

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

IVD Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System

 Värskenduste sisestamiseks minge aadressile: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317

SIHTOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay on automatiseeritud, *in vitro* nukleiinhapete amplifitseerimise analüüs inimese Epstein-Barri viiruse (EBV) DNA kvantifikatsiooniks plasmaproovides. Kasutatuna seadmel NeuMoDx 288 Molecular System või NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) võimaldab analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay automatiseeritud DNA ekstraheerimist plasmas sihtnukleiinhappe isoleerimiseks ja reaalaraja polümeraasi ahelreaktsiooni (Polymerase Chain Reaction, PCR) abil Epstein-Barri viiruse genoomis oleva kahe väga konserveerunud sihtmärkpiirkonna amplifitseerimist.

NeuMoDx EBV Quant Assay analüüs on ettenähtud kasutamiseks Epstein-Barri viiruse DNA *in vitro* tuvastamiseks ja kvantifitseerimiseks värsketes ja külmutatud inimese plasmaproovides süsteemidega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular Systems. Analüüs NeuMoDx EBV Assay on mõeldud EBV-nakkusega patsientide diagnoosimisel ja ravi jälgimisel kasutamiseks. Analüüsi saab kasutada EBV DNA tasemete mõõtmiseks, et hinnata reaktsiooni viirusevastasele ravile. Analüüs on mõeldud kasutamiseks koos kliiniliste näitajate ja muude haiguse kulgu näitavate laboratoorsete markeritega EBV-nakkuse kliiniliseks raviks ja jälgimiseks. Analüüs ei ole ette nähtud kasutamiseks sõelumisanalüüsina, et teha kindlaks EBV olemasolu veres ja veretoodetes.

KOKKUVÖTE JA SELGITUSED

Plasma ettevalmistamiseks võib kasutada inimese täisverd, mis on kogutud steriilsetesse verekatsetitesse, milles on antikoaguleeriva agendina EDTA. Testimise alustamiseks asetatakse seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis plasma proovikatsutikandjasse ja laaditakse seadme NeuMoDx System töölauale. Kõikide proovide korral segatakse omavahel 250 µl plasmaproovi lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 5 ning seade NeuMoDx System teeb automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhappe ekstraheerimiseks, valmistab isoleeritud DNA reaalarajas PCR-i amplifitseerimiseks ette ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid (kaks väga konserveerunud sihtmärkpiirkonda EBV genoomis). Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay sisaldab DNA proovi töötlemiskontrolli (Sample Process Control, SPC1), et aidata jälgida potentsiaalselt inhibeervivate ainete ja ka seadme NeuMoDx System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ekstraheerimise ja amplifitseerimise protsessi käigus esineda.

EBV on tavaline kaheaheelaline DNA-viirus inimese herpesviiruse perekonnast, mis nakatab igas vanuses inimesi. Hinnanguliselt > 90% kogu maailma inimestest on või on olnud nakatunud EBV-ga.¹ EBV levib kehavedelikega, nagu sülg, veri, sperma ja elundite siirdamised. Paljud inimesed nakatuvad EBV-ga lapsepõlves. Need inividid on EBV-sse nakatumisest hoolimata asümptomaatilised. Immuunpuudulikkusega inimestel võivad tekkida EBV-nakkusega raskemad sümptomid ja komplikatsioonid. Latentne EBV-nakkus kujutab siirdamisjärgsetele patsientidele kõige suuremat ohtu. Transplantatsioonijärgsete lümfoproliferatiivsete haiguste (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTL) hulka kuulub EBV-juhitud kasvaja tekkinud B-rakkudes, sest immunosupressandid mõjutavad seda, kuidas immuunsüsteem tõrjub EBV-d, üht olulisemat haigestumuse ja suremuse põhjust patsientidel, kellele tehakse mis tahes elundisiirdamine.²

EBV viiruskoormuse seire hõlbustab EBV-ga seotud PTLD diagnoosimist ja ravi. Kuid verest EBV nukleiinhappe leidmisest ei piisa EBV-ga seotud PTLD diagnoosimiseks. Nukleiinhappel põhinevat testimist tohib kasutada ainult koos kliiniliste näitajate ja muude haiguse progresseerumise laboratoorsete markeritega EBV-ga nakatunud patsientide kliinilisel ravimisel ja jälgimisel. Kuigi praegused juhised immuunpuudulikkusega isikutel EBV-nakkuse raviks on ebaselged selles osas, millal viirusevastast ravi alustada, nõuavad need kõik pärast viirusevastase ravi alustamist pidevat viiruskoormuse seiret, et aidata nendes populatsioonides ravimite tõsisid kõrvaltoimeid leevendada.^{3,4}

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay kasutab seadmes NeuMoDx System analüüsi teostamiseks testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip, kalibraatoreid NeuMoDx EBV Calibrator, väliseid kontrollid NeuMoDx EBV External Control, lüüsimispuhvrit NeuMoDx Lysis Buffer 5 ja NeuMoDxi üldotstarbelisi reaktiive. Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise, amplifitseerimise ja tuvastamise reaalaraja PCR-i abil. Täisvere proovid kogutakse plasma ettevalmistamiseks EDTA-katsutitesse. Seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis olev plasma pannakse proovikatsutikandjasse ja laaditakse töötlemiseks seadme NeuMoDx System töölauale. Kasutaja täiendav sekkumine pole vajalik.

Seade NeuMoDx Systems kasutab automaatse rakkude lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Osakesed koos seotud nukleiinhapetega laaditakse kassetti NeuMoDx Cartridge, kus seondumata, DNA-d mittesisaldavad komponendid pestakse täiendavalt pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent ja seotud DNA elueeritakse vabastusreaktiiviga NeuMoDx Release Reagent abil. Seejärel kasutab seade NeuMoDx System elueeritud DNA-d, et reühüdreerida patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivid, mis sisaldavad kõiki EBV sihtmärkide ja SPC1 polümeraasi ahelreaktsiooni amplifitseerimiseks vajalikke elemente. Pärast NeuDry PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud, PCR-iks valmis segu kassetti NeuMoDx Cartridge. DNA kontroll- ja sihtmärk-sekveneerimise (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub kasseti NeuMoDx Cartridge PCR-i kambris. Kassett NeuMoDx Cartridge on lisaks kavandatud amplikoni hoidmiseks pärast reaalaraja PCR-i ja seeläbi sisuliselt välistab amplifikatsioonijärgse saastumisohtu.

