

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

DĖMESIO. Skirta tik JAV eksportui

IVD Skirta *in vitro* diagnostikai naudojant sistemas „NeuMoDx 288“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“

Informacinių lapelių atnaujinimai pateikiami svetainėje: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 288 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600108

Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600317

PASKIRTIS

„NeuMoDx EBV Quant Assay“ – tai automatizuotas, *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos tyrimas, skirtas žmogaus Epšteino-Baro viruso (EBV) DNR kiekiui plazmoje nustatyti. Tyrime „NeuMoDx EBV Quant Assay“, atliekamame sistemomis „NeuMoDx 288 Molecular System“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“ („NeuMoDx System“), naudojamas automatizuotas DNR ekstrahavimas, skirtas taikinio nukleorūgščiai izoliuoti iš plazmos, ir realiojo laiko polimerazės grandininė reakcija (PGR), kuria tiriamos dvi itin konservatyvios Epšteino-Baro viruso genomo sekos.

Tyrimas „NeuMoDx EBV Quant Assay“ yra skirtas Epšteino-Baro viruso DNR *in vitro* kiekybiškai nustatyti šviežiuose ir užšaldytuose žmogaus plazmos mėginiuose, naudojant sistemas „NeuMoDx 288“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“. „NeuMoDx EBV Assay“ naudojamas kaip pagalbinė EBV užsikrėtusių pacientų diagnozės nustatymo ir priežiūros priemonė. Tyrimą galima naudoti EBV DNR koncentracijoms išmatuoti, siekiant įvertinti atsaką į antivirusinį gydymą. Šis tyrimas turėtų būti naudojamas atsižvelgiant į klinikinius simptomus ir kitus ligos prognozės laboratorinius žymenis, skirtus EBV infekcija sergančių asmenų priežiūrai ir stebėjimui. Tyrimas nėra skirtas naudoti kaip atrankinės donorų patikros tyrimas, norint nustatyti, ar kraujyje arba kraujyje produktuose yra EBV.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Žmogaus visos sudėties kraują, surinktą į sterilius kraujo paėmimo mėgintuvėlius su EDTA kaip antikoagulantu, galima naudoti plazmai paruošti. Norint pradėti tyrimą, su sistema „NeuMoDx System“ suderinamame mėgintuvėlyje esanti plazma įdedama į mėginių mėgintuvėlių laikiklį ir įkeliami ant „NeuMoDx System“ darbatalio. Kiekviename mėginyje 250 µl plazmos ėminio alikvotinės dalies sumaišoma su lizės buferiniu tirpalu „NeuMoDx Lysis Buffer 5“. Sistema „NeuMoDx System“ automatiškai atlieka visus veiksmus, reikiamus norint ekstrahuoti taikinio nukleorūgštį, paruošti realiojo laiko PGR amplifikacijai skirtą izoliuotą DNR ir, jei yra, amplifikuoti bei aptikti amplifikacijos produktus (dvi itin atsparias EBV genomo sritis). Tyrime „NeuMoDx EBV Quant Assay“ yra DNR ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1), padedanti stebėti galimai slopinančias medžiagas ir sistemas „NeuMoDx System“ ar reagentų triktis, kurios gali atsirasti ekstrahavimo ir amplifikacijos proceso metu.

EBV yra plačiai paplitęs žmogaus herpeso viruso šeimos priklausantis dvigrandės DNR virusas, kuriuo gali užsikrėsti bet kokio amžiaus žmonės. Manoma, kad > 90 % asmenų visame pasaulyje yra ar buvo užsikrėtę EBV.¹ EBV plinta per kūno skysčius, tokius kaip seilės, kraujas, sperma, ir persodintus organus. Daug žmonių užsikrėtę EBV vaikystėje. Šiems EBV užsikrėtusiems asmenims dažniausiai nepasireiškia jokių simptomų. Nusilpusio imuniteto asmenims dėl EBV infekcijos gali pasireikšti sunkių simptomų ir komplikacijų. Latentinė EBV infekcija kelia didžiausių pavojų pacientams, kuriems atlikta transplantacija. Sergant potransplantaciniu limfoproliferaciniu sutrikimu (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD), dėl imunosupresinių medžiagų poveikio EBV imuniteto kontrolei B ląstelėse susidaro EBV sukeltas navikas. Tai yra viena iš pagrindinių pacientų, kuriems atlikta organų transplantacija, sergamumo ir mirštamumo priežasčių.²

Stebint EBV viruso koncentraciją, galima lengviau nustatyti diagnozę ir prižiūrėti su EBV susijusiu PTLD sergančius pacientus. Tačiau su EBV susijusio PTLD diagnozė negali būti pagrįsta vien tik kraujyje aptiktomis EBV nukleorūgštimis. Nukleorūgščių tyrimas (Nucleic Acid Testing, NAT) turėtų būti naudojamas atsižvelgiant į klinikinius simptomus ir kitus ligos progresavimo laboratorinius žymenis, skirtus EBV infekcija sergančių asmenų priežiūrai ir stebėjimui. Nors dabartinėse EBV užsikrėtusių nusilpusio imuniteto asmenų priežiūros ir gydymo rekomendacijose nėra aiškiai nurodyta, kada pradėti antivirusinį gydymą, visose rekomendacijose pabrėžiama, kad pradėjus antivirusinį gydymą reikia nuolat stebėti viruso koncentraciją, kad gydomiems asmenims galima būtų sušvelninti sunkų šalutinį vaistų poveikį.^{3,4}

PROCEDŪROS PRINCIPAI

Tyrimas „NeuMoDx EBV Quant Assay“ sistemoje „NeuMoDx System“ naudoja juostelę „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“, kalibravimo medžiagas „NeuMoDx EBV Calibrator“, išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx EBV External Control“, buferinį tirpalą „NeuMoDx Lysis Buffer 5“ ir „NeuMoDx“ bendrojo naudojimo reagentus analizei atlikti. Tyrimas „NeuMoDx EBV Quant Assay“ apima automatizuotą DNR ekstrahavimą, amplifikavimą ir aptikimą realiojo laiko PGR metodu. Visos sudėties kraujo mėginiai imami į EDTA mėgintuvėlius plazmai paruošti. Plazmos mėginys su sistema „NeuMoDx System“ suderinamame mėginių mėgintuvėlyje įdedamas į mėginių mėgintuvėlių laikiklį, kuris po to įkeliamas apdoroti į sistemos „NeuMoDx System“ darbatalį. Operatoriui jokių papildomų veiksmų atlikti nereikia.

Sistemose „NeuMoDx System“ naudojant kaitinimo, lizės fermento ir ekstrahavimo reagentų derinį, automatiškai atliekama ląstelių lizė, DNR ekstrahavimas ir inhibitorių pašalinimas. Išsiskyrusias nukleorūgštis sulaiko paramagnetinės dalelės. Dalelės su prijungtomis nukleorūgštimis įkeliamos į kasetę „NeuMoDx Cartridge“, kurioje neprijungti, ne DNR komponentai toliau išplaunami plovimo reagentu „NeuMoDx Wash Reagent“, o prijungta DNR eliuuojama reagentu „NeuMoDx Release Reagent“. Tada eliuota DNR naudojama sistemoje „NeuMoDx System“, kad galima būtų rehidrinti patentuotus „NeuDry™“ amplifikavimo reagentus, kurių sudėtyje yra visi specifinių EBV taikinių ir SPC1 PGR amplifikavimui būtini elementai. Praskiedus „NeuDry“ PGR reagentus, sistema „NeuMoDx System“ išpildo paruoštą PGR mišinį į kasetę „NeuMoDx Cartridge“. Kontrolinių ir tikslinių DNR sekų (jei yra) amplifikavimas ir aptikimas vyksta kasetės „NeuMoDx Cartridge“ PGR kameroje. Kasetė „NeuMoDx Cartridge“ pagaminta taip, kad po realiojo laiko PGR amplikonas liktų joje, taip iš esmės pašalinant užteršimo po amplifikacijos riziką.

„NeuMoDx EBV Quant Assay“ tiriamos dvi itin konservatyvios EBV genomo sritys – BALF5 ir BXFL1. Tokiu būdu sumažinama klaidingai neigiamų rezultatų rizika mutacijos atveju ir padidinamas tyrimo patikimumas. Amplifikuoti taikiniai aptinkami realiojuoju laiku, naudojant hidrolizės zondų chemiją (dažnai vadinamą „TaqMan®“ chemija), kurioje naudojamos amplikonams būdingos fluorogeninio oligonukleotidų zondo molekulės atitinkamoms jų tikslinėms sekom.

