

REF

**201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0**

R only

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

IVD

Til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular SystemsOppdateringer finnes på: [www.giaqen.com/neumodx-ifu](http://www.giaqen.com/neumodx-ifu)

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken NeuMoDx 288 Molecular System, art.nr. 40600108

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken NeuMoDx 96 Molecular System, art.nr. 40600317

**TILTENKT BRUK**

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er en automatisert *in vitro* nukleinsyre-amplifiseringstest for kvantifisering av humant Epstein-Barr-virus (EBV) DNA i EDTA plasma hos immunkompromitterte transplanterte pasienter.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, som utført på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System omfatter automatisert DNA-ekstraksjon for å isolere målnukleinsyrene fra prøven og sanntids-PCR rettet mot to sterkt konserverte regioner i EBV-genomet.

Analysen er beregnet på å bli brukt som et hjelpemiddel for overvåking av EBV-DNA-nivåer i perifert blod for å vurdere viral respons på behandling. Denne analysen er beregnet på å bli brukt sammen med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsutvikling for klinisk behandling og overvåking av EBV-infeksjon.

Analysen er ikke beregnet for bruk som en screeningstest for tilstedeværelse av EBV-DNA i blod eller blodprodukter. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 skal bare brukes av kvalifisert klinisk laboratoriepersonell som har fått spesifikk anvisning og opplæring i teknikkene for sanntids-PCR og *in vitro*-diagnostiske prosedyrer og/eller NeuMoDx Molecular Systems. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er ikke beregnet på selvtesting eller bruk i pasientnært miljø.

**SAMMENDRAG OG FORKLARING**

Humant fullblod samlet i sterile blodoppsamlingsrør som inneholder EDTA som et antikoagulasjonsmiddel, kan brukes til fremstilling av plasma. For å sette i gang testingen, blir plasma i et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System plassert i en prøverørtransportør og plassert på NeuMoDx Systems arbeidsbord. For hver prøve blir en 550 µL alikvot av plasmaprøven blandet med NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som er nødvendige for å ekstrahere målnukleinsyren, forberede det isolerte DNA-et for sanntids-PCR-amplifisering og, hvis tilstede, forsterke og oppdage forsterkningsproduktene (to høyt konserverte regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er en DNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1) som skal være med på å overvåke tilstedeværelse av potensielt hemmende stoffer, samt NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraherings- og amplifiseringsprosessen.

EBV er et vanlig dobbeltstrengt DNA-virus tilhørende den humane herpesvirusfamilien, som smitter mennesker i alle aldre. Det anslås at > 90 % av individer over hele verden er eller har blitt smittet med EBV.<sup>1</sup> EBV spres gjennom kroppsvæsker som spytt, blod, sæd og organtransplantasjon. Mange blir smittet med EBV i barndommen. Disse individene er typisk asymptomatiske mens de er smittet med EBV. Immunkompromitterte individer kan utvikle mer alvorlige symptomer og komplikasjoner fra EBV-infeksjonen. Latent EBV-infeksjon utgjør den største risikoen for pasienter etter en transplantasjon. Lymfoproliferative lidelser (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLDs) etter transplantasjon inkluderer EBV-drevet tumordannelse i B-celler på grunn av effekten av immunsuppressive midler på immunkontrollen av EBV, en av de viktigste årsakene til sykkelighet og dødelighet hos pasienter som gjennomgår noen form for organtransplantasjon.<sup>2</sup>

EBV-viral belastningsovervåking kan brukes som en hjelp til å diagnostisere og behandle EBV-assosiert PTLD. Diagnostisering må imidlertid utføres med biopsi. EBV-viral belastningsovervåking kan også brukes til å overvåke EBV-assosiert PTLD-behandling, vanligvis med Rituximab og en reduksjon i immundempende behandling.<sup>3</sup>

**PROSEDYREPRINSIPPER**

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på NeuMoDx System bruker NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx-reagenser til generell bruk for å utføre analysen. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kombinerer automatisert DNA-ekstraksjon, -amplifisering og -detektering ved sanntids-PCR. Prøver av fullblod blir tatt i EDTA-rør for fremstilling av plasma. Plasmaprøven, i et prøverør kompatibelt med NeuMoDx System, blir plassert i en prøverørtransportør og plassert på NeuMoDx System systemarbeidsbord for prosessering. Operatøren trenger ikke å gjøre noe mer.

