

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip**R only**

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

IVD За *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular SystemЗа актуализации на листовката посетете: www.qiagen.com/neumodx-ifu

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

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

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx EBV Quant Assay представлява автоматизиран, *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на ДНК на човешки вирус на Epstein-Barr (Epstein-Barr Virus, EBV) в плазма. NeuMoDx EBV Quant Assay се изпълнява на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System (система(и) NeuMoDx) и включва автоматизирано извличане на ДНК за изолиране на прицелната нуклеинова киселина от плазма и полимеразна верижна реакция в реално време (Polymerase Chain Reaction, PCR), прицелена в два силно консервирани региона в генома на вируса на Epstein-Barr.

NeuMoDx EBV Quant Assay е предвиден за *инвитро* откриване и количествено определяне на ДНК на вируса на Epstein-Barr в пресни и замразени проби от човешка плазма със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular System. NeuMoDx EBV Assay е предвиден за употреба при диагностициране и мониторинг на EBV инфекции. Тестът може да се използва за измерване на нивата на ДНК на EBV за оценка на отговора на антивирусно лечение. Този анализ е предвиден за употреба заедно с клиничната картина и други лабораторни показатели за хода на заболяването при клиничния контрол и мониторинг на EBV инфекция. Анализът не е предвиден за употреба като тест за скрининг за наличието на EBV в кръв или кръвни продукти.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, съдържащи EDTA като антикоагулант, може да се използва за подготовката на плазма. За да започне тестването, плазма в епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System, се поставя в носач за епруветки с проби и се зарежда на работния плот на NeuMoDx System. За всяка проба 250 µL аликвотна част от аликвотната част от плазма се смесва NeuMoDx Lysis Buffer 5 и NeuMoDx System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията (два силно консервирани региона в генома на EBV). NeuMoDx EBV Quant Assay включва контрола за обработка на аликвотни части от ДНК (Sample Process Control, SPC1), с която се следи за наличието на потенциални инхибиращи вещества и проблеми с NeuMoDx System или реактивите, които могат да възникнат по време на процедурите за извличане и амплификация.

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

Следенето на количеството вируси EBV в кръвта улеснява диагностиката и контрола на PTLD, свързани с EBV. Откриването на нуклеинова киселина на EBV в кръвта обаче не е достатъчно за диагностициране с PTLD, свързано с EBV. Тестването за нуклеинови киселини (Nucleic Acid Testing, NAT) трябва да се използва само заедно с клиничната картина и други лабораторни показатели за хода на заболяването при клиничния контрол и следене на заразени с EBV пациенти. Въпреки че текущите указания за контрола и лечението на EBV инфекции при имунокомпрометирани лица не са категорични по отношение на това *кога* трябва да започне антивирусната терапия, те всички изискват постоянно следене на количеството вируси в кръвта след започването на антивирусната терапия, за да се овладяват тежките странични ефекти от лекарствата при такива популации.^{3,4}

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

NeuMoDx EBV Quant Assay на NeuMoDx System използва NeuMoDx EBV Quant Test Strip, калибратори NeuMoDx EBV Calibrator, външни контроли NeuMoDx EBV External Control, NeuMoDx Lysis Buffer 5 и реактиви NeuMoDx с общо предназначение, за да извърши анализа. Анализът NeuMoDx EBV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA за подготовката на плазма. Пробата от плазма в съвместима с NeuMoDx System епруветка за проби се поставя в носач за епруветки с проби и се зарежда на работния плот на NeuMoDx System за обработка. Друга намеса на оператора не е необходима.

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

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

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

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

Сонда TaqMan, белязана с флуорофор (490/521 nm) в край 5' и гасител в край 3', се използва за откриване на ДНК на EBV. За откриване на SPC1 сондата TaqMan белязана с друг флуоресцентен оцветител (535/556 nm) в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато амплификацията приключи, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)). Ако резултатът е POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН), софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част или съобщава дали изчислената концентрация е извън границите на количественото определяне.

РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip Сухи реактиви за PCR, съдържащи специфични за EBV и SPC1 сонда TaqMan и праймери.	16	96

Необходими, но непредоставени допълнителни материали (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	NeuMoDx Extraction Plate Сухи парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части
800500	Калибратори NeuMoDx EBV Calibrator Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за EBV за установяване на валидността на стандартната крива
900501	Външни контроли NeuMoDx EBV External Control Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни за EBV контроли за всекидневно установяване на валидността на NeuMoDx EBV Quant Assay
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (300 µL) с филтри
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

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

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx EBV Quant Assay е само за *invitro* диагностика със системи NeuMoDx System.
- При работа с проби винаги ги считайте за заразни и спазвайте лабораторните процедури за безопасна работа като описаните в Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ и в документ M29-A4 на CLSI.⁶
- Положителен резултат говори за наличие на ДНК на EBV.

- Извършването на NeuMoDx EBV Quant Assay се ограничава до персонал, обучен за работа с NeuMoDx System и боравене със заразни материали.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Трябва да има валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори NeuMoDx EBV Calibrator [№ 800500]), преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликвотни части.
- Външните контроли NeuMoDx EBV External Control [№ 900501] трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Минималният обем от пробата за вторичните аликвотни части зависи от размера на епруветката/носача за епруветки с проби, както е описано по-долу. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Употребата на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати.
- Замърсяване с микроорганизми и дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява във всеки един момент. Препоръчва се използването на несъдържащи ДНКаза стерилни преносни пипети за еднократна употреба. За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касетите NeuMoDx Cartridge от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx EBV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се замърсяват.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се вземат мерки да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx EBV Quant Test Strip или NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на съда с NeuMoDx Lysis Buffer 5; при боравенето с консумативите и реактивите могат да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) се предлагат по заявка.
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните разпоредби.

СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

- Тест-лентите NeuMoDx EBV Quant Test Strip са стабилни в първичната опаковка до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта, когато се съхраняват при температури от 18 до 23 °C.
- Не използвайте консумативи или реактиви след посочения срок на годност.
- Не използвайте за тестове продукт с видимо увредена първична или вторична опаковка.
- Не зареждайте отново продукт за тестове, който е бил зареден преди това в друга NeuMoDx System.
- След като бъде заредена, NeuMoDx EBV Quant Test Strip може да остане в NeuMoDx System 14 дни. Оставащият срок на годност на заредените тест-ленти се проследява от софтуера и се съобщава на потребителя в реално време. Системата ще съобщи, когато трябва да се извади тест-лента, използвана по-дълго от допустимия срок.
- Въпреки че са неинфекциозни, калибраторите NeuMoDx EBV Calibrator и външните контроли NeuMoDx EBV External Control трябва да се изхвърлят след употреба като биорискови отпадъци, за да се намали рискът от контаминация със съдържаната прицелна нуклеинова киселина.

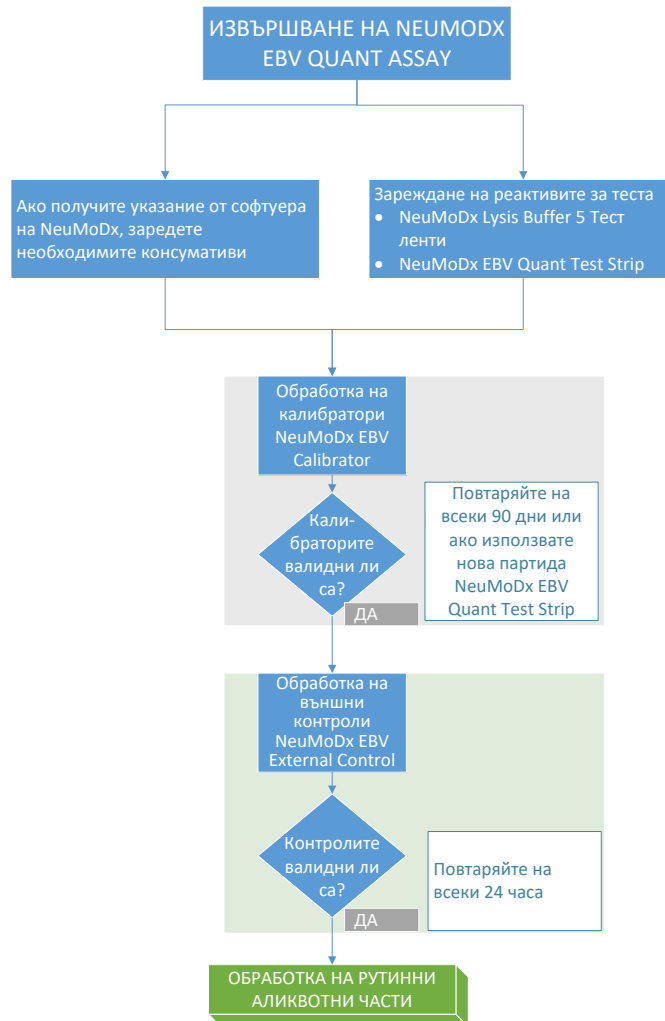
ВЗИМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

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

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

- Подготвените проби от плазма трябва да се съхраняват при температури 2 – 8 °С не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа при стайна температура.
- Подготвените проби от плазма могат да се съхраняват при < -20 °С до 8 седмици за плазма преди обработката; алиquotни части от плазма не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване преди употреба.
 - Ако алиquotните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 – 30 °С); развъртете алиquotната част, за да се разпредели равномерно.
 - След като замразените алиquotни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 8 часа.
- Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
- Поставете ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за EBV.
- Преминете към раздел „Подготовка на теста“.

Общата процедура за извършването на NeuMoDx EBV Quant Assay е резюмирана по-долу на *Фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx EBV Quant Assay

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

1. Поставете етикета с баркода за пробата на епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System.
2. Прехвърлете аликвотна част от плазма в епруветката с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:
 - Носач за епруветки с проби (за 32 епруветки): диаметър 11 – 14 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката \geq 400 mL
 - Носач за епруветки с проби (за 24 епруветки): диаметър 14,5 – 18 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката \geq 850 mL

Работа с NeuMoDx System

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

1. Заредете един или няколко носач(а) на тест-ленти NeuMoDx System с тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strip и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
2. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
3. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent и изпразнете съда за отпадъци от запълването и биорискови отпадъци, ако е необходимо.
4. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете Calibrator [№ 800500] и/или External Control [№ 900501], ако е необходимо. Допълнителна информация за калибраторите и контролите може да намерите в раздела *Обработка на резултатите*.
5. Заредете епруветките с проби/калибратори/контроли в стандартен носач за 32 епруветки и извадете запушалките от всички епруветки с проби.
6. Поставете носача за епруветки с проби в някое от свободните места на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочените тестове.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip може да се използва само на системи NeuMoDx System.
- Работните характеристики на NeuMoDx EBV Quant Test Strip са установени за проби от плазма, подготвени от цяла кръв, взета с EDTA като антикоагулант. Употребата на NeuMoDx EBV Quant Test Strip с други видове клинични проби не е проверена и работните характеристики на теста не са известни за други видове проби.
- Тъй като откриването на EBV зависи от броя на вирусите в аликвотната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
- Калибраторите и външните контроли трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките и ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System преди обработката на рутинни клинични аликвотни части.
- Грешни резултати от тестовете могат да се получат от неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или погрешно обозначаване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати могат да се получат, защото броят на вирусните частици в аликвотната част е под границата на откриването на NeuMoDx EBV Quant Assay.
- С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
- Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за EBV, така и за SPC1, ще бъдат съобщени невалиден резултат (Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
- Ако резултатът от NeuMoDx EBV Quant Assay е положителен, но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx System ще съобщи дали открият EBV е под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- В случай че открият EBV е под LLoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay може да се повтори (ако е желателно) с друга аликвотна част от пробата.
- В случай че открият EBV е над ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay трябва да се повтори с разреждана аликвотна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:100 или 1:1000 в EBV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Системата автоматично ще изчисли концентрацията на първоначалната проба по следния начин: Концентрацията на първоначалната проба = Log_{10} (фактора на разреждане) + съобщената концентрация на разрежданата аликвотна част, стига факторът на разреждане да е правилно избран в софтуера преди повтарянето.
- Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазма може да доведе до грешка в количественото определяне на системата; в този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разреждана в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.

- Положителен резултат не означава непременно наличие на активна вирусна инфекция. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на ДНК на вируса на Epstein-Barr.
- Въпреки че е много малко вероятно, делеция или мутации в двата консервирани региона на генома на EBV, в които се прицелва NeuMoDx EBV Quant Assay, могат да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
- За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрата лабораторна практика, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Достъпните резултати може да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца „Results“ (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx System.

Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа на NeuMoDx EBV (Assay Definition File, ADF). Един резултат от NeuMoDx EBV Quant Assay може да бъде съобщен като Negative (отрицателен), Positive (положителен) със съобщена концентрация на EBV, Positive (положителен) над ULoQ, Positive (положителен) под LLoQ, Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части. Резултатите се съобщават според алгоритъма за взимане на решение в Таблица 1.

Таблица 1: Алгоритъм за взимане на решение на NeuMoDx EBV Quant Assay

Резултат	EBV	Контрола за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Положителен)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (И) } EPR > 2 \text{ AND (И) } EP \geq 1500]$ OR (ИЛИ) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (И) } EP \geq 1500]$	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), над горната граница на количествено определяне [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log_{10} IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] > 8,0 Log_{10} IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), под долната граница на количествено определяне [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log_{10} IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] < 2,3 Log_{10} IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Negative (Отрицателен)	N/A (НЯМА) OR (ИЛИ) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (И) } EPR \leq 2]$ OR (ИЛИ) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (И) } EP < 1500]$ OR (ИЛИ) $Ct > 38$	AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ) ($29 \leq Ct \leq 35$) (И) $EP \geq 2000$
Indeterminate (Неопределен)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ/има отбелязани грешки в системата)	
Unresolved (Неполучен)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ/няма отбелязани грешки в системата)	

EP = End Point Fluorescence (флуоресценцията в крайната точка) (след начална корекция); EPR = End Point Fluorescence Ratio (съотношението на флуоресценцията в крайната точка); Ct = Cycle Threshold (прага на цикъла); Quant = изчислено количество наличен EBV, изразено в Log_{10} IU/mL. Вижте „Изчисляване на теста“ по-долу.

Изчисляване на теста

1. За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx EBV Quant Assay концентрацията на ДНК на EBV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация.
 - a. „Коефициент на калибрация“ се изчислява според резултатите от обработката на калибратори NeuMoDx EBV Calibrator, за да се установи валидността на стандартната крива за всяка партида тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx System.
 - b. Коефициентът на калибрация се включва автоматично от системата в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на EBV.
2. Резултатите от NeuMoDx EBV Quant Assay се съобщават в Log_{10} IU/mL.

3. Крайното количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по 1^{-вм} Международен стандарт на СЗО за вирус на Epstein-Barr за техниките за амплификация на нуклеинови киселини.

Калибрация на теста

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

Калибратори

1. Калибраторите NeuMoDx EBV Calibrator се доставят в комплект [№ 800500] и съдържат неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на EBV, подготвена в Basematrix.
2. Набор калибратори за EBV трябва да се обработят с всяка нова партида тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strip, при зареждане на нов файл с дефиниция за анализа EBV в NeuMoDx System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (90 дни) или ако софтуерът на NeuMoDx System бъде променен.
3. Софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя кога трябва да се обработят калибраторите; нова партида тест-ленти не може да се използва за тестването, докато калибраторите не бъдат успешно обработени.
4. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 - a) Набор от два калибратора – висок и нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 - b) За генерирането на валидни резултати поне 2 от 3-те репликация трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, а тази на висок калибратор – $6 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$.
 - c) Коефициент на калибрация се изчислява за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти; този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на EBV.
5. Ако единият или двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържаният калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
6. Ако калибраторите не издържат проверката за валидност за втори пореден път, се обърнете към NeuMoDx Molecular, Inc.

Контрол на качеството

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

Външни контроли

1. Външни контролни материали, съдържащи неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на EBV в Basematrix за положителни контроли, са предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc. в комплект, съдържащ външни контроли NeuMoDx EBV External Control [№ 900501].
2. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват веднъж на всеки 24 часа. Ако няма набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че тези контроли трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
3. Ако са необходими външни контроли, вземете набор външни контроли от фризера и оставете шишетата да се размразят при стайна температура (15 – 30 °C). Развъртете внимателно, за да осигурите хомогенност.
4. Като използвате сензорния екран и носача за епруветки с проби, поставен на полицата на автоматичното зареждащо устройство, заредете шишетата с положителните и отрицателните контроли в NeuMoDx System. NeuMoDx System ще разпознае баркода и ще започне обработката на епруветките за проби, освен ако липсва съответното количество реактиви или консумативи, необходимо за тестването.
5. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очаквания резултат. Положителната контрола трябва да даде Positive (положителен) резултат за EBV, а отрицателната трябва да даде Negative (отрицателен) резултат за EBV.
6. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
 - a) Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с отрицателна контрола, означава проблем с контаминация на пробата.
 - b) Negative (отрицателен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с положителна контрола, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - c) И в двата случая, описани по-горе, трябва да повторите обработката на неиздържалите проверката контроли NeuMoDx EBV External Control с прясно размразено шише от същата контрола.
 - d) Ако положителна външна контрола NeuMoDx EBV External Control продължава да дава Negative (отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx.

- е) Ако отрицателна външна контрола NeuMoDx EBV External Control продължава да дава Positive (положителен) резултат, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на замърсяване, включително като смените ВСИЧКИ реактиви и консумативи, преди да се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx.

Контроли (вътрешни) за обработката на аликвотните части

Екзогенен контрол за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC1) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с PCR в реално време с всяка аликвотна част. Праймери и сонда, специфични за SPC1, също са включени във всяка NeuMoDx EBV Quant Test Strip и позволяват откриване на наличие на SPC1 заедно с прицелната ДНК на EBV (ако има) чрез мултиплексна PCR в реално време. Откриването на амплификация на SPC1 позволява на софтуера на NeuMoDx System да следи ефективността на процедурите за извличане и амплификация с PCR на ДНК.

Ако NeuMoDx EBV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат, той ще се съобщи като Indeterminate (IND) (неопределен) или Unresolved (UNR) (неполучен) според вида на възникналата грешка.

Резултат IND ще се съобщи, ако бъде установена грешка в NeuMoDx System по време на обработката на аликвотната част. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Резултат UNR ще се съобщи, ако не бъде открита валидна амплификация на ДНК на EBV или SPC1, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат UNR, повторно тестване може да се извърши като първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разредена проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликвотната част.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитична чувствителност – граница на откриването по стандарта на СЗО

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx EBV Quant Assay е потвърдена с тестване на отрицателни за EBV проби от плазма със слабо разредена добавка по 1^{-вня} Международен стандарт на СЗО за EBV за техниките за амплификация на нуклеинови киселини. Този тест за потвърждаване е извършен при очакваната граница на откриване (Limit of Detection, LoD) на NeuMoDx EBV Quant Assay на системи NeuMoDx System при 200 IU/mL. LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в ≥95% от случаите. Изследването е извършено на различни системи с квалифицирани партиди реактиви NeuMoDx. Процентите на откриване са представени в Таблица 2.

Таблица 2: Определяне на LoD на NeuMoDx EBV Quant Assay; ниво на откриване на положителни резултати за проби от плазма

Прицелна концентрация [IU/mL]	ПЛАЗМА		
	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Аналитична чувствителност – долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) се дефинира като най-ниското прицелно ниво, при което се постига > 95% откриване и общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е ≤ 1,0. За да се потвърди, че както LoD, така и LLoQ на EBV Quant Assay е 200 IU/mL, са използвани резултатите от изследването на процента на съвпаденията за определяне на TAE. Изчислената TAE се дефинира като:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \text{ [статистика на Westgard]}$$

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

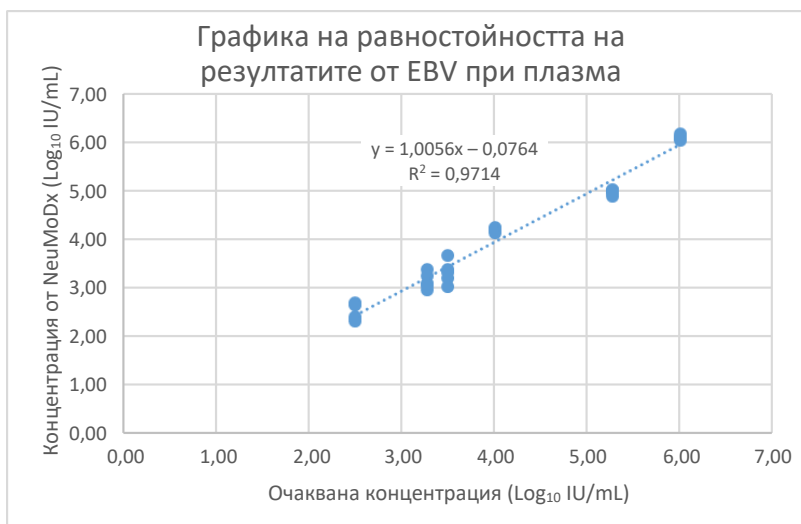
Таблица 3: LLoQ на NeuMoDx EBV Quant Assay, с отклонението и TAE

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Според резултатите от тези изследвания както LoD, така и LLoQ на NeuMoDx EBV Quant Assay са определени като 200,0 IU/mL [2,30 Log₁₀ IU/mL].

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

Линейността и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) на NeuMoDx EBV Quant Assay са установени в плазма с подготовка на серия разреждания с капсулираната прицелна нуклеинова киселина на NeuMoDx EBV и Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) с установена проследимост по 1st Международен стандарт на СЗО за EBV. Панел от 10 елемента е подготвен в групирана отрицателна за EBV плазма, за да се обхване диапазон на концентрацията 2,0 – 8,0 Log₁₀ IU/mL. ULoQ на NeuMoDx EBV Quant Assay е определена като 8,0 Log₁₀ IU/mL. Подготвен е панел за потвърждаване на линейността на стандартната крива и концентрациите от анализа за EBV, съобщени от NeuMoDx System, в сравнение с очакваните стойности са представени на *Фигура 2*.



Фигура 2: Линейност на NeuMoDx EBV Quant Assay

Аналитична специфичност – кръстосана реактивност

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 35 организма, които се срещат в проби от кръв/плазма, както и видове, филогенетично сходни с EBV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 5 – 6 организма при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в *Таблица 4*. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx EBV Quant Assay.

Таблица 4: Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

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

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми

NeuMoDx EBV Quant Assay е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в *Таблица 4*. В EBV-отрицателна плазма са добавени организмите, групирани по 4 – 7; в тези групи след това е добавена прицелната нуклеинова киселина на EBV при концентрация 3 Log₁₀ IU/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендогенни и екзогенни вещества

NeuMoDx EBV Quant Assay е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма с EBV. Те включват абнормно високи нива на кръвни компоненти, както и обичайни антивирусни и имunosупресивни лекарства, класифицирани в *Таблица 5*. Всяко вещество е добавено към подбрана отрицателна за EBV човешка плазма с добавени 3 Log₁₀ IU/mL EBV и аликвотните части са анализирани за интерференция. Освен това плазма от обичайно болестно състояние, свързано с EBV инфекция, също е тествана за потенциална интерференция. Средната концентрация и отклонението на всички тествани вещества в сравнение с контролните аликвотни части с добавено същото ниво на EBV са дадени в *Таблица 6*. Нито едно от екзогенните и ендогенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx EBV Quant Assay.

Таблица 5: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

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

Таблица 6: Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенни	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Хемоглобин	3,20	0,23
Триглицериди	3,15	0,28
Билирубин	3,48	-0,05
Албумин	3,2	0,22
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Група 1: Азатиоприн, циклоспорин, фоскарнет, ганцикловир, валганцикловир хидрохлорид	3,30	0,13
Група 2: Преднизон, цидофовир, цефотетан, цефотаксим, флуконазол	3,22	0,21
Група 3: Микофенолат мофетил, натриев микофенолат, пиперацилин, сиролimus/рапамицин, тазобактам	3,36	0,07
Група 4: Триметоприм, ванкомицин, такролимус, еверолимус, калиев клавуланат	3,32	0,11
Група 5: Фамотидин, сулфаметоксазол, летермовир, валацикловир, динатриев тикарцилин, лефлуномид	3,47	-0,10
Болестно състояние	Средна концентрация	Отклонение
	Log ₁₀ IU/mL	Log ₁₀ IU/mL
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,23	0,20
Антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Ревматоиден артрит (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,19	0,24

Вътрешнолабораторна прецизност

Прецизността на NeuMoDx EBV Quant Assay е определена с тестване на 3 репликата на панел от 4 проби с EBV, подготвени с EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), три пъти на ден, с два апарата NeuMoDx 288 System и един NeuMoDx 96 System, в продължение на два дни. Характеризирани са прецизността в рамките на обработка, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Отлична прецизност е демонстрирана в различните системи, дни или обработки, както се вижда от Таблица 7. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на алиquotни части с NeuMoDx System.

Таблица 7: Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx EBV Quant Assay на системи NeuMoDx System

Прицелна концентрация на EBV [Log ₁₀ IU/mL]	Средна концентрация на EBV [Log ₁₀ IU/mL]	SD в рамките на системата	SD в рамките на деня	SD в рамките на обработката	Общо SD (вътрешнолабораторно)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Възпроизводимост на резултатите от различни партиди

Възпроизводимостта на резултатите от различни партиди NeuMoDx EBV Quant Assay е определена чрез проверка на три партиди основни реактиви – тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Test Strip и Lysis Buffer 5 – като част от тестването за качествено определяне (Qualification Testing, QT). 4-членен панел от EBV-положителни проби от плазма е използван за оценка на работните характеристики (Таблица 8). Вариацията в рамките на една партида и между различните партиди е анализирана и резултатите са представени в Таблицы 8 – 9. Максималното общо отклонение е $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, а максималното общо SD е $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ за тест-ленти NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip. Максималното общо отклонение е $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, а максималното общо SD е $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ за NeuMoDx Lysis Buffer 5. Равностойността на работните характеристики между различните партиди е демонстрирана, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

Таблица 8: Възпроизводимост на резултатите от различни партиди – NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip

Прицелна концентрация на EBV [IU/mL]	Средна концентрация на EBV [Log ₁₀ IU/mL]	Брой (Валидни резултати на една партида)	Отклонение	SD между партидите	SD в рамките на партидата	Общо SD
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Таблица 9: Възпроизводимост на резултатите от различни партиди – NeuMoDx EBV Quant Assay Lysis Buffer 5

Прицелна концентрация на EBV [Log ₁₀ IU/mL]	Средна концентрация на EBV [Log ₁₀ IU/mL]	Брой (Валидни резултати на една партида)	Отклонение	SD между партидите	SD в рамките на партидата	Общо SD
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Ефективност на контролата за обработката на аликвотните части

Контролт за обработката на аликвотните части SPC1 е включен в NeuMoDx EBV Quant Assay за съобщаване на проблеми при технологичните стъпки или инхибиране, влошаващо работните характеристики на анализа. С NeuMoDx CMV Quant Assay като еталон, ефективността на SPC1 е тествана за проби от плазма при представителни условия за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на аликвотната част и евентуално *може да не бъдат засечени* от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Положителни (при 3 Log₁₀ IU/mL) и отрицателни за цитомегаловирус проби са проверени при следните условия: наличие на инхибитор, няма на капан разтвор за промивка и няма издуване на пробата. Неефективна обработка с отрицателно отражение върху откриването/количественото определяне на прицелната вирусна нуклеинова киселина се следи паралелно с работните характеристики на прицелната нуклеинова киселина на SPC1, както е показано в *Таблица 10*. Във всички тествани случаи е демонстрирано, че контролата за обработката на аликвотните части е проследила правилно неефективността на обработката и наличието на инхибитори или очакваната неефективност на обработката няма съществено отрицателно отражение върху откриването и количественото определяне на прицелната нуклеинова киселина както на SPC1, така и на вируса. Следователно SPC1 демонстрира успешно и ефективно следене на работните характеристики на анализа на NeuMoDx System.

Таблица 10: Ефективността на контролата за обработката на аликвотните части за вирусна ДНК в плазма*

Тестван проблем при технологичните стъпки	Състояние на амплификацията на контролата за обработка на аликвотните части 1	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина на CMV	Резултат от анализа
Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Delivered (Няма на капана промивка)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Blowout (Няма издуване на промивката)	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive (Положителен) с количествено определяне в рамките на 0.3 Log ₁₀ IU/mL от контролата

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

Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация за проби от плазма е определен с обработка на редуващи се високи положителни и отрицателни аликвотни части на сходния пренасян по кръвен път ДНК вирус – цитомегаловирус (Cytomegalovirus, CMV). Три набора за подобно шахматно тестване са обработени с общо 108 репликата от отрицателна за CMV плазма и 108 репликата от плазма с добавен CMV при 6,0 Log₁₀ IU/mL. Всичките 108 репликата от отрицателната проба са съобщени като отрицателни, с което се демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части от плазма на NeuMoDx System.

Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Извършено е тестване за демонстриране на равностойността на резултатите от пресни и замразени проби от плазма със сходен пренасян по кръвен път вирус – CMV – като еталон. Пресните проби са съхранявани при 4 °С, преди в тях да бъдат добавени три нива на CMV и да бъдат тествани за равностойност. След това аликвотните части са замразени за минимум 24 часа при –20 °С. След този период на съхранение в замразено състояние пробите са размразени и тествани отново. Резултатите от пресните спрямо замразените проби от плазма са сравнени за равностойност посредством регресионен анализ. Данните демонстрират отлична равностойност между пресните и замразените проби от плазма със слуп 1,0 и много малко отклонение (интерсепт), както се вижда от Таблица 11 по-долу.

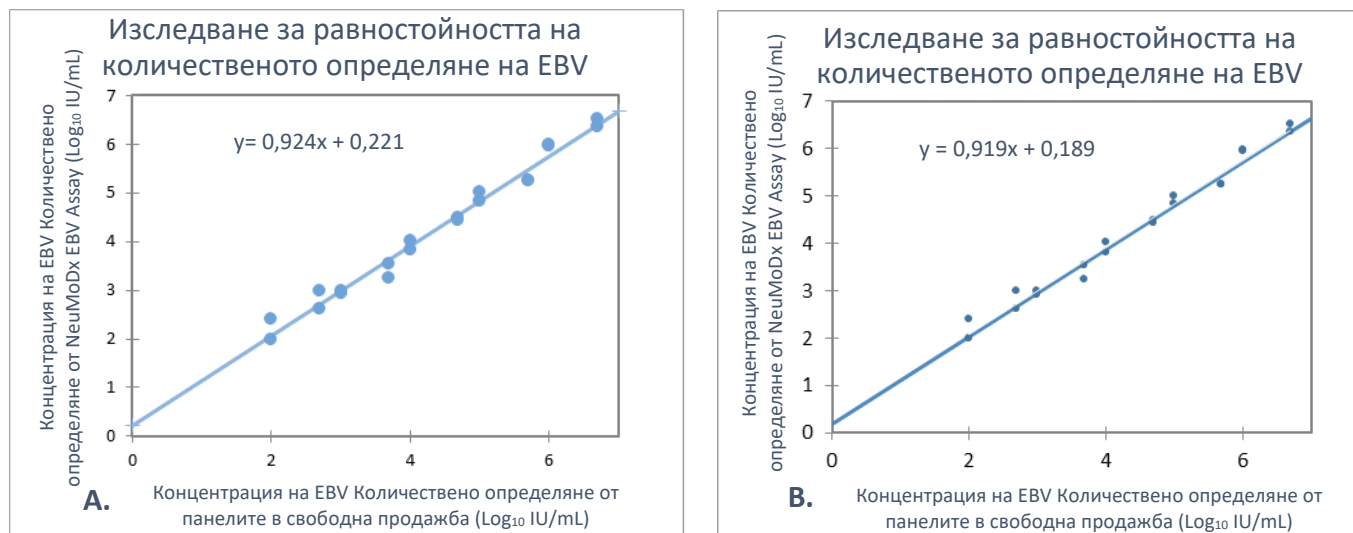
Таблица 11: Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

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

Работни характеристики на количественото определяне

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

Отлична корелация е демонстрирана между NeuMoDx EBV Quant Assay и двата панела за проверка за EBV в свободна продажба (Фигура 3) както при регресионен анализ по метода на Деминг (Фигура 3А), така и по този на Пасинг-Баблок (Фигура 3В).



Фигура 3. Графика на равностойността на резултатите от панелите за проверка на AcroMetrix и Exact Diagnostics и NeuMoDx EBV Quant Assay.

А. Линеен регресионен анализ по метода на Деминг. **В.** Линеен регресионен анализ по метода на Пасинг-Баблок.

Качеството на регресионното изглаждане по Деминг е илюстрирано с общ коефициент на слуп 0,92 и интерсепт (отклонение) 0,22, което показва, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx EBV Quant Assay и панелите за проверка за EBV, са в корелация с допустимо отклонение. Линейното изглаждане по Пасинг-Баблок също свидетелства за съществена корелация между резултатите, получени от NeuMoDx EBV Quant Assay и тези от панелите за проверка за EBV, с общ коефициент на слуп 0,92 и интерсепт (отклонение) 0,19. Изчислената стойност *p* на анализа по Пасинг-Баблок е 0,40.

Таблица 12: Резюме на линейния регресионен анализ по Деминг и Пасинг-Баблок

Анализ по Deming		Анализ по Passing-Bablok	
Интерсепт	Коефициент на слуп	Интерсепт	Коефициент на слуп
0,22	0,92	0,19	0,92
95% ДИ (-0,11; 0,55)	95% ДИ (0,86; 0,99)	95% ДИ (-0,08, 0,41)	95% ДИ (0,87; 0,99)

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ










NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

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

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

СИМВОЛИ

СИМВОЛ	ЗНАЧЕНИЕ
R only	За употреба само по лекарско предписание
	Производител
IVD	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика
EC REP	Упълномощен представител в Европейската общност
REF	Каталожен номер
LOT	Код на партида
	Срок на годност
	Ограничение за температура
	Ограничение за влажност
	Само за еднократна употреба
	Съдържанието е достатъчно за $<n>$ теста
	Вижте инструкциите за употреба
	Внимание
	Биологични рискове
CE	Маркировка CE



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

Възложител (АВСТРАЛИЯ):
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



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

Патент: www.neumodx.com/patents