„TaqMan“ zondai sudaryti iš fluoroforo, kovalentiškai prisijungusio prie oligonukleotido zondo 5' galo, ir slopiklio ties 3' galu. Kol zondas yra nepažeistas, fluoroforas ir slopiklis yra arti, todėl slopiklio molekulė slopina fluorescenciją dėl Förster rezonansinės energijos pernašos (angl. „Förster Resonance Energy Transfer“, FRET).

„TaqMan“ zondai sukurti taip, kad jie galėtų susijungti DNR srityje, amplifikuotoje specifiniu pradmenų rinkiniu. Kai Taq DNR polimerazė ilgina pradmenį ir sintetina naują grandinę, Taq DNR polimerazės 5'–3' egzozonukleazės aktyvumas skaido prie matricos prisijungusį zondą. Zondo skilimas išlaisvina fluoroforą bei padidina atstumą iki slopiklio, todėl įveikiamas slopinamasis poveikis dėl FRET ir galima aptikti fluoroforo fluorescenciją. Aptiktas fluorescencinis signalas yra tiesiogiai proporcingas išlaisvintam fluoroforui ir gali būti siejamas su esamu tikslinės DNR kiekiu.

„TaqMan“ zondas, 5' gale pažymėtas fluoroforu (490/521 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*), yra naudojamas EBV DNR aptikti. Norint aptikti SPC1, „TaqMan“ zondas 5' gale pažymimas alternatyviu fluorescenciniu dažikliu (535/556 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*). Sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga stebi „TaqMan“ zondų skleidžiamą fluorescencinį signalą kiekvieno amplifikavimo ciklo pabaigoje. Atlikus amplifikaciją, sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga analizuoja duomenis ir praneša rezultatą („POSITIVE“ (TEIGIAMA) / „NEGATIVE“ (NEIGIAMA) / „INDETERMINATE“ (NEAIŠKU) / „UNRESOLVED“ (NEIŠSPRĘSTA). Jei rezultatas yra „POSITIVE“ (teigiama), „NeuMoDx System“ programinė įranga taip pat pateikia su ėminiu susijusią kiekybinę reikšmę arba praneša, ar apskaičiuota koncentracija yra už kiekybinio nustatymo ribų.

REAGENTAI / EKSPLOATACINIAI REIKMENYS

Pateikiamos medžiagos

NUOR.	Turinys	Tyrimų skaičius vienete	Tyrimų pakuotėje
201500	„NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ Sausi PGR reagentai, kuriuose yra EBV ir SPC1 specifinis „TaqMan“ zondas ir pradmenys.	16	96

Nepateikiamos, bet reikalingos papildomos medžiagos (galima įsigyti atskirai iš „NeuMoDx“)

NUOR.	Turinys
100200	„NeuMoDx Extraction Plate“ ekstrahavimo plokštelė Sausos paramagnetinės dalelės, lizės fermentas ir ėminių apdorojimo kontrolinės medžiagos
800500	„NeuMoDx EBV Calibrators“ Vienkartinio naudojimo EBV aukštos ir žemos koncentracijų kalibravimo medžiagų rinkiniai, skirti kalibracinės kreivės tinkamumui nustatyti
900501	„NeuMoDx EBV External Controls“ Vienkartinio naudojimo EBV teigiamų ir neigiamų kontrolinių medžiagų rinkiniai kasdieniam tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ tinkamumui nustatyti
400900	„NeuMoDx Lysis Buffer 5“
400100	„NeuMoDx Wash Reagent“
400200	„NeuMoDx Release Reagent“
100100	„NeuMoDx Cartridge“
235903	„Hamilton CO-RE / CO-RE II“ antgaliai (300 µl) su filtrais
235905	„Hamilton CO-RE / CO-RE II“ antgaliai (1000 µl) su filtrais

Reikalingi prietaisai

„NeuMoDx 288 Molecular System“ [nuor. Nr. 500100] ar „NeuMoDx 96 Molecular System“ [nuor. Nr. 500200]

PERSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- „NeuMoDx EBV Quant Assay“ skirtas *in vitro* diagnostikai ir turėtų būti naudojamas tik sistemose „NeuMoDx System“.
- Su mėginiais visada elkitės kaip su infekcinėmis medžiagomis ir laikykitės saugių laboratorinių procedūrų, pvz., aprašytų „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“⁵ ir CLSI dokumente M29-A4.⁶
- Teigiamas rezultatas reiškia, kad mėginyje yra EBV DNR.
- „NeuMoDx EBV Quant Assay“ bus efektyvus tik tuo atveju, jei jį naudos darbuotojai, išmokyti naudoti sistemą „NeuMoDx System“ ir tvarkyti infekcines medžiagas.
- Nenaudokite reagentų ar eksploatacinių reikmenų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite reagentų, jeigu apsauginė plomba arba gauta pakuotė yra pažeista.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų arba reagentų, jeigu gautas apsauginis maišelis yra atidarytas arba pažeistas.

- Norint gauti klinikinių ėminių tyrimo rezultatus, reikalinga tinkama tyrimo kalibracija (sukurta apdorojus aukštos ir žemos koncentracijos kalibravimo medžiagas „NeuMoDx EBV Calibrator“ [nuor. Nr. 800500]).
- Atliekant tyrimą „NeuMoDx EBV Quant Assay“, išorinės kontrolinės medžiagos „NeuMoDx EBV External Control“ [nuor. Nr. 900501] turi būti apdorojamos kas 24 valandas.
- Minimalus antrinių alikvotinių dalių mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio dydžio / mėginių mėgintuvėlių laikiklio (kaip apibrėžta toliau). Naudojant mažesnę tūrį nei nurodytas minimalus tūris gali įvykti klaida „Quantity Not Sufficient“ (nepakankamas kiekis).
- Naudojant mėginius, laikytus netinkamoje temperatūroje ar ilgiau nei numatytą saugojimo laiką, gali būti gauti negaliojantys arba klaidingi rezultatai.
- Reagentų ir eksploatacinių reikmenų niekada neužterškite mikrobais ir deoksiribonukleaze (DNaze). Rekomenduojama naudoti sterilius (be DNazės) vienkartinės perkėlimo pipetes. Kiekvienam mėginiui naudokite naują pipetę.
- Norėdami išvengti užteršimo, po amplifikacijos nenaudokite ir nelaužykite kasečių „NeuMoDx Cartridge“. Jokiomis aplinkybėmis neimkite kasečių „NeuMoDx Cartridge“ iš biologiškai pavojingų talpyklos („NeuMoDx 288 Molecular System“) ar biologiškai pavojingų atliekų dėžės („NeuMoDx 96 Molecular System“). „NeuMoDx Cartridge“ yra sukurta taip, kad apsaugotų nuo užteršimo.
- Tais atvejais, kai laboratorija taip pat atlieka atvirų mėgintuvėlių PGR tyrimus, reikia pasirūpinti, kad tyrimo juostelė „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“, papildomi eksploataciniai reikmenys ir reagentai, reikalingi tyrimams atlikti, asmeninės apsaugos priemonės, tokios kaip pirštinės ir laboratoriniai chalatai, ir sistema „NeuMoDx System“ nebūtų užteršti.
- Dirbant su „NeuMoDx“ reagentais ir eksploataciniais reikmenimis būtina mūvėti švarias nitrilines pirštines be talko. Reikia stengtis neliesti viršutinio kasetės „NeuMoDx Cartridge“ paviršiaus, juostelės „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ ar plokštelės „NeuMoDx Extraction Plate“ folijos plėvelės paviršiaus arba viršutinio lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 5“ talpyklės paviršiaus. Naudojant eksploatacinius reikmenis ir reagentus, galima liesti tik šoninius paviršius.
- Saugos duomenų lapus (SDL) galima gauti pateikus prašymą.
- Atliekę tyrimą kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Nesiurbkite į pipetę burna. Nerūkykite, negerkite ir nevalgykite tose vietose, kur apdorojami mėginiai arba reagentai.
- Išmeskite nepanaudotus reagentus ir atliekas laikydamiesi šalies, federalinių, provincijos, valstijos ir vietos teisės aktų.

PRODUKTO LAIKYMAS, NAUDOJIMAS IR STABILUMAS

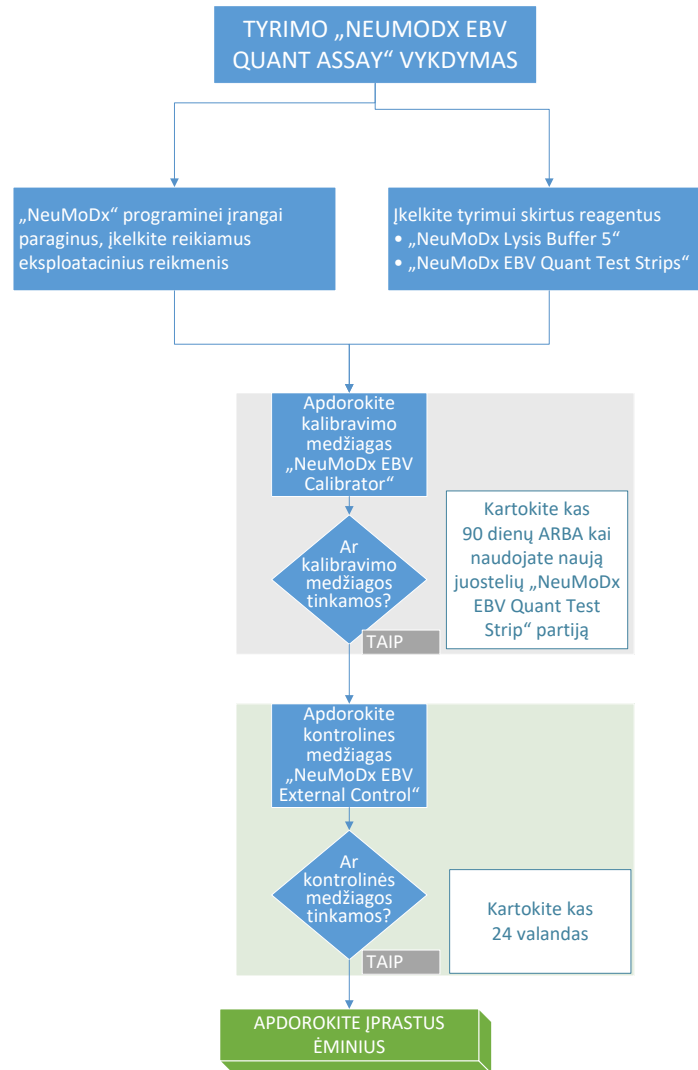
- Juostelės „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ yra stabilios pirminėje pakuotėje visą produkto etiketėje nurodytą tinkamumo laiką, laikant 18–23 °C temperatūroje.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų ir reagentų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite jokio tyrimo produkto, jei pirminė ar antrinė pakuotė vizualiai pažeista.
- Iš naujo nekelkite jokio į kitą sistemą „NeuMoDx System“ anksčiau įkelto tyrimo produkto.
- „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ gali būti laikoma įkelta į sistemą „NeuMoDx System“ 14 dienas. Programinė įranga stebi likusią įkeltų tyrimo juostelių laikymo trukmę ir praneša ją naudotojui realiuoju laiku. Sistema paragins, kai reikės išimti per ilgai naudotą tyrimo juostelę.
- Nors naudojant kalibravimo medžiagas „NeuMoDx EBV Calibrator“ ir išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx EBV External Control“ negalima užsikrėsti, po naudojimo jas reikia išmesti kaip biologiškai pavojingas atliekas, kad būtų sumažinta užteršimo taikinio nukleorūgštimi rizika.

MĖGINIO PAĖMIMAS, GABENIMAS IR LAIKYMAS

Visus mėginius tvarkykite taip, tarsi jie galėtų perduoti infekcines medžiagas.

- Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomo visos sudėties kraujo ir kitų mėginių.
- Norint paruošti plazmos mėginius, visos sudėties kraujo mėginius reikia surinkti į sterilius mėgintuvėlius, naudojant EDTA kaip antikoagulantą. Vykdykite mėginių paėmimo mėgintuvėlių gamintojo instrukcijas.
- Visos sudėties kraujo mėginius, surinktus naudojant anksčiau nurodytas priemones, galima laikyti ir (arba) gabenti iki 24 valandų 2–25 °C temperatūroje, prieš paruošiant plazmą. Paruošti plazmos ėminius reikia laikantis gamintojo instrukcijų.
- Prieš apdorojimą paruošti plazmos mėginiai gali būti laikomi sistemoje „NeuMoDx System“ iki 8 valandų. Jei juos reikia laikyti ilgiau, patartina mėginius padėti į šaldytuvą arba užšaldyti.
- Paruošti plazmos mėginiai prieš tyrimą turi būti laikomi 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau nei 7 dienas arba kambario temperatūroje ne ilgiau nei 8 valandas.
- Paruoštus plazmos mėginius prieš apdorojimą galima laikyti < -20 °C iki 8 savaičių; prieš naudojimą plazmos ėminių negalima užšaldyti / atitirpinti daugiau nei 2 kartus.
 - Jei ėminiai užšaldomi, leiskite jiems visiškai atitirpti kambario temperatūroje (15–30 °C), tada kratydami sumaišykite juos, kad ėminys tolygiai pasiskirstytų.
 - Užšaldytiems ėminiams atitirpus, tyrimą reikia atlikti per 8 valandas.
- Gabenami mėginiai turėtų būti supakuoti ir pažymėti etiketėmis pagal galiojančius šalies ir (arba) tarptautinius reikalavimus.
- Aiškiai pažymėkite mėginius ir nurodykite, kad jie yra skirti EBV tyrimams.
- Daugiau informacijos pateikta skirsnyje „Pasiruošimas tyrimui“.

Bendra tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ vykdymo eiga aprašyta toliau nurodytame 1 pav.



1 pav. „NeuMoDx EBV Quant Assay“ vykdymo darbo eiga

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Pasiruošimas tyrimui

1. Ant mėginio mėgintuvėlio, suderinamo su sistema „NeuMoDx System“, užklijuokite mėginio brūkšninio kodo etiketę.
2. Atsižvelgdami į toliau nurodytus tūrius, perkeltite plazmos alikvotinę dalį į brūkšninio kodo pažymėtą mėgintuvėlį, suderinamą su sistema „NeuMoDx System“.
 - Mėginių mėgintuvėlių laikiklis (32 mėgintuvėlių): 11–14 mm skersmens ir 60–120 mm aukščio; minimalus užpildymo tūris ≥ 400 ml
 - Mėginių mėgintuvėlių laikiklis (24 mėgintuvėlių): 14,5–18 mm skersmens ir 60–120 mm aukščio; minimalus užpildymo tūris ≥ 850 ml

Sistemos „NeuMoDx System“ naudojimas

Išsamios informacijos rasite „NeuMoDx 288 Molecular System“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadovuose (leid. Nr. 40600108 ir 40600317).

1. Užpildykite vieną ar daugiau „NeuMoDx System“ tyrimo juostelių laikiklių juostelėmis „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite tyrimo juostelių laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.

2. „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, į „NeuMoDx System“ eksploatacinių reikmenų laikiklius įdėkite reikiamus eksploatacinius reikmenis ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.
3. „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, atitinkamai pakeiskite „NeuMoDx Wash Reagent“, „NeuMoDx Release Reagent“, ištuštinkite užpildymo atliekas ar biologiškai pavojingų atliekų dėžę.
4. „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, jei reikia, apdorokite kalibravimo medžiagas [nuor. Nr. 800500] ir (arba) išorines kontrolines medžiagas [nuor. Nr. 900501]. Daugiau informacijos apie kalibravimo ir kontrolines medžiagas pateikta skirsnyje „Rezultatų apdorojimas“.
5. Įdėkite mėginių / kalibravimo / kontrolinių medžiagų mėgintuvėlių (-ius) į standartinį 32 mėgintuvėlių laikiklį ir įsitinkite, kad nuo visų mėgintuvėlių nuimti dangteliai.
6. Įstatykite mėginių mėgintuvėlių laikiklį į bet kurią laisvą automatinio įkėliklio lentynos padėtį ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite laikiklį į sistemą „NeuMoDx System“. Tokiu būdu bus pradėtas (-i) nurodytas (-i) įdėtų mėginių tyrimas (-ai).

APRIBOJIMAI

- Juostelę „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ galima naudoti tik sistemose „NeuMoDx System“.
- „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ efektyvumas buvo nustatytas ištyrus plazmos mėginius, paruoštus iš visos sudėties kraujo, paimto naudojant EDTA kaip antikoagulantą. „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ naudojimas su kitų tipų klinikiniais mėginiais nebuvo įvertintas. Efektyvumo charakteristikos tiriant kitų tipų mėginius yra nežinomos.
- EBV aptikimas priklauso nuo ėminyje esančių virusų skaičiaus, todėl patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamo mėginio paėmimo, tvarkymo ir laikymo.
- Kalibravimo ir išorines kontrolines medžiagas reikia apdoroti kaip rekomenduojama informaciniuose lapeliuose ir, paraginus „NeuMoDx System“ programinei įrangai, prieš apdorojant įprastus klinikinius ėminius.
- Dėl netinkamo mėginių paėmimo, naudojimo, laikymo, techninės klaidos ar mėginių mėgintuvėlių supainiojimo gali būti gauti klaidingi rezultatai. Jei viruso dalelių skaičius ėminyje yra mažesnis nei „NeuMoDx EBV Quant Assay“ aptikimo riba, taip pat gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai.
- Sistemą „NeuMoDx System“ gali naudoti tik darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su sistema „NeuMoDx System“.
- Jei tiek EBV taikiniai, tiek SPC1 taikinyne neamplifikuojami, bus pateiktas netinkamas rezultatas („Indeterminate“ (neaišku) arba „Unresolved“ (neišspręsta) ir tyrimą reikės pakartoti.
- Jei tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ rezultatas yra „Positive“ (teigiama), tačiau kiekybinio nustatymo vertė viršija kiekybinio nustatymo ribas, sistema „NeuMoDx System“ praneš, ar aptikta EBV vertė yra *mažesnė* už apatinę kiekybinio nustatymo ribą (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), ar *didesnė* už viršutinę kiekybinio nustatymo ribą (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Jeigu aptikta EBV reikšmė yra mažesnė už LLoQ, tyrimą „NeuMoDx EBV Quant Assay“ galima pakartoti (jei reikia), naudojant kitą mėginio alikvotinę dalį.
- Jei aptikta EBV vertė yra didesnė už ULoQ, tyrimą „NeuMoDx EBV Quant Assay“ galima pakartoti, naudojant praskiestą pradinio mėginio alikvotinę dalį. Rekomenduojama skiesti 1:100 arba 1:1000 santykiu EBV neigiamoje plazmoje arba skiediklyje „Basematrix 53 Diluent“ („Basematrix“, „SeraCare“, Milfordas, MA). Jei prieš pakartotinai atliekant tyrimą programiniame įrangoje buvo tinkamai pasirinktas skiedimo koeficientas, sistema automatiškai apskaičiuos pradinio mėginio koncentraciją šiuo būdu: pradinio mėginio koncentracija = log10 (skiedimo koeficientas) + nustatyta praskiesto ėminio koncentracija.
- Dėl plazmoje retkarčiais atsirandančių PGR inhibitorių gali kilti sistemos klaida „Quantitation Error“ (kiekybinio nustatymo klaida); tokiu atveju rekomenduojama kartoti tyrimą naudojant tą patį mėginį, praskiestą „Basematrix“ santykiu 1:10 arba 1:100.
- „Positive“ (teigiamas) rezultatas nebūtinai reiškia, kad yra aktyvi virusinė infekcija. Tačiau teigiamas rezultatas gali reikšti Epšteino-Baro viruso DNR buvimą.
- Nors tai yra labai mažai tikėtina, abiejų EBV genomo konservatyvių sričių, kurios yra tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ taikinyse, delecijos arba mutacijos gali turėti įtakos aptikimui ir dėl to naudojant „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ gali būti gautas klaidingas rezultatas.
- „NeuMoDx EBV Quant Assay“ rezultatai turėtų būti naudojami kartu su klinikinio stebėjimo duomenimis ir kita gydytojo turima informacija. Tyrimas nėra skirtas infekcijai diagnozuoti.
- Tvarkant pacientų mėginius rekomenduojama taikyti gerąją laboratorinę praktiką, įskaitant pirštinių keitimą, kad būtų galima išvengti užteršimo.

REZULTATŲ APDOROJIMAS

Prieinamus rezultatus galima peržiūrėti ir spausdinti sistemos „NeuMoDx System“ jutiklinio ekrano lango „Results“ (rezultatai) skirtuke „Results“ (rezultatai).

Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ rezultatus automatiškai generuoja sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga, kuri naudoja sprendimų algoritmą ir rezultatų apdorojimo parametrus, nurodytus „NeuMoDx EBV“ tyrimo apibrėžimo faile (Assay Definition File, EBV ADF). Remiantis taikinio amplifikacijos būkle ir ėminio apdorojimo kontroline medžiaga, tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ rezultatas gali būti „Negative“ (neigiamas), „Positive“ (teigiama) su nustatyta EBV koncentracija, „Positive“ (teigiama), viršija ULoQ), „Positive“ (teigiama) nesiekia LLoQ, „Indeterminate“ (neaišku) ar „Unresolved“ (neišspręsta). Rezultatai pateikiami pagal sprendimų algoritmą 1 lentelėje.

1 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ sprendimų algoritmas

Rezultatas	EBV	Ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga (SPC1)
Teigiamas	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ IR } EPR > 2 \text{ IR } EP \geq 1500]$ OR (ARBA) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (IR) EP \geq 1500]$	N/A (Netaikytina)
„Positive“ (teigiama), viršija viršutinę kiekybinio nustatymo ribą (\log_{10} IU/ml)	[KONC.] $> 8,0 \log_{10}$ IU/ml, „NO QUANT“ (KIEKIS NEAPSKAIČIUOTAS)	N/A (Netaikytina)
„Positive“ (teigiama), nesiekia apatinės kiekybinio nustatymo ribos (\log_{10} IU/ml)	[KONC.] $< 2,3 \log_{10}$ IU/ml, „NO QUANT“ (KIEKIS NEAPSKAIČIUOTAS)	N/A (Netaikytina)
„Negative“ (neigiamas)	Nėra AR $[2 \leq Ct < 9 \text{ IR } EPR \leq 2]$ OR (ARBA) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (IR) EP < 1500]$ OR (ARBA) $Ct > 38$	„AMPLIFIED“ (AMPLIFIKUOTA) ($29 \leq Ct \leq 35$) ir $EP \geq 2000$
„Indeterminate“ (neaišku)	„NOT AMPLIFIED/Systems Errors Noted“ (NEAMPLIFIKUOTA / pastebėta sistemos klaidų)	
„Unresolved“ (neišspręsta)	„NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted“ (NEAMPLIFIKUOTA / nepastebėta jokių sistemos klaidų)	

EP = „End Point Fluorescence“ (galutinė fluorescencija) (po pradinio lygio korekcijos); EPR = „End Point Fluorescence Ratio“ (galutinės fluorescencijos santykis); Ct = ciklo slenkstinė reikšmė;

„Quant“ = apskaičiuotas EBV kiekis, išreikštas \log_{10} IU/ml. Tyrimo skaičiavimas aprašytas toliau.

Tyrimo skaičiavimas

- Ėminiuose, kurių koncentracija yra tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ kiekybinio nustatymo intervale, EBV DNR koncentracija apskaičiuojama naudojant jrašytą kalibracinę kreivę ir kalibravimo koeficientą.
 - „Kalibravimo koeficientas“ apskaičiuojamas remiantis apdorotų kalibravimo medžiagų „NeuMoDx EBV Calibrator“ rezultatais, norint nustatyti kalibracinės kreivės tinkamumą su kiekviena juostelių „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ partija, konkrečioje sistemoje „NeuMoDx System“.
 - Sistema automatiškai pasitelkia kalibravimo koeficientą nustatydamas galutinę EBV DNR koncentraciją.
- „NeuMoDx EBV Quant Assay“ rezultatai pateikiami \log_{10} IU/ml.
- Gautas nežinomų koncentracijų ėminių kiekybinis nustatymas yra atsekamas pagal 1-ąjį PSO Epšteino-Baro viruso tarptautinį standartą, taikoma naudojant nukleorūgščių amplifikacijos metodus.

Tyrimo kalibracija

Norint nustatyti EBV DNR kiekį mėginiuose, reikalinga pagal standartinę kreivę suderinta kalibracija. Siekiant gauti tinkamus rezultatus, tyrimo kalibracija turi būti atlikta naudojant „NeuMoDx Molecular, Inc.“ pateiktas kalibravimo medžiagas.

Kalibravimo medžiagos

- Kalibravimo medžiagos „NeuMoDx EBV Calibrator“ pateikiamos rinkinyje [nuor. Nr. 800500] ir jose yra neinfekcinis, inkapsuluotas EBV taikiny, paruoštas skiediklyje „Basematrix“.
- EBV kalibravimo medžiagų rinkinį reikia apdoroti su kiekviena nauja juostelių „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ partija, įkėlus „EBV“ tyrimo apibrėžimo failą į sistemą „NeuMoDx System“, pasibaigus esamo kalibravimo medžiagų rinkinio tinkamumo laikotarpiui (šiuo metu yra nustatytas 90 dienų laikotarpis) arba modifikavus „NeuMoDx System“ programinę įrangą.
- „NeuMoDx System“ programinė įranga įspės naudotoją, kai reikės apdoroti kalibravimo medžiagas; naują tyrimo juostelių partiją galima naudoti tyrimui tik tuomet, kai sėkmingai apdorojamos kalibravimo medžiagos.
- Kalibracijos tinkamumas nustatomas toliau nurodytu būdu.
 - Norint nustatyti tinkamumą, reikia apdoroti dviejų kalibravimo medžiagų rinkinį – vieną aukštos ir vieną žemos koncentracijos.

- b) Norint gauti tinkamus rezultatus, bent 2 iš 3 kartotinių mėginių rezultatai turi atitikti iš anksto nustatytus parametrus. Žemos koncentracijos kalibravimo medžiagos nominali tikslinė vertė yra $4 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$, o aukštos koncentracijos kalibravimo medžiagos – $6 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$.
 - c) Kalibravimo koeficientas skaičiuojamas siekiant įvertinti numatomas variacijas tarp tyrimo juostelių partijų; šis kalibravimo koeficientas naudojamas galutinei EBV koncentracijai nustatyti.
5. Jei patikros metu nustatoma, kad viena ar abi kalibravimo medžiagos yra netinkamos, pakartotinai apdorokite netinkamą (-as) kalibravimo medžiagą (-as) naudodami naują flakoną. Tuo atveju, kai netinkama yra tik viena kalibravimo medžiaga, galima pakartotinai apdoroti tik tą kalibravimo medžiagą, nes sistema nereikalauja vėl apdoroti abiejų kalibravimo medžiagų.
 6. Jei patikros metu du kartus iš eilės nustatoma, kad kalibravimo medžiaga (-os) yra netinkama (-os), kreipkitės į „NeuMoDx Molecular, Inc.“.

Kokybės kontrolė

Vietiniuose reikalavimuose dažniausiai nurodoma, kad laboratorija yra atsakinga už kontrolės procedūrų, kuriomis stebimas viso analitinio proceso tikslumas ir glaudumas, vykdymą. Naudodama patvirtintas nemodifikuotas tyrimo sistemos veikimo specifikacijas, laboratorija turi nustatyti kontrolinių medžiagų tyrimų skaičių, tipą ir dažnumą.

Išorinės kontrolinės medžiagos

1. Išorines kontrolines medžiagas, kuriose yra teigiamoms kontrolinėms medžiagoms skirtas neinfekcinis, inkapsuluotas EBV taikynys, paruoštas skiediklyje „Basematrix“, „NeuMoDx Molecular, Inc.“ teikia rinkinyje su išorinėmis kontrolinėmis medžiagomis „NeuMoDx EBV External Control“ [nuor. Nr 900501].
2. Teigiamą ir neigiamą išorines kontrolines medžiagas reikia apdoroti kas 24 valandas. Jei tinkamą naudoti išorinių kontrolinių medžiagų rinkinio nėra, prieš pateikiant ėminių rezultatus, „NeuMoDx System“ programinė įranga paragins naudotoją apdoroti kontrolines medžiagas.
3. Norėdami naudoti išorines kontrolines medžiagas, išimkite išorinių kontrolinių medžiagų rinkinį iš šaldiklio ir palaikykite flakonus kambario temperatūroje ($15\text{--}30\text{ }^{\circ}\text{C}$), kol jų turinys atitirps. Švelniai kratydami sumaišykite, kad užtikrintumėte homogeniškumą.
4. Naudodami jutiklinį ekraną ir mėginių mėgintuvėlių laikiklį, įstatytą automatinio įkėliklio lentynoje, įkelkite teigiamos ir neigiamos kontrolinių medžiagų flakonus į „NeuMoDx System“. Jei tyrimui reikalingi reagentai ir eksploataciniai reikmenys yra prieinami, „NeuMoDx System“ atpažins brūkšninį kodą ir pradės mėginių mėgintuvėlių apdorojimą.
5. Išorinių kontrolinių medžiagų tinkamumą sistema „NeuMoDx System“ įvertins pagal numatomą rezultatą. Teigiamos kontrolinės medžiagos rezultatas turi būti EBV teigiamas, neigiamos kontrolinės medžiagos rezultatas – EBV neigiamas.
6. Prieštarungas išorinių kontrolinių medžiagų rezultatus reikia tvarkyti toliau nurodytu būdu.
 - a) „Positive“ (teigiamas) neigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatas reiškia, kad mėginys yra užterštas.
 - b) „Negative“ (neigiamas) teigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatas gali reikšti, kad kilo su reagentu ar prietaisu susijusi klaida.
 - c) Abiem šiais atvejais pakartokite nepavykusį kontrolinės (-ių) medžiagos (-ų) „NeuMoDx EBV External Control“ tyrimą, naudodami šviežiai atitirpintą (-us) kontrolinės (-ių) medžiagos (-ų), kurios (-ių) tyrimas nepavyko, flakoną (-us).
 - d) Jei apdorodami teigiamą išorinę kontrolinę medžiagą „NeuMoDx EBV External Control“ vis gaunate rezultatą „Negative“ (neigiama), kreipkitės į „NeuMoDx“ klientų aptarnavimo tarnybą.
 - e) Jei apdorodami neigiamas išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx EBV External Control“ vis gaunate rezultatą „Positive“ (teigiama), prieš susisiekdami su „NeuMoDx“ klientų aptarnavimo tarnyba, pabandykite pašalinti visus galimo užteršimo šaltinius, taip pat pakeiskite VISUS reagentus ir eksploatacinius reikmenis.

Ėminių apdorojimo (vidinės) kontrolinės medžiagos

Į plokštelę „NeuMoDx Extraction Plate“ yra įtraukta egzogeninė ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1). Ji kartu su kiekvienu ėminiu naudojama nukleorūgščių ekstrahavimo ir realiojo laiko PGR amplifikacijos procese. SPC1 specifiniai pradmenys ir zondai taip pat yra kiekvienoje juostelėje „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“, kad būtų galima aptikti SPC1 kartu su tiksline EBV DNR (jei yra) vykdant sudėtinę realiojo laiko PGR. SPC1 amplifikavimo aptikimas leidžia „NeuMoDx System“ programinei įrangai stebėti DNR ekstrahavimo ir PGR amplifikacijos procesų efektyvumą.

Jei sistemoje „NeuMoDx System“ atlikus tyrimą „NeuMoDx EBV Quant Assay“ nepavyksta gauti tinkamo rezultato, pagal įvykusios klaidos tipą rezultatas bus pateikiamas kaip „Indeterminate“ (neaišku) (IND) arba „Unresolved“ (neišspręsta) (UNR).

Rezultatas IND pateikiamas tuo atveju, kai ėminio apdorojimo metu aptinkama sistemos „NeuMoDx System“ klaida. Gavus rezultatą IND, rekomenduojama pakartotinai atlikti tyrimą.

Rezultatas UNR pateikiamas, jeigu neaptinkama galiojančio EBV DNR arba SPC1 amplifikavimo, nes tai rodo galimą reagento triktį arba inhibitorių buvimą. Jeigu pateikiamas rezultatas UNR, tyrimą galima atlikti iš naujo kaip pirmąjį žingsnį. Jei tyrimo nepavyksta pakartotinai atlikti, siekiant sušvelninti ėminio slopinimo poveikį, galima naudoti praskiestą mėginį.

EFEKTYVUMO CHARAKTERISTIKOS

Analitinis jautris – aptikimo riba naudojat PSO standartą

Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ analitinis jautris buvo patvirtintas ištyrus EBV neigiamos plazmos mėginius, į kuriuos pridėta žemos koncentracijos 1-ojo PSO tarptautinio EBV standarto skiedinio, taikomo naudojant nukleorūgščių amplifikacijos metodus. Šis patvirtinamasis tyrimas buvo atliktas sistemose „NeuMoDx System“, taikant numatomą tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ aptikimo ribą (Limit of Detection (LoD) ir 200 IU/ml koncentraciją. LoD apibrėžta kaip mažiausia taikinio koncentracija, kurios aptikimo dažnis yra $\geq 95\%$. Tyrimas buvo vykdomas keliose sistemose, naudojant kelias patvirtintas „NeuMoDx“ reagentų partijas. Aptikimo dažniai nurodyti 2 lentelėje.

2 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ LoD nustatymas; teigiamų rezultatų aptikimo dažnis tiriant plazmos mėginius

Taikinio koncentracija [IU/ml]	PLAZMA		
	Tinkamų tyrimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Aptikimo dažnis
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

Analitinis jautris – apatinė kiekybinio nustatymo riba (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Apatinė kiekybinio nustatymo riba (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) apibrėžiama kaip mažiausia taikinio koncentracija, kuriai esant aptikimo dažnis yra $> 95\%$ IR bendra analitinė paklaida (Total Analytical Error, TAE) siekia $\leq 1,0$. Norint patvirtinti, kad tyrimo „EBV Quant Assay“ LoD ir LLoQ yra 200 IU/ml, pasiekimo koeficiento tyrimo rezultatai buvo naudoti TAE nustatyti. TAE apskaičiuota šiuo būdu:

$$\text{TAE} = \text{sistemingoji paklaida} + 2 \cdot \text{SD [Westgardo statistika]}$$

Sistemingoji paklaida yra skirtumo tarp apskaičiuotos koncentracijos vidurkio ir tikėtinos koncentracijos absoliučioji vertė. SD yra standartinis kiekybiškai nustatytos ėminio vertės nuokrypis.

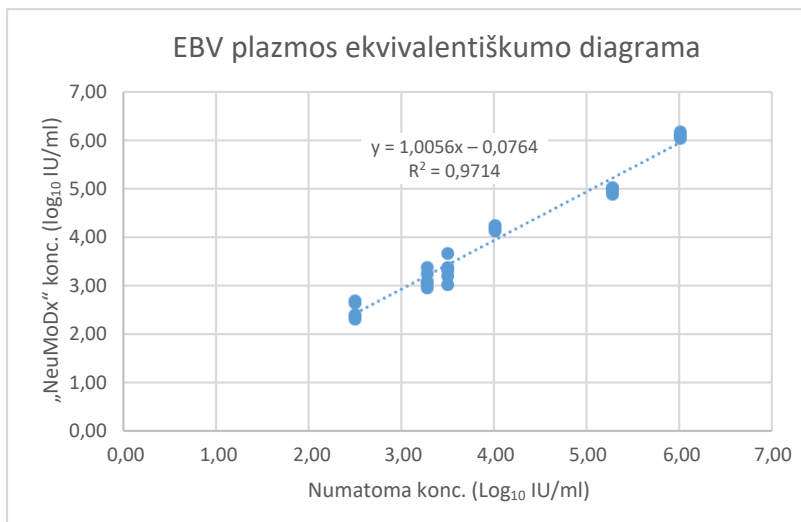
3 lentelė. „NeuMoDx EBV Quant Assay“ LLoQ, su sistemingąja paklaida ir TAE

Taikinio konc. [IU/ml]	Taikinio konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Plazma				
		Vidutinė konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Aptikimas (%)	SD	Sist. paklaida	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Pagal šių tyrimų rezultatus nustatyta, kad tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ LoD ir LLoQ yra 200,0 IU/ml [2,30 Log₁₀ IU/ml].

Viršutinės kiekybinio nustatymo ribos (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) tiesiškumas ir nustatymas

Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ tiesiškumas ir viršutinė kiekybinio nustatymo riba (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) buvo nustatyti plazmoje paruošus skiedimo seriją, naudojant „NeuMoDx“ inkapsuliuotą EBV taikinį ir teigiamą kontrolinę medžiagą „Exact EBV Positive Control“ („Exact Diagnostics“, Fort Vertas, TX), atsekamą pagal 1-ąjį PSO tarptautinį EBV standartą. 10 mėginių grupė buvo paruošta sudėtinėje EBV neigiamoje plazmoje, norint sukurti mėginių grupę, kurios koncentracijos būtų 2,0–8,0 Log₁₀ IU/ml intervale. Nustatyta, kad tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ ULoQ lygi 8,0 Log₁₀ IU/ml. Kalibracinės kreivės tiesiškumui įvertinti buvo paruošta patvirtinamoji mėginių grupė. Su numatomomis vertėmis palygintos sistemos „NeuMoDx System“ pateiktos EBV tyrimo koncentracijos nurodytos 2 pav.



2 pav. Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ tiesiškumas

Analitinis specifiškumas – kryžminis reaktyvumas

Analitinis specifiškumas buvo pademonstruotas atlikus 35 mikroorganizmų, kuriuos galima rasti kraujo / plazmos mėginiuose, ir filogenetiškai į EBV panašių rūšių atrankinę patikrą dėl kryžminio reaktyvumo. Aukštos koncentracijos organizmai buvo paruošti 5–6 organizmų telkiniuose. Tirti organizmai parodyti 4 lentelėje. Nebuvo pastebėta jokia kryžminio reaktyvumo su jokiais tirtais organizmais, tokiu būdu patvirtinant 100 % tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ analitinį specifiškumą.

4 lentelė. Analitiniams specifiškumui pademonstruoti naudoti patogenai

Ne tiksliniai organizmai					
BK poliomos virusas	5 tipo adenovirusas	1 tipo herpes simplex virusas	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Citomegalovirusas	Hepatito C virusas	2 tipo herpes simplex virusas	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
6 tipo žmogaus herpes virusas	Parvovirusas B19	Vėjaraupių virusas	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
7 tipo žmogaus herpes virusas	JC virusas	ŽIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
8 tipo žmogaus herpes virusas	Žmogaus papilomos virusas 16	ŽIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatito B virusas	Žmogaus papilomos virusas 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analitinis specifiškumas – trukdančiosios medžiagos, komensaliniai organizmai

Buvo įvertinta tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ interferencija esant ne tiksliniams organizmams, naudojant tuos pačius, anksčiau 4 lentelėje nurodytus organizmų telkinius, kurie buvo paruošti kryžminiam reaktyvumui tirti. Į EBV neigiamą plazmą buvo pridėta organizmų telkinių grupėmis po 4–7. Tada į šiuos telkinius buvo pridėta 3 Log₁₀ IU/ml koncentracijos EBV taikinių. Jokios reikšmingos interferencijos esant šioms organizmams pastebėta nebuvo, nes kiekybinio nustatymo nuokrypis nuo kontrolinių medžiagų mėginių, kuriuose nebuvo interferencinių medžiagų, buvo minimalus.

Analitinis specifiškumas – trukdančiosios medžiagos, endogeninės ir egzogeninės medžiagos

Tyrimas „NeuMoDx EBV Quant Assay“ buvo įvertintas esant tipinėms egzogeninėms ir endogeninėms trukdančiosioms medžiagoms, sutinkamoms EBV klinikiniuose plazmos mėginiuose. Tai buvo neįprastai aukšta kraujo komponentų koncentracija, taip pat dažnai pasitaikantys antivirusiniai vaistai ir imunosupresantai, suklasifikuoti 5 lentelėje. Kiekvienos medžiagos buvo pridėta į atrankinės patikros EBV neigiamus žmogaus plazmos ėminius su 3 Log₁₀ IU/ml EBV ir buvo analizuota ėminių interferencija. Taip pat dėl galimos interferencijos buvo tirta dažnų ligų plazma, susijusi su EBV infekcija. Visų tirtų medžiagų vidutinė koncentracija ir sistemingoji paklaida, palyginti su kontroliniais ėminiais, į kurias pridėta tokio pačios koncentracijos EBV, pateikta 6 lentelėje. Nė viena iš egzogeninių ir endogeninių medžiagų neturėjo įtakos tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ specifiškumui.

5 lentelė. Interferencijos tyrimas – egzogeninės medžiagos (vaistų klasifikacija)

Telkinys	Vaisto pavadinimas	Klasifikacija	Telkinys	Vaisto pavadinimas	Klasifikacija
1 telkinys	Azatioprinas	Imunosupresantas	4 telkinys	Trimetoprimas	Antibiotikas
	Ciklosporinas	Imunosupresantas		Vankomicinas	Antibiotikas
	Foskarnetas	Antivirusinis vaistas (Herpesviridae)		Takrolimuzas	Imunosupresantas
	Gancikloviras	Antivirusinis vaistas (EBV)		Everolimuzas	Imunosupresantas
	Valgancikloviro hidrochloridas	Antivirusinis vaistas (EBV)		Kalio klavulanatas	Antibiotikas
2 telkinys	Prednizonas	Kortikosteroidas / imunosupresantas	5 telkinys	Famotidinas	Histamino receptorių antagonistas
	Cidofoviras	Antivirusinis vaistas (EBV)		Sulfametoksazolas	Antibiotikas
	Cefotetanas	Antibiotikas (plataus spektro)		Valacikloviras	Antivirusinis vaistas (Herpesviridae)
	Cefotaksimas	Antibiotikas (plataus spektro)		Letermoviras	Antivirusinis vaistas (EBV)
	Flukonazolas	Priešgrybelinis vaistas		Tikarcilino dinatris	Antibiotikas
3 telkinys	Mikofenolato mofetilis	Imunosupresantas	Leflunomidas	Imunosupresantas	
	Mikofenolato natris	Imunosupresantas			
	Piperacilinas	Antibiotikas			
	Sirolimuzas / rapamicinas	Imunosupresantas			
	Tazobaktamas	Modifikuotas antibiotikas			

6 lentelė. Interferencijos tyrimas – egzogeninės ir endogeninės medžiagos

Endogeninės	Vidutinė konc.	Sistemišoji paklaida
	Log ₁₀ IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
Hemoglobinas	3,20	0,23
Trigliceridai	3,15	0,28
Bilirubinas	3,48	-0,05
Albuminas	3,2	0,22
Egzogeninės (vaistai)	Vidutinė konc.	Sistemišoji paklaida
	Log ₁₀ IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
1 telkinys: azatioprinas, ciklosporinas, foskarnetas, gancikloviras, valgancikloviro hidrochloridas	3,30	0,13
2 telkinys: prednizonas, cidofoviras, cefotetanas, cefotaksimas, flukonazolas	3,22	0,21
3 telkinys: mikofenolato mofetilis, natrio mikofenolatas, piperacilinas, sirolimuzas / rapamicinas, tazobaktamas	3,36	0,07
4 telkinys: trimetoprimas, vankomicinas, takrolimuzas, everolimuzas, kalio klavulanatas	3,32	0,11
5 telkinys: famotidinas, sulfametoksazolas, letermoviras, valacikloviras, tikarcilino dinatris, leflunomidas	3,47	-0,10
Liga	Vidutinė konc.	Sistemišoji paklaida
	Log ₁₀ IU/ml	Log ₁₀ IU/ml
Sisteminė raudonoji vilkligė (SRV)	3,23	0,20
Antinuklearinis antikūnas (ANA)	3,33	0,10
Reumatoidinis artritas (RA)	3,19	0,24

Glaudumas laboratorijoje

Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ glaudumas buvo nustatytas dvi dienas po tris kartus per dieną tiriant tris 4 EBV mėginių grupės kartotinius mėginius, paruoštus naudojant teigiamą kontrolinę medžiagą „EBV Positive Control“ („Exact Diagnostics“, Fort Vertas, TX), dvi sistemas „NeuMoDx 288 System“ ir vieną sistemą „NeuMoDx 96 System“. Buvo apskaičiuotas tyrimo, dienos ir sistemos glaudumas bei $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IU/ml}$ bendras standartinis nuokrypis. Kaip parodyta 7 lentelėje, tarp sistemų, dienų ir tyrimų nustatytas puikus glaudumas. Glaudumas tarp operatorių nebuvo apibrėžtas, nes operatorius neatlieka svarbaus vaidmens ėminių apdorojimo sistema „NeuMoDx System“ procese.

7 lentelė. Glaudumas laboratorijoje – tyrimas „NeuMoDx EBV Quant Assay“ sistemose „NeuMoDx System“

Taikinio EBV konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Vidutinė EBV konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Sistemos SD	Dienos SD	Tyrimo SD	Bendras SD (laboratorijoje)
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

Atkuriamumas tarp partijų

Tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ atkuriamumas tarp partijų buvo nustatytas tinkamumo tyrimų (Qualification Testing, QT) metu įvertinus tris pagrindinių reagentų partijas – juosteles „NeuMoDx EBV Quant Test Strip“ ir lizės buferinį tirpalą „Lysis Buffer 5“. Efektyvumui įvertinti naudota 4 EBV teigiamos plazmos mėginių grupė (žr. 8 lentelę). Išanalizuoti partijos ir kelių partijų skirtumai pateikti 8–9 lentelėse. Didžiausia bendra sistemingoji juostelių „NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip“ paklaida buvo 0,03 Log₁₀ IU/ml, o didžiausias bendras SD – 0,20 Log₁₀ IU/ml. Didžiausia bendra sistemingoji lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 5“ paklaida buvo 0,12 Log₁₀ IU/ml, o didžiausias bendras SD – 0,41 Log₁₀ IU/ml. Visose partijose buvo pademonstruotas lygiareikšmis efektyvumas, nes visų grupės mėginių kiekybinis nustatymas atitiko leistino nuokrypio specifikaciją.

8 lentelė. Atkuriamumas tarp partijų – „NeuMoDx EBV Quant Assay“, „Test Strip“

Taikinio EBV konc. [IU/ml]	Vidutinė EBV konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Skaičius (galiojančių rezultatų skaičius partijoje)	Sistemingoji paklaida	Kelių partijų SD	Partijos SD	Bendras 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

9 lentelė. Atkuriamumas tarp partijų – „NeuMoDx EBV Quant Assay“, „Lysis Buffer 5“

Taikinio EBV konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Vidutinė EBV konc. [Log ₁₀ IU/ml]	Skaičius (galiojančių rezultatų skaičius partijoje)	Sistemingoji paklaida	Kelių partijų SD	Partijos SD	Bendras 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

Ėminio apdorojimo kontrolinės medžiagos efektyvumas

Ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1) yra įtraukta į tyrimą „NeuMoDx EBV Quant Assay“, kad galima būtų nustatyti apdorojimo etapų triktis arba tyrimo efektyvumui įtakos turintį slopinimą. Naudojant tyrimą „NeuMoDx CMV Quant Assay“ kaip modelį, SPC1 efektyvumas plazmos mėginiuose buvo įvertintas esant sąlygoms, atspindinčioms kritinių apdorojimo etapų triktis, kurios gali atsirasti apdorojant ėminius ir kurių sistemos „NeuMoDx System“ efektyvumo stebėjimo jutikliai gali neaptikti. Citomegalo viruso atžvilgiu teigiami (3 Log₁₀ IU/ml) ir neigiami mėginiai buvo išbandyti tokiomis sąlygomis: su inhibitoriumi, be plovimo tirpalo ir be plovimo reagento išpūtimo. Apdorojimo triktys, turėjusios neigiamą poveikį viruso taikinio aptikimui / kiekybiniam nustatymui, buvo atspindėtos pagal SPC1 taikinio efektyvumą (žr. 10 lentelę). Visais atvejais nustatyta, kad ėminio apdorojimo kontrolinė medžiaga tinkamai stebėjo apdorojimo triktis ar inhibitorių buvimą arba numanoma apdorojimo triktis neturėjo reikšmingo neigiamo poveikio SPC1 ar viruso taikinio aptikimui ir kiekybiniam nustatymui. Tokiu būdu įrodyta, kad naudojant SPC1 galima sėkmingai stebėti tyrimo efektyvumą sistemoje „NeuMoDx System“.

10 lentelė. Ėminio apdorojimo kontrolinės medžiagos efektyvumas tiriant viruso DNR plazmoje*

Tirta apdorojimo eigos triktis	1 ėminio apdorojimo kontrolinės medžiagos amplifikacijos būseną	CMV taikino amplifikacijos būseną	Tyrimo rezultatas
„Presence of Inhibitor“ (su inhibitoriumi)	Not Amplified (Neamplifikuota)	Not Amplified (Neamplifikuota)	„Unresolved“ (neišspręsta)
„No Wash Delivered“ (be plovimo reagento)	Not Amplified (Neamplifikuota)	Not Amplified (Neamplifikuota)	„Unresolved“ (neišspręsta)
„No Wash Blowout“ (be plovimo reagento išpūtimo)	Amplified (Amplifikuota)	Amplified (Amplifikuota)	„Positive“ (teigiamas) rezultatas, kai kiekybinis nustatymas yra 0,3 Log ₁₀ IU/ml kontrolinės medžiagos intervale

*Citomegalo virusas (CMV) plazmos mėginiuose buvo naudotas kaip pavyzdinė sistema ėminių apdorojimo kontrolinės medžiagos efektyvumui įvertinti.

Kryžminė tarša

Plazmos mėginių kryžminės taršos rodiklis buvo nustatytas apdorojus pakaitomis naudojamus stipriai teigiamus ir neigiamus panašaus per kraują perduodamo DNR viruso, citomegalo viruso (CMV) ėminius. Taikant šachmatų lentos tyrimo būdą, iš viso ištirti 108 CMV neigiamos plazmos kartotiniai mėginiai ir 108 kartotiniai mėginiai, į kuriuos pridėta 6,0 Log₁₀ IU/ml koncentracijos CMV plazmos. Visi 108 neigiamų ėminių kartotiniai mėginiai buvo neigiami. Tokiu būdu nustatyta, kad apdorojant plazmos ėminius sistema „NeuMoDx System“ kryžminės taršos nėra.

Mėginių matricos ekvivalentiškumas

Buvo atliktas tyrimas, norint pademonstruoti ekvivalentiškumą tarp šviežių ir užšaldytų plazmos mėginių, kaip modelį naudojant panašų per kraują perduodamą virusą (CMV). Švieži mėginiai buvo laikomi 4 °C temperatūroje, tada pridėta trijų koncentracijų CMV ir ištirtas ekvivalentiškumas. Po to ėminiai buvo laikomi užšaldyti –20 °C temperatūroje ne mažiau nei 24 valandas. Po šio laikotarpio mėginiai buvo atitirpinti ir pakartotinai ištirti. Šviežių ir užšaldytų plazmos mėginių rezultatų ekvivalentiškumas buvo palygintas atlikus regresinę analizę. Duomenys parodė puikų ekvivalentiškumą tarp šviežių ir užšaldytų plazmos mėginių. Nustatyta, kad šių mėginių nuolydis siekia 1,0, o sistemingoji paklaida (atkarpa) yra labai maža (žr. toliau pateiktą 11 lentelę).

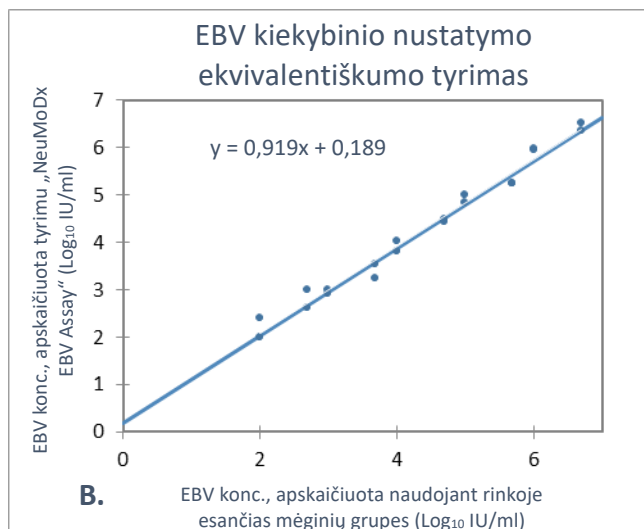
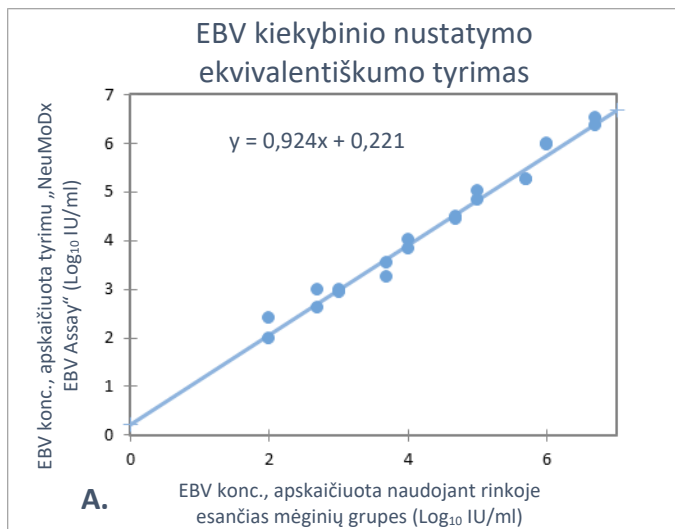
11 lentelė. Mėginių matricos ekvivalentiškumas

Reikiami parametrai	Švieži ir užšaldyti EDTA
Nuolydis [0,9–1,1]	1,000
Atkarpa < 0,5 Log ₁₀ IU/ml	0,020
p-reikšmė > 0,05	0,631

Kiekybinio nustatymo efektyvumo apibūdinimas

Kiekybinis tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ efektyvumas buvo apibūdinamas sistemomis „NeuMoDx Molecular System“ apdorojus dvi rinkoje esančias „AcroMetrix“ ir „Exact Diagnostics“ EBV patvirtinamųjų mėginių grupes (atsekamas pagal 1-ąjį PSO tarptautinį EBV standartą).

Tiek Demingo (3A pav.), tiek Passingo-Babloko (3B pav.) regresinės analizės metu nustatyta puiki koreliacija tarp tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“ ir dviejų rinkoje esančių mėginių grupių „EBV Verification Panel“ (3 pav.).



3 pav. Ekvivalentiškumo diagrama tarp „AcroMetrix“ ir „Exact Diagnostics“ patvirtinamųjų mėginių grupių ir tyrimo „NeuMoDx EBV Quant Assay“.

A. Tiesinės regresijos analizė, naudojant Demingo metodą. B. Tiesinės regresijos analizė, naudojant Passingo-Babloko metodą.

Demingo regresijos pritaikymo kokybę atvaizduoja 0,92 bendras nuolydžio koeficientas ir 0,22 atkarpa (sisteminioji paklaida). Tai parodo, kad koncentracijų rezultatai, gauti atlikus „NeuMoDx EBV Quant Assay“ ir EBV patvirtinamųjų mėginių grupių tyrimą, yra glaudžiai susiję ir jų sisteminioji paklaida yra priimtina. „NeuMoDx EBV Quant Assay“ ir EBV patvirtinamųjų mėginių grupių tyrimo rezultatų glaudumą taip pat rodo Passingo-Babloko tiesinis pritaikymas, kurio bendras nuolydžio koeficientas siekia 0,92, o atkarpa (sisteminioji paklaida) yra 0,19. Apskaičiuota, kad Passingo-Babloko analizės *p*-reikšmė lygi 0,40.

12 lentelė. Demingo ir Passingo-Babloko tiesinės regresijos analizės suvestinė

Demingo analizė		Passingo-Babloko analizė	
Atkarpa	Nuolydžio koeficientas	Atkarpa	Nuolydžio koeficientas
0,22	0,92	0,19	0,92
95% PI (-0,11, 0,55)	95 % PI (0,86, 0,99)	95 % PI (-0,08, 0,41)	95 % PI (0,87, 0,99)

LITERATŪRA

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.

PREKIŲ ŽENKLAI











„NeuMoDx™“ yra „NeuMoDx Molecular, Inc.“ prekės ženklas.

„NeuDry™“ yra „NeuMoDx Molecular, Inc.“ prekės ženklas.

„TaqMan®“ yra registruotasis „Roche Molecular Systems, Inc.“ prekės ženklas.

Visi kiti šiame dokumente pateikiami prekių pavadinimai, prekių ženklai ir registruotieji prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė.

SIMBOLIAI

SIMBOLIS	REIKŠMĖ
R only	Naudoti tik pagal receptą
	Gamintojas
IVD	<i>In vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė
	Igaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
REF	Katalogo numeris
LOT	Partijos kodas
	Tinka naudoti iki
	Temperatūros riba
	Drėgmės apribojimas
	Nenaudoti pakartotinai
	Pakanka atlikti tyrimų: <n>
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Dėmesio
	Biologiniai pavojai
CE	CE ženklas



„NeuMoDx Molecular, Inc.“
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, JAV

Rėmėjas (AUS):
„QIAGEN Pty Ltd“
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148,
Australija



„Emergo Europe B.V.“,
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nyderlandai



Techninė pagalba / budrumo ataskaitų teikimas: support@qiagen.com

Patentas: www.neumodx.com/patents