NeuMoDx Systems bruker en kombinasjon av varme, lytisk enzym og ekstraksjonsreagenser for automatisk utføring av cellelysering, DNA-ekstraksjon og fjerning av hemmere. De frisatte nukleinsyrene innfanges av mikrosfærer med magnetisk affinitet. Mikrosfærene, med de bundne nukleinsyrene, blir lastet inn i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne, ikke-DNA-komponentene videre vaskes bort med NeuMoDx Wash Reagent, og det bundne DNA elueres ved å bruke NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx Systems bruker deretter det eluerte DNA-et for å rehydrere proprietære NeuDry™-forsterkningsreagenser som inneholder alle elementene som er nødvendige for PCR-amplifisering av EBV-spesifikke mål og SPC1. Etter rekonstituering av NeuDry PCR-reagenser, fordeler NeuMoDx System den forberedte PCR-klare blandingen i NeuMoDx Cartridge. Amplifisering og påvisning av DNA-sekvenser for kontroll og mål (hvis de er til stede) skjer i PCR-kammerområdet til NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge er også designet for å inneholde amplikonet etter sanntids-PCR, og i hovedsak eliminere kontaminasjonsrisikoen etter amplifisering.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 retter seg mot to høyt konserverte regioner i EBV-genomet, BALF5 og BXFL1. Det doble måldesignet reduserer risikoen for falske, negative resultater i tilfelle mutasjoner i én målregion, og øker dermed analysens robusthet. De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprotektjemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) ved bruk av fluorogene oligonukleotidprotektjemi som er spesifikke for amplikonene for deres respektive mål.

TaqMan-prober består av en fluorofor som er kovalent bundet til 5'-enden av oligonukleotidproben og en slukker i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluorofor og slukker i nærheten, noe som fører til at sluktermolekylet slukker fluorescensen sluppet ut av fluoroforen via Försters resonansenergioverføring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primeren og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'- til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til malen. Degradering av proben frigjør fluorofor og forårsaker tap av nærhet til slukker, og overvinner derved den slukkende effekten på grunn av FRET og tillater fluorescensdetektering av fluorofor. Det resulterende fluorescerende signalet som er påvist er direkte proporsjonalt med fluorofor som frigjøres og kan korreleres med mengden mål-DNA som er til stede.

En TaqMan-probe merket med en fluorofor (magnetisering: 490 nm og stråling: 521 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden brukes til å oppdage begge EBV-DNA-målene. For detektering av SPC1 er TaqMan-proben merket med et alternativt fluorescerende fargestoff (magnetisering: 535 nm og stråling: 556 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden. NeuMoDx System-programvaren overvåker det fluorescerende signalet fra TaqMan-probene i slutten av hver amplifikasjonssyklus. Når amplifikasjon er fullført, analyserer NeuMoDx System-programvaren dataene og rapporterer et resultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Ubestemt) / NO RESULT (Intet resultat) / UNRESOLVED (Uløst)). Hvis et resultat er POSITIVE (Positivt), gir NeuMoDx System-programvaren i tillegg en kvantitativ verdi knyttet til prøven, eller rapporterer om den beregnede konsentrasjonen er utenfor lineært område.



## REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

### Medfølgende materiale

REF	Innhold	Enheter per pakke	Tester per enhet	Tester per pakke
201501	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0</b> Tørkede RT-PCR-reagenser som inneholder EBV- og SPC1-spesifikke TaqMan-prober og -primere.	6	16	96

### Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med (fås separat fra QIAGEN)

REF	Innhold
800501	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> Engangssett med EBV høye og lave kalibratorer for å fastslå gyldigheten av standardkurven (1 hetteglass med hver kontroll = 1 sett)
900502	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> Engangssett med EBV lav positiv, høy positiv og negative kontroller for å fastslå daglig gyldighet av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (1 hetteglass med hver kontroll = 1 sett)
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
400500	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton® CO-RE- / CO-RE II-spisser (300 µl) med filtre</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE- / CO-RE II-spisser (1000 µl) med filtre</b>

### Nødvendige instrumenter

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

NeuMoDx System-programvareversjon 1.9.2.6 eller nyere



## ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er bare til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx Systems.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved behandling av høye og lave NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) må være tilgjengelig før testresultater kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx EBV External Controls (REF 900502) må behandles hver 24. time under testingen med NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Minste eksemplarvolum for sekundære alikvoter med EDTA-plasma, er beskrevet nedenfor i avsnittet Testklargjøring. Volum under spesifisert minimum kan føre til feilen «Quantity Not Sufficient» (Mengde ikke tilstrekkelig).
- Bruk av prøver som er oppbevart ved feil temperatur eller lenger enn de angitte lagringstidene, kan gi ugyldige eller feilaktige resultater.

- Unngå mikrobe- og ribonukleasekontaminering (DNase) av alle reagenser og forbruksartikler. Bruk av sterile, DNase-frie engangsverføringsspipetter anbefales når det brukes sekundære rør. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifisering. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- Hvis PCR-tester med åpne rør også blir utført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, samt ytterligere forbruksartikler og reagenser som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker, og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Sørg for ikke å berøre den øvre overflaten av NeuMoDx Cartridge, folieførseglingsoverflaten av NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 og NeuMoDx Extraction Plate eller den øvre overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer-beholderen. Forbruksartiklene og reagensene må håndteres kun ved å berøre sideoverflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) finnes for hvert reagens (hvis det er relevant) på [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Behandle alltid prøver som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer som de som er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> og i CLSI-dokument M29-A4.<sup>5</sup>
- Når du arbeider med kjemikalier, må du alltid bruke en egnet laboratoriefakk, engangshansker og vernebriller. Du finner mer informasjon i de aktuelle sikkerhetsdatabladene (Safety Data Sheets, SDS).
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser. Følg anbefalingene i sikkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS).

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Inneholder: borsyre. Fare! Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Kan skade forplantningsevnen eller gi fosterskader. Innhent særskilt instruks før bruk. Skal ikke håndteres før alle forholdsregler er lest og oppfattet. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp. Oppbevares innlåst. Innholdet/beholderen må leveres til et godkjent anlegg for avfallshåndtering.

### Informasjon til bruk ved nødstilfeller

CHEMTREC

Utenfor USA og Canada +1 703-527-3887



### PRODUKTLAGRING, -HÅNTERING OG -STABILITET

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 er stabile i primæremballasjen innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten når de lagres mellom 15 °C og 28 °C.
2. Når NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er lastet inn, kan den forbli på NeuMoDx System i 14 dager. Gjenværende holdbarhet for innlastede teststrimler spores av programvaren og rapporteres til brukeren i sanntid. Systemet varsler når en teststrimmel som har vært i bruk utover tillatt periode, må fjernes.
3. Selv om NeuMoDx EBV Calibrators og NeuMoDx EBV External Controls er ikke-infeksiøse må alt dette kasseres i beholderen for biologisk farlig avfall etter bruk for å redusere risikoen for kontaminering.

### INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

Håndter alle prøver som om de vil kunne overføre smittefarlige stoffer.

1. Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
2. Til klargjøring av plasmaprøver skal det tas fullblod i sterile rør, og EDTA skal brukes som antikoagulant. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret.
3. Fullblod samlet inn i enheter angitt ovenfor kan lagres og/eller transporteres i opptil 24 timer ved 2–25 °C før plasmaklargjøring. Plasmaklargjøring skal utføres ifølge produsentens anvisninger.
4. Klargjorte plasmaprøver kan bli værende på NeuMoDx System i opptil 8 timer før behandling. Hvis ytterligere lagringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses.
5. Klargjorte plasmaprøver skal lagres ved 2–8 °C i høyst 7 dager før testing og høyst 8 timer ved romtemperatur.
6. Klargjorte plasmaprøver kan oppbevares -20 °C i opptil 8 uker: Plasmaprøver bør ikke utsettes for mer enn 2 fryse-/tinesykluser før bruk.
  1. Hvis prøvene er frosne, la prøvene tine helt i romtemperatur (15 °C til 30 °C). Roter for å generere en jevnt fordelt prøve. Prøver bør være romtempererte før testing.
  2. Når fryste prøver tines, skal testing skje innen 8 timer.
7. Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.

## BRUKSANVISNING

### Testklargjøring

1. Fest prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System, som beskrevet nedenfor.
2. Overfør en alikvot av prøven til prøverøret med strekkoden som er kompatibel med NeuMoDx System i henhold til volumene angitt nedenfor:
3. *For plasmaprøver:*
  - Prøverørstransportør (32-rør): 11–14 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum  $\geq 750 \mu\text{l}$
  - Prøverørstransportør (24-rørs): 14,5–18 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum  $\geq 1100 \mu\text{l}$
  - Prøverørstransportør for lavt volum (32-rørs): 1,5 ml mikrosentrifugerør med konisk bunn; minste fyllevolum  $\geq 650 \mu\text{l}$

### Bruk av NeuMoDx System

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndbøkene *NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems* (art.nr. 40600108 og 40600317)

1. Fyll opp én eller flere NeuMoDx System-teststrimmeltransportører med NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) 2.0, og bruk trykkskjermen til å laste teststrimmeltransportøren(e) inn i NeuMoDx System.
2. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker berøringsskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, må du bytte NeuMoDx Wash Reagent og NeuMoDx Release Reagent og tømme primingavfallet, beholderen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen for spissavfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System), avhengig av hva som er relevant.
4. Hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren, behandler du Calibrators [REF 800501] og/eller External Controls [REF 900502] etter behov. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
5. Last prøverør(ene) inn i en prøverørstransportør, og kontroller at hetter og eventuelle pensler er fjernet fra alle rørene.
6. Plasser prøverørstransportøren(e) på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren(e) inn i NeuMoDx System. Dette starter behandlingen av de innsatte prøvene for de(n) identifiserte testen(e), forutsatt at en gyldig testordre finnes på systemet.

## BEGRENSNINGER

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kan bare brukes på NeuMoDx Systems.
2. Ytelsen til NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er etablert for plasmaprøver fremstilt av fullblod samlet med EDTA som en antikoagulant. Bruk av NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 med andre kilder har ikke vært vurdert, og ytelseegenskaper er ukjente for andre prøvetyper.
3. Ettersom detektering av EBV er generelt avhengig av antallet viruspartikler i prøven, er pålitelige resultater avhengig av korrekt innsamling, håndtering og oppbevaring av prøven.
4. Feilaktige resultater kan skyldes feil innsamling, håndtering og oppbevaring av prøven, teknisk feil eller prøverørsforveksling. I tillegg kan falske negative resultater forekomme fordi antallet viruspartikler i prøven er under grensen for deteksjon av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
6. Hvis både EBV-målene og SPC1-målet ikke amplifiseres, rapporteres et ugyldig resultat (Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst)), og testen må gjentas.
7. Hvis det forekommer en systemfeil før prøvebehandlingen er fullført, rapporteres resultatet «No Result» (Intet resultat), og testen må gjentas.
8. Hvis EBV-DNA detekteres over ULoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 gjentas med en fortynt alikvot av den originale prøven. Det anbefales en 1:100 eller 1:1000 fortytning i EBV-negativt plasma, eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Systemet vil automatisk beregne konsentrasjonen av den originale prøven som følger: Opprinnelig prøvekonsentrasjon =  $\text{Log}_{10}$  (fortynningsfaktor) + rapportert konsentrasjon av den fortyntede prøven, så lenge fortynningsfaktoren er valgt riktig i programvaren før den gjentas.
9. Tilstedeværelsen av PCR-hemmere i plasma kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette inntreffer, anbefales det å gjenta testen med samme prøve fortynt i Basematrix 1:10 eller 1:100.
10. Et positivt resultat indikerer forekomst av EBV-DNA.
11. Delesjoner eller mutasjoner i de konserverte regionene som NeuMoDx EBV Quant Assay har som mål, kan påvirke detektering og/eller kvantifisering og føre til et feilaktig resultat, selv om muligheten er lav.
12. Resultater fra NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger tilgjengelig for legen. Testen skal ikke brukes til å diagnostisere infeksjon.
13. God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

## RESULTATBEHANDLING

Tilgjengelige resultater kan vises eller skrives ut fra fanen «Results» (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på trykkskjermen i NeuMoDx System. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultater genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved å bruke beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametrene spesifisert i NeuMoDx EBV Quant Assay-definisjonsfilen (EBV Quant ADF-versjon 4.0.0 eller nyere). Et NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapportert EBV-DNA-konsentrasjon, Indeterminate (Ubestemt), No Result (Intet resultat) eller Unresolved (Uløst) basert på amplifiseringsstatus for målet og prøveprosesseringskontrollen. Resultater rapporteres basert på ADF-beslutningsalgoritmen for resultatbehandling, og er oppsummert nedenfor i tabell 1.

