

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA

IVD Til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Opdateringer til indlægssedler kan findes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx CMV Quant Assay er en automatiseret, *in vitro*-nukleinsyreamplifikation til kvantitering af cytomegalovirus (CMV)-DNA i humane plasmaprøver til test for CMV-genotypes gB1 til og med gB4 hos CMV-inficerede personer. NeuMoDx CMV Quant Assay er implementeret i NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) og indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og realtids-polymerasekædereaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) til målsøgning af de højt bevarede sekvenser i cytomegalovirusgenomet.

NeuMoDx CMV Quant Assay er beregnet til *in vitro*-kvantitering af cytomegalovirus (CMV)-DNA i friske og frosne humane plasmaprøver med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems. Denne analyse er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for fremskreden sygdom med henblik på kliniske behandling og overvågning af CMV-infektion. Analysen er ikke beregnet til anvendelse som en screeningstest for tilstedeværelsen af CMV i blod eller blodprodukter.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamlet i sterile blodprøvetagningsrør, der enten indeholder EDTA eller ACD som antikoagulationsmiddel, kan bruges til klargøring af plasma. Forbered testningen ved at isætte et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, og som indeholder plasma, i NeuMoDx System ved hjælp af en dertil beregnet prøverørsholder for at påbegynde behandlingen. Bland for hver prøve en 550 µl alikvot af plasmaprøven NeuMoDx Lysis Buffer 1, og NeuMoDx System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyren. Klargør det isolerede DNA til realtids-PCR-amplifikation, og amplificer og påvis amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede (sektioner af CMV-genommålet i højt bevarede regioner). NeuMoDx CMV Quant Assay indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielle inhibitoriske stoffer såvel som NeuMoDx System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocesser.

CMV er en almindelig dobbeltstrengt DNA-virus af den humane herpesvirusgruppe, som inficerer personer af alle aldre. Det anslås, at over halvdelen af befolkningen er blevet smittet med CMV, når de fylder 40.¹ CMV spredes gennem kropsvæsker såsom spyt, urin, blod, tårer, sæd og brystmælk. Raske og ikke-immunsupprimerede personer, der smittes med CMV, har typisk ingen symptomer, men infektion med virusset kan være alvorlig for spædbørn og personer med nedsat immunforsvar. Gravide kan overføre CMV til deres ufødte børn og forårsage kongenit CMV, som blandt andet kan medføre høretab og øvrige forsinkelser i den motoriske og mentale udvikling. CMV er et stort patogen for immunkompromitterede patienter, herunder patienter, der har fået transplanteret solide organer eller hæmatopoietiske celler, HIV-inficerede patienter og patienter behandlet med immunmodulerende lægemidler.² Overvågning af CMV-virusmængde anvendes primært i disse immunkompromitterede populationer, hvor det forårsager mange sygdomme, herunder lungebetændelse, sygdom i mave-tarm-kanalen, hepatitis og encefalitis samt øget risiko for organafstødning og andre opportunistiske infektioner.

Diagnosen af CMV-infektion er ikke baseret alene på nukleinsyre-testning (nucleic acid testing, NAT); NAT-test anvendes i tillæg til antigenestning, som omfatter farvning af polymorfonukleære leukocytter (PMN'er) til tidligt strukturelt nedre matrix-protein af CMV, såvel som andre symptomer, patienten kan opleve. Testning af CMV-virusmængde anvendes rutinemæssigt til at bestemme, hvornår antiviral behandling er nødvendig, og at overvåge effektiviteten af sådanne behandlinger.³ Selvom de nuværende retningslinjer for kontrol og behandling af CMV-infektioner hos immunkompromitterede individer er tvetydige med hensyn til, *hvornår* man skal iværksætte antiviral terapi, kræver de alle konstant overvågning af virusmængde, så snart en antiviral terapi er iværksat, for at hjælpe med at mildne de alvorlige bivirkninger af lægemidlerne i sådanne populationer.

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx CMV Quant Assay i NeuMoDx System anvender NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx-universalreagenser til analysen. NeuMoDx CMV Quant Assay kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, -amplifikation og -påvisning med realtids-PCR. Prøver af fuldblod opsamles i EDTA- eller ACD-rør til klargøring af plasma. Plasmaprøven i et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, anbringes i en prøverørsholder, som derefter isættes i NeuMoDx System til behandling. Der kræves ingen yderligere indblanding fra operatøren.

NeuMoDx Systems anvender en kombination af varme, lytiske enzymer og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre cellelysis, DNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigivne nukleinsyrer fanges af paramagnetiske partikler. Partiklerne sammen med de bundne nukleinsyrer isættes i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne/ikke-DNA-komponenter vaskes yderligere væk med NeuMoDx Wash Reagent, og det bundne DNA elueres med NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx Systems anvender derefter det eluerede DNA til at rehydrere egne NeuDry™-analyse reagenser med alle de elementer, der er nødvendige for PCR-amplifikation af de CMV-specifikke mål og SPC1-målene. Efter rekonstitution af NeuDry PCR-reagenserne dispenserer NeuMoDx System den forberedte PCR-klare blanding ind i en NeuMoDx Cartridge. Amplifikation og påvisning af kontrollen og målsekvenserne for DNA (hvis disse findes) sker i PCR-kammeret i NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge er også designet til at indeholde ampikonet efter realtids-PCR og i bund og grund eliminere risikoen for kontamination efter amplifikation.

De amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseprobekemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidprobemolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål.

TaqMan-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket resulterer i, at quenchemolekylet quencher den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

TaqMan-prober er designet således, at de afhælder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhædet til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og bryder den tætte nærhed til quencheren, hvorved quenchingeffekten, der skyldes FRET, ophæves og tillader påvisning af fluorescens fra fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres i den kvantitative PCR-termocycler i NeuMoDx System, er direkte proportionel med den frigivne fluorofor og kan korreleres til mængden af mål-DNA, der er til stede.

En TaqMan-probe mærket med en fluorofor (Excitation: 490 nm og emission: 521 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden anvendes til at påvise CMV DNA. Til påvisning af SPC1 mærkes TaqMan-proben med en anden fluorescerende farve (Excitation: 535 nm og emission: 556 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden. NeuMoDx System-software monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx System-softwaren dataene og rapporterer et endeligt resultat (POSITIVE / NEGATIVE / INDETERMINATE / UNRESOLVED) (positivt / negativt / ubestemt / uafklaret). Hvis resultatet er POSITIVE (positivt), leverer NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven eller rapporterne, hvis den beregnede koncentration er inden for grænserne for kvantiteringen.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip Tørrede PCR-reagenser, der indeholder CMV-specifikke TaqMan-prober og primere, og SPC1-specifik TaqMan-probe og primere.	16	96

Nødvendige reagenser og forbrugsvarer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller
800400	NeuMoDx CMV Calibrators CMV High- og Low Calibrator-sæt til engangsbrug til at fastlægge standardkurvens gyldighed
900401	NeuMoDx CMV External Controls CMV Positive Control- og Negative Control-sæt til engangsbrug til at fastlægge den daglige gyldighed af NeuMoDx CMV Quant Assay
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip er kun til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx Systems.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.
- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.
- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- En gyldig testkalibrering (genereret ved at behandle høje og lave kalibratorer fra NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.

- NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Mindste prøverørsvolumen er 1 ml EDTA/ACD-plasma eller serum ved brug af prøverørsholderen til 32 rør. Volumen under 1 ml kan resultere i en fejl i NeuMoDx System.
- Udførelse af en CMV-analyse på prøver, der har været opbevaret ved ukorrekte temperaturer eller længere end de angivne opbevaringstider, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater, når NeuMoDx CMV Quant Test Strip anvendes.
- Undgå altid mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Brugen af sterile DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug anbefales. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx CMV Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekittler og NeuMoDx System ikke er kontaminerede.
- Der skal bruges rene, pulverfri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste flade i NeuMoDx Cartridge, den folieforseglede flade i NeuMoDx CMV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx Lysis Buffer 1 ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) kan fås på anmodning.
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ og i CLSI-dokument M29-A4.⁵
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser.

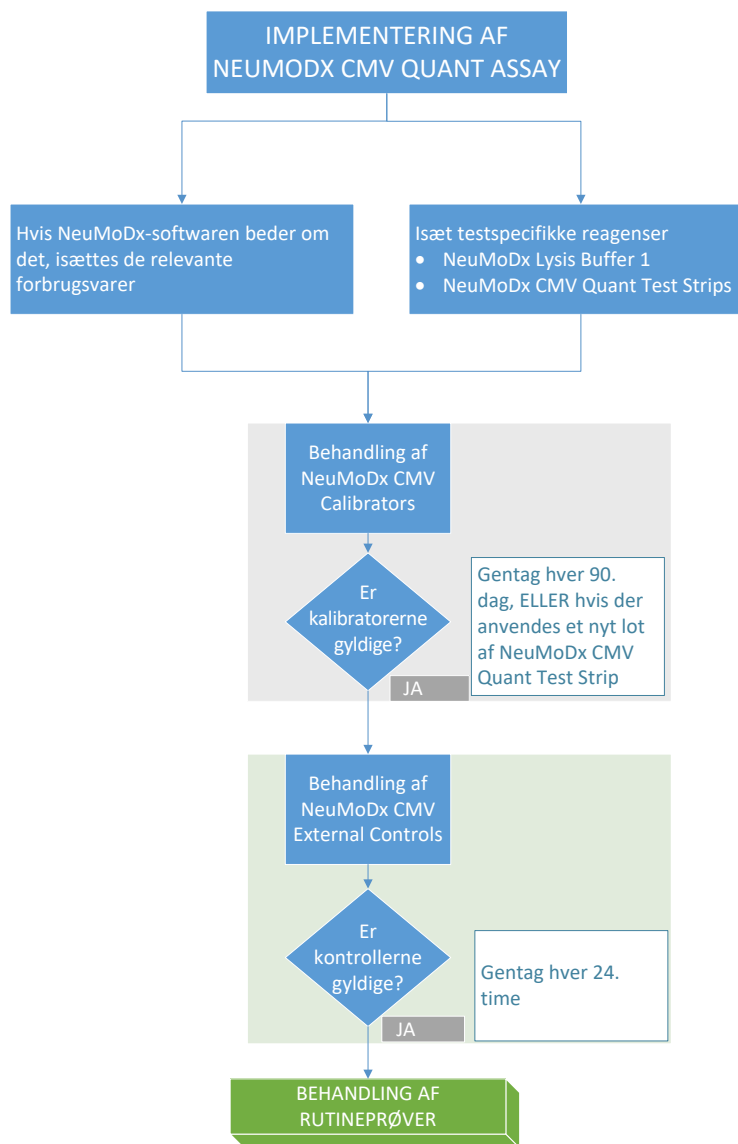
PRODUKTOPBEVARING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

- Alle NeuMoDx-reagenser og forbrugsvarer (med undtagelse af eksterne kontroller og kalibratorer) er stabile i den primære emballage ved 18 til 23°C og indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket.
- Når en NeuMoDx CMV Quant Test Strip er sat i NeuMoDx System, er den stabil i 14 dage. NeuMoDx System-softwaren vil bede om at få fjernet teststrimler, der har været i brug i NeuMoDx System i mere end 14 dage, og der skal åbnes og isættes nye NeuMoDx CMV Quant Test Strips i NeuMoDx System.
- NeuMoDx-Calibrators og -Controls er ikke-infektøse, men skal bortskaffes som biologisk farligt laboratorieaffald efter brug, da de indeholder målmateriale efter behandling på systemet, hvilket kan medføre kontaminering, hvis det ikke håndteres korrekt.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

1. Håndter alle prøver, som om de kan overføre smitstoffer.
2. Fuldblod eller prøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
3. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA eller ACD til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrørene.
4. Fuldblod, der er opsamlet i de enheder, der er anført på listen ovenfor, skal opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2 °C til 25 °C inden klargøring af plasma. Klargøring af plasma skal foretages i henhold til fabrikantens instruktioner.
5. Klargjorte plasmaprøver kan opbevares i NeuMoDx System i op til 8 timer inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses.
6. Klargjort plasma skal opbevares mellem 2 til 8 °C i maksimalt 7 dage før testning og i maksimalt 8 timer ved stuetemperatur.
7. Klargjorte prøver kan opbevares ved ≤ -20 °C i op til 26 uger for plasma inden behandling. Plasmaprøver må ikke udsættes for mere end 2 cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes.
 - a. Hvis prøverne fryses, skal de tøj helt op ved stuetemperatur (15-30 °C). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - b. Når de frosne prøvet er tøet, skal testen udføres inden for 8 timer.
8. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.
9. Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at prøverne er til CMV-testning.
10. Fortsæt med afsnittet *Testklargøring*.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx CMV Quant Assay opsummeres nedenfor i figur 1.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx CMV Quant Assay

BRUGSANVISNING

Testklargøring

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Overfør med en overførselspipette ≥ 1 ml plasma til prøverøret med stregkode (sekundær), hvis der bruges en prøverørsholder til 32 rør, eller > 2 ml, hvis der bruges en prøverørsholder til 24 rør. Der skal udvises forsigtighed, så eventuelle koaguler fra plasmaprøven ikke overføres til prøverøret. Anvend en ny overførselspipette for hver prøve.
3. Det sekundære rør skal opfylde de følgende rørspecifikationer, der er kompatible med NeuMoDx System baseret på den prøverørsholder, der anvendes til behandling.
 - Prøverørsholder til 32 rør: mellem 11 og 14 mm i diameter og mellem 60 og 120 mm i højden
 - Prøverørsholder til 24 rør: mellem 14,5 og 18 mm i diameter og mellem 60 og 120 mm i højden

Betjening af NeuMoDx™ System

Der står flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx 288 og 96 Molecular System (p/n 40600108 og 40600317)

1. Sæt NeuMoDx CMV Quant Test Strip(s) i NeuMoDx System Test Strip Carrier(s), og brug berøringsskærmen til at sætte Test Strip Carrier(s) i NeuMoDx System.
2. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, tilsættes de nødvendige påkrævede forbrugsvarer til NeuMoDx Systems holdere til forbrugsvarer, og berøringsskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, udskiftes NeuMoDx Wash Reagent og NeuMoDx Release Reagent. Primingaffaldet eller beholderen med biologisk farligt affald tømmes efter behov.
4. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal kalibratorer [REF 800400] og/eller eksterne kontroller [REF 900401] behandles som påkrævet. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
5. Sæt prøverør/prøverørene ind i en standardudgave af prøverørsholderen til 32 rør, og sørg for, at hæfterne er taget af alle prøverør.
6. Anbring prøverørsholderen på en ledig plads på hylden til automatisk isætning, og brug berøringsskærmen til at isætte holderen i NeuMoDx System. Dette vil indlede behandlingen af prøverne til den eller de identificerede test(s).

BEGRÆNSNINGER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip kan kun anvendes i NeuMoDx Systems.
- Ydeevnen for NeuMoDx CMV Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort fra fuldblod, der var opsamlet med EDTA/ACD som antikoagulerende middel, og anvendelsen af NeuMoDx CMV Quant Test Strip sammen med andre kliniske prøvetyper er ikke vurderet, og ydelseskaraktistika for testen kendes ikke for andre prøvetyper.
- Da påvisningen af CMV afhænger af antallet af organismer, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
- Kalibratorer og eksterne kontroller skal behandles i henhold til anbefalingen i indlægssedlerne, og som NeuMoDx System-softwaren angiver, inden behandling af rutinemæssige kliniske prøver.
- Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx System, må betjene NeuMoDx System.
- Hvis både CMV-målet og SPC1-målet ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
- Hvis resultatet fra NeuMoDx CMV Quant Assay er Positive (positiv), men kvantiteringsværdien er under grænserne for kvantitering, vil NeuMoDx System rapportere, om det påviste CMV var *under Lower Limit of Quantitation (LLOQ, nederste grænse for kvantitering)* eller *over Upper Limit of Quantitation (ULOQ, øverste grænse for kvantitering)*.
- Hvis det påviste CMV var under LLOQ, kan NeuMoDx CMV Quant Assay om ønsket gentages med en anden alikvot af prøven.
- Hvis det påviste CMV var over ULOQ, kan NeuMoDx CMV Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:100 eller 1:1000 i CMV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen af den oprindelige prøve kan beregnes som følger:

$$\text{Koncentration af oprindelig prøve} = \log_{10}(\text{fortyndingsfaktor}) + \text{rapporteret koncentration af den fortyndede prøve.}$$

- Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma, som kan føre til en Quantitation Error (kvantificeringsfejl) i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af levedygtige organismer. Men et positivt resultat angiver, at det er sandsynligt, at der er cytomegalovirus-DNA.
- Deletion eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx CMV Quant Assay er målrettet mod, kan få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Resultater fra NeuMoDx CMV Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
- God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen 'Results' (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx Systems berøringskærm.

NeuMoDx CMV Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx CMV Assay Definition File (CMV-ADF). Et NeuMoDx CMV Quant Assay-resultat kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret CMV-koncentration, Positive above ULoQ (Positivt over ULoQ), Positive below LLoQ (Positivt under LLoQ), Indeterminate (ubestemmeligt) eller Unresolved (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra beslutningsalgoritmen i *tabel 1*.