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay sihtmärgid on EBV genoomi kaks väga konserveerunud piirkonda BALF5 ja BXFL1. Kahe sihtmärgiga ülesehitus vähendab mutatsiooni korral valenegatiivsete tulemuste tekkimise riski, suurendades seeläbi analüüsi usaldusväärsust. Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaajas hüdrolüüsisondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan[®]-i keemiaks), kasutades fluorogeensete oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised ampliconidele nende vastavate sihtmärkide jaoks.

Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, mille tulemuseks on kustuti-molekul, mis kustutab fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab FRET-i (Försteri resonantsenergia ülekande) kaudu.

TaqMan sondid on sellise kujundusega, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeeras pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeerasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja kaotab vahetu läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori fluorestsentsi tuvastada. Tuvastatud tekkinud fluorestsentsisignaali on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida olemasoleva sihtmärk-DNA hulga.

EBV DNA tuvastamiseks kasutatakse fluorofooriga (lainepikkusel 490/521) 5'-otsas ja tumeda kustutiga 3'-otsas märgistatud sondi TaqMan. SPC1 tuvastamiseks on sond TaqMan märgistatud alternatiivse fluorestsentsvärviga (535/556 nm) 5'-otsas ja tumeda kustutiga 3'-otsas. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentsisignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA)). Kui tulemus on POSITIVE (POSITIIVNE), siis seadme NeuMoDx System tarkvara esitab ühtlasi prooviga seotud kvantitatiivse väärtuse või teatab, kui arvutatud kontsentratsioon jääb väljapoole kvantitatiivse määramise piire.

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasasolevad materjalid

REF	Sisukord	Teste ühikus	Teste pakis
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>EBV- ja SPC1-spetsiifilist TaqMan sondi ja primereid sisaldavad kuivatatud PCR-reaktiivid.</i>	16	96

Muud vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisukord
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>EBV kõrgete ja madalate kalibraatorite ühekordsed komplektid, et määrata standardkövera kehtivus</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Ühekordselt kasutatavad EBV positiivsete ja negatiivsete kontrollide komplektid, et määrata analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay päevane kehtivus</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl)
235905	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl)

Vajalikud mõõteseadmed

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

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- Analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmega NeuMoDx Systems.
- Proove tuleb alati käidelda nakkusohhtikena ja kooskõlas ohutute laboriprotseduuridega, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes, nagu Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ ja CLSI dokumendis M29-A4.⁶
- Positiivne tulemus viitab EBV DNA esinemisele.
- Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tohivad kasutada ainult seadme NeuMoDx System kasutamise alase ja nakkusohhtlike materjalide käsitsemist puudutava väljaõppe saanud töötajad.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.

- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Enne kui testi tulemusi saab kliinilistele proovidele kohaldada, peab olema olemas kehtiv testi kalibreerimine (selleks töödeldakse kõrgeid ja madalaid kalibraatoreid NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800500]).
- Väliseid kontrolle NeuMoDx EBV External Control [REF 900501] tuleb kogu analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay testimise vältel iga 24 tunni järel töödelda.
- Sekundaarsete alikvootide proovi väiksem maht sõltub allpool määratletud katsuti suurusel / proovikatsuti kandjast. Kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Valel temperatuuril või üle kindlaksmääratud säilitusajaga proovide kasutamine võib põhjustada kehtetuid või ekslikke tulemusi.
- Vältige alati kõikide reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleaasid (DNAas). Soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kasseti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kasseti NeuMoDx Cartridges bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx 96 Molecular System). Kasseti NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris analüüsitakse ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testtribad NeuMoDx EBV Quant Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaupad ning reaktiivid, isikukaitsevahendid, nt kindad ja laborikitlid ning seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kasseti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip või ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 5 mahuti ülemist pinda; kulukaupu ja reaktiive tuleks käsitada ainult külmpindude puudutades.
- Ohutuskaidid (Safety Data Sheets, SDS) on saadaval nõudel.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.

TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMINE JA STABIILSUS

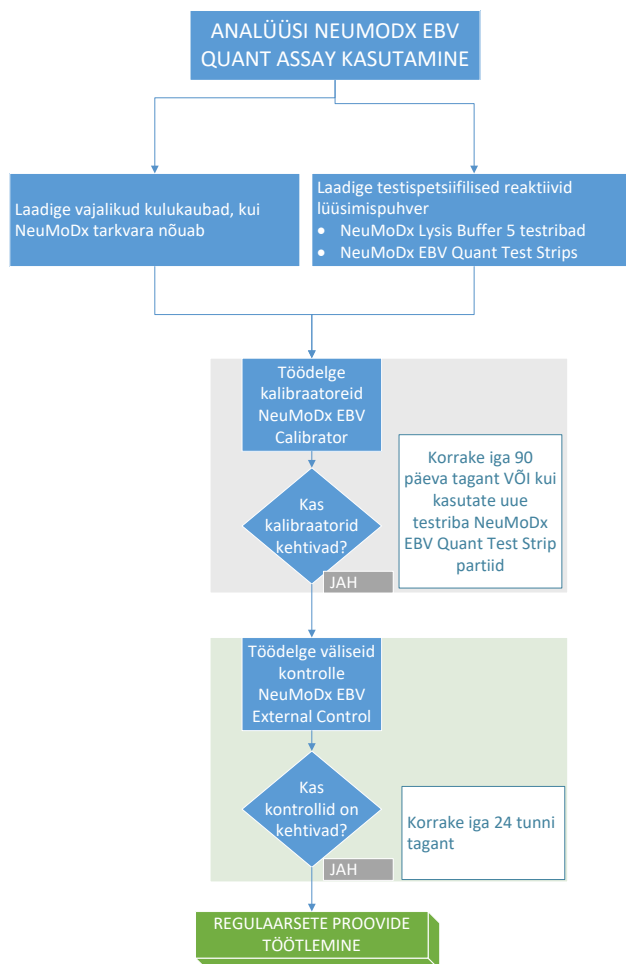
- Testtribad NeuMoDx EBV Quant Test Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 18–23 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi analüüsitoodet, kui visuaalsel vaatlusel on leitud esmase või sekundaarse pakendi kahjustusi.
- Ärge laadige uuesti ühtegi testitavat toodet, mis on varem laaditud teise seadmesse NeuMoDx System.
- Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip jääda süsteemi NeuMoDx System 14 päevaks. Laaditud testribade allesjäänud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaajas. Süsteem soovib testriba eemaldamist, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud perioodi.
- Kuigi kalibraatorid NeuMoDx EBV Calibrator ja välise kontrollid NeuMoDx EBV External Control ei ole nakkuslikud, tuleb kogu kasutamata jäänud materjal kõrvaldada laboratoorse bioohtliku jäätmena, et vähendada sisalduva sihtnukleiinhappega saastumise riski.

PROOVIKOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

Käideldge kõiki proove võimalike nakkusallikate edasikandjatena.

- Ärge külmutage täisverd ega primaarsetes katsutites hoitud proove.
- Plasmaproovide ettevalmistamiseks tuleks täisverd koguda steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulandina EDTA-d. Järgige proovi kogumiskatsuti tootja juhiseid.
- Eespool nimetatud seadmesse kogutud täisverd võib enne plasma ettevalmistamist säilitada ja/või transportida kuni 24 tundi temperatuuril 2–25 °C. Plasma tuleb ettevalmistada vastavalt tootja juhistele.
- Ettevalmistatud plasmaproove võib enne töötlemist hoida seadmes NeuMoDx System kuni 8 tundi. Kui on vaja kauem hoida, on soovitatav proovid enne jahutada või külmutada.
- Ettevalmistatud plasmaproove tuleb hoida temperatuuril 2 kuni 8 °C mitte kauem kui 7 päeva enne testimist ja toatemperatuuril kuni 8 tundi.
- Ettevalmistatud plasmaproove võib temperatuuril < -20 °C enne töötlemist säilitada plasma korral kuni 8 nädalat; plasmaproove ei tohi olla enne kasutamist enam kui 2 korda külmutada/sulatada.
 - Kui proovid külmutada, laske proovidel toatemperatuuril (15–30 °C) täielikult üles sulada; keerutage lähtemahutis, et saada ühtlaselt jaotunud proov.
 - Kui külmunud proovid on üles sulanud, tuleb testida 8 tunni jooksul.
- Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.
- Sildistage proovid selgelt ja näidake, et need proovid on EBV testimiseks.
- Minge edasi jaotisesse Testi ettevalmistamine.

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay kasutamise üldine protsess on kokku võetud allpool *joonisel 1*.



Joonis 1. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay kasutamise töövoog

KASUTUSJUHEND

Testi ettevalmistamine

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vöotkoodisilt.
2. Viige plasmaalivoot vöotkoodiga proovikatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx System vastavalt allpool määratletud mahtudele:
 - Proovikatsuti kandja (32 katsutile): 11–14 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne ≥ 400 ml
 - Proovikatsutikandja (24 katsutile): 14,5–18 mm läbimööt ja 60–120 mm kõrgus; minimaalne ≥ 850 ml

Seadme NeuMoDx System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317)

1. Täitke üks või enam süsteemi NeuMoDx System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx EBV Quant Test Strip ja kasutage puutekraani, et laadida testribakandja(d) süsteemi NeuMoDx System.
2. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
3. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, siis asendage reaktiivid NeuMoDx Wash Reagent ja NeuMoDx Release Reagent, tühjendage vastavalt praimingujäätmete või bioohtlike jäätmete nõuetele.
4. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, töödelge seadmeid Calibrators [REF 800500] ja/või External Controls [REF 900501] vastavalt vajadusele. Rohkem teavet kalibraatorite ja kontrollide kohta leiab jaotisest *Tulemuste töötlemine*.

5. Laadige proovi-/kalibraator-/kontrollkatsuti(d) standardsesse 32-kohalisse proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt proovikatsutitelt oleksid korgid eemaldatud.
6. Asetage proovikatsutikandja automaatlaadija riili mis tahes vabale kohale ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatava(te) testi(de) jaoks laaditud proovide töötlemine.

PIIRANGUD

- Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip saab kasutada ainult seadmel NeuMoDx Systems.
- Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip toimivust on kinnitatud plasmaproovide puhul, mis on ette valmistatud täisverest, mille kogumisel on kasutatud antikoagulandina EDTA-d. Testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip kasutamist muude kliiniliste proovidega ei ole hinnatud ja toimivusnäitajad on muud tüüpi proovide korral teadmata.
- Kuna EBV tuvastamine sõltub proovis esinevate viiruste arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
- Kalibraatorid ja välised kontrollid tuleb töödelda vastavalt pakendis sisalduvatele soovitudele ja kui seda soovitab seadme NeuMoDx System tarkvara enne tavapärase kliiniliste proovide töötlemist.
- Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segiajamise korral võivad tekkida valed tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate viiruseosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tuvastuspiir.
- Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
- Kui nii EBV sihtmärgi kui ka SPC1 sihtmärgi amplifikatsiooni ei toimu, esitatakse kehtetu tulemus – Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamatu) ja testi tuleb korrata.
- Kui analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemus on Positive (Positiivne), kuid kvantitatiivne väärtus on alla kvantitatiivse määramispiiri, teavitab seade NeuMoDx System, kas tuvastatud EBV väärtus oli *allpool* kvantitatiivse alampiiri (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) või *ülalpool* kvantitatiivse ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Kui tuvastatud EBV on allpool LLoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay korrata (soovi korral) proovi teise alikvoodiga.
- Kui tuvastatud EBV on ülalpool ULoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay korrata algse proovi lahjendatud alikvoodiga. Soovituslik lahjendamise suhe on 1:100 või 1:1000 EBV negatiivse plasma või lahjendajaga Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Süsteem arvutab originaalproovi kontsentratsiooni automaatselt järgmisel viisil. Proovi algne kontsentratsioon = \log_{10} (lahjendusaste) + teatatud lahjendatud proovi kontsentratsioon, kui lahjendusaste on enne kordamist tarkvaras õigesti valitud.
- PCR-inhibiitorite juhuslik esinemine plasmas võib tekitada süsteemis kvantiteerimisvea; sellisel juhul on soovitatav, et testi korratakse sama prooviga, mida on lahjendatud lahjendajaga Basematrix suhte juures 1:10 või 1:100.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata aktiivse viirusnakkuse esinemisele. Positiivne tulemus pigem viitab Epstein-Barri viiruse DNA esinemisele.
- Kuigi selle tõenäosus on väga madal, võivad analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay sihtmärgiks olevates EBV genoomi konserveerunud piirkondades esinevad deletsioonid või mutatsioonid mõjutada testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip abil tuvastamist või viia ekslike tulemusteni.
- Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemusi tuleb kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena; analüüs ei ole ette nähtud nakkuse diagnoosimiseks.
- Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused).

Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on toodud NeuMoDx EBV analüüsi definitsiooni failis (EBV Assay Definition File, EBV ADF). Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemus võib olla esitatud kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne) koos EBV kontsentratsiooniga, Positive (Positiivne) ülalpool ULoQ-d, Positive (Positiivne) allpool LLoQ-d, Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamatu) vastavalt sihtmärgi ja proovi töötlemise kontrolli amplifikatsiooni seisule. Tulemused esitatakse otsusetegemise algoritmi põhjal, mis on esitatud tabelis 1.

Tabel 1. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay otsusetegemise algoritm

Tulemus	EBV	Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiivne)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (JA) } EPR > 2 \text{ AND (JA) } EP \geq 1500]$ OR (VÕI) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (JA) } EP \geq 1500]$	Pole kohaldatav
Positive (Positiivne), üle kvantitatiivse ülempiiri [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (\log_{10} IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) $> 8,0 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	Pole kohaldatav
Positive (Positiivne), alla kvantitatiivse alampiiri [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (\log_{10} IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) $< 2,3 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	Pole kohaldatav
Negative (Negatiivne)	EI KOHALDATA OR (VÕI) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (JA) } EPR \leq 2]$ OR (VÕI) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (JA) } EP < 1500]$ OR (VÕI) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) ($29 \leq Ct \leq 35$) ja $EP \geq 2000$
Indeterminate (Määramatu)	NOT AMPLIFIED/ System Errors Noted (MITTEAMPLIFITSEERITUD, Tuvastati süsteemivead)	
Unresolved (Lahendamata)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (MITTEAMPLIFITSEERITUD, Süsteemivigu ei tuvastatud)	

EP = End Point Fluorescence (lõpp-punkti fluorestsents) pärast alusjoone suhtes korrigeerimist; EPR = End Point Fluorescence Ratio (lõpp-punkti fluorestsentsi määr); C_t = Cycling Threshold (tsüklimise lävi);

Quant = arvatatud olemasoleva EBV kvantiteet, väljendatud ühikuga \log_{10} IU/ml. Vaadake allpool testi arvutamist.

Testi arvutamine

- Proovide puhul, mis on analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay kvantitatiivses määramisvahemikus, arvutatakse proovide EBV DNA kontsentratsioon, kasutades salvestatud standardkõverat koos kalibreerimiskoeffitsiendiga.
 - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse töödeldud kalibraatorite NeuMoDx EBV Calibrators tulemuste põhjal, et tagada standardkõvera kehtivus testribade NeuMoDx EBV Quant Test Strip iga partii spetsiifilises seadmes NeuMoDx System.
 - Kalibreerimiskoeffitsient hõlmatakse süsteemi poolt automaatselt EBV DNA kontsentratsiooni lõpliku määramisse.
- Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay tulemused esitatakse ühikutes \log_{10} IU/ml.
- Saadav tundmatute proovide kvantitatiivse määramise tulemus on jälgitav WHO Epstein-Barri viiruse nukleiinhapete amplifitseerimismeetodite 1. rahvusvahelise standardini.

Testi kalibreerimine

Proovide EBV DNA kvantifitseerimiseks on vaja teha standardkõvera põhjal nõuetekohane kalibreering. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab testi kalibreerima, kasutades ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. varustatud kalibraatoreid.

Kalibraatorid

- Kalibraator NeuMoDx EBV Calibrator [REF 800500] sisaldab mittenakkusohklikke kapseldatud EBV sihtmärke lahjendis Basematrix.
- EBV kalibraatorite komplekti töötlemine on vajalik iga uue testribade NeuMoDx EBV Quant Test Strips partii korral, uue EBV analüüsi definitsiooni fail laadimisel seadmesse NeuMoDx System, parajasti kasutusel olete kalibraatorite komplekti kehtivusaja lõppemisel (hetkel seatud 90 päevale) või kui seadme NeuMoDx System tarkvara muudetakse.
- Seadme NeuMoDx System tarkvara teavitab kasutajat, kui kalibraatoreid tuleb töödelda. Testribade uut partiid ei saa testimiseks kasutada, kuni kalibraatorid on edukalt töödeldud.
- Kalibraatorite kehtivus määratakse järgnevalt.
 - Kahe kalibraatori komplekti – kõrge ja madal – tuleb kehtivuse määramiseks töödelda.

- b) Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab vähemalt kaks kolmest kordusest andma tulemuse eelnevalt määratletud parameetrite piires. Madala kalibraatori nominaalne sihtmärk on $4 \log_{10}$ IU/ml ja kõrge kalibraatori nominaalne sihtmärk on $6 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse, et võtta arvesse testribade partiide vahelised ootuspärased erinevused. Seda kalibreerimiskoeffitsienti kasutatakse, et määrata lõplik EBV kontsentratsioon.
5. Kui ühe või mõlema kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, siis töödelge ebaõnnestunud kalibraatorit/kalibraatoreid uuesti, kasutades uut viaali. Juhul kui ühe kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, saab korrata ainult ebaõnnestunud kalibraatori kontrolli, kuna süsteem ei nõua kasutajalt mõlema kalibraatori uuesti kasutamist.
 6. Kui kalibraator(ite) kehtivuse kontroll ebaõnnestub kaks korda järjest, võtke ühendust ettevõttega NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

Välised kontrollid

1. Ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. pakub välise kontrolli materjale, mis sisaldavad terviklikku mittenakkuslikku kapseldatud EBV viirust Basematrix lahuses positiivsete kontrollidena, komplektina NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
2. Positiivsed ja negatiivsed välised kontrollid tuleb tööelda iga 24 tunni tagant. Kui kehtiv väliste kontrollide komplekt puudub, nõuab seade NeuMoDx System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et proovi tulemusi saaks esitada.
3. Kui on vaja väliseid kontrole, võtke väliste kontrollide komplekt külmikust välja ja laske viaalidel toatemperatuuril (15–30 °C) sulada. Keerutage homogeensuse saamiseks õrnalt lähtemahutis.
4. Kasutades puutekraani ja automaatlaadija riivile paigutatud proovikatsutikandjat, laadige positiivse ja negatiivse kontrollproovi viaalid seadmesse NeuMoDx System. Seade NeuMoDx System tunneb ära vöötkoodi ja alustab proovikatsutite töötlemist, välja arvatud juhul, kui testimiseks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.
5. Seade NeuMoDx System hindab väliste kontrollide kehtivust eeldatava tulemuse põhjal. Positiivne kontrollproov peab andma tulemuse EBV Positive (EBV-positiivne) ja negatiivne kontrollproov peab andma tulemuse EBV Negative (EBV-negatiivne).
6. Väliste kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.
 - a) Negatiivse kontrollproovi katsetulem Positive (Positiivne) näitab proovi saastumise probleemi.
 - b) Positiivse kontrollproovi katsetulem Negative (Negatiivne) võib osutada reaktiiviga või instrumendiga seotud probleemile.
 - c) Kummalgi ülaltoodud juhul korra ebaõnnestunud välist kontrolli (kontrolle) NeuMoDx EBV External Control värskest sulatatud viaali(de)ga, mille kontroll(id) ei ole kehtivuse testi läbinud.
 - d) Kui positiivne väline kontroll NeuMoDx EBV External Control annab uuesti tulemuse Negative (Negatiivne), võtke ühendust seadme NeuMoDx klienditoega.
 - e) Kui negatiivne kontroll NeuMoDx EBV External Control annab jätkuvalt tulemuse Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastamise allikad, sh asendage enne ettevõtte NeuMoDx klienditeenindusega ühendust võtmist KÕIK reaktiivid ja kulukaubad.

Prooviprotsessi (sisemised) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx Extraction Plate on kätkevad eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) ning see läbib iga prooviga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaala PCR amplifikatsiooni protsessi. Iga testriba NeuMoDx EBV Quant Test Strip sisaldab ka praimereid ja SPC1-spetsiifilist sondi, mis võimaldavad mitmekordse reaala PCR-i kaudu tuvastada SPC1 ja sihtmärgiks oleva EBV DNA-d (olemasolu korral). SPC1 amplifikatsiooni tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx System tarkvaral jälgida DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

Kui seadmel NeuMoDx System tehtud analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (Määramatu) (IND) või Unresolved (Lahendamatu) (UNR) olenevalt tekkinud veatüübist.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus IND. Kui esitatakse tulemus IND, on soovitatav teha kordusanalüüs.

UNR-i tulemus esitatakse, kui ei tuvastata kehtivat EBV DNA või SPC1 amplifikatsiooni, mis viitab võimalikule reaktiivi veale või inhibiitorite esinemisele. Juhul, kui esitatakse UNR-i tulemus, on esimese sammuna soovitatav teha kordusanalüüs. Kui kordustest ebaõnnestub, võib proovi mistahes inhibeervate mõjude vähendamiseks kasutada lahjendatud proovi.

TOIMIVUSNÄITAJAD

Analüütiline sensitiivsus – tuvastuspiir WHO standardi abil

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay analüütiline sensitiivsus kinnitati EBV-negatiivsete plasmaproovide testimisega, mida rikastati WHO 1. rahvusvahelise EBV nukleiinhappe amplifitseerimise meetodite standardi järgi lahja lahusega. Kinnituskatse tehti analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay oodataval tuvastuspiiril (Limit of Detection, LoD) seadmes NeuMoDx Systems kogusega 200 IU/ml. LoD on defineeritud kui madalaim tuvastamise sihttase $\geq 95\%$ juhtudest. Uuring korraldati mitmete süsteemide abil, kasutades erinevaid sobivaid seadme NeuMoDx reaktiivide partiiisid. Tuvastamismäärad on kujutatud tabelis 2.

Tabel 2. NeuMoDx EBV Quant Assay LoD määramine; Plasmaproovide positiivne tuvastamismäär

Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	PLASMA		
	Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
200	120	117	97,5%
0	60	0	0%

Analüütiline sensitiivsus – kvantitatiivne alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Kvantitatiivne alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) on defineeritud alumise sihttasemenä, mille juures saavutatakse tuvastus $> 95\%$ juhtudel ja analüütiline koguviga (total analytical error, TAE) on $\leq 1,0$. Kinnitamaks, et analüüsi EBV Quant Assay nii LoD kui ka LLoQ on 200 IU/ml, kasutati TAE määramiseks kokkulangevuse määra uuringu tulemusi. Arvutatud TAE määratleti kui:

$$TAE = \text{nihe} + 2 \cdot SD \text{ [Westgardi statistika]}$$

Nihe on keskmise arvutatud kontsentratsiooni ja eeldatava kontsentratsiooni erinevuse absoluutväärtus. SD on proovi määratud kvantitatiivse väärtuse standardhälve.

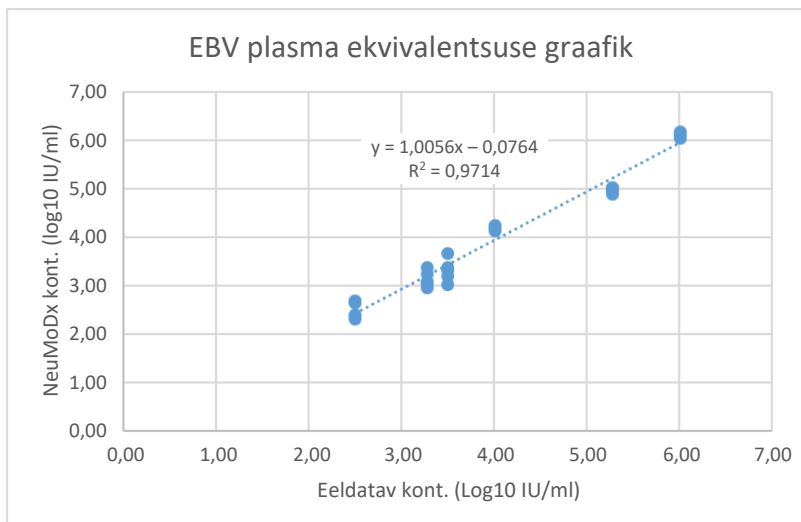
Tabel 3. NeuMoDx EBV Quant Assay LLoQ, koos nihke ja TAE-ga

Sihtkont. [IU/ml]	Sihtkont. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma				
		Keskmine kont. [log ₁₀ IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Nende uuringute tulemuste põhjal määrati analüüsil NeuMoDx EBV Quant Assay nii LoD kui ka LLoQ väärtuseks 200,0 IU/ml [2,30 log₁₀ IU/ml].

Kvantitatiivse ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarsus ja määramine

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay lineaarsus ja kvantitatiivne ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määrati plasmal, valmistades lahuseeriad, milles kasutati ettevõtte NeuMoDx kapseldatud EBV sihtmärkija positiivset kontrolli Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), mis on jälgitavad EBV jaoks WHO 1. rahvusvahelise standardini. Mitme EBV-negatiivse plasma ühendatud proovi abil valmistati 10 paneel, et luua testimispaneel kontsentratsioonivahemikus 2,0–8,0 log₁₀ IU/ml. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay seerumiproovide ULoQ määrati tasemele 8,0 log₁₀ IU/ml. Standardkõvera lineaarsuse hindamiseks koostatud kinnituspaneel ja seadme NeuMoDx System teatatud EBV analüüsikontsentratsioonid võrreldes oodatavate väärtustega on esitatud joonisel 2.



Joonis 2. Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay lineaarsus

Analüütiline spetsiifilisus – ristreaktiivsus

Analüütilist spetsiifilisust näidati, sõeludes 35 organismi, mida võib leida vere-/plasmaproovidest, ja liigi suhtes, mis on fülogeneetiliselt sarnased EBV ristreaktiivsusele. Valmistati ette 5–6 organismist koosnevad kõrge kontsentratsiooniga ühendatud proovid. Testitud organismid on näidatud tabelis 4. Ühegi testitud organismi korral ei esinenud ristreaktiivsust, mis kinnitab analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay 100% analüütilist spetsiifilisust.

Tabel 4. Patogeenid, mida kasutatakse analüütilise spetsiifilisuse tõendamiseks

Mittesihtorganismid					
BK polüomaviirus	5. tüüpi adenoviirus	Herpes Simplex viiruse 1. tüüp	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Tsütomegaloviirus	C-hepatiidi viirus	Herpes Simplex viiruse 2. tüüp	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Inimese herpesviiruse 6. tüüp	Parvoviirus B19	Tuulerõugeviirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Inimese herpesviiruse 7. tüüp	JC-viirus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Inimese herpesviiruse 8. tüüp	Inimese papilloomiviirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
B-hepatiidi viirus	Inimese papilloomiviirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analüütiline spetsiifilisus – segava mõjuga ained, kommensaalsed organismid

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay toimivust segava mõju esinemisel hinnati sihtmärgiks mitteolevate organismide lisamisega, milleks kasutati sama organismide ühendatud proove nagu ristreaktiivsuse analüüsimisel, mis on loetletud ülalolevas tabelis 4. Negatiivset EBV plasmat rikastati 4–7 organismist koosneva ühendatud prooviga ja samuti EBV sihtmärgiga kontsentratsioonis $3 \log_{10}$ IU/ml. Nende organismidega kokkupuutel ei täheldatud olulist interferentsi, nagu näitas määratud kvantitatiivse väärtuse hälve kontrollproovidest, mis ei sisaldanud interferentsi tekitajat.

Analüütiline spetsiifilisus – segava mõjuga ained, endogeensed ja eksogeensed ained

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay toimivust hinnati EBV kliinilistes plasmaproovides levinud eksogeensete ja endogeensete segavate ainete esinemisel. Nende hulka kuulusid nii verekomponentide liiga kõrge tasemed kui ka levinud viirusvastased ravimid ja immunosuppressandid, mis on klassifitseeritud tabelis 5. Igat ainet lisati kinnitatud EBV-negatiivsesse inimese plasmasse, mida oli rikastatud $3 \log_{10}$ IU/ml EBV-ga ja proove analüüsiti segava mõju suhtes. Lisaks testiti võimaliku interferentsi suhtes tavapärasest haigusseisundis plasmata, mida seostatakse EBV nakkusega. Kõigi testitud ainete keskmine kontsentratsioon ja nihked võrreldes kontrollproovidega, mida rikastati sama EBV tasemega, on esitatud tabelis 6. Mitte ükski eksogeenne ega endogeenne aine ei mõjutanud analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay spetsiifilisust.

Tabel 5. Interferentsi testimine – eksogeensed ained (ravimiklass)

Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon	Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon
Kogum 1	Asatiopriin	Immunosupressant	Kogum 4	Trimetopriim	Antibiootikum
	Tsüklosporiin	Immunosupressant		Vankomütsiin	Antibiootikum
	Foskarnet	Viirusevastane (herpesviirused)		Takroliimus	Immunosupressant
	Gantsükloviir	Viirusevastane (EBV)		Everoliimus	Immunosupressant
	Valgantsükloviirvesinikloriid	Viirusevastane (EBV)		Klavulanaatkaalium	Antibiootikum
Kogum 2	Prednisoon	Kortikosteroid/immunosupressant	Kogum 5	Famotidiin	Histamiini retseptori antagonist
	Tsidofoviir	Viirusevastane (EBV)		Sulfametoksasool	Antibiootikum
	Tsefotetaan	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Valatsiloviir	Viirusevastane (herpesviirused)
	Tsefotaksiim	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Letermoviir	Viirusevastane (EBV)
	Flukonasool	Antifungaalne		Tikartsilliin-dinaatrium	Antibiootikum
Kogum 3	Mükofenolaatmofetiil	Immunosupressant	Leflunomiid	Immunosupressant	
	Mükofenolaatnaatrium	Immunosupressant			
	Piperatsilliin	Antibiootikum			
	Siroliimus/Rapamütsiin	Immunosupressant			
	Tasobaktaam	Modifitseeritud antibiootikum			

Tabel 6. Interferentsi testimine – eksogeensed ja endogeensed ained

Endogeenne	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Hemoglobiin	3,20	0,23
Triglütseriidid	3,15	0,28
Bilirubiin	3,48	-0,05
Albumiin	3,2	0,22
Eksogeensed (ravimid)	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Kogum 1: asatiopriin, tsüklosporiin, foskarnet, gantsükloviir, valgantsükloviirhüdrokloriid	3,30	0,13
Kogum 2: prednisoon, tsidofoviir, tsefotetaan, tsefotaksiim, flukonasool	3,22	0,21
Kogum 3: mükofenolaatmofetiil, mükofenolaat naatrium, piperatsilliin, siroliimus/rapamütsiin, tasobaktaam	3,36	0,07
Kogum 4: trimetopriim, vankomütsiin, takroliimus, everoliimus, klavulanaat-kaalium	3,32	0,11
Kogum 5: famotidiin, sulfametoksasool, letermoviir, valatsükloviir, tikartsilliin-dinaatrium, leflunomiid	3,47	-0,10
Haigusseisund	Keskmine kont.	Nihe
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Süsteemne erütematoosne luupus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,23	0,20
Tuumavastane antikeha (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Reumatoidartriit (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,19	0,24

Laborisisene täpsus

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay täpsus määrati kontrolliga EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ette valmistatud 4-liikmelise paneeli 3 kordusega EBV proovide kolm korda päevas testimisega, kasutades kahe päeva jooksul kaht seadet NeuMoDx 288 Systems ja üht seadet NeuMoDx 96 System. Määrati sarjasisene, päevisisene ja süsteemisene täpsus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati $\leq 0,33 \log_{10}$ IU/ml. Näidati suurepärasest päevade- ja testideülest täpsust, nagu on näidatud tabelis 7. Kasutajate vahel ei määratud täpsust, kuna kasutaja ei ole proovide töötlemisel süsteemiga NeuMoDx System määrava tähtsusega.

Tabel 7. Laborisisene täpsus – analüüs NeuMoDx EBV Quant Assay seadmetel NeuMoDx Systems

EBV sihtkont. [log ₁₀ IU/ml]	Keskmine EBV kont. [log ₁₀ IU/ml]	Süsteemisene SD	Perioodil Päeva SD	Perioodil Käitamise SD	Üldine (Laborisisene) SD
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

Partiidevaheline reprodutseeritavus

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay partiidevaheline reprodutseeritavus määrati, hinnates kolme põhireaktiivide – testribade NeuMoDx EBV Quant Test Strip ja lüüsimispuhvri Lysis Buffer 5 partiid – osana kvalifitseerumiskatsesest (Qualification Testing, QT). Toimivuse hindamiseks kasutati 4-liikmelist EBV positiivse plasma paneeli (tabel 8). Analüüsiti partiiid siseseid ja vahelisi varieeruvusi ja need tulemused on esitatud tabelis 8-9. Testribade NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips maksimaalne üldine kõrvalekalle oli 0,03 log₁₀ IU/ml ja maksimaalne üldine SD oli 0,20 log₁₀ IU/ml. Lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 5 maksimaalne üldine kõrvalekalle oli 0,12 log₁₀ IU/ml ja maksimaalne üldine SD oli 0,41 log₁₀ IU/ml. Partiiides näidati samaväärset toimivust, kuna kõikide paneeli liikmete kvantifitseerimise väärtused olid tolerantsi määra piires.

Tabel 8. Partiidevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

EBV sihtkont. [IU/ml]	Keskmine EBV kont. [log ₁₀ IU/ml]	N (kehtivad tulemused partii kohta)	Nihe	Partiidevaheline SD	Partiisisene SD	Üldine 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

Tabel 9. Partiidevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

EBV sihtkont. [log ₁₀ IU/ml]	Keskmine EBV kont. [log ₁₀ IU/ml]	N (kehtivad tulemused partii kohta)	Nihe	Partiidevaheline SD	Partiisisene SD	Üldine 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

Proovi töötlemise kontrolli tõhusus

Analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay on kaasas proovi protsessikontroll (Sample Process Control, SPC1), mis annab teavet protsessi ebaõnnestumise või analüüsi toimimist mõjutava pärssiva toime kohta. Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay mudelina kasutades hinnati SPC1 efektiivsust plasmaproovide osas kriitilisi töötusetappide tõrkeid esindavates tingimustes, mis võivad tekkida proovide töötlemise ajal ja mida seadme NeuMoDx System toimimist kontrollivad sensorid võivad jätta tuvastamata. Tsütomegaloviiruse positiivseid (3 log₁₀ IU/ml) ja negatiivseid proove testiti järgmistes tingimustes: inhibiitori olemasolu, pesulahuse kättesaadavuse piiramine ja pesureaktiivi eemaldamata jätmine. Töötusetappide tõrkeid, mis mõjutasid negatiivselt viirusliku sihtmärgi tuvastamist/kvantifitseerimist, peegeldas SPC1 sihtmärki, nagu on näidatud tabelis 10. Kõigil testitud juhtudel näidati, et prooviprotsessi kontroll jälgendas protsessi ebaefektiivsust ja inhibiitorite olemasolu adekvaatselt või eeldatav protsessi ebaefektiivsust ei avaldanud olulist negatiivset mõju SPC1 ega viirusliku sihtmärgi tuvastamisele ja kvantifitseerimisele. Seega, SPC1 abil näidati analüüsi toimimise efektiivset jälgimist seadmes NeuMoDx System.

Tabel 10. Proovi töötlemise kontrolli tõhusus plasma viiruse DNA osas*

Testitud töötlemisetapi tõrge	Proovi töötlemise kontrolli 1 amplifikatsioonistaatus	CMV sihtmärgi amplifikatsioonistaatus	Analüüsi tulemus
Presence of Inhibitor (Inhibiitori sisaldus)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Delivered (Pesemisreaktiivi ei ole)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Blowout (Pesemisreaktiivi väljauhtumist ei toimu)	Amplified (Amplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	Positive (positiivne) kvantifitseerimine kontrolli 0,3log ₁₀ IU/ml ulatuses

*Tsütomegaloviirust (Cytomegalovirus, CMV) plasmas kasutati proovi protsessi kontrolli efektiivsuse hindamise mudelsüsteemina.

Ristsaastumine

Plasmaproovide ristsaastumise määr tuvastati sarnase vere kaudu leviva DNA-viiruse, tsütomegaloviiruse (CMV) kõrge positiivse ja negatiivse sisaldusega proovide vaheldumisi töötlemisega. Tehti kolm sellist kontrolltestide komplekti, milles kasutati kokku 108 kordust CMV-negatiivse plasmaga ja 108 kordust CMV-ga rikastatud plasmaga koguses 6,0 log₁₀ IU/ml. Kõik 108 negatiivsete proovide kordustesti olid negatiivsed, mis näitab, et kõikide analüüside plasmaproovide töötlemisel ei esinenud süsteemis NeuMoDx System ristsaastumist.

Proovimatriksi ekvivalentsus

Testid tehti, et näidata värske ja külmutatud plasmaproovide samaväärsust, kasutades mudelina sarnast vere kaudu levivat viirust, CMV-d. Värskeid proove säilitati 4 °C juures, kuni neid rikastati kolme eri CMV tasemega ja analüüsiti samaväärsuse suhtes. Seejärel proovid külmutati vähemalt 24 tundi -20 °C juures. Pärast külmutamisperioodi, sulatati proovid üles ja analüüsiti uuesti. Värske ja külmutatud plasmaproovide tulemusi võrreldi ekvivalentsuse osas regressioonanalüüsiga. Andmed näitasid värske ja külmutatud plasmaproovide suurepäraselt samaväärsust, millel oli kaldenurk 1,0 ja väga väike kõrvalekalle (lõikepunkt), nagu on esitatud allpool tabelis 11.

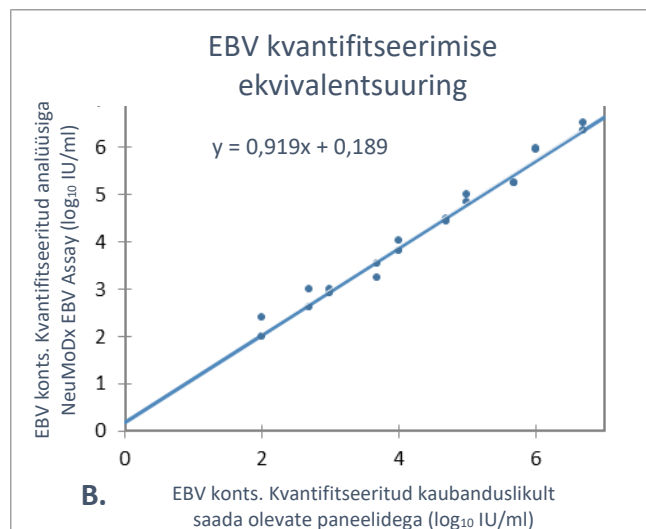
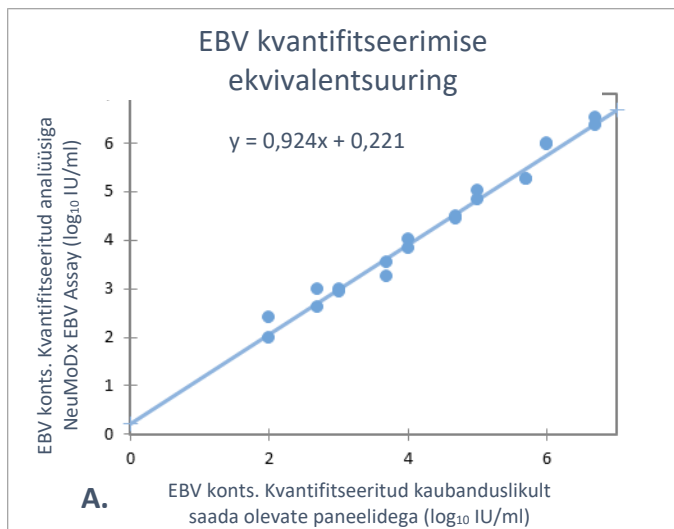
Tabel 11. Proovimatriksi ekvivalentsus

Parameetri nõue	Värske vs. külmutatud EDTA
Tõus [0,9–1,1]	1,000
Lõikepunkt < 0,5 log ₁₀ IU/ml	0,020
p-väärtus > 0,05	0,631

Kvantifitseerimistulemuste iseloomustus

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay kvantitatiivset tulemuslikkust iseloomustati, töödeldes seadmega NeuMoDx Molecular Systems kaht kaubanduslikult saada olevat EBV kontrollimise paneeli ettevõtete AcroMetrix ja Exact Diagnostics (jälgitav 1. WHO EBV rahvusvahelise standardini).

Analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay ja kahe kaubanduslikult saadaoleva EBV kontrollpaneeli vahel saadi suurepärase korrelatsioon (joonis 3), kui neid analüüsiti kas Demingi regressiooni (joonis 3A) või Passing-Babloki meetodiga (joonis 3B).



Joonis 3. Ettevõtete AcroMetrix ja Exact Diagnostics kontrollpaneelide ekvivalentsus analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Lineaarne regressioonanalüüs Demingi meetodiga. B. Lineaarne regressioonanalüüs Passing-Babloki meetodiga.

Demingi regressiooni sobivust näitavad tõusu koefitsient 0,92 ja löikepunkt (nihe) 0,22, mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx EBV Quant Assay ja EBV kontrollpaneelidega saadud kontsentratsiooniväärtused on korrelatsioonis ja sobiva nihkega. Passing-Babloki lineaarne sobivus toetab ka analüüsi NeuMoDx EBV Quant Assay ja EBV kontrollpaneelide abil saadud tulemuste korrelatsiooni olulisust, mille üldine tõusu koefitsient on 0,92 ja löikepunkt (kõrvalekalle) on 0,19. Passing-Babloki analüüsi p -väärtuseks arvutati 0,40.

Tabel 12. Demingi ja Passing-Babloki lineaarse regressiooni analüüside kokkuvõte

Demingi analüüs		Passing-Babloki analüüs	
Löikepunkt	Tõusu koefitsient	Löikepunkt	Tõusu koefitsient
0,22	0,92	0,19	0,92
95% CI (-0,11; 0,55)	95% CI (0,86; 0,99)	95% CI (-0,08; 0,41)	95% CI (0,87; 0,99)

VIITED

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.

KAUBAMÄRGID















NeuMoDx[™] on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.

NeuDry[™] on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.

TaqMan[®] on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.

SÜMBOLID

SÜMBOL	TÄHENDUS
Rx only	Ainult retsepti alusel
	Tootja
	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	Katalooginumber
	Partii kood
	Kasutamise lõppkuupäev
	Temperatuuri piir
	Niiskuse piirmäär
	Mitte korduskasutada
	Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks
	Vaadake kasutusjuhendit
	Ettevaatust
	Bioloogilised ohud
	CE-märgis



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

Sponsor (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



Tehniline tugi / järelvalve analüüs: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents