

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

UZMANĪBU! Tikai ASV eksportam

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

leliktna atjauninājumus skatiet vietnē: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600108
Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 96 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600317

PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

NeuMoDx EBV Quant Assay ir automatizēts *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests cilvēka Epšteina-Barra vīrusa (EBV) DNS kvantitatīvai noteikšanai plazmā. NeuMoDx EBV Quant Assay, ar ko veic testēšanu sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(-s)), ietver automatizētu DNS ekstrahēšanu, lai no plazmas izolētu mērķa nukleīnskābi, un reāllaika polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), kas mērķē uz diviem ļoti labi saglabātiem reģioniem Epšteina-Barra vīrusa genomā.

NeuMoDx EBV Quant Assay ir paredzēts Epšteina-Barra vīrusa DNS noteikšanai un kvantitatīvai noteikšanai *in vitro* svaigos un sasaldētos cilvēka plazmas parauga materiālos, izmantojot NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems. NeuMoDx EBV Assay ir paredzēts izmantot EBV infekciju diagnosticēšanā un kontrolē. Analīzi var izmantot EBV DNS līmeņu mērīšanai, lai novērtētu atbildes reakciju uz pretvīrusu terapiju. Šo analīzi kopā ar klīnisko ainu un citiem slimības gaitas laboratoriskajiem marķieriem paredzēts izmantot EBV infekcijas klīniskajā ārstēšanā un kontrolē. Analīzi nav paredzēts izmantot kā skrīninga testu, lai noteiktu EBV klātbūtni asinīs vai asins preparātos.

KOPSAVILKUMS UN SKAIDROJUMS

Cilvēka pilnasinis, kas paņemtas sterilos asins paņemšanas stobriņos, kuros kā pretsācēšanas līdzeklis ir EDTA, var izmantot plazmas sagatavošanai. Lai sāktu testēšanu, plazmu parauga materiāla stobriņā, kas sader ar NeuMoDx System, ievieto parauga materiālu stobriņu turētājā un tad NeuMoDx System darbgaldā. Katra plazmas parauga materiāla 250 µl alikvoto daļu sajauc ar NeuMoDx Lysis Buffer 5, un NeuMoDx System automātiski veic visas darbības, kas nepieciešamas, lai ekstrahētu mērķa nukleīnskābi, sagatavotu izolēto DNS reāllaika PĶR amplifikācijai un amplificētu un noteiktu amplifikācijas produktus, ja tādi ir (divi ļoti labi saglabāti reģioni EBV genomā). NeuMoDx EBV Quant Assay ietver DNS paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai palīdzētu uzraudzīt iespējamu inhibitorvielu klātbūtni un NeuMoDx System vai reaģentu kļūdas, kas var rasties ekstrahēšanas un amplifikācijas procesa laikā.

EBV ir izplatīts cilvēka herpesvīrusu dzimtas divpavedienu DNS vīruss, kas inficē visu vecumu cilvēkus. Novērtēts, ka >90% cilvēku visā pasaulē ir vai ir bijuši inficējušies ar EBV.¹ EBV izplatās ar ķermeņa šķidrumiem, piemēram, siekalām, asinīm, spermam, un orgānu transplantēšanas ceļā. Daudzi cilvēki inficējas ar EBV bērnībā. Šiem cilvēkiem, lai gan viņi ir inficējušies ar EBV, parasti nav simptomu. Cilvēkiem ar imūndeficītu var attīstīties smagāki EBV infekcijas simptomi un komplikācijas. Latenta EBV infekcija vislielāko risku rada pacientiem pēc transplantāta saņemšanas. Limfoproliferatīvi traucējumi pēc transplantāta saņemšanas (post-transplant lymphoproliferative disorders, PTLD) ietver EBV ierosinātu audzēja veidošanos B šūnās imūnsupresantu iedarbības uz EBV imūnkontroli dēļ, un tas ir viens no visnozīmīgākajiem saslimstības un mirstības cēloņiem pacientiem ar jebkāda orgāna transplantātu.²

EBV vīrusa slodzes kontrolēšana atvieglo ar EBV saistītu PTLD diagnosticēšanu un ārstēšanu. Tomēr ar EBV nukleīnskābes noteikšanu asinīs nepietiek, lai diagnosticētu ar EBV saistītu PTLD. Nukleīnskābju testu (Nucleic Acid Testing, NAT) ar EBV inficējušos pacientu klīniskajā ārstēšanā un kontrolē drīkst izmantot tikai kopā ar klīnisko ainu un citiem slimības progresēšanas laboratoriskajiem marķieriem. Kaut arī spēkā esošajās vadlīnijās EBV infekciju pārvaldīšanai un ārstēšanai cilvēkiem ar imūndeficītu nav skaidri noteikts, *kad* jāsāk pretvīrusu terapija, tajās visās prasīta pastāvīga vīrusa slodzes kontrole pēc pretvīrusu terapijas sākšanas, lai palīdzētu mazināt zāļu smagās blakusparādības šim populācijam.^{3,4}

PROCEDŪRAS PRINCĪPI

NeuMoDx EBV Quant Assay sistēmā NeuMoDx System analizēšanai izmanto NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 un NeuMoDx vispārējās lietošanas reaģentus. NeuMoDx EBV Quant Assay apvieno automatizētu DNS ekstrahēšanu, amplifikāciju un noteikšanu, izmantojot reāllaika PĶR. Lai sagatavotu plazmu, pilnasiņu parauga materiālus paņem stobriņos ar EDTA. Plazmas parauga materiālu ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ievieto parauga materiālu stobriņu turētājā un tad sistēmā NeuMoDx System darbgaldā apstrādei. Pēc tam operatoram vairs nav jāiesaistās.

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

NeuMoDx EBV Quant Assay mērķē uz diviem ļoti labi saglabātiem reģioniem – BALF5 un BXFL1 – EBV genomā. Divu mērķu izmantošana mazina kļūdaini negatīvu rezultātu risku mutācijas gadījumā, tādējādi palielinot analīzes noturību. Amplificētos mērķus nosaka reāllaikā, izmantojot hidrolīzes zondes ķīmiju (ko parasti sauc par TaqMan® ķīmiju), kurā tiek izmantotas amplikoniem specifiskas fluorogēnās oligonukleotīdu zondes molekulas to attiecīgajiem mērķiem.

TaqMan zondes satur fluoroforu, kas kovalenti saistīts ar oligonukleotīda zondes 5' galu, un dzēsēju 3' galā. Kamēr zonde ir neskarta, fluorofors un dzēsējs ir tuvu viens otram, un dzēsēja molekula dzēš fluorofora izstaroto fluorescenci Fērstera rezonanses enerģijas pārnesei (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) ceļā.

TaqMan zondēm ir paredzēts piesaistīties DNS reģionā, kas amplificēts ar īpašu praimeru kopumu. Taq DNS polimerāzei pagarinot praimeru un sintezējot jauno pavedienu, Taq DNS polimerāzes 5'–3' eksonukleāzes aktivitāte noārda zondi, kas ir piesaistījusies pie matricē. Zondei noārdoties, atbrīvojas fluorofors, tāpēc tā vairs nav tuvu dzēsējam, tādējādi FRET dēļ zūd dzēšanas efekts un ir iespējams noteikt fluorofora fluorescenci. Iegūtais konstatētais fluorescences signāls ir tieši proporcionāls atbrīvotajam fluoroforam, un to var saistīt ar esošās mērķa DNS daudzumu.

TaqMan zondi, kas ir iezīmēti ar fluoroforu (490/521 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā, izmanto EBV DNS noteikšanai. SPC1 TaqMan zonde ir iezīmēta ar citu fluorescentu krāsvielu (535/556 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā. NeuMoDx System programmatūra uzrauga fluorescences signālu, ko katra amplifikācijas cikla beigās izstaro TaqMan zondes. Kad amplifikācija pabeigta, NeuMoDx System programmatūra analizē datus un ziņo rezultātu (POSITIVE (Pozitīvs)/NEGATIVE (Negatīvs)/INDETERMINATE (Neskaidrs)/UNRESOLVED (Neatrisināts)). Ja rezultāts ir POSITIVE (Pozitīvs), NeuMoDx System programmatūra sniedz arī ar paraugu saistīto kvantitatīvo vērtību vai ziņo, vai aprēķinātā koncentrācija neatbilst kvantitatīvās noteikšanas robežvērtībām.

REAĢENTI/PALĪGMATERIĀLI

Nodrošinātais materiāls

ATS	Saturs	Testi vienībā	Testi iepakojumā
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Sausie PQR reaģenti, kas satur EBV un SPC1 specifisku TaqMan zondi un praimerus.</i>	16	96

Nepieciešamie papildu materiāli, kas nav piegādāti (pieejami atsevišķi no NeuMoDx)

ATS	Saturs
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Sausas paramagnētiskas daļiņas, lizējošs enzīms un paraugu apstrādes kontrolmateriāli</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Vienreizlietojami EBV augšējo un apakšējo vērtību kalibratoru komplekti standarta līknes derīguma noteikšanai</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Vienreizlietojami EBV pozitīvu un negatīvu kontrolmateriālu komplekti NeuMoDx EBV Quant Assay ikdienas derīguma noteikšanai</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgaļi (300 µl) ar filtriem
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgaļi (1000 µl) ar filtriem

Nepieciešamie piederumi

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

BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- Analīze NeuMoDx EBV Quant Assay ir paredzēta lietošanai *in vitro* diagnostikā tikai sistēmās NeuMoDx Systems.
- Ar parauga materiāliem vienmēr jārikojas tā, it kā tie būtu infekciozi, un saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, piemēram, tādām, kas aprakstītas dokumentā Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ un CLSI dokumentā M29-A4.⁶
- Pozitīvs rezultāts liecina par EBV DNS klātbūtni.
- Testēt ar NeuMoDx EBV Quant Assay drīkst tikai darbinieki, kas apguvuši NeuMoDx System lietošanu un darbu ar infekcioziem materiāliem.
- Reaģentus un palīgmateriālus nedrīkst lietot pēc norādītā derīguma termiņa beigām.
- Reaģentus nedrīkst lietot, ja drošības noslēgs ir saplīsis vai saņemšanas brīdī iepakojums ir bojāts.
- Palīgmateriālus un reaģentus nedrīkst lietot, ja saņemšanas brīdī aizsargmaisīņš ir atvērts vai saplīsis.
- Jābūt pieejamai derīgai testa kalibrācijai (ko ģenerē, apstrādājot augšējo un apakšējo vērtību NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]), tikai pēc tam var iegūt testu rezultātus klīniskajiem paraugiem.
- NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx EBV Quant Assay.

- Sekundāro alikvoto daļu parauga materiāla minimālais tilpums ir atkarīgs no stobriņa lieluma/parauga materiālu stobriņu turētāja, kā norādīts tālāk. Ja tilpums ir mazāks par norādīto minimālo tilpumu, var rasties kļūda “Quantity Not Sufficient” (Daudzums nav pietiekams).
- Ja izmanto parauga materiālus, kas glabāti neatbilstošā temperatūrā, vai pēc norādītā glabāšanas laika, iegūtie rezultāti var būt nederīgi vai kļūdaini.
- Noteikti jāizvairās no visu reaģentu un palīgmateriālu mikrobioloģiskā un dezoksiribonukleāžu (DNāze) piesārņojuma. Ieteicams izmantot sterilas DNāzi nesaturējošas vienreizlietojamas pārneses pipetes. Katram parauga materiālam jāizmanto jauna pipete.
- Lai izvairītos no piesārņošanas, pēc amplifikācijas nedrīkst rīkoties ar NeuMoDx Cartridge vai to izjaukt. Nekādā gadījumā neizņem kasetnes NeuMoDx Cartridges no bioloģiski bīstamo atkritumu konteina (NeuMoDx 288 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertnes (NeuMoDx 96 Molecular System). Kasetne NeuMoDx Cartridge ir izveidota tā, lai nepieļautu kontamināciju.
- Ja laboratorijā veic arī PĶR testus ar atvērtiem stobriņiem, jāuzmanās, lai nepiesārņotu NeuMoDx EBV Quant Test Strip, testēšanai nepieciešamos papildu palīgmateriālus un reaģentus, individuālos aizsardzības līdzekļus, piemēram, cimds un laboratorijas uzsvārcus, kā arī NeuMoDx System.
- Rīkojoties ar NeuMoDx reaģentiem un palīgmateriāliem, jāvalkā tīri nitrila cimdi bez pulvera. Jāuzmanās, lai nepieskartos NeuMoDx Cartridge augšējai virsmai, NeuMoDx EBV Quant Test Strip vai NeuMoDx Extraction Plate folijas noslēgvirsmi vai NeuMoDx Lysis Buffer 5 konteina augšējai virsmai; rīkojoties ar palīgmateriāliem un reaģentiem, drīkst pieskarties tikai sānu virsmām.
- Drošības datu lapas (DDL) ir pieejamas pēc pieprasījuma.
- Pēc testa veikšanas rūpīgi nomazgāt rokas.
- Vietas nedrīkst iesūkt pipetē ar muti. Zonās, kur notiek darbības ar parauga materiāliem vai reaģentiem, nedrīkst smēķēt, dzert vai ēst.
- Neizlietotie reaģenti un atkritumi jālikvidē saskaņā ar valsts, federālajiem, pašvaldības, pavalsts un vietējiem noteikumiem.

PRODUKTA GLABĀŠANA, APIEŠANĀS AR TO UN STABILITĀTE

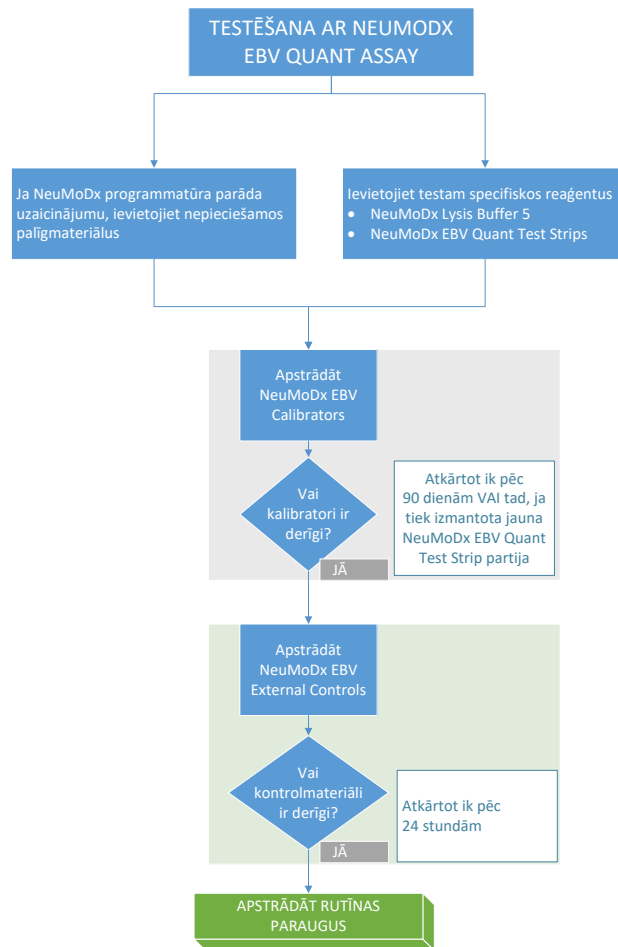
- Primārajā iepakojumā NeuMoDx EBV Quant Test Strips ir stabilas visu derīguma termiņu, kas norādīts uz preparāta tiešās uzlīmes, ja tiek glabātas 18–23 °C temperatūrā.
- Nedrīkst lietot palīgmateriālus un reaģentus, kuru norādītais derīguma termiņš ir beidzies.
- Nevienu testa preparātu nedrīkst lietot, ja ir redzami primārā vai sekundārā iepakojuma bojājumi.
- Nevienu testa produktu, kas iepriekš bijis ievietots citā NeuMoDx System, nedrīkst ievietot atkārtoti.
- Pēc ielādēšanas NeuMoDx EBV Quant Test Strip sistēmā NeuMoDx System var palikt 14 dienas. Programmatūra reāllaikā izseko un ziņo lietotājam par ielādēto testa strēmelišu atlikušo glabāšanas ilgumu. Sistēma parādīs uzaicinājumu izņemt testa strēmeli, kas tiek lietota ilgāk par pieļaujamo periodu.
- Lai gan kalibratori NeuMoDx EBV Calibrators un kontrolmateriāli NeuMoDx EBV External Controls nav infekciozi, pēc lietošanas tie jāizmet kopā ar laboratorijas bioloģiski bīstamajiem atkritumiem, lai mazinātu piesārņošanas ar mērķa nukleīnskābi risku.

PARAUGA MATERIĀLA PAŅEMŠANA, TRANSPORTĒŠANA UN GLABĀŠANA

Ar visiem parauga materiāliem jāapietas tā, it kā tie varētu pārnest infekcijas izraisītājus.

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

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



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

LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

Testa sagatavošana

- Ar NeuMoDx System saderīgam parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svītrkoda uzlīmi.
- Plazmas alikvoto daļu pārnēsiet ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ar svītrkodu atbilstoši tālāk noteiktajiem tilpumiem.
 - Parauga materiālu stobriņu turētājs (32 stobriņi): diametrs 11–14 mm un augstums 60–120 mm; minimālais uzpildes tilpums ≥400 ml
 - Parauga materiālu stobriņu turētājs (24 stobriņi): diametrs 14,5–18 mm un augstums 60–120 mm; minimālais uzpildes tilpums ≥850 ml

NeuMoDx System darbība

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

- Piepildiet vienu vai vairākus turētājus NeuMoDx System Test Strip Carrier ar testa strēmeliņiem NeuMoDx EBV Quant Test Strip un izmantojiet skārienkrānu, lai testa strēmeliņu turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
- Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, NeuMoDx System palīgmateriālu turētājos ievietojiet nepieciešamos palīgmateriālus un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
- Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, nomainiet NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, iztukšojiet uzpildes atkritumus vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertni (pēc vajadzības).

4. Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, apstrādājiet attiecīgi kalibratorus [REF 800500] un/vai ārējos kontrolmateriālus [REF 900501]. Papildinformācija par kalibratoriem un kontrolmateriāliem atrodama sadaļā *Rezultātu apstrāde*.
5. Parauga materiālu/kalibratoru/kontrolmateriālu stobriņus ievietojiet standarta 32 stobriņu turētājā un visiem parauga materiālu stobriņiem noteikti noņemiet vāciņus.
6. Parauga materiālu stobriņu turētāju ievietojiet jebkurā brīvā vietā automātiskās ievietošanas ierīces plauktā un izmantojiet skārienekrānu, lai turētāju ielādētu sistēmā NeuMoDx System. Tādējādi sāksies ielādēto parauga materiālu apstrāde ar norādītajiem testiem.

IEROBEŽOJUMI

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip var izmantot tikai ar NeuMoDx Systems.
- NeuMoDx EBV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta plazmas parauga materiāliem, kas sagatavoti no pilnasinīm, tās ņemot stobriņā ar EDTA kā antikoagulantu. NeuMoDx EBV Quant Test Strip lietošana ar citu veidu klīniskiem parauga materiāliem nav novērtēta, un testa darbības efektivitātes raksturlielumi citu veidu parauga materiāliem nav zināmi.
- EBV noteikšana ir atkarīga no vīrusu skaita paraugā, tāpēc rezultātu ticamība ir atkarīga no parauga materiālu pareizas ņemšanas, rīcības ar tiem un glabāšanas.
- Pirms rutīnas klīnisko paraugu apstrādes jāapstrādā kalibratori un ārējie kontrolmateriāli, kā ieteikts to lietošanas pamācībā un ja šādu uzaicinājumu parāda NeuMoDx System programmatūra.
- Kļūdainu rezultātu iemesls var būt parauga materiālu nepareiza ņemšana, rīkošanās ar tiem, glabāšana, tehniska kļūme vai parauga materiālu stobriņu nepareiza identificēšana. Vēl kļūdaini negatīvi rezultāti iespējami tad, ja vīrusa daļiņu skaits paraugā ir zem NeuMoDx EBV Quant Assay noteikšanas robežas.
- Strādāt ar NeuMoDx System drīkst tikai darbinieki, kas ir apguvuši zināšanas par NeuMoDx System lietošanu.
- Ja gan EBV mērķis, gan SPC1 mērķis neamplificē, tiek ziņots nederīgs rezultāts (Indeterminate (Neskaidrs) vai Unresolved (Neatrisināts)), un tests ir jāatkārto.
- Ja NeuMoDx EBV Quant Assay rezultāts ir Positive (Pozitīvs), bet kvantitatīvās noteikšanas vērtība pārsniedz kvantitatīvās noteikšanas robežas, NeuMoDx System ziņos, vai noteiktais EBV bija *zem* kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *virs* kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Ja noteiktais EBV bija zem LLoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay var atkārtot (ja vēlams) ar citu parauga materiāla alikvoto daļu.
- Ja noteiktais EBV ir virs ULoQ, NeuMoDx EBV Quant Assay var atkārtot ar sākotnējā parauga materiāla atšķaidītu alikvoto daļu. Ieteicams atšķaidījums attiecībā 1:100 vai 1:1000 EBV negatīvā plazmā vai atšķaidītājā Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Sākotnējā parauga materiāla koncentrāciju sistēma automātiski aprēķinās šādi: sākotnējā parauga materiāla koncentrācija = \log_{10} (atšķaidījuma koeficients) + atšķaidītā parauga ziņotā koncentrācija, ja vien pirms atkārtotās testēšanas atšķaidījuma koeficients būs pareizi atlasīts programmatūrā.
- PQR inhibitoru gadījuma rakstura klātbūtne plazmā var izraisīt sistēmas kvantitatīvās noteikšanas kļūdu; ja tā noticis, testu ieteicams atkārtot ar to pašu parauga materiālu, kas atšķaidīts atšķaidītājā Basematrix attiecībā 1:10 vai 1:100.
- Pozitīvs rezultāts ne vienmēr liecina par aktīvas vīrusinfekcijas klātbūtni. Pozitīva rezultāta gadījumā drīzāk iespējama Epšteina-Barra vīrusa DNS klātbūtne.
- Lai gan šāda iespējamība ir ļoti niecīga, delēcija vai mutācijas EBV genoma abos saglabātajos reģionos, uz ko mērķē NeuMoDx EBV Quant Assay, var ietekmēt noteikšanu, vai var iegūt kļūdainu rezultātu, izmantojot NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- NeuMoDx EBV Quant Assay iegūtie rezultāti jāizmanto kā papildinājums klīniskajiem novērojumiem un citai ārstam pieejamajai informācijai; tests nav paredzēts infekcijas diagnosticēšanai.
- Lai novērstu piesārņojumu, ieteicams ievērot labu laboratoriju praksi, tostarp pēc darba ar katra pacienta parauga materiāliem mainīt cimdus.

REZULTĀTU APSTRĀDE

Pieejamos rezultātus var apskatīt vai izdrukāt cilnē "Results" (Rezultāti), kas atrodama NeuMoDx System skārienekrāna logā Results (Rezultāti).

NeuMoDx EBV Quant Assay rezultātus automātiski ģenerē NeuMoDx System programmatūra, izmantojot lēmuma algoritmu un rezultātu apstrādes parametrus, kas norādīti NeuMoDx EBV Assay definīcijas failā (EBV ADF). NeuMoDx EBV Quant Assay ziņotais rezultāts atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un parauga apstrādes kontrolmateriālam var būt šāds: Negative (Negatīvs), Positive (Pozitīvs) ar ziņotu EBV koncentrāciju, Positive (Pozitīvs) virs ULoQ, Positive (Pozitīvs) zem LLoQ, Indeterminate (Neskaidrs) vai Unresolved (Neatrisināts). Rezultāti tiek ziņoti, pamatojoties uz lēmuma algoritmu, kas ir norādīts šeit: 1. tabula.

1. tabula. NeuMoDx EBV Quant Assay lēmuma algoritms

Rezultāts	EBV	Paraugu apstrādes kontrolmateriāls (SPC1)
Positive (Pozitīvs)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ UN } BPK > 2 \text{ UN } BP \geq 1500]$ OR (VAI) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ UN } BP \geq 1500]$	N/A (Nav attiecināms)
Positive (Pozitīvs), virs kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas [ULoQ] (\log_{10} SV/ml)	[KONC] $> 8,0 \log_{10}$ SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
Positive (Pozitīvs), zem kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas [LLoQ] (\log_{10} SV/ml)	[KONC] $< 2,3 \log_{10}$ SV/ml, NAV KVANT	N/A (Nav attiecināms)
Negative (Negatīvs)	N/A VAI $[2 \leq Ct < 9 \text{ UN } BPK \leq 2]$ OR (VAI) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ UN } BP < 1500]$ VAI $Ct > 38$	AMPLIFIED (Ir amplificēts) ($29 \leq Ct \leq 35$) un BP ≥ 2000
Indeterminate (Neskaidrs)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (Nav amplificēts/Pamanītas sistēmas kļūdas)	
Unresolved (Neatrisināts)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (Nav amplificēts/Nav pamanītu sistēmas kļūdu)	

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

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

Testa aprēķini

- Paraugiem, kas atbilst NeuMoDx EBV Quant Assay kvantitatīvās noteikšanas diapazonam, EBV DNS koncentrāciju paraugos aprēķina, izmantojot saglabāto standarta līkni kopā ar kalibrācijas koeficientu.
 - Kalibrācijas koeficientu aprēķina atbilstīgi rezultātiem, kas iegūti, apstrādājot NeuMoDx EBV Calibrators, lai noteiktu standarta līknes derīgumu katrai NeuMoDx EBV Quant Test Strips partijai konkrētā NeuMoDx System.
 - Kalibrācijas koeficientu sistēma automātiski iekļauj EBV DNS koncentrācijas galīgajā noteikšanā.
- NeuMoDx EBV Quant Assay rezultāti tiek ziņoti mērvienībā \log_{10} SV/ml.
- Nezināmo paraugu iegūtā kvantitatīvā noteikšana ir izsekojama atbilstoši PVO 1. starptautiskajam standartam Epšteina-Barra vīrusa nukleīnskābes amplifikācijas metodēm.

Testa kalibrēšana

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

Kalibratori

- NeuMoDx EBV Calibrators piegādā komplektā [REF 800500], un tie satur atšķaidītājā Basematrix sagatavotu neinfekciozu iekapsulētu EBV mērķi.
- EBV kalibratoru komplekts jāapstrādā ar katru jaunu NeuMoDx EBV Quant Test Strips partiju vai tad, ja sistēmā NeuMoDx System augšupielādē jaunu EBV Assay definīcijas failu, ja pašreizējā kalibratoru komplekta derīguma termiņš ir beidzies (iestatītas 90 dienas) vai ja modificēta NeuMoDx System programmatūra.
- NeuMoDx System programmatūra lietotāju informēs, kad būs jāapstrādā kalibratori; jaunu testa strēmeliņu partiju nevarēs izmantot testēšanai, kamēr kalibratori nebūs sekmīgi apstrādāti.

4. Tālāk aprakstīts, kā tiek noteikts kalibrācijas derīgums:
 - a) Lai noteiktu derīgumu, jāapstrādā divu kalibratoru komplekts: augšējās un apakšējās vērtības kalibrators.
 - b) Lai ģenerētu derīgus rezultātus, vismaz 2 atkārtojumu rezultātiem no 3 atkārtojumiem jāatbilst iepriekšnoteiktajiem parametriem. Apakšējās vērtības kalibrators nominālais mērķis ir $4 \log_{10} \text{SV/ml}$, un augšējās vērtības kalibrators nominālais mērķis ir $6 \log_{10} \text{SV/ml}$.
 - c) Aprēķina kalibrācijas koeficientu, lai ņemtu vērā paredzamās atšķirības starp testa strēmelišu partijām; šo kalibrācijas koeficientu izmanto galīgās EBV koncentrācijas noteikšanai.
5. Ja viena vai abu kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga, atkārtoti apstrādājiet nesekmīgo kalibratoru, izmantojot jaunu flakonu. Ja derīguma pārbaude ir nesekmīga vienam kalibratoram, iespējams atkārtot tikai nesekmīgā kalibrators pārbaudi, jo sistēma neprasa, lai lietotājs vēlreiz analizētu abus kalibrators.
6. Ja kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga otrreiz pēc kārtas, sazinieties ar NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitātes kontrole

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

Ārējie kontrolmateriāli

1. Ārējos kontrolmateriālus, kas pozitīviem kontrolmateriāliem satur neinfekciozu iekapsulētu EBV mērķi atšķaidītājā Basematrix, komplektā, kurā ir NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501], piegādā NeuMoDx Molecular, Inc.
2. Pozitīvi un negatīvi ārējie kontrolmateriāli jāapstrādā ik pēc 24 stundām. Ja nav derīgu ārējo kontrolmateriālu kopas, NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu lietotājam apstrādāt kontrolmateriālus, lai varētu ziņot paraugu rezultātus.
3. Ja nepieciešami ārējie kontrolmateriāli, ārējo kontrolmateriālu komplekts jāizņem no saldētavas, un flakoniem jāatkūst istabas temperatūrā (15–30 °C). Uzmanīgi maisiet virpuļmikserī, lai materiāls būtu viendabīgs.
4. Izmantojot skārienkrānu un automātiskās ievietošanas ierīces plauktā ievietotu parauga materiālu stobriņu turētāju, pozitīvo un negatīvo kontrolmateriālu flakonus ielādējiet sistēmā NeuMoDx System. NeuMoDx System atpazīs svītrkodu un sāks parauga materiālu stobriņu apstrādi, ja būs pieejami testēšanai nepieciešamie reaģenti vai paligmateriāli.
5. Ārējo kontrolmateriālu derīgumu NeuMoDx System novērtē, ņemot vērā paredzamo rezultātu. Ar pozitīvo kontrolmateriālu jāiegūst EBV pozitīvs rezultāts, un ar negatīvo kontrolmateriālu jāiegūst EBV negatīvs rezultāts.
6. Tālāk aprakstīts, kā jārikojas, ja ārējo kontrolmateriālu rezultāti nav atbilstoši.
 - a) Pozitīvs testa rezultāts, kas ziņots negatīvam kontrolmateriāla paraugam, liecina par parauga materiāla kontaminācijas problēmu.
 - b) Negatīvs testa rezultāts, kas ziņots pozitīvam kontrolmateriāla paraugam, var liecināt par problēmu, kas ir saistīta ar reaģentu vai iekārtu.
 - c) Abos iepriekš minētajos gadījumos nesekmīgā rezultāta NeuMoDx EBV External Control jāapstrādā atkārtoti, izmantojot svaigi atkausētu to kontrolmateriālu flakonu, kuru derīguma pārbaude bijusi nesekmīga.
 - d) Ja pozitīva NeuMoDx EBV External Control rezultāts aizvien ir Negative (Negatīvs), sazinieties ar NeuMoDx klientu apkalpošanas dienestu.
 - e) Ja negatīva NeuMoDx EBV External Control rezultāts aizvien ir Positive (Pozitīvs), mēģiniet likvidēt visus iespējama piesārņojuma avotus, tostarp nomainiet VISUS reaģentus un paligmateriālus, tikai pēc tam sazinieties ar NeuMoDx klientu apkalpošanas dienestu.

Paraugu apstrādes (iekšējie) kontrolmateriāli

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

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

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

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

DARBĪBAS EFEKTIVĪTĀTES RAKSTURLIELUMI

Analītiskais jutīgums – noteikšanas robeža, izmantojot PVO standartu

NeuMoDx EBV Quant Assay analītisko jutīgumu apstiprināja, testējot EBV negatīvus plazmas parauga materiālus, kam pievienots PVO 1. starptautiskā standarta EBV nukleīnskābes amplifikācijas metodēm vājš atšķaidījums. Šo apstiprinājuma testu veica ar NeuMoDx EBV Quant Assay paredzamo noteikšanas robežu (Limit of Detection, LoD) 200 SV/ml sistēmās NeuMoDx Systems. LoD definēja kā zemāko mērķa līmeni, kas nosakāms ar rādītāju $\geq 95\%$. Pētījumu veica ar vairākām sistēmām un kvalificētām NeuMoDx reaģentu partijām. Noteikšanas rādītāji ir norādīti šeit: 2. tabula.

2. tabula. NeuMoDx EBV Quant Assay LoD noteikšana; pozitīvs noteikšanas rādītājs plazmas parauga materiāliem

Mērķa koncentrācija [SV/ml]	PLAZMA		
	Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Analītiskais jutīgums – kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ)

Kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ) ir definēta kā zemākais mērķa līmenis, kādā sasniedz $>95\%$ noteikšanu, UN summārā analīzes kļūda (SAK) $\leq 1,0$. Lai apstiprinātu, ka 200 SV/ml ir EBV Quant Assay LoD un LLOQ, SAK noteikšanai izmantoja trāpījumu procenta pētījuma rezultātus. Šo aprēķināto SAK noteica šādi:

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

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

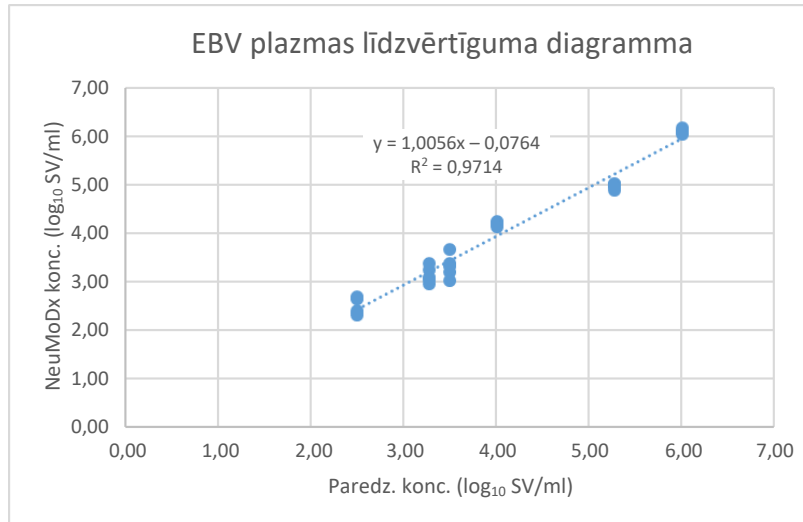
3. tabula. NeuMoDx EBV Quant Assay LLOQ ar novirzi un SAK

Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [\log_{10} SV/ml]	Plazma				
		Vidējā konc. [\log_{10} SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Pamatojoties uz šo pētījumu iznākumu, NeuMoDx EBV Quant Assay noteiktā LoD un LLOQ bija 200,0 SV/ml [$2,30 \log_{10}$ SV/ml].

Linearitāte un kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (ULOQ) noteikšana

NeuMoDx EBV Quant Assay linearitāti un kvantitatīvās noteikšanas augšējo robežu (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) noteica plazmā, atšķaidījumu sērijas sagatavošanai izmantojot NeuMoDx iekapsulētu EBV mērķi un Exact EBV pozitīvo kontrolmateriālu (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ar noteiktu izsekojamību atbilstoši PVO 1. starptautiskajam standartam. EBV negatīvas plazmas kopparaugā sagatavoja 10 elementu paneli, radot paneli, kas aptvertu koncentrāciju diapazonu 2,0–8,0 \log_{10} SV/ml. NeuMoDx EBV Quant Assay noteiktā ULOQ bija 8,0 \log_{10} SV/ml. Lai novērtētu standarta līknes linearitāti, sagatavoja apstiprinājuma paneli, un NeuMoDx System ziņotās EBV analīzes koncentrācijas, salīdzinot ar paredzamajām vērtībām, ir parādītas šeit: 2. attēls.



2. attēls. NeuMoDx EBV Quant Assay linearitāte

Analītiskais specifiskums – krusteniskā reaģētspēja

Analītisko specifiskumu pierādīja, atsiņājot 35 organismus, ko var sastapt asins/plazmas parauga materiālos, kā arī EBV filoģenētiski līdzīgas sugas, lai noteiktu krustenisko reaģētspēju. Organismus augstā koncentrācijā sagatavoja kopparaugos pa 5–6 organismiem. Testētie organismi ir norādīti šeit: 4. tabula. Nevienam testētajam organismam nenovēroja krustenisko reaģētspēju, kas apstiprina NeuMoDx EBV Quant Assay 100% analītisko specifiskumu.

4. tabula. Patogēni, kurus izmantoja analītiskā specifiskuma pierādīšanai

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

Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, komensāli organismi

NeuMoDx EBV Quant Assay novērtēja, lai noteiktu interferenci ne mērķa organismu klātbūtnē, izmantojot tos pašus organismu kopparaugus, ko sagatavoja krusteniskās reaģētspējas testēšanai un kas ir norādīti iepriekš šeit: 4. tabula. Negatīvai EBV plazmai pievienoja organismus, ko apkopēja grupās pa 4–7; pēc tam šiem kopparaugiem pievienoja EBV mērķi koncentrācijā 3 log₁₀ SV/ml. Šo organismu klātbūtnē nenovēroja nozīmīgu interferenci, par ko liecina kvantitatīvās noteikšanas minimāla novirze no kontrolmateriālu parauga materiāliem, kas nesaturēja nevienu traucējošu vielu.

Analītiskais specifiskums – traucējošās vielas, endogēnās un eksogēnās vielas

NeuMoDx EBV Quant Assay novērtēja tādu tipisku eksogēno un endogēno traucējošo vielu klātbūtnē, ko konstatē EBV klīniskajos plazmas parauga materiālos. Šīs vielas ietvēra neparasti augstus asins komponentu līmeņus, kā arī parastās pretvīrusu zāles un imūnsupresantus, kas ir klasificēti šeit: 5. tabula. Katru vielu pievienoja atsiņātai EBV negatīvai cilvēka plazmai, kam pievienotas 3 log₁₀ SV/ml EBV, un paraugus analizēja, lai noteiktu interferenci. Lai noteiktu iespējamu interferenci, testēja arī ar EBV infekciju saistītu parastu slimības stāvokļa plazmu. Visu testēto vielu vidējā koncentrācija un novirze salīdzinājumā ar kontrolmateriāla paraugiem, kam pievienots EBV tādā pašā līmenī, ir parādīta šeit: 6. tabula. Neviena eksogēnā un endogēnā viela neietekmēja NeuMoDx EBV Quant Assay specifiskumu.

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

Kopparaugšs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija	Kopparaugšs	Zāļu nosaukums	Klasifikācija
1. kopparaugšs	Azatioprīns	Imūnsupresants	4. kopparaugšs	Trimetoprimis	Antibiotika
	Ciklosporīns	Imūnsupresants		Vankomicīns	Antibiotika
	Foskarnets	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)		Takrolims	Imūnsupresants
	Ganciklovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)		Everolims	Imūnsupresants
	Valganciklovīra hidrohlorīds	Pretvīrusu zāles (EBV)		Kālija klavulanāts	Antibiotika
2. kopparaugšs	Prednizons	Kortikosteroīds/imūnsupresants	5. kopparaugšs	Famotidīns	Histamīna receptoru antagonists
	Cidofovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)		Sulfametoksazols	Antibiotika
	Cefotetāns	Antibiotika (plaša spektra)		Valacilovīrs	Pretvīrusu zāles (herpesvīrusu dzimta)
	Cefotaksīms	Antibiotika (plaša spektra)		Letermovīrs	Pretvīrusu zāles (EBV)
	Flukonazols	Pretsēnīšu līdzeklis		Tikarcilīna dinātrija sāls	Antibiotika
3. kopparaugšs	Mikofenolāta mofetils	Imūnsupresants		Leflunomīds	Imūnsupresants
	Mikofenolāta nātrija sāls	Imūnsupresants			
	Piperacilīns	Antibiotika			
	Sirolims/rapamicīns	Imūnsupresants			
	Tazobaktāms	Modificēta antibiotika			

6. tabula. Interferences testēšana – eksogēnās un endogēnās vielas

Endogēnā	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
Hemoglobīns	3,20	0,23
Triglicerīdi	3,15	0,28
Bilirubīns	3,48	-0,05
Albumīns	3,2	0,22
Eksogēnā (zāles)	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
1. kopparaugšs: azatioprīns, ciklosporīns, foskarnets, ganciklovīrs, valganciklovīra hidrohlorīds	3,30	0,13
2. kopparaugšs: prednizons, cidofovīrs, cefotetāns, cefotaksīms, flukonazols	3,22	0,21
3. kopparaugšs: mikofenolāta mofetils, mikofenolāta nātrija sāls, piperacilīns, sirolims/rapamicīns, tazobaktāms	3,36	0,07
4. kopparaugšs: trimetoprimis, vankomicīns, takrolims, everolims, kālija klavulanāts	3,32	0,11
5. kopparaugšs: famotidīns, sulfametoksazols, letermovīrs, valacilovīrs, tikarcilīna dinātrija sāls, leflunomīds	3,47	-0,10
Slimības stāvoklis	Vidējā konc.	Novirze
	log ₁₀ SV/ml	log ₁₀ SV/ml
Sistēmiska sarkanā vilkēde (SSV)	3,23	0,20
Antinukleārās antivielas (ANA)	3,33	0,10
Reimatoīdais artrīts (RA)	3,19	0,24

Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte

NeuMoDx EBV Quant Assay precizitāti noteica, EBV parauga materiālu, kas sagatavoti ar EBV pozitīvo kontrolmateriālu (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), 4 elementu paneļa 3 atkarojumus testējot trīsreiz dienā divās NeuMoDx 288 Systems un vienā NeuMoDx 96 System divas dienas. Tika raksturota vienas testēšanas reizes, vienas dienas un vienas sistēmas precizitāte, un noteiktā vispārējā standartnovirze bija $\leq 0,33 \log_{10} \text{SV/ml}$. Dažādās sistēmās, dienās un testēšanas reizēs precizitāte bija teicama, kā parādīts šeit: 7. tabula. Precizitāte starp operatoriem netika raksturota, jo operatora darbības paraugu apstrādē, izmantojot NeuMoDx System, nav nozīmīgas.

7. tabula. Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte – NeuMoDx EBV Quant Assay sistēmās NeuMoDx Systems

Mērķa EBV konc. [$\log_{10} \text{SV/ml}$]	Vidējā EBV konc. [$\log_{10} \text{SV/ml}$]	Vienas sistēmas SN	Vienas dienas SN	Vienas izpildes SN	Kopējais (vienas laboratorijas) SN
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

Reproducējamība ar dažādām partijām

NeuMoDx EBV Quant Assay reproducējamību ar dažādām partijām noteica, novērtējot trīs galveno reaģentu partijas: NeuMoDx EBV Quant Test Strips un Lysis Buffer 5; tas ietilpa kvalifikācijas testēšanā (KT). Darbības efektivitātes novērtēšanai izmantoja EBV pozitīvas plazmas 4 elementu paneli (8. tabula). Analizēja vienas partijas un dažādu partiju atšķirības, un rezultāti ir parādīti šeit: 8.–9. tabula. Testa strēmēlītēm NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips maksimālā vispārējā novirze bija $0,03 \log_{10} \text{SV/ml}$, un maksimālā vispārējā SN bija $0,20 \log_{10} \text{SV/ml}$. Buferšķidumam NeuMoDx Lysis Buffer 5 maksimālā vispārējā novirze bija $0,12 \log_{10} \text{SV/ml}$, un maksimālā vispārējā SN bija $0,41 \log_{10} \text{SV/ml}$. Dažādām partijām darbības efektivitāte bija teicama, jo visu paneļa elementu kvantitatīvā noteikšana atbilda pielaišanas specifikācijai.

8. tabula. Reproducējamība ar dažādām partijām – NeuMoDx EBV Quant Assay, testa strēmēlīte

Mērķa EBV konc. [SV/ml]	Vidējā EBV konc. [$\log_{10} \text{SV/ml}$]	N (Derīgie rezultāti partijā)	Novirze	SN starp partijām	Vienas partijas SN	Vispārējā SN
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

9. tabula. Reproducējamība ar dažādām partijām – NeuMoDx EBV Quant Assay, 5. lizēšanas buferšķidums

Mērķa EBV konc. [$\log_{10} \text{SV/ml}$]	Vidējā EBV konc. [$\log_{10} \text{SV/ml}$]	N (Derīgie rezultāti partijā)	Novirze	SN starp partijām	Vienas partijas SN	Vispārējā SN
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

Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte

NeuMoDx EBV Quant Assay ietver paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai ziņotu par apstrādes darbību kļūdām vai par inhibīciju, kas ietekmē analīzes darbības efektivitāti. Par modeli izmantojot NeuMoDx CMV Quant Assay, SPC1 efektivitāti plazmas parauga materiāliem testēja apstākļos, kas ir raksturīgi kritiski būtiskām apstrādes darbību kļūdām, kādas varētu rasties paraugu apstrādes laikā un ko *nekonstatēt* NeuMoDx System darbības efektivitāti pārbaudītie sensori. Citomegalovīrusa pozitīvus parauga materiālus (koncentrācijā $3 \log_{10} \text{SV/ml}$) un negatīvus parauga materiālus pārbaudīja šādos apstākļos: inhibitora klātbūtne, netiek pievadīts skalošanas šķidrums un nenotiek skalošanas izpūšana. Apstrādes neefektivitāti, kas nelabvēlīgi ietekmēja vīrusa mērķa noteikšanu/kvantitatīvo noteikšanu, atspoguļoja SPC1 mērķa darbība, kā parādīts šeit: 10. tabula. Visos testēšanas gadījumos tika pierādīts, ka vai nu paraugu apstrādes kontrolmateriāls pienācīgi uzraudzīja apstrādes neefektivitāti un inhibitoru klātbūtni, vai arī paredzamās apstrādes neefektivitātes nelabvēlīgā ietekme uz SPC1 noteikšanu vai uz vīrusa mērķa noteikšanu un kvantitatīvo noteikšanu nebija nozīmīga. Tādējādi tika pierādīts, ka SPC1 sekmīgi un efektīvi uzrauga analīzes darbības efektivitāti sistēmā NeuMoDx System.

10. tabula. Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte vīrusa DNS noteikšanā plazmā*

Pārbaudītā apstrādes darbības kļūda	1. paraugu apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas statuss	CMV mērķa amplifikācijas statuss	Analīzes rezultāts
Presence of Inhibitor (Inhibitora klātbūtne)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Delivered (Nav skalošanas)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Blowout (Nenotiek skalošanas izpūšana)	Amplified (Amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	Positive (Pozitīvs) ar kontrolmateriāla kvantitatīvo noteikšanu 0,3 log ₁₀ SV/ml

* Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitātes novērtēšanai par modeļa sistēmu izmantoja citomegalovīrusu (CMV) plazmas parauga materiālos.

Krusteniskā kontaminācija

Krusteniskās kontaminācijas rādītāju plazmas parauga materiāliem noteica, pārmaiņus apstrādājot līdzīga ar asinīm pārnesama DNS vīrusa – citomegalovīrusa (CMV) – ļoti pozitīvus un negatīvus paraugus. Veica trīs pārbaudes “dambretes galdiņa” veidā, pavisam testējot 108 CMV negatīva plazmas atkārtojumus un 108 plazmas atkārtojumus, kam pievienots CMV koncentrācijā 6,0 log₁₀ SV/ml. Visu negatīvā parauga materiāla 108 atkārtojumu ziņotie rezultāti bija negatīvi, kas pierāda, ka plazmas paraugu apstrādes laikā sistēmā NeuMoDx System krusteniskā kontaminācija nenotiek.

Parauga materiālu matricas līdzvērtīgums

Lai pierādītu līdzvērtīgumu, testēja svaigus un sasaldētus plazmas parauga materiālus, par modeli izmantojot līdzīgu ar asinīm pārnesamu vīrusu – CMV. Svaigos parauga materiālus glabāja 4 °C temperatūrā, līdz tiem pievienoja CMV trīs līmeņos un testēja, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Pēc tam paraugus sasaldēja uz vismaz 24 stundām -20 °C temperatūrā. Pēc glabāšanas saldētavā parauga materiālus atkausēja un testēja vēlreiz. Svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu rezultātus salīdzināja, izmantojot regresijas analīzi, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Dati uzrādīja svaigo un sasaldēto plazmas parauga materiālu teicamu līdzvērtīgumu, virziena koeficients bija 1,0, un novirze (regresijas konstante) bija ļoti maza, kā parādīts tālāk šeit: 11. tabula.

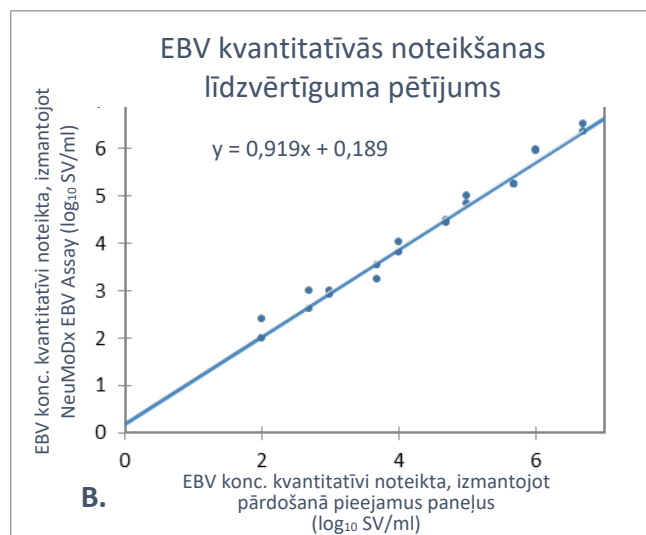
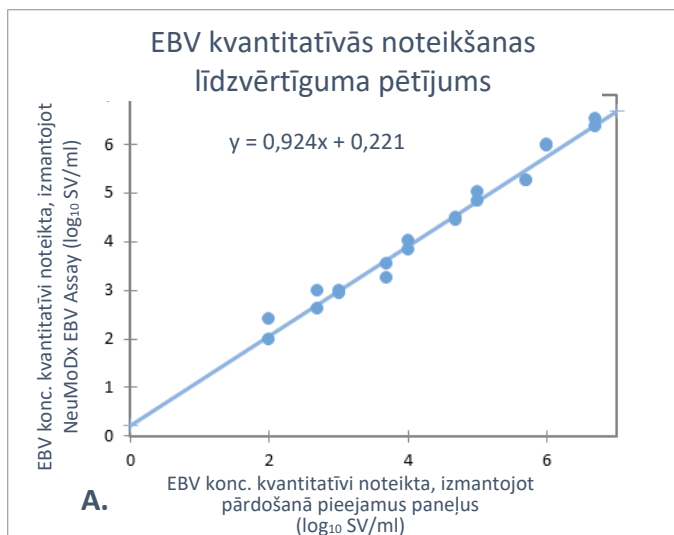
11. tabula. Parauga materiālu matricas līdzvērtīgums

Prasība parametram	Svaigs, salīdzinot ar sasaldētu, ar EDTA
Virziena koeficients [0,9–1,1]	1,000
Regresijas konstante <0,5 log ₁₀ SV/ml	0,020
p vērtība >0,05	0,631

Kvantitatīvās noteikšanas darbības efektivitātes raksturojums

NeuMoDx EBV Quant Assay kvantitatīvo darbības efektivitāti raksturoja, apstrādājot divus komerciālus EBV pārbaudes paneļus no AcroMetrix un Exact Diagnostics (izsekojams atbilstoši PVO 1. starptautiskajam standartam EBV) sistēmās NeuMoDx Molecular Systems.

NeuMoDx EBV Quant Assay un abu komerciālo EBV pārbaudes paneļu korelācija bija teicama (3. attēls), datus analizējot ar Deminga regresijas (3.A attēls) vai Passing-Babloka metodi (3.B attēls).



3. attēls. AcroMetrix un Exact Diagnostics pārbaudes paneļu un NeuMoDx EBV Quant Assay līdzvērtīguma diagramma.

A. Lineārās regresijas analīze, izmantojot Deminga metodi. B. Lineārās regresijas analīze, izmantojot Passinga-Babloka metodi.

Deminga regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē vispārējais virziena koeficients 0,92 un regresijas konstante (novirze) 0,22, kas pierāda, ka ar NeuMoDx EBV Quant Assay un EBV pārbaudes paneļiem iegūtie koncentrācijas rezultāti korelē ar pieņemamu novirzi. Passinga-Babloka lineārās regresijas pielāgojums arī apliecina ar NeuMoDx EBV Quant Assay un EBV pārbaudes paneļiem iegūto rezultātu korelācijas nozīmīgumu: vispārējais virziena koeficients ir 0,92, un regresijas konstante (novirze) ir 0,19. Pēc Passinga-Babloka analīzes aprēķinātā *p* vērtība ir 0,40.

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

Deminga analīze		Passinga-Babloka analīze	
Regresijas konstante	Virziena koeficients	Regresijas konstante	Virziena koeficients
0,22	0,92	0,19	0,92
95% TI (-0,11; 0,55)	95% TI (0,86; 0,99)	95% TI (-0,08; 0,41)	95% TI (0,87; 0,99)

ATSAUCES

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.

PREČU ZĪMES










NeuMoDx™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.

NeuDry™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.

TaqMan® ir Roche Molecular Systems, Inc. reģistrēta preču zīme.

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

APZĪMĒJUMI

APZĪMĒJUMS	NOZĪME
R only	Lietošanai tikai ar recepti
	Ražotājs
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">IVD</div>	Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai
<div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px;">EC</div> <div style="display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 2px; margin-left: 10px;">REP</div>	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">REF</div>	Kataloga numurs
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">LOT</div>	Partijas kods
	Derīguma termiņš
	Temperatūras robežvērtība
	Mitruma ierobežojums
	Nelietot atkārtoti
	Satur pietiekami daudz materiāla <n> testiem
	Skatīt lietošanas instrukciju
	Uzmanību!
	Bioloģiskie riski
CE	CE zīme



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

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



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



Tehniskais atbalsts/uzraudzības ziņojumiem: support@qiagen.com

Patents: www.neumodx.com/patents