Tabel 1: Beslutningsalgoritme for NeuMoDx CMV Quant Assay

Resultat	CMV	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (OG) } EPR > 2 \text{ AND (OG) } EP \geq 1500]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (OG) } EP \geq 1500]$	ikke relevant
Positive (Positivt), over øverste grænse for kvantificering [ULoQ] (\log_{10} IE/ml)	$[KONC] > 8,0 \log_{10}$ IE/ml, NO QUANT (UDEN KVANT)	ikke relevant
Positive (Positivt) under nederste grænse for kvantificering [LLoQ] (\log_{10} IE/ml)	$[KONC] < 1,3 \log_{10}$ IE/ml, NO QUANT (UDEN KVANT)	ikke relevant
Negative (Negativt)	N/A OR (ELLER) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (OG) } EPR \leq 2]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (OG) } EP < 1500]$ OR (ELLER) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLIFICERET) ($28 \leq Ct \leq 34$) and (og) $EP \geq 2000$
Indeterminate (Ubestemmeligt)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted (Ikke amplificeret/systemfejl registreret)	
Unresolved (uafklaret)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (ikke amplificeret/ingen systemfejl registreret)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens) (efter baselinekorrektion); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensratio); C_t = Cycling Threshold (cyklusgrænse);
Quant = beregnet kvantitet af CMV udtrykt i \log_{10} IE/ml. Se nedenfor under Testberegning.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantiteringsområdet for NeuMoDx CMV Quant Assay, beregnes koncentrationen af CMV-DNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten.
 - Der beregnes en "kalibreringskoefficient" ud fra resultaterne fra de behandlede NeuMoDx CMV Calibrators for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for et bestemt lot af NeuMoDx CMV Quant Test Strip på et bestemt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficient indgår i den endelige bestemmelse af koncentrationen af CMV-DNA.
- NeuMoDx CMV Quant Assay-resultaterne rapporteres i \log_{10} IE/ml.
- Den deraf følgende kvantitering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til WHO 1st CMV International Standard.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering baseret på standardkurven er nødvendig for at kvantitere CMV-DNA i prøverne. For at generere gyldige resultater skal der gennemføres en testkalibrering med de kalibratorer, der er leveret af NeuMoDx Molecular, Inc.

Eksterne kalibratorer

- NeuMoDx CMV Calibrators leveret i et kit [REF 800400] og indeholder ikke-infektøst indkapslet CMV-mål klargjort i Basematrix.
- Der skal behandles et sæt CMV-kalibratorer med hvert nyt lot af NeuMoDx CMV Quant Test Strip, hvis en ny CMV Assay-definitionsfil uploades i NeuMoDx System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (i øjeblikket indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx System-softwaren ændres.
- NeuMoDx System-softwaren vil informere brugeren om, hvornår kalibratorerne skal behandles. Et nyt lot af teststimler kan ikke bruges, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.
- Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - Et sæt med to kalibratorer – høj og lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.
 - For at generere gyldige resultater skal mindst 2 ud af 3 replikater give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er $3 \log_{10}$ IE/ml, og det nominelle mål for den høje kalibrator er $5 \log_{10}$ IE/ml.

- c) Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation i test strip lots; denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige CMV-koncentration.
5. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratorer, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratorer igen.
6. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for kalibratoren/kalibratorerne for anden gang i træk, skal du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. Der medfølger materialer til ekstern kontrol fra NeuMoDx Molecular, Inc. i et kit, der indeholder NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401]. Disse materialer indeholder ikke-infektiøst indkapslet CMV-mål i Basematrix for positive kontroller.
2. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller hver 24. time. Hvis et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx System-softwaren bede brugeren om, at behandle disse kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
3. Hvis eksterne kontroller er påkrævet, skal det eksterne kontrolsæt hentes fra fryseren, og rørene skal stå i stuetemperatur (15-30 °C), indtil de er tøet helt. Bland indholdet forsigtigt i en vortexer, så det er homogent.
4. Ved hjælp af berøringsskærmen og en prøverørsholder, der er anbragt på hylden til automatisk isætning, isættes hætteglassene med positiv og negativ kontrol i NeuMoDx System. NeuMoDx System vil genkende strekkoden og starte behandling af prøverørene, medmindre der ikke er reagenser eller forbrugsvarer til rådighed til testen.
5. Gyldigheden af eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et CMV-positivt resultat, og den negative kontrol bør give et CMV-negativt resultat.
6. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a) Et Positive (positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, angiver et problem med kontamination af en prøve.
 - b) Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c) I hvert af ovenstående tilfælde skal NeuMoDx CMV eksterne kontrol(ler) gentages med frisk optøet hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d) Hvis der fortsat rapporteres et negativt resultat for en positiv NeuMoDx CMV External Control, skal du kontakte kundeservice hos NeuMoDx.
 - e) Hvis der fortsat rapporteres et positivt resultat for en negativ NeuMoDx CMV external control, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte ALLE reagenser, inden du kontakter kundeservice hos NeuMoDx.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) i NeuMoDx Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyreekstraktion og realtids-PCR-amplifikation sammen med hver prøve. Desuden indeholder hver NeuMoDx CMV Quant Test Strip primere og probe, der er specifikke for SPC1, så SPC1 kan påvises sammen med mål-CMV-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex-realtids-PCR. Påvisning af SPC1-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx System-softwaren at monitorere effekten af DNA-ekstraktions- og PCR-amplifikationsprocesserne.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx CMV Quant Assay, der er udført i NeuMoDx System, ikke leverer et gyldigt resultat, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmelig) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted.

IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

UNR (uafklaret) vil blive rapporteret som resultat, hvis der ikke påvises en gyldig amplifikation af CMV-DNA eller SPC1, hvilket angiver en mulig reagensfejll eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, kan der køres en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhibering.

YDELSESKARAKTERISTIKA

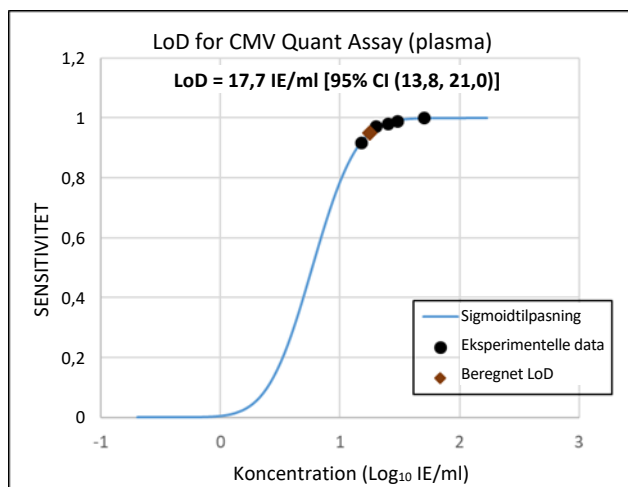
Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse i henhold til standarden fra WHO

Den analytiske sensitivitet i NeuMoDx CMV Quant Assay blev beskrevet gennem test af negative prøver og en fortyndingsserie af WHO 1st International Standard i screenet negativt humant plasma for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) i NeuMoDx Systems. LoD blev defineret som det laveste målniveau, der blev påvist ved 95 % som bestemt ved probitanalyse. Studiet blev foretaget i løbet af 3 dage i flere systemer med flere lot af NeuMoDx-reagenser. Hvert system behandlede 18 replikater på hvert fortyndingsniveau pr. dag. Påvisningsrater er afbildet i *tabel 2*.

Tabel 2: Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx CMV Quant Assay

Målkonzentration [IE/ml]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/ml]	PLASMA		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
50	1,70	108	108	100,0 %
30	1,48	108	107	99,1 %
25	1,40	108	106	98,1 %
20	1,30	108	105	97,2 %
15	1,18	108	99	91,7 %
NEG	---	108	0	0,0 %

LoD for NeuMoDx CMV Quant Assay i plasma for varianten gB1 blev bestemt til at være 17,7 IE/ml (1,25 log₁₀ IE/ml) med 95 % konfidensinterval (Confidence Interval, CI) på 13,8-21,0 IE/ml, (1,14-1,32 log₁₀ IE/ml) [figur 2]. LoD på tværs af genotyper er 20,0 IE/ml (1,30 log₁₀ IE/ml) som fastlagt ved træfprocentanalyse.



Figur 2: Probitanalyse anvendt til bestemmelse af LoD for NeuMoDx CMV Quant Assay i plasmaprøver

Analytisk sensitivitet – kvantiteringsgrænse – nederste grænse for kvantitering (LLOQ)

Den nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) defineres som det laveste målniveau, hvor >95 % påvisning opnås OG TAE ≤ 1,0. For at bestemme LLOQ blev analytiske fejl i alt (total analytical error, TAE) beregnet for hver af de CMV-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning som en del af LoD-beregningen. TAE defineres som følger:

$$TAE = \text{bias} + 2 \cdot SD \text{ (Westgard-regler)}$$

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantificerede værdi af prøven.

En samlet præsentation af resultaterne for de 5 niveauer af CMV-plasmaprøver (variant gB1), som blev brugt i LLOQ-studiet, er vist i *tabel 3*. Baseret på dette datasæt og tidligere fastlagt LoD blev LLOQ fastlagt til 20,0 IE/ml (1,30 log₁₀ IE/ml) og bekræftet på tværs af genotyper.

Tabel 3: NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ med bias og TAE

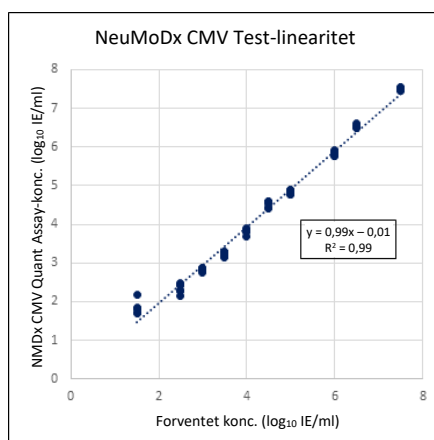
Målkonc. [IE/ml]	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma				
		Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Baseret på resultatet af disse studier blev LoD og LLoQ for NeuMoDx CMV Quant Assay begge fastlagt til at være 20,0 IE/ml [1,30 log₁₀ IE/ml].

Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (ULOQ)

Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) for NeuMoDx CMV Quant Assay blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie

med NeuMoDx-indkapslet CMV-mål og Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med fastlagt sporbarhed til 1st WHO International Standard. Et panel med 9 elementer blev klargjort i poollet CMV-negativ plasma for at oprette et panel, der ville dække et koncentrationsområde på 8–1,7 log₁₀ IE/ml. ULOQ for NeuMoDx CMV Quant Assay blev bestemt til at være 8,0 log₁₀ IE/ml. De CMV-analysekoncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx System, sammenlignet med de forventede værdier, er vist i figur 3.



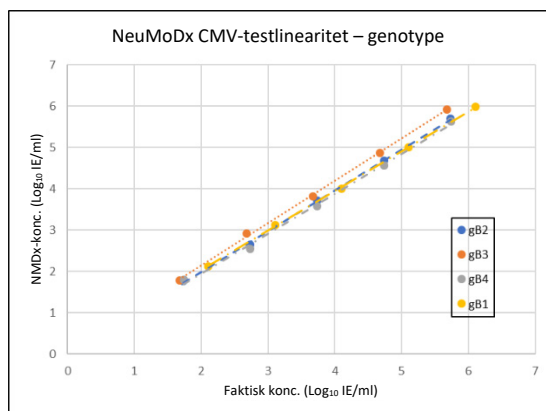
Figur 3: Linearitet for NeuMoDx CMV Quant Assay

Linearitet for alle genotyper

Lineariteten for NeuMoDx CMV Quant Assay for alle fire CMV-genotyper (gB1, gB2, gB3 og gB4) blev karakteriseret ved at teste fem forskellige koncentrationer af hver CMV-genotype klargjort i poollet CMV-negativt plasma. De testede niveauer af CMV-målene, der blev testet i dette studie, afhang af koncentrationen af kildeprøven og varierede derfor for de forskellige genotyper. Studiet blev foretaget ved at teste 6 replikater af 4 genotyper i 5 forskellige koncentrationer. Lineariteten over fire CMV-genotyper er vist i tabel 4 og figur 4.

Tabel 4: Linearitet for NeuMoDx CMV Quant Assay for alle genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = kvantitering i NeuMoDx CMV Assay x = forventet kvantitering	R ²
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



Figur 4: Linearitet for NeuMoDx CMV Quant Assay for alle genotyper

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 35 organismer, der er almindeligt forekommende i blod-/plasma prøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til CMV med hensyn til krydsreaktivitet. Organismerne blev klargjort i pools af 5-6 organismer hver og testet ved en høj koncentration. De testede organismer er vist i *tabel 5*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabel 5: Patogener, der blev anvendt til at påvise analytisk specificitet

Ikke-målorganismer					
BK-polyomavirus	Adenovirus type 5	Herpes Simplex Virus type 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein-Barr Virus	Hepatitis C-virus	Herpes Simplex Virus type 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humant Herpes Virus type 6	Parvovirus B19	Varicella-Zoster-virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humant Herpes Virus type 7	JC Virus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humant Herpes Virus type 8	Humant Papillomavirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B-virus	Humant Papillomavirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx CMV Quant Assay blev vurderet for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt, som dem der var klargjort til test for krydsreaktivitet i listen ovenfor i *tabel 5*. Negativt CMV-plasma fik tilsat de organismer, der var poollet i grupper på 4-7, samt et CMV-mål i en koncentration på 3 log₁₀ IE/ml. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse kommensale organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer.

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx CMV Quant Assay blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske CMV-plasma prøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale lægemidler, som blev klassificeret i *tabel 6*. Hvert stof blev tilføjet i screenet CMV-negativt humant plasma, der havde fået tilsat 3 log₁₀ IE/ml CMV, og prøverne blev analyseret for interferens. Desuden blev plasma i almindelige sygdomsstadier, der blev forbundet med CMV-infektion, også testet for mulig interferens. Den gennemsnitlige koncentration og bias for alle testede stoffer sammenlignet med kontrolprøverne, som har fået tilsat samme niveau af CMV, er rapporteret i *tabel 7*. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten i NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabel 6: Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation	Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation
Pool 1	Azathioprin	Immunsupprimerende lægemiddel	Pool 4	Trimethoprim	Antibiotika
	Ciclosporin	Immunsupprimerende lægemiddel		Vancomycin	Antibiotika
	Foscarnet	Antiviralt lægemiddel (herpesviridae)		Tacrolimus	Immunsupprimerende lægemiddel
	Ganciclovir	Antiviralt lægemiddel (CMV)		Everolimus	Immunsupprimerende lægemiddel
	Valganciclovirhydrochlorid	Antiviralt lægemiddel (CMV)		Potassium clavulanate	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Corticosteroid/immunsupprimerende lægemiddel	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviralt lægemiddel (CMV)		Sulfamethoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektret)		Valacyclovir	Antiviralt lægemiddel (herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektret)		Letermovir	Antiviralt lægemiddel (CMV)
	Fluconazol	Svampedræbende middel		Ticarcillin disodium	Antibiotika
Pool 3	Mycophenolatmofetil	Immunsupprimerende lægemiddel	Leflunomid	Immunsupprimerende lægemiddel	
	Mycophenolat sodium	Immunsupprimerende lægemiddel			
	Piperacillin	Antibiotika			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsupprimerende lægemiddel			
	Tazobactam	Modificeret antibiotika			

Tabel 7: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Hæmoglobin	2,97	0,07
Triglycerider	3,03	0,13
Bilirubin	3,01	0,11
Albumin	2,88	-0,02
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Azathioprin, Ciclosporin, Foscarnet, Ganciclovir, Valganciclovirhydrochlorid	2,88	-0,02
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Fluconazol	2,91	0,01
Pool 3: Mycophenolatmofetil, Mycophenolat sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	2,98	0,08
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Potassium clavulanate	3,05	0,15
Pool 5: Famotidin, Sulfamethoxazol, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomid	2,87	-0,03
Sygdomsstadie	Gennemsnitlig konc.	Bias
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Antinukleært antistof (ANA)	2,90	0,00
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,04	0,14
Rheumatoid arthritis	2,99	0,09

Præcision i laboratoriet

Præcisionen af NeuMoDx CMV Quant Assay blev bestemt ved at teste 3 replikater af et panel på 4 elementer af CMV-prøver klargjort med Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) to gange om dagen via to NeuMoDx 288 Systems og ét NeuMoDx 96 System i løbet af 12 dage. Præcisionen inden for samme analyse, inden for samme dag og med samme system blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,15 \log_{10}$ IE/ml. Eder blev konstateret fremragende præcision uanset valg af system, dage eller kørsler, som det er vist i *tabel 8*. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx System.

Tabel 8: Præcision af NeuMoDx CMV Quant Assay i NeuMoDx System på samme laboratorium

Mål-CMV-konc. [\log_{10} IE/ml]	Gennemsnitlig CMV-konc. [\log_{10} IE/ml]	SD inden for systemet	SD i løbet af en dag	SD inden for kørsel	Samlet SD (på laboratoriet)
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

Lot til lot-reproducerbarhed

Reproducerbarheden fra lot til lot for NeuMoDx CMV Quant Assay blev bestemt ved at anvende tre forskellige lot med vigtige reagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates og NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Et panel med 4 elementer med CMV klargjort med Exact CMV-kontrol blev anvendt til vurdering af ydeevnen. Der blev udført tests med tre reagenslot på tre systemer i løbet af 6 dage. Variationen inden for et lot og fra lot til lot blev analyseret, og resultaterne præsenteres i *tabel 9*. Maksimal samlet bias var $0,12 \log_{10}$ IE/ml, og maksimal samlet standardafvigelse var $0,39 \log_{10}$ IE/ml. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle lot, da kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen.

Tabel 9: Reproducerbarhed fra lot til lot – NeuMoDx CMV Quant Assay

Mål-CMV-konc. [\log_{10} IE/ml]	Gennemsnitlig CMV-konc. [\log_{10} IE/ml]	N (Gyldige resultater pr. lot)	Bias	Standardafvigelse fra lot til lot	Standardafvigelse inden for lot	Samlet SD
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

Effektivitet for kontrol

SPC1 indgår i NeuMoDx CMV Quant Assay for at rapportere fejl i processtrin eller hæmning, der påvirker analysens resultater. Virkningen blev testet under forhold, der er repræsentative for kritiske processtrinfejl, der muligvis kunne opstå under prøvebehandlingen, og som *måske ikke blev påvist* af de sensorer, der monitorerer NeuMoDx Systems ydeevne. Positive (på $3 \log_{10}$ IE/ml) og negative prøver blev udfordret med tilstedeværelse af en kontrol under følgende forhold: forekomst af hæmmer, ingen vasketilsætning og ingen vaskeudblæsning. Ineffektivitet i processen, der havde en negativ indvirkning på påvisningen/kvantiteringen af CMV, blev reflekteret i resultaterne for SPC1-målet som vist i *tabel 10*. I alle udgaver af testen blev det påvist, at enten monitorerede prøveproceskontrollen ikke ineffektivitet i processen og forekomsten af hæmmere tilstrækkeligt, eller den forventede ineffektivitet i processen havde hverken tilstrækkelig indvirkning på SPC1-påvisningen eller CMV-påvisningen og kvantiteringen. Derfor blev det fastslået, at SPC1 havde en tilfredsstillende effekt med hensyn til monitorering af analysens ydeevne i NeuMoDx System.

Tabel 10: Effekt af proceskontrol af prøve

Testet fejl i processtrin	Status for amplifikation af proceskontrol 1 af prøve	Status for amplifikation af CMV-mål	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (forekomst af hæmmer)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Delivered (ingen vasketilsætning)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Blowout (ingen vaskeudblæsning)	Amplified (amplificeret)	Amplified (amplificeret)	Positive (positivt) med kvantificering inden for $0,3 \log_{10}$ IE/ml af kontrol

Gyldige resultater i procent

En retrospektiv analyse af de data, der blev indhentet under vurderingen af ydeevnen af NeuMoDx CMV-analyse i NeuMoDx System blev brugt til at bestemme gyldige resultater i procent. Gyldige testresultater rapporteres som Positive (positive) eller Negative (negative). Ugyldige testresultater vil være rapporteret som enten Indeterminate (ubestemmelige) (IND) eller Unresolved (uafklarede) (UNR) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Et IND-kald forårsages typisk af en instrumentfejl og fører til en fejl i målet og/eller til amplifikation af en intern proceskontrol. Et UNR-kald tildeles prøverne, når amplifikation af både målet og den interne proceskontrol ikke lykkes, og der ikke er påvist et instrumentsvigt. Der indgik 1.100 individuelle NeuMoDx CMV Quant Assay-resultater i den retrospektive analyse, som omfattede data indhentet på både NeuMoDx 288 System og NeuMoDx 96 System. Forekomsten af UNR blev bestemt til 0,91 %, (10 ud af 1100), og forekomsten af IND blev bestemt til 0,36 % (4 ud af 1100), hvilket opfylder godkendelseskriteriet for analysen. Derfor blev det konkluderet, at gyldige resultater i procent for NeuMoDx CMV Assay i alle NeuMoDx Systems var 98,7 % med 95 % CI (97,9-99,2).

Krydskontaminering

Krydskontamineringen for NeuMoDx CMV Quant Assay blev bestemt ved at teste tre sæt CMV-prøver, der havde skiftevis høje positive og negative prøver. I alt involverede dette test af 108 replikater af CMV-negativ plasma og 108 replikater af en tilsat CMV-prøve på 6,0 log₁₀ IE/ml. Alle 108 replikater af den negative prøve blev rapporteret som negative, hvilket viser at der ikke var nogen krydskontaminering under behandlingen af prøverne i NeuMoDx System.

Ækvivalens af prøvematrix

Testningen blev udført for at påvise ækvivalensen mellem prøvematrix og fuldblod opsamlet i både opsamlingsrør med ethylendiaminetetraeddikesyre (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) og opsamlingsrør med acid-citrate-dextrose (ACD) til klargøring af plasma. Der blev udført yderligere test for at bestemme ækvivalensen mellem friske og frosne plasmaprøver (opsamlet i de to typer af rør). De friske prøver blev opbevaret ved 4 °C, indtil de fik tilsat tre niveauer af CMV og blev testet for ækvivalens. Derefter blev prøverne frosset ned i mindst 24 timer ved -20°C. Efter forløbet af denne tid med opbevaring i nedfrosset tilstand, blev prøverne tøet og omtestet. Resultaterne fra test med frisk vs. frosset plasma samt fra EDTA- vs. ACD-plasmaprøver blev sammenlignet for at fastslå ækvivalens via en regressionsanalyse. Dataene viste fremragende ækvivalens mellem EDTA- og ACD-plasmaprøver og friske og frosne plasmaprøver med hældninger inden for 0,02 af 1,0 og meget lille bias (intercept), som det er vist i *tabel 11* nedenfor.

Tabel 11: Ækvivalens af prøvematrix

Parameterkrav	ACD vs. K2EDTA		Frisk vs. frosset	
	Frisk	Frosset	ACD	EDTA
Hældning [0,9-1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Intercept [<0,5 log ₁₀ IE/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
p-værdi > 0,05	0,848	0,644	0,895	0,631

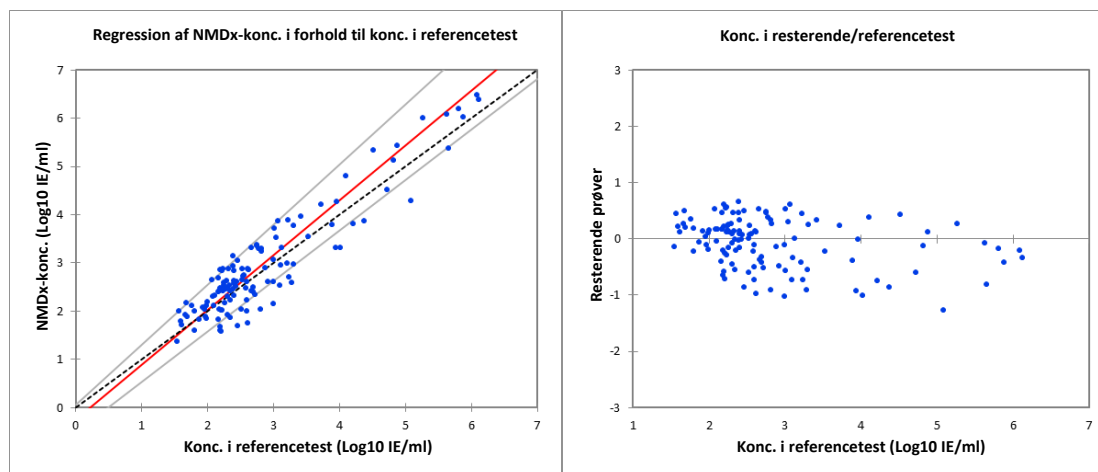
Sammenligning af kliniske metoder

Den kvantitative ydeevne for NeuMoDx CMV Quant Assay blev vurderet i forhold til komparatoranalyser, der er godkendt af FDA/CE, ved at teste uførtynede kliniske prøver fra CMV-inficerede patienter. Testningen blev udført internt i NeuMoDx i et enkeltblindet studie af afidentificerede, resterende kliniske prøver, der blev indhentet fra fire eksterne referencelaboratorier. I alt blev 284 plasmaprøver behandlet ved hjælp af NeuMoDx CMV Quant Assay i en (enkelt) blindet test på alle de forskellige NeuMoDx Molecular Systems.

De behandlings- og systemfejl, der opstod i de forskellige NeuMoDx Molecular Systems, var minimale og opfyldte kriterierne. Der blev opnået i alt 3 Indeterminate (IND) (ubestemmelig) resultater for prøverne, hvilket gav en samlet indledende IND-rate på 1 % med 95 % CI (0,27-3,32 %). Der var ikke tilstrækkeligt volumen til at behandle disse 3 prøver igen under den normale arbejdsproces. Der blev i første omgang opnået 10 Unresolved (UNR) (uafklarede) resultater, men efter udførelsen af den i CMV Quant Assay anbefalede procedure for en 1:10-fortynding i Basematrix for UNR-resultater blev der opnået gyldige resultater efter gentagen testning af alle de 10 UNR-prøver i passende fortyndning. Derfor var Total Processing Error Rate (den samlede behandlingsfejlrate) 1,06 % med 95 % CI (0,27-3,3 %) på grund af de ubestemmelige resultater, der ikke kunne testes igen på grund af utilstrækkeligt volumen.

Der var 4 prøver, der genererede en markering for Quantitation Error (kvantiteringsfejl), og 3 af disse 4 var mulige at teste igen ifølge den anbefalede procedure ved hjælp af en 1:10-fortynding af prøven i Basematrix for at opnå et gyldigt kvantitetsresultat. Af de 283 gyldige resultater, der blev opnået i studiet, blev 129 prøver rapporteret som positive med NeuMoDx CMV Assay med tilsvarende koncentrationer, som blev anvendt med referenceprøverne. For seks af disse prøver blev fem rapporteret under LLoQ, og én blev rapporteret over ULoQ af referencetesten, og derfor fik i alt 123 prøver tildelt tilsvarende koncentrationer af både NeuMoDx CMV Quant Assay og CE-IVD-referencetesten og blev anvendt til kvantitativ korrelationsanalyse. Deming-regressionsanalyse og Passing-Bablok-regressionsanalyse blev anvendt til at fastslå korrelationen mellem koncentrationerne fra NeuMoDx CMV-analysen og de værdier, der blev rapporteret fra referencetests.

Der blev genereret diagrammer over ækvivalensen for at vise korrelationen mellem NeuMoDx CMV Quant Assay-koncentrationer og referencetest-koncentrationer for alle prøver, der blev testet ved hjælp af Deming-regressionstilpasning og Passing-Bablok-tilpasning, er vist i *figur 5*.



Figur 5: Grafer for ækvivalens (*til venstre*) og rest (*til højre* – kumuleret analyse (for begge NeuMoDx Systems)) af resultater af NeuMoDx CMV Quant Assay sammenlignet med referencetestresultater for ALLE prøver, baseret på Passing Bablok-regressionsanalyse.

Kvaliteten af Deming-regressionstilpasningen illustreres med en hældningskoefficient på 1,1 med en 95 % CI (1,0, 1,2) og en intercept (bias) på -0,18 med en 95 % CI (-0,39, 0,03), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx CMV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias. Kvaliteten af den lineære tilpasning med Passing-Bablok illustreres med en hældningskoefficient på 1,1 med en 95 % CI (1,0, 1,2) og en intercept (bias) på -0,24 med en 95 % CI (-0,51, 0,06), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx CMV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias som vist i *tabel 12*.

Tabel 12: Oversigt over lineær regressionsanalyse med Deming og Passing-Bablok

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Intercept	Hældningskoefficient	Intercept	Hældningskoefficient
-0,18	1,1	-0,24	1,1
95 % CI (-0,39, 0,03)	95 % CI (1,0, 1,2)	95 % CI (-0,51, 0,06)	95 % CI (1,0, 1,2)

REFERENCER










- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
- A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

VAREMÆRKER

NeuMoDx™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavne, varemærker og registrerede varemærker, der eventuelt vises i dette dokument, tilhører deres respektive ejere.

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
R only	Receptpligtig
	Producent
IVD	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinsk udstyr
EC REP	Autoriseret repræsentant i EU
REF	Katalognummer
LOT	Batchkode
	Anvendes inden
	Temperaturbegrænsning
	Fugtighedsbegrænsning
	Må ikke genbruges
	Indholdet er tilstrækkeligt til <n> tests
	Læs brugsanvisningen
	Forsigtig
	Biologiske risici
CE	CE-mærke

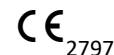


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

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



Teknisk support/indberetning af bivirkninger og uønskede hændelser: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents