármely életkorban fertőző lehet. Becslések szerint világszerte az emberek > 90%-a fertőzött vagy volt már fertőzött EBV-vel.¹ Az EBV testfolyadékokon, például nyálon, vérében, ondófolyadékon keresztül, valamint szervátültetéssel terjed. Sok ember fertőződik meg EBV-vel gyermekkorában. Ezek az egyének az EBV-fertőzés alatt jellemzően tünetmentesek. Az immunkomprimált egyéneknél súlyosabb tünetek és szövődmények alakulhatnak ki az EBV-fertőzéstől. A látens EBV-fertőzés a legnagyobb kockázatot a transzplantált betegek számára jelenti. A transzplantáció utáni limfoproliferatív zavarok (post-transplant lymphoproliferative disorders, PTLD) közé sorolható az EBV által vezérelt daganatképződés a B-sejtekben az immunosuppresszív szerekek az EBV immun szabályozására kifejtett hatása miatt, ami a morbiditás és mortalitás egyik legjelentősebb oka a bármilyen szervtranszplantáción áteső betegeknél.²

Az EBV-vírussterhelés monitorozása segítségül használható az EBV-hez társuló PTLD diagnosztizálása és kezelése során. A diagnózis felállításához azonban elengedhetetlen a biopszia elvégzése. Az EBV-vírussterhelés monitorozása ezenkívül az EBV-hez társuló PTLD-re adott kezelés – jellemzően rituximab és az immunosuppresszív terápia csökkentése – által kiváltott válasz nyomon követésére is használható.³

AZ ELJÁRÁS ELVE

A NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 a következőket használja az elemzés elvégzéséhez: NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 és NeuMoDx általános felhasználású reagensek. A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kombinálja az automatizált DNS-extrakciót, az amplifikációt és a valós idejű PCR segítségével történő detektálást. A plazma előkészítéséhez teljesvér-mintákat kell gyűjteni EDTA-t tartalmazó csövekbe. A NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőben lévő plazmamintát mintacsőtartóba kell helyezni, és be kell tölteni a NeuMoDx System munkaasztalára a feldolgozáshoz. További kezelői beavatkozásra nincs szükség.

A NeuMoDx System készülékek hő, lítikus enzim és extrakciós reagensek kombinálásával automatikusan végzik a sejtlízist, a DNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat mágneses affinitás mikrogömbök fogják be. A mikrogömbök a hozzájuk kötődő nukleinsavakkal együtt betöltésre kerülnek a NeuMoDx Cartridge kazettába, ahol a NeuMoDx Wash Reagent kimossa a nem kötődő, nem DNS összetevőket, a NeuMoDx Release Reagent pedig eluálja a kötött DNS-t. Ezután a NeuMoDx System az eluált DNS segítségével rehidratálja a szabadalmazott NeuDry™ amplifikációs reagenseket, amelyek az EBV-specifikus célszekvenciák és az SPC1 PCR-amplifikációjához szükséges összes elemet tartalmazzák. A NeuDry PCR-reagensek rekonstitúciója után a NeuMoDx System kiadagolja az elkészített, PCR-hez való, használatra kész keveréket a NeuMoDx Cartridge kazettába. A kontroll és a cél DNS-szekvenciák (ha jelen vannak) amplifikációja és detektálása a NeuMoDx Cartridge kazetta PCR-kamrájának területén történik. A NeuMoDx Cartridge kazetta úgy van kialakítva, hogy a valós idejű PCR-t követően az amplikont is tartalmazza, ezáltal lényegében kiküszöbölhető az amplifikáció utáni szennyeződés kockázata.

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 az EBV genom két erősen konzervált régióját, a BALF5 és a BXFL1 régiót célozza meg. A kettőscélszekvencia-kialakítás csökkenti az álnegatív eredmények kockázatát abban az esetben, ha az egyik cél régióban mutáció lépne fel, és ezáltal megnöveli az assay megbízhatóságát. Az amplifikált célszekvenciák detektálása valós időben, hidrolízispróba (általában használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az amplikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak.

A TaqMan próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens módon kötődő fluorofór- és a 3' végen egy quencher molekulát tartalmaznak. Amíg a próba ép, a fluorofór és a quencher molekula egymáshoz közel helyezkednek el, ami azt eredményezi, hogy a quencher molekula Förster-féle rezonáns energiaátadás (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) révén kioltja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát.

Kialakításuk révén a TaqMan próbák feltapadnak a primerek specifikus csoportja által amplifikált DNS-régió belüli. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor felszabadul a fluorofór, és távolabb kerül a quencher-től, miáltal a FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén leküzdí a kioltó hatást és lehetővé teszi a fluorofór fluoreszcenciás detektálását. A keletkező fluoreszcens jel egyenesen arányos a felszabadult fluorofórral, és összefügg a jelen lévő cél DNS mennyiségével.

Az EBV DNS mindkét célszekvenciájának detektálásához az 5' végen fluorofórral (gerjesztés: 490 nm, emisszió: 521 nm), a 3' végen pedig sötét quencherrel megjelölt TaqMan próba használatos. Az SPC1 detektálásához a TaqMan próbát váltakozó fluoreszcens festékkel (gerjesztés: 535 nm, emisszió: 556 nm) jelölik meg az 5' végen, és egy sötét quencherrel a 3' végen. A NeuMoDx System szoftvere monitorozza a TaqMan próbák által az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jeleket. Az amplifikáció befejeztével a NeuMoDx System szoftvere elemzi az adatokat, és kiadja az eredményt (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / NO RESULT (Nincs eredmény) / UNRESOLVED [Nem meghatározható]). Ha az eredmény POSITIVE (Pozitív), a NeuMoDx System szoftvere kvantitatív értéket is megad a mintához, vagy jelenti, ha a kiszámított koncentráció a lineáris tartományon kívül esik.



REAGENSEK / FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Egység/csomag	Teszt/egység	Teszt/csomag
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 EBV-specifikus és SPC1-specifikus TaqMan próbát és primereket tartalmazó szárított RT-PCR-reagens	6	16	96

Szükséges, de nem biztosított anyagok (külön kaphatók a QIAGEN vállalatától)

REF	Tartalom
800501	NeuMoDx EBV Calibrators A standard görbe validitásának meghatározására szolgáló, magas és alacsony koncentrációjú EBV-kalibrátortokat tartalmazó egyszer használatos készletek (mindegyik kontrollból 1 üveg = 1 készlet)
900502	NeuMoDx EBV External Controls A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 naponkénti validitásának meghatározására szolgáló, EBV-re gyengén és erősen pozitív, illetve negatív kontrollt tartalmazó egyszer használatos készletek (mindegyik kontrollból 1 üveg = 1 készlet)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Szárított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontroll
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II hegyek (300 µl) szűrőkkel
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II hegyek (1000 µl) szűrőkkel

Szükséges készülékek

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

NeuMoDx System szoftver, 1.9.2.6-os vagy újabb verzió



FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kizárólag a NeuMoDx System készülékekkel használható *in vitro* diagnosztikai használatra.
- A reagens és a fogyóeszközök a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenset.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenset felhasználni, ha a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült érkezéskor.

- A klinikai minták teszteredményeinek kiadásához rendelkezni kell érvényes (a magas és alacsony koncentrációjú NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501] feldolgozásával generált) tesztkalibrálással.
- A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 teszttel történő vizsgálat során 24 óránként futtatni kell NeuMoDx EBV External Controls külső kontrollokat [REF 900502].
- Az EDTA-s plazma másodlagos alikvotjainak minimális mintaterfogatára vonatkozóan „A teszt előkészítése” című későbbi szakasz tartalmaz részletes információkat. Az előírt minimumnál kisebb mennyiségek „Quantity Not Sufficient” (Nem elegendő mennyiség) hibát eredményezhetnek.
- A nem megfelelő hőmérsékleten vagy a megadott tárolási időn túl tárolt minták használata érvénytelen vagy hibás eredményeket adhat.
- Ügyeljen arra, hogy egyik reagensbe és fogyóeszközre se kerüljön mikrobiális vagy ribonukleáz (DNáz) szennyeződés. Steril, DNáz-mentes, egyszer használatos transzferpipetták használata ajánlott másodlagos csövek használata esetén. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx Cartridge kazettákat. Semmilyen körülmények között se vegye ki a NeuMoDx Cartridge kazettákat a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályából (NeuMoDx 288 Molecular System) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolójából (NeuMoDx 96 Molecular System). A NeuMoDx Cartridge kazetta úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a szennyeződést.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a teszthez szükséges NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, a további fogyóeszközök és reagensok, az egyéni védőeszközök (pl. kesztyű és laboratóriumi köpeny), valamint a NeuMoDx System ne szennyeződjenek.
- NeuMoDx reagensok és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes nitril védőkesztyűt kell használni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx Cartridge kazetta felső felületét, a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 és a NeuMoDx Extraction Plate zárófoliás felületét vagy a NeuMoDx Lysis Buffer tartályának felső felületét. A fogyóeszközök és reagensok manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- Minden reagenshez a www.giagen.com/neumodx-ifu weboldalon biztosítunk (szükség szerint) biztonsági adatlapot (Safety Data Sheet, SDS).
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezet.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagensket kezelnek.
- A mintákat mindig potenciálisan fertőző anyagként, biztonságos, például a *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ és az M29-A4 jelű CLSI dokumentumban⁵ leírt laboratóriumi eljárásoknak megfelelően kell kezelni.
- Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. A további tudnivalókat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazzák.
- A nem felhasznált reagensok és a hulladék ártalmatlanítását az országos, szövetségi, regionális, állami és helyi szabályozásoknak megfelelően kell elvégezni. Kövesse a biztonsági adatlapon (Safety Data Sheet, SDS) található ajánlásokat.

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Bórsavat tartalmaz. Veszély! Súlyos szemirritációt okoz. Károsíthatja a termékenységet vagy a születendő gyermeket. Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Orvosi ellátást kell kérni. Elzárva tárolandó. A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

Vészhelyzeti információk

CHEMTRAC

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887



A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

1. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsíkok elsődleges csomagolásukban, 15–28 °C között tárolva a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati időig stabilak.
2. A NeuMoDx System készülékbe betöltött NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsík 14 napig maradhat a berendezésben. A betöltött tesztcsíkok maradék felhasználhatósági időtartamát a szoftver nyomon követi és valós időben jelenti a felhasználóknak. A rendszer felszólítja a felhasználót, hogy távolítsa el a megengedett időszakon túl használatban lévő tesztcsíkokat.
3. Bár nem fertőzőek, a NeuMoDx EBV Calibrators kalibrátorokat és a NeuMoDx EBV External Controls külső kontrollokat a laboratórium biológiai veszélyt jelentő hulladékainak tartályába kell kidobni használat után a szennyeződés kockázatának csökkentése érdekében.

MINTAGYŰJTÉS, -SZÁLLÍTÁS ÉS -TÁROLÁS

Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.

1. Az elsődleges csövekben tárolt teljesvér- vagy bármilyen más mintákat tilos lefagyasztani.
2. Plazmaminták készítéséhez a teljes vért antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril csövekbe kell venni. Kövesse a mintagyűjtő cső gyártójának utasításait.
3. A fent felsorolt eszközökbe gyűjtött teljes vért legfeljebb 24 órán át szabad tárolni és/vagy szállítani 2–25 °C-on a plazma előkészítése előtt. A plazma-előkészítést a gyártó utasításainak megfelelően kell végezni.
4. Az előkészített plazmaminták a feldolgozás előtt legfeljebb 8 órán át maradhatnak a NeuMoDx System készülékben. Ha ennél hosszabb tárolási időre van szükség, javasolt a mintákat hűteni vagy lefagyasztani.
5. Az előkészített plazmaminták vizsgálat előtt 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig, szobahőmérsékleten pedig legfeljebb 8 órán át tárolhatók.
6. Az előkészített plazmaminták –20 °C-on legfeljebb 8 hétig tárolhatók. A plazmamintákat nem szabad több mint 2 fagyasztási/kiolvasztási ciklusnak alávetni felhasználás előtt.
 1. Ha a mintákat lefagyasztották, hagyja, hogy szobahőmérsékleten (15–30 °C-on) teljesen kiolvadjanak. Ezt követően keverje fel a mintákat vortex keverővel az egyenletes eloszlás érdekében. A mintáknak a vizsgálat előtt szobahőmérsékletűnek kell lenniük.
 2. A lefagyasztott minták kiolvasztása után a tesztet 8 órán belül el kell végezni.
7. Szállítás esetén a mintákat a vonatkozó országos és/vagy nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell becsomagolni és felcímkézni.

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

A teszt előkészítése

1. Ragassza fel a minta vonalkódcímkéjét a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis, az alábbi leírásnak megfelelő mintacsőre.
2. Mérjen be egy mintaalkivotot a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis vonalkódos mintacsőbe, az alábbiakban megadott térfogatok szerint:
3. *Plazmaminták esetén:*
 - Mintacsőtartó (32 csöves): 11–14 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Mintacsőtartó (24 csöves): 14,5–18 mm átmérőjű és 60–120 mm magas; a minimális töltőtérfogat $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Kis térfogatú mintacsőtartó (32 csöves): 1,5 ml-es kúpos aljú mikrocentrifuga-cső; a minimális töltőtérfogat $\geq 650 \mu\text{l}$

A NeuMoDx System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317).

1. Töltse fel egy vagy több NeuMoDx System Test Strip Carrier tartót NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tesztcsíktartó(ka)t a NeuMoDx System készülékbe.
2. Amikor a NeuMoDx System szoftvere felszólítja erre, helyezze be a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx System fogyóeszköztartójába és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx System készülékbe.
3. Ha a NeuMoDx System szoftvere felszólítja erre, szükség szerint töltsse fel a NeuMoDx Wash Reagent, illetve NeuMoDx Release Reagent reagenseket, ürítse ki a feltöltési hulladékot, a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tartályát (csak a NeuMoDx 288 Molecular System esetében), a hegyek hulladéktárolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolóját (csak a NeuMoDx 96 Molecular System esetében).
4. Ha a NeuMoDx System szoftvere felszólítja erre, dolgozza fel szükség szerint a kalibrátorokat (REF 800501) és/vagy külső kontrollokat (REF 900502). A kalibrátorokkal és kontrollokkal kapcsolatos további információk „Az eredmények feldolgozása” című részben található.
5. Helyezze be a mintacsőve(ke)t egy mintacsőtartóba és ügyeljen arra, hogy minden mintacsőről eltávolítsa a kupakot, valamint hogy eltávolítsa belőlük a tamponokat.
6. Helyezze a mintacsőtartó(ka)t az automatikus betöltőpolcra és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx System készülékbe. Ez elindítja az azonosított teszt(ek)re vonatkozó betöltött minták feldolgozását, amennyiben a rendszerben jelen van egy érvényes tesztelés.

KORLÁTOZÁSOK

1. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 csak a NeuMoDx System készülékeken használható.
2. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 teljesítményét antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó csövekbe vett, teljes vérből készített plazmamintákkal határozták meg. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 más forrásokkal való használatát nem vizsgálták, és más mintatípusok esetén a teljesítményjellemzők nem ismertek.
3. Mivel az EBV detektálása általában függ a mintában jelen lévő vírusrészecskék számától, az eredmények megbízhatósága a megfelelő mintagyűjtéstől, -kezeléstől és -tárolástól függ.
4. A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a mintacsövek felcserélése hibás eredményekhez vezethet. Ezenkívül álnegatív eredményeket kaphatunk, ha a vírusrészecskék a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 detektálási határértéke alatti számban vannak jelen a mintában.
5. A NeuMoDx System készüléket kizárólag a NeuMoDx System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek működtethetik.

6. Ha sem a két EBV-célszekvencia, sem az SPC1-célszekvencia nem amplifikálódik, a rendszer érvénytelen eredményt ad (Indeterminate [Nem eldönthető] vagy Unresolved [Nem meghatározható]), és a tesztet meg kell ismételni.
7. Ha a mintafeldolgozás befejezése előtt rendszerhiba következik be, a készülék „No Result” (Nincs eredmény) jelölést ad, és a tesztet meg kell ismételni.
8. Ha a detektált EBV DNS a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) fölötti értékű, a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 megismételhető az eredeti minta egy hígított alikvotjával. EBV-negatív plazmában vagy Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA) hígítószerben végzett 1:100 vagy 1:1000 arányú hígítás javasolt. A rendszer automatikusan kiszámolja az eredeti minta koncentrációját az alábbiak szerint: Az eredeti mintakonzentráció = \log_{10} (hígítási tényező) + a hígított minta jelentett koncentrációja, amennyiben a hígítási tényezőt megfelelően választották ki a szoftverben az ismétlés előtt.
9. A PCR-gátló anyagok jelenléte a plazmában a rendszer mennyiségi meghatározási hibájához vezethet. Ilyenkor a tesztet javasolt megismételni ugyanannak a mintának a Basematrix oldószerezrel elkészített, 1:10 vagy 1:100 arányú hígításával.
10. A pozitív eredmény EBV DNS jelenlétére utal.
11. Habár kicsi a valószínűsége, a NeuMoDx EBV Quant Assay által megcélzott konzervált régiókban létrejött deléciók vagy mutációk befolyásolhatják a detektálást és/vagy mennyiségi meghatározást, illetve hibás eredményt adhatnak.
12. A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyéb információk kiegészítéseként kell felhasználni. A teszt nem alkalmas fertőzés diagnosztizálására.
13. A szennyeződés elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcsere.

AZ EREDMÉNYEK FELDOLGOZÁSA

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók. A NeuMoDx System szoftvere a döntési algoritmus és a NeuMoDx EBV Quant Assay assay-definíciós fájljában (4.0.0-s vagy újabb verziójú EBV Quant ADF) megadott eredményfeldolgozási paraméterek segítségével automatikusan generálja a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 eredményeit. A célszekvencia és a mintafeldolgozási kontroll amplifikációs státusza alapján a leleten a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 eredményei a következőképpen jelenhetnek meg: Negative (Negatív), Positive (Pozitív) az EBV DNS-koncentráció megadásával, Indeterminate (Nem eldönthető), No Result (Nincs eredmény) vagy Unresolved (Nem meghatározható). A készülék az eredményeket az alábbi 1. táblázatban összefoglalt ADF eredményfeldolgozó döntési algoritmus alapján jelenti.

1. táblázat: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 eredményeinek értelmezése

Eredmény	EBV-célszekvenciák	Mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitív)	AMPLIFIED (Amplifikált) [2 ≤ Ct < 28 ÉS EPR > 1,3 ÉS EP > 1200] VAGY [28 < Ct < 38 ÉS EP > 1200]	N/A
Positive, above Upper Limit of Quantitation (Pozitív, a mennyiségi meghatározás felső határa [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] fölött) (log₁₀ NE/ml)	[CONC] (Konc.) > 8,0 log ₁₀ NE/ml, NO QUANT (Nincs mennyiségi meghatározás)	N/A
Positive, below Lower Limit of Quantitation (Pozitív, a mennyiségi meghatározás alsó határa [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] alatt) (log₁₀ NE/ml)	[CONC] (Konc.) < 1,48 log ₁₀ NE/ml, NO QUANT (Nincs mennyiségi meghatározás)	N/A
Negative (Negatív)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) N/A VAGY [2 ≤ Ct < 28 ÉS EPR ≤ 1,3 ÉS EP > 1200] VAGY [28 ≤ Ct < 38 ÉS EP > 1200] VAGY Ct > 38	AMPLIFIED (Amplifikált) [29 < Ct < 35 és EP ≥ 2000]
No Result (Nincs eredmény)*	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Aborted (Minta feldolgozása megszakadt)	
Indeterminate (Nem eldönthető)*	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Completed (Minta feldolgozása befejezve)	
Unresolved (Nem meghatározható)*	Not Amplified (Nem amplifikált), No System Error Detected (Nincs detektált rendszerhiba)	

EP = End Point Fluorescence, végponti fluoreszcencia; EPR = End Point Fluorescence Ratio, végpontifluoreszcencia-arány; Ct = Cycling Threshold, ciklusküszöbérték;

Quant = a jelen lévő EBV számított mennyisége log₁₀ NE/ml mértékegységben kifejezve. Lásd az alábbi „Teszttel kapcsolatos számítások” című szakaszt.

* A rendszer opcionális Rerun (Újrafuttatás) / Repeat (Ismétlés) funkcióval rendelkezik, ami érvénytelen eredmény esetén lehetővé teszi az automatikus újrafeldolgozást, ezzel minimálisra csökkentve a leletkiadás késleltetését.

Teszttel kapcsolatos számítások: Minták

- A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 lineáris tartományán belül eső minták esetében a készülék kiszámítja az EBV DNS koncentrációját a tárolt standard görbe és a kalibrációs koefficiens segítségével.
 - A „kalibrációs koefficiens” a standard görbe validitásának a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 egyes tételeinél, adott NeuMoDx System készüléken való megállapítása érdekében feldolgozott NeuMoDx EBV Calibrators kalibrátorok eredményei alapján kerül kiszámításra.
 - A kalibrációs koefficiens a rendszer automatikusan alkalmazza az EBV DNS koncentrációjának végső meghatározásakor.
- A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 eredményei NE/ml és log₁₀ NE/ml mértékegységben jelennek meg a leleten.
- Az ismeretlen minták mennyiségi meghatározási eredményei a WHO 1. nemzetközi, nukleinsav-amplifikációs technikákkal alkalmazandó Epstein-Barr-vírus standardjára vezethetők vissza.

Tesztel kapcsolatos számítások: Kalibrátorok

A EBV DNS mintákban történő mennyiségi meghatározásához standard görbén alapuló érvényes kalibrálásra van szükség. Érvényes eredmények generálásához tesztkalibrálást kell végezni a NeuMoDx Molecular, Inc. által biztosított kalibrátorokkal.

1. A NeuMoDx EBV Calibrator kalibrátorokat kitben [REF 800501] biztosítják, és Basematrix oldószerben előkészített, nem fertőző, tokba zárt EBV-célszekvenciát tartalmaz.
2. A NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsíkok minden új tételével fel kell dolgozni egy EBV kalibrátorkészletet, ha új EBV assay-definíció fájlt töltenek be a NeuMoDx System készülékbe, ha az aktuális kalibrátorkészlet túllépte a validitási időszakot (ami 90 napra van beállítva), vagy ha a NeuMoDx System szoftverét módosítják.
3. A NeuMoDx System szoftvere értesíti a felhasználót, amikor szükség van a kalibrátorok feldolgozására. Új tesztcsíktétel addig nem használható vizsgálathoz, amíg a kalibrátorokat sikeresen fel nem dolgozták.
4. A kalibráció validitása a következőképpen állapítható meg:
 1. Két kalibrátorból – magas és alacsony koncentrációjú – álló készletet kell feldolgozni a validitás megállapításához.
 2. Érvényes eredmények generálásához a 3 párhuzamos közül legalább 2-nek az előre meghatározott paramétertartományba eső eredményeket kell adnia. Az alacsony koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke 3 log₁₀ NE/ml, a magas koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke pedig 5 log₁₀ NE/ml.
 3. A készülék kiszámítja a kalibrációs koefficienset a tesztcsíktételek közötti várható eltérések kompenzálása érdekében. Ezt a kalibrációs koefficienset használja a végső EBV DNS-koncentráció meghatározásához.
5. Ha a kalibrátorok egyikénél vagy mindkettőnél sikertelen a validitási vizsgálat, egy új üveggel ismételje meg a sikertelen kalibrátor(ok) feldolgozását. Ha csak az egyik kalibrátor érvénytelen, elég lehet a sikertelen kalibrátor feldolgozását megismételni, mivel a rendszer nem várja el mindkét kalibrátor újrafuttatását.
6. Ha a kalibrátor(ok) validitási tesztje második alkalommal is sikertelen, lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki támogatásával.

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 nem ad érvényes eredményt, ez a leleten Indeterminate (Nem eldönthető), No Result (Nincs eredmény) vagy Unresolved (Nem meghatározható) jelöléssel jelenik meg a bekövetkezett hibától függően, és a tesztet meg kell ismételni az érvényes eredményhez.

Az eredmény akkor kap Indeterminate (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. Indeterminate (Nem eldönthető) eredmény esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Az eredmény akkor kap No Result (Nincs eredmény) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. No Result (Nincs eredmény) jelölés esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Unresolved (Nem meghatározható) eredmény közlésére olyankor kerül sor, ha nem detektálható célszekvencia, és a mintafeldolgozási kontroll nem amplifikálódik, ami esetleges reagenshibára vagy inhibitorok jelenlétére utal. Unresolved (Nem meghatározható) eredmény esetén első lépésként javasolt megismételni a tesztet. Ha az ismételt tesztelés sikertelen, hígított minta használható az esetleges gátló hatások csökkentésére (további útmutatásért lásd a „Korlátozások” című szakaszt).

A NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600108) vagy a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600317) megtalálja azoknak a hibakódoknak a listáját, amelyek összefügghetnek az érvénytelen eredményekkel.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontroll eljárásokért, és meg kell határozni a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosíthatatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

Külső kontrollok

1. A külső kontrollokat – amelyek pozitív kontrollként nem fertőző, tokba zárt EBV-célszekvenciát tartalmaznak Basematrixban, negatív kontrollként pedig Basematrix oldószert – a QIAGEN biztosítja a NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] kit formájában.
2. Pozitív és negatív külső kontrollokat 24 óránként fel kell dolgozni. Ha nem áll rendelkezésre érvényes külsőkontroll-készlet, a NeuMoDx System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy dolgozzon fel kontrollokat, mielőtt a mintaeredményeket jelenteni lehetne:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Várt koncentráció)	Címke színe
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5×10 ⁴ NE/ml (4,18 log ₁₀ NE/ml)	Vörös
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 NE/ml (2,18 log ₁₀ NE/ml)	Szürke
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A	Fekete

3. A külső kontrollok feldolgozásakor helyezze a kontrollokat egy mintacsőtartóba, és az érintőképernyő segítségével töltsen be a tartót a NeuMoDx System készülékbe az automatikus betöltőpolcra. A NeuMoDx System felismeri a vonalkódokat, és elkezd a kontrollok feldolgozását, ha elérhetőek a vizsgálathoz szükséges reagenszerek és fogyóeszközök.

4. A NeuMoDx System a várt eredmények alapján kiértékeli a külső kontrollok érvényességét.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV mennyiségi meghatározás eredménye	SPC1 eredmény
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV pozitív) [Conc] (Konc.) 3,68–4,68 log ₁₀ NE/ml	SPC1 pozitív
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV pozitív) [Conc] (Konc.) 1,58–2,78 log ₁₀ NE/ml	SPC1 pozitív
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV negatív)	SPC1 pozitív

5. A külső kontrollokkal kapcsolatos ellentmondó eredményeket a következőképpen kell kezelni:

- A negatív kontrollminta esetén jelentett pozitív teszteredmény szennyeződést jelezhet; a gyökérok feltáráshoz meg kell vizsgálni a laboratórium minőség-ellenőrzési eljárásait. Ügyeljen rá, hogy külön területeken történjen a minta-előkészítés, a kontrollok kezelése és az RT-PCR összeállítása. További hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288 vagy 96 Molecular System kezelői kézikönyvében* talál.
- Pozitív kontrollminta esetén jelentett negatív eredmény reagenssel vagy készülékkel kapcsolatos problémára utalhat.
- A fentiek bármelyike, illetve No Result (NR) (Nincs eredmény), Unresolved (UNR) (Nem meghatározható) vagy Indeterminate (IND) (Nem eldönthető) eredmény esetén ismétlje meg a sikertelen kontrollt: végezze el újra a tesztet az érvényességi teszten sikertelennek bizonyult kontroll újonnan felolvasztott üvegével.
- Ha a pozitív külső kontroll továbbra is Negative (Negatív) eredményt ad, forduljon a QIAGEN műszaki támogatásához.
- Ha a negatív külső kontroll továbbra is Positive (Pozitív) eredményt ad, mielőtt a QIAGEN műszaki támogatásához fordulna, próbáljon meg kiküszöbölni minden potenciális kontaminációs forrást (többek között cserélje le az összes reagenst), majd ismétlje meg a futtatást.
- Ha a külső kontrollok nem a várt eredményt adják, ismétlen le kell futtatni egy készlet pozitív és negatív kontrollt. Ha a kontrollok nem a várt eredményt adják, a készülék nem adja ki a mintaeredményeket.
- A NeuMoDx System automatikus Rerun (Újrafuttatás) / Repeat (Ismétlés) funkcióval rendelkezik, amelyet a felhasználó kiválaszthat annak biztosítása érdekében, hogy INVALID (Érvénytelen) eredmény esetén a rendszer automatikusan újrafeldolgozza a mintát, ezzel minimálisra csökkentve a leletkiadás késését.

Mintafeldolgozási (belső) kontrollok

A NeuMoDx Extraction Plate extrakciós lemezbe beépítettek egy exogén mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC1), amely minden minta/kontroll/kalibrátor esetében átesik a teljes nukleinsav-extrakciós és valós idejű RT-PCR-amplifikációs folyamaton. Az SPC1-re specifikus primerek és próbák részét képezik minden NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsíknak. Az SPC1 lehetővé teszi, hogy a NeuMoDx System monitorozza a DNS-extrakciós és az RT-PCR-amplifikációs folyamatok hatásosságát.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

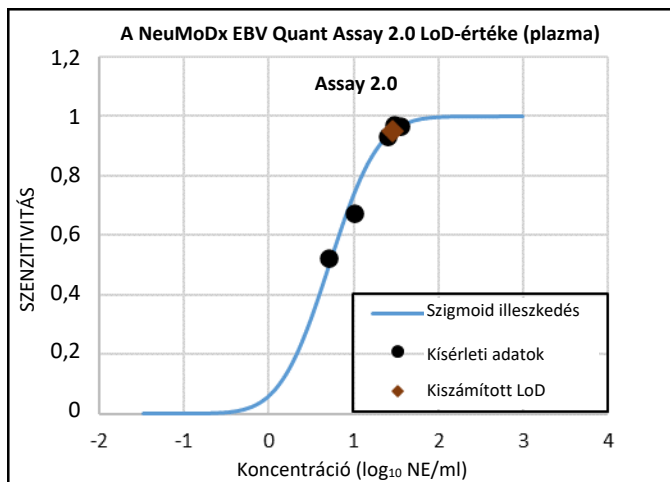
ANALITIKAI SZENZITIVITÁS – Detektálási határ

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 analitikai szenzitivitásának jellemzése két, egymást követő szakaszban történt: 1. a detektálási határ (Limit of Detection, LoD) előzetes felmérése (probit-elemzés), majd 2. az LoD megerősítése. Az 1. szakaszban a teszt NeuMoDx System készülékeken megfigyelhető előzetes LoD-jának meghatározásához negatív mintákat és a WHO 1. nemzetközi standardjának szűrt EBV-negatív humán plazmával elkészített hígítási sorát vizsgálták. Az előzetes LoD a meghatározás szerint az a legalacsonyabb célszekvencia-koncentráció, amelyet 95%-os arányban detektáltak a probit-elemzés szerint. A 2. szakaszban az előzetes LoD megerősítéséhez egy műviileg megfertőzött panelt vizsgáltak, amelyben a vírus DNS szintje megfelelt az LoD-nak. A vizsgálat mindkét szakaszát 3 napon keresztül végezték több készüléken, több NeuMoDx reagenstétellel. Az 1. szakaszban minden hígítási szinten összesen 144 párhuzamost dolgoztak fel. A detektálási arányok a 2. táblázatban láthatók.

2. táblázat: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 előzetes LoD-meghatározása

Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	PLAZMA		
		Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
35	1,54	144	139	96,5%
30	1,48	144	140	97,2%
25	1,40	143	133	93,0%
10	1,00	144	97	67,4%
5	0,70	143	75	52,4%
NEG (Negatív)	---	144	0	0,0%

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-értéke plazmában a WHO 1. nemzetközi EBV-standardjának használatával 29,3 NE/ml (1,47 log₁₀ NE/ml) volt, 24,4–37,1 NE/ml (1,39–1,57 log₁₀ NE/ml) értékű 95%-os konfidenciaintervallummal (confidence interval, CI) [1. ábra]. Az LoD értékét később megerősítették találati arány elemzéssel, amely a 3. táblázatban látható.



1. ábra: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-értékének plazmamintákban történő meghatározásához használt probit-elemzés

3. táblázat: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-értékének megerősítése

Készülék	Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Összesen			192	186	96,9%

A találati arány elemzés megerősítette, hogy az EBV 2-es genotípusa esetén (GT2) az LoD értéke 29,3 NE/ml [1,47 log₁₀ NE/ml].

Mindkét vizsgálat eredménye alapján a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-értéke 29,3 NE/ml [1,47 log₁₀ NE/ml].

ANALITIKAI SZENZITIVITÁS – a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Meghatározás szerint az LLoQ az a legalacsonyabb célszekvencia-koncentráció, amelynél > 95%-os detektálás érhető el és a teljes analitikai hiba (total analytical error, TAE) ≤ 1,0. Az LLoQ meghatározása érdekében kiszámolták a TAE értékét minden olyan EBV-célkoncentráció esetében, amelynél az LoD-számításakor > 95%-os arányú volt a kimutathatóság. A TAE meghatározása:

$$\text{TAE (total analytical error)} = \text{torzítás} + 2 * \text{szórás} \text{ (Westgard-statisztika)}$$

A torzítás az átlagos számított koncentráció és a várható koncentráció közötti különbség abszolút értéke. A szórás a minta mért értékének szórása.

Az EBV-s plazmamintákra vonatkozó 1. nemzetközi WHO standard LLoQ-vizsgálatban felhasznált 5 szintjének összesített eredményei a 4. táblázatban láthatók. Az adatkészlet és a korábban meghatározott LoD alapján az LLoQ értéke 30,0 NE/ml (1,48 log₁₀ NE/ml) volt, amit később megerősítettek az EBV 2-es genotípusára (GT2) vonatkozóan.

4. táblázat: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLoQ-értéke a torzítással és a TAE-értékkel

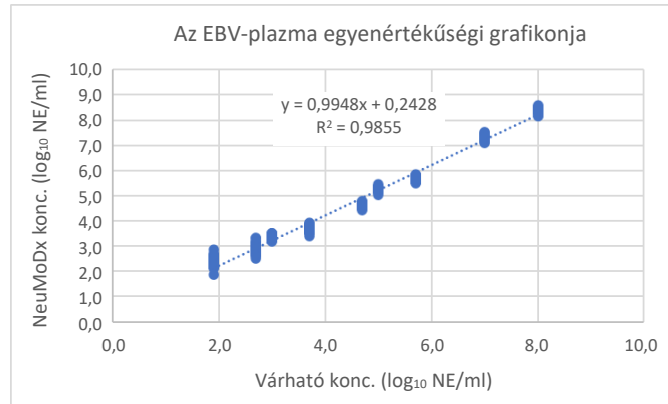
Célkonc. [NE/ml]	Célkonc. [log ₁₀ NE/ml]	Plazma				
		Átlagos konc. [log ₁₀ NE/ml]	Detektálási arány	Szórás	Torzítás	TAE
35	1,54	2,05	96,5%	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2%	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0%	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4%	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4%	0,27	1,13	1,68

Ezeknek a vizsgálatoknak az eredményei alapján a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LoD-értéke 29,3 NE/ml (1,47 log₁₀ NE/ml), LLoQ-értéke pedig 30,0 NE/ml [1,48 log₁₀ NE/ml].

Linearitás és a mennyiségi meghatározás felső határának (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) meghatározása

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitását és a mennyiségi meghatározás felső határát (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) plazmában a következő anyagok felhasználásával készített hígítási sor segítségével határozták meg: NeuMoDx tokba zárt EBV-célszekvencia, a WHO 1. nemzetközi standardjára visszavezethető ATCC EBV-kultúra (ATCC, Manassas, VA), valamint a WHO 1. nemzetközi EBV-standardja. Készítettek egy 10 tagú panelt poolozott EBV-negatív plazmában, 1,48–8,0 log₁₀ NE/ml koncentrációs tartományú tesztpanelét hozva létre. A NeuMoDx EBV Quant

Assay 2.0 ULoQ-értéke 8,0 log₁₀ NE/ml volt. Készítettek egy megerősítő panelt a standard görbe linearitásának értékelésére. Az EBV assay NeuMoDx System készülék által jelentett koncentrációi a várható értékekkel összehasonlítva itt láthatók: 2. ábra.



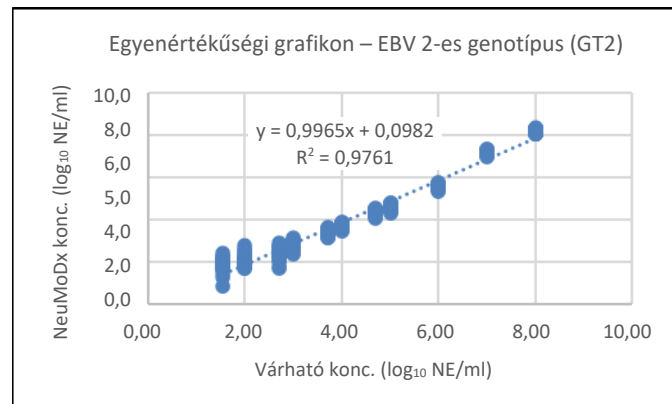
2. ábra: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitása

Linearitás az EBV 2-es genotípusa (GT2) esetén

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitásának az EBV 2-es genotípusa (GT2) esetén történő jellemzéséhez a WHO 1. nemzetközi EBV-standardjára visszavezethető EBV GT2-t vizsgáltak tizenegy különböző koncentrációban, amelyeket poolozott EBV-negatív plazmában készítettek el. A vizsgálat során 36 párhuzamost teszteltek 11 különböző koncentráció esetén, 2 NeuMoDx System készüléken, az EBV Quant Test Strip 2.0 tesztsík 3 tételének felhasználásával. Az EBV 2-es genotípusa (GT2) esetében tapasztalt linearitást az 5. táblázatban és a 3. ábrán mutatjuk be.

5. táblázat: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitása az EBV 2-es genotípusa esetében

Genotípus	Linearitási egyenlet y = NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 mennyiségi meghatározási értéke x = várható mennyiségi meghatározási érték	R ²
GT2	y = 0,9965x – 0,0982	0,9761



3. ábra: A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 linearitása az EBV 2-es genotípusa esetében

Analitikai specificitás – keresztreaktivitás

Az analitikai specificitást a vér-/plazmamintákban előforduló 36 mikroorganizmus, valamint az EBV-hez filogenetikailag hasonló fajok keresztreaktivitás tekintetében történő szűrésével igazolták. A mikroorganizmusokat 5–6-os poolokban, magas koncentrációban készítették elő. A tesztelt mikroorganizmusok a 6. táblázatban láthatók. Keresztreaktivitás a tesztelt mikroorganizmusok egyikével sem volt megfigyelhető, ami igazolta a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 100%-os analitikai specificitását.

6. táblázat: Az analitikai specificitás igazolásához használt kórokozók

Nem célmikroorganizmusok					
BK polyomavírus	Adenovírus 5-ös típus	Herpes simplex vírus 1-es típusa	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Cytomegalovírus	Hepatitis C vírus	Herpes simplex vírus 2-es típusa	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humán herpes vírus 6-os típusa	Parvovírus B19	Varicella zoster vírus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humán herpes vírus 7-es típusa	JC-vírus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humán herpes vírus 8-as típusa	Humán papillomavírus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B vírus	Humán papillomavírus 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, kommenzális mikroorganizmusok

Értékelték a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tesztet interferencia tekintetében nem cél-mikroorganizmusok jelenlétében, a keresztreaktivitás-vizsgálathoz készítettékkel megegyező, a fenti 6. táblázatban felsorolt mikroorganizmus-poolok felhasználásával. EBV-negatív plazmát 4–7-es csoportokba poolozott mikroorganizmusokkal preparáltak, majd ezeket a poolokat 90 NE/ml [1,95 log₁₀ NE/ml] koncentrációban EBV-célszekvenciával preparáltak. Ezen mikroorganizmusok jelenlétében nem volt megfigyelhető jelentős interferencia, amint azt a zavaró ágens nem tartalmazó kontrollminták mennyiségi meghatározási eredményeinek minimális eltérése is jelzi.

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, endogén és exogén anyagok

Értékelték a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tesztet a klinikai EBV plazmamintákban jellemzően előforduló exogén és endogén zavaró anyagok jelenlétében. Ide sorolhatók a vérösszetevők rendellenesen magas szintjei, valamint a gyakori vírusellenes és immunosuppresszáns gyógyszerek is, amelyek csoportosítása a 7. táblázatban látható. Az egyes anyagokat 90 NE/ml [1,95 log₁₀ NE/ml] EBV-vel preparált, szűrt EBV-negatív humán plazmához adták hozzá, és a mintákban fellépő interferencia vizsgálatához összehasonlították a jelentett koncentrációt a pozitív kontrolléval. Ezenkívül az EBV-fertőzéshez társuló gyakori betegségekben szenvedő betegektől származó plazmákat is teszteltek lehetséges interferencia tekintetében. Az összes vizsgált anyag átlagos koncentrációját és az EBV azonos koncentrációjával preparált kontrollmintákhoz viszonyított torzítást a 8. táblázat tartalmazza. A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 specificitását egyik exogén vagy endogén anyag sem befolyásolta.

7. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén ágensek (gyógyszerek osztályozása)

Pool	Gyógyszernév	Besorolás	Pool	Gyógyszernév	Besorolás
1. pool	Azatriopin	Immunsuppresszív szer	4. pool	Trimetoprim	Antibiotikum
	Ciklosporin	Immunsuppresszív szer		Vankomicin	Antibiotikum
	Foszkarzet	Vírusellenes szer (Herpesviridae)		Takrolimusz	Immunsuppresszív szer
	Ganciklovir	Vírusellenes szer (EBV)		Everolimusz	Immunsuppresszív szer
	Valganciklovir-hidroklorid	Vírusellenes szer (EBV)		Klavulanát-kálium	Antibiotikum
2. pool	Prednizon	Kortikoszteroid / immunsuppresszív szer	5. pool	Famotidin	Hisztaminreceptor-antagonista
	Cidofovir	Vírusellenes szer (EBV)		Szulfametoxazol	Antibiotikum
	Cefotetan	Antibiotikum (széles spektrumú)		Valaciklovir	Vírusellenes szer (Herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotikum (széles spektrumú)		Letermovir	Vírusellenes szer (EBV)
	Flukonazol	Gombaellenes szer		Tikarcillin-dinátrium	Antibiotikum
3. pool	Mikofenolát-mofetil	Immunsuppresszív szer	Leflunomid	Immunsuppresszív szer	
	Mikofenolát-nátrium	Immunsuppresszív szer			
	Piperacillin	Antibiotikum			
	Szirolimusz/rapamicin	Immunsuppresszív szer			
	Tazobaktám	Módosított antibiotikum			

8. táblázat: Interferenciavizsgálat – endogén és exogén ágensek

Endogén + kórállapot	Átlagos konc.	Torzítás
	Log ₁₀ NE/ml	Log ₁₀ NE/ml
Hemoglobin	2,19	0,32
Trigliceridek	1,90	0,02
Bilirubin	2,12	0,24
Albumin	1,95	0,07
Szisztémás lupus erythematosus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	2,08	0,20
Antinukleáris antitest (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Rheumatoid arthritis (Rheumatoid Arthritis, RA)	1,89	0,01
Positive Control (Pozitív kontroll)	1,88	N/A
Exogén (gyógyszerek)	Átlagos konc.	Torzítás
	Log ₁₀ NE/ml	Log ₁₀ NE/ml
1. pool: azatriopin, ciklosporin, foszkarnet, ganciklovir, valganciklovir-hidroklorid	2,19	0,09
2. pool: prednizon, cidofovir, cefotetán, cefotaxim, flukonazol	2,11	0,01
3. pool: mikofenolát-mofetil, mikofenolát-nátrium, piperacillin, szirolimusz/rapamicin, tazobaktám	2,16	0,06
4. pool: Trimetoprim, vankomicin, takrolimusz, everolimusz, klavulanát-kálium	2,24	0,14
5. pool: Famotidin, szulfametoxazol, letermovir, valaciklovir, tikarcillin-dinátrium, leflunomid	2,26	0,16
Positive Control (Pozitív kontroll)	2,10	N/A

Laboratóriumon belüli precizitás

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 precizitását NeuMoDx EBV pozitív kontrollal és EBV-kultúrával (ATCC, Manassas, VA) készített EBV-mintákból álló 6 tagú panel 3 párhuzamosának naponta kétszeri vizsgálatával határozták meg, két NeuMoDx 288 System készüléken és két NeuMoDx 96 System készüléken, 12 napon keresztül. Meghatározták a futtatáson belüli, a napon belüli és a készüléken belüli precizitást, és azt találták, hogy az általános szórás $\leq 0,18 \log_{10}$ NE/ml volt. Kitűnő precizitást igazoltak az összes készülék, nap és futtatás tekintetében, ahogy a 9. táblázatban látható. A kezelők közötti precizitást nem vizsgálták, mivel a kezelő nem játszik jelentős szerepet a minták feldolgozásában a NeuMoDx System használata esetén.

9. táblázat: Laboratóriumon belüli precizitás – a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 NeuMoDx System készülékeken

EBV-célkonc. [Log ₁₀ NE/ml]	Átlagos EBV-konc. [Log ₁₀ NE/ml]	Készüléken belüli szórás	Napon belüli szórás	Futtatáson belüli szórás	Összesített (Laboratóriumon belüli) szórás
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

Tételek közötti reprodukálhatóság

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 tételek közötti reprodukálhatóságát a NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 tesztcsíkok 3 tételének a laboratóriumon belüli precizitási vizsgálat részeként történő értékelésével határozták meg. A teljesítmény meghatározására EBV-pozitív plazma 6 tagú panelét használták (10. táblázat). Elemezték a különböző tételekkel kapott eredményeket, amelyek a 10. táblázatban láthatók. A NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip 2.0 tesztcsíkok maximális torzítása 0,29 \log_{10} NE/ml, maximális szórása pedig 0,18 \log_{10} NE/ml volt. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző tételek esetében, mivel az összes paneltag mennyiségi meghatározási eredményei a megadott toleranciahatárokon belül estek.

10. táblázat: Tételek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Várható konc. (log ₁₀ NE/ml)	1. tétel			2. tétel			3. tétel		
	Átlagkonc. (log ₁₀ NE/ml)	Log konc. szórás	Absz. torzítás	Átlagkonc. (log ₁₀ NE/ml)	Log konc. szórás	Absz. torzítás	Átlagkonc. (log ₁₀ NE/ml)	Log konc. szórás	Absz. torzítás
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

A mintafeldolgozási kontroll hatékonysága

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 részét képezi egy mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1) is, amely a folyamatlépés-hibák, illetve az assay teljesítményét befolyásoló gátlás jelentésére szolgál. A NeuMoDx CMV Quant Assay tesztet modellként használva az SPC1 határosságát a mintafeldolgozás folyamán potenciálisan előforduló olyan kritikus folyamatlépés-hibák tekintetében reprezentatív körülmények között vizsgálták plazmamintákra vonatkozóan, amelyeket a NeuMoDx System teljesítményét monitorozó érzékelők *nem feltétlenül tudnak kimutatni*. Cytomegalovírus-pozitív (3 log₁₀ NE/ml koncentrációban) és -negatív mintákat provokációs tesztnek vetettek alá a következő feltételek mellett: inhibitor jelenléte, mosóoldat hiánya és mosási kifújás hiánya. A vírus-célszekvencia detektálását /y mennyiségi meghatározását kedvezőtlenül befolyásoló folyamathibákat az SPC1-célszekvencia teljesítményével tükrözték, lásd *11. táblázat*. Minden megvizsgált körülményre vonatkozóan kimutatták, hogy a mintafeldolgozási kontroll megfelelően monitorozta a folyamathibákat és az inhibitorok jelenlétét, vagy az előrevetített folyamathibának nem volt jelentős nemkívánatos hatása az SPC1 detektálására vagy a vírus-célszekvencia kimutatására és mennyiségi meghatározására. Így igazolták, hogy az SPC1 hatékonyan monitorozza az assay teljesítményét a NeuMoDx System készüléken.

11. táblázat: A mintafeldolgozási kontroll hatékonysága vírus DNS esetében a plazmában*

Feldolgozási lépés Tesztelt hiba	Az 1. mintafeldolgozási kontroll amplifikációs státusza	CMV-célszekvencia Amplifikációs státusz	Az assay eredménye
Inhibitor jelenléte	Not Amplified (Nem amplifikált)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Unresolved (Nem meghatározható)
Nem történt mosás	Not Amplified (Nem amplifikált)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Unresolved (Nem meghatározható)
No Wash Blowout (Nincs mosási kifújás)	Amplified (Amplifikált)	Amplified (Amplifikált)	Positive (Pozitív), a kontroll 0,3 log ₁₀ NE/ml-es határán belüli mennyiségi meghatározással

*A mintafeldolgozási kontroll hatékonyságának meghatározásához plazmamintákban lévő cytomegalovírust (CMV) használtak modellrendszerként.

Keresztszennyeződés

A plazmaminták keresztszennyeződési arányát váltakozva elhelyezett erősen pozitív és negatív EBV-minták feldolgozásával határozták meg. Öt ilyen sakkta-bla-elrendezésű vizsgálatot végeztek EBV-negatív plazma összesen 60 párhuzamosával és 6,0 log₁₀ NE/ml koncentrációval preparált EBV-plazma 60 párhuzamosával a NeuMoDx 288 Molecular System és a NeuMoDx 96 Molecular System készüléken. A negatív minták mind a 120 párhuzamosa negatívnak bizonyult mindkét készüléktípuson, ami azt igazolta, hogy nem következett be keresztszennyeződés a NeuMoDx System készülékekben történő plazmaminta-feldolgozás során.

A mintamatrixok egyenértékűsége

Vizsgálatot végeztek a friss és fagyasztott plazmaminták közötti egyenértékűség igazolására egy hasonló, vér útján terjedő vírust, CMV-t használva modellként. A friss mintákat 4 °C-on tartották három CMV-koncentrációszinttel való preparálásukig, majd egyenértékűség tekintetében megvizsgálták őket. Lefagyasztották a mintákat legalább 24 órára –20 °C-on. A fagyasztott tárolási időszakot követően a mintákat kiolvastották és újrazvizsgálták. A friss és a fagyasztott plazmaminták eredményeit összehasonlították regressziós elemzéssel az egyenértékűség tekintetében. Az adatok kiváló egyenértékűséget igazoltak a friss és a fagyasztott plazmaminták között, 1,0-s értékű meredekséggel és nagyon alacsony torzítással (tengelymetszet), amint ez az alábbi *12. táblázatban* is látható.

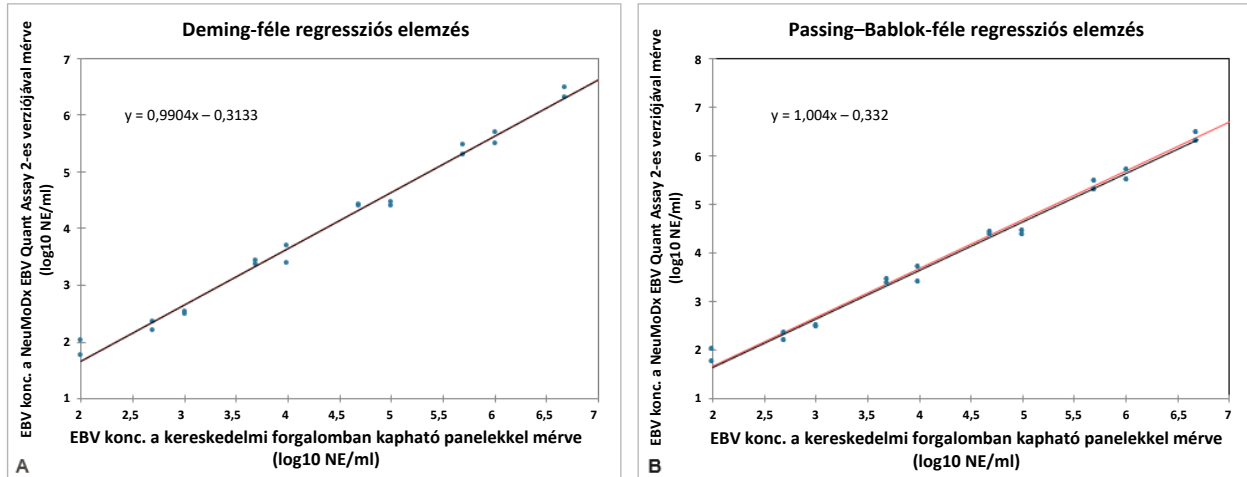
12. táblázat: A mintamatrixok egyenértékűsége

Paraméterkövetelmények	Friss vs. fagyasztott EDTA
Meredekség [0,9–1,1]	1,000
Tengelymetszet < 0,5 log ₁₀ NE/ml	0,020
p-érték > 0,05	0,631

Kvantitatív teljesítményjellemzők

A NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantitatív teljesítményét két, kereskedelmi forgalomban kapható, a WHO 1. nemzetközi EBV-standardjára visszavezethető EBV verifikációs panel (az AcroMetrix és az Exact Diagnostics termékei) NeuMoDx Molecular System készülékeken történő feldolgozásával jellemezték.

Kitűnő korrelációt igazoltak a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 és a két, kereskedelmi forgalomban kapható EBV verifikációs panel között (4. ábra) a Deming-féle regresszió (4A. ábra) és a Passing–Bablok-módszer (4B. ábra) alkalmazásával egyaránt.



4. ábra: Az AcroMetrix és az Exact Diagnostics verifikációs panelek, illetve a NeuMoDx EBV Quant Assay közötti egyenértékűségi grafikon. A. Lineáris regressziós elemzés a Deming-módszer alkalmazásával. B. Lineáris regressziós elemzés a Passing–Bablok-módszer alkalmazásával.

A Deming-féle regressziós illeszkedés minőségét 0,990-es értékű általános meredekségi koefficiens és $-0,313$ -as értékű tengelymetszet (torzítás) jellemzi, igazolva, hogy a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 és az EBV verifikációs panelek koncentrációeredményei korrelálnak egymással, elfogadható mértékű torzítással. A Passing–Bablok-féle lineáris illeszkedés 1,004-es általános meredekségi koefficienssel és $-0,332$ -es tengelymetszettel (torzítással) szintén alátámasztja, hogy a NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 teszttel és az EBV verifikációs panelekkel kapott eredmények közötti korreláció szignifikáns. A Passing–Bablok-elemzéssel kiszámított p -érték 0,988 volt.

13. táblázat: A Deming és Passing-Bablok lineáris regressziós elemzés összefoglalása

Deming-féle elemzés		Passing–Bablok-elemzés	
Tengelymetszet	Meredekségi koefficiens	Tengelymetszet	Meredekségi koefficiens
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95%-os CI (-0,620; -0,007)	95%-os CI (0,928; 1,053)	95%-os CI (-0,548; -0,116)	95%-os CI (0,950; 1,047)

HIVATKOZÁSOK

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

VÉDJEGYEK

A NeuMoDx™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.
















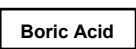

A NeuDry™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.


A Seracare® a Seracare Life Sciences, Inc. bejegyzett védjegye.


A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

A dokumentumban előforduló minden más terméknév, védjegy vagy bejegyzett védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

SZIMBÓLUMOK JELENTÉSE

	Kizárólag orvosi rendelvényre		<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
	Gyártó		Lásd a használati útmutatót
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz		Figyelem!
	Hivatalos képviselő az Európai Közösségben		Egészségügyi kockázat
	Katalógusszám		CE-jelölés
	Sarzsorszám		Tartalom
	Lejárat dátum		Állati eredetű biológiai anyagot tartalmaz
	Hőmérsékleti határértékek		Bórsav
	Ne használja újra		

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

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

Műszaki támogatás / Vigilanciajelentés: support@qiagen.com

Szabadalom: www.neumodx.com/patents