Tabell 1: Resultattolkning for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Resultat	EBV-mål	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
<b>Positive (Positiv)</b>	<b>AMPLIFIED (Amplifisert)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND (og) EPR > 1,3 (og) EP > 1200] OR (eller) [28 < Ct < 38 AND (og) EP > 1200]	N/A (I/R)
<b>Positive (Positiv), over øvre kvantifiseringsgrense [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log10 IE/ml)</b>	[CONC] (Kons) > 8,0 Log10 IE/ml, NO QUANT (Ingen kvant)	N/A (I/R)
<b>Positive (Positiv), under nedre kvantifiseringsgrense [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log10 IE/ml)</b>	[CONC] (Kons) < 1,48 Log10 IE/ml, NO QUANT (Ingen kvant)	N/A (I/R)
<b>Negative (Negativ)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (Ikke amplifisert)</b> N/A (I/R) OR (eller) [2 ≤ Ct < 28 AND (og) EPR ≤ 1,3 AND (og) EP > 1200] OR (eller) [28 ≤ Ct < 38 AND (og) EP > 1200] OR (eller) Ct > 38	<b>AMPLIFIED (Amplifisert)</b> [29 < Ct < 35 and (og) EP ≥ 2000]
<b>No Result* (Intet resultat)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling avbrutt)	
<b>Indeterminate* (Ubestemt)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling fullført)	
<b>Unresolved* (Uløst)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplifisert, ingen systemfeil detektert)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensforhold);

Ct = Cycling Threshold (Syklusterskel);

Quant (Kvant) = beregnet mengde EBV til stede uttrykt i Log<sub>10</sub> IE/ml. Se avsnittet Testberegning nedenfor.

\*Systemet har en valgfri funksjon for Rerun/Repeat (Ny kjøring/gjenta testing) for å sikre at en prøve med ugyldig resultat automatisk behandles på nytt for å minimere forsinkelser i resultatrapporteringen.

### Testberegning: Prøver

- For prøver innenfor det lineære området for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, blir konsentrasjonen av EBV-DNA i prøvene beregnet ved bruk av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten.
  - En «kalibreringskoeffisient» er beregnet basert på resultatene fra NeuMoDx EBV Calibrators behandlet for å fastslå gyldigheten av standardkurven hvert parti av NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 på et spesifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoeffisienten blir automatisk integrert av systemet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av EBV-DNA.
- Resultatene av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blir rapportert i IE/ml og Log<sub>10</sub> IE/ml.
- Den resulterende kvantifiseringen av de ukjente prøvene kan spores til den første internasjonale WHO-standard for Epstein-Barr-virus for nukleinsyre-amplifiseringsteknikker.

### Testberegning: Kalibratorer

For å kvantifisere EBV-DNA i prøvene er det nødvendig med en gyldig kalibrering basert på standardkurven. En testkalibrering må fullføres ved hjelp av kalibratorer levert av NeuMoDx Molecular, Inc., for å generere gyldige resultater.

- NeuMoDx EBV Calibrators leveres i et sett [REF 800501] og inneholder ikke-smittsomt innkapslet EBV-mål tilberedt i Basematrix.
- Et sett EBV Calibrators må behandles med hvert nye parti med NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, hvis en ny EBV-analysedefinisjonsfil blir lastet opp til NeuMoDx System, hvis det nåværende settet med kalibratorer har passert gyldighetsperioden (satt til 90 dager) eller hvis NeuMoDx System-programvaren er endret.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren når kalibratorene må behandles. Et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes til testing før kalibratorene er blitt behandlet.
- Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:

1. Et sett med to kalibratorer – høy og lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
2. For å generere gyldige resultater må minst 2 av de 3 replikatene gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er 3 Log<sub>10</sub> IE/ml, og det nominelle målet for høy kalibrator er 5 Log<sub>10</sub> IE/ml.
3. En kalibreringskoeffisient beregnes for å gjøre rede for forventet variasjon mellom teststrimmelpartier. Denne kalibreringskoeffisienten blir brukt til å bestemme den endelige EBV-DNA-konsentrasjonen.
5. Hvis en eller begge kalibratorer ikke klarer gyldighetskontrollen, gjentas behandlingen av de mislykkede kalibratorene ved å bruke et nytt hetteglass. I tilfelle en kalibrator mislykkes i gyldigheten, er det mulig å bare gjenta den mislykkede kalibratoren, da systemet ikke krever at brukeren kjører begge kalibratorene igjen.
6. Hvis kalibratoren(e) ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en andre etterfølgende gang, må du kontakte QIAGEN teknisk støtte.

### Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat, rapporteres det som enten Indeterminate (Ubestemt), No Result (Intet resultat) eller Unresolved (Uløst) basert på typen feil som har oppstått, og testen må gjentas for å oppnå et gyldig resultat.

Et resultat av typen Indeterminate (Ubestemt) vil bli rapportert hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil under prøvebehandling. Hvis det rapporteres et resultat av typen Indeterminate (Ubestemt), anbefales det å gjenta testen.

Et resultat av typen No Results (Ingen resultater) rapporteres hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil og prøvebehandling avbrytes. Hvis det rapporteres et resultat av typen No Results (Ingen resultater), anbefales det å gjenta testen.

Et resultat av typen Unresolved (Uløst) rapporteres hvis ingen mål detekteres og det er ingen amplifikasjon i prøveprosesskontrollen, noe som angir mulig reagenssvikt eller forekomst av hemmere. Hvis det rapporteres et resultat av typen Unresolved (Uløst), anbefales det å gjenta testen som et første trinn. Hvis den gjentatte testen underkjennes, kan en fortennet prøve brukes til å dempe effekten av mulig hemming (se avsnittet med begrensninger for ytterligere instruksjoner).

Se brukerhåndboken for NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) eller brukerhåndboken for NeuMoDx 96 Molecular System (art.nr.: 40600317) for en liste over feilkoder som kan være forbundet med ugyldige resultater.

### Kvalitetskontroll

Ifølge lokale bestemmelser er laboratoriet vanligvis ansvarlig for kontrollprosedyrer som overvåker nøyaktighet og presisjon for hele den analytiske prosessen, og det må fastsette antall, type og frekvens av testkontrollmaterialer ved hjelp av kontrollerte ytelsesspesifikasjoner for et uendret, godkjent testsystem.

### Eksterne kontroller

1. Eksterne kontroller som inneholder ikke-smittsomt innkapslet EBV-mål i Basematrix for positive kontroller, eller Basematrix for negative kontroller, er levert av QIAGEN i et sett som inneholder NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
2. Positive og negative eksterne kontroller må behandles én gang hver 24. time. Hvis det ikke finnes noe sett med gyldige eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at disse kontrollene må behandles før prøveresultater kan rapporteres:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Forventet konsentrasjon)	Etikettfargeskjema
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IE/ml (4,18 Log <sub>10</sub> IE/ml)	Rød
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IE/ml (2,18 Log <sub>10</sub> IE/ml)	Grå
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (I/R)	Svart

3. Når eksterne kontroller behandles, plasser kontrollene i en prøverørtransportør, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren inn i NeuMoDx System fra autoinnlasterhyllen. NeuMoDx System vil gjenkjenne strekkodene og starte behandlingskontroller med mindre reagenser eller forbruksartikler som kreves for testing, ikke er tilgjengelige.
4. Gyldigheten til disse eksterne kontrollene vil bli vurdert av NeuMoDx System basert på de forventede resultatene.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV kvantitativt resultat	SPC1-resultat
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV POSITIV) [Conc] (Kons) 3,68–4,68 Log <sub>10</sub> IE/ml	SPC1-positiv
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV POSITIV) [Conc] (Kons) 1,58–2,78 Log <sub>10</sub> IE/ml	SPC1-positiv
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV NEGATIV)	SPC1-positiv

5. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
  1. Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve, kan angi en kontaminasjon, og laboratoriets prosedyrer for kvalitetskontroll må undersøkes for å finne årsaken. Sørg for å bruke separate områder for prøveklargjøring, kontrollhåndtering og RT-PCR-oppsett. Se brukerhåndboken for *NeuMoDx 288* eller *96 Molecular System* for feilsøkingstips.
  2. Resultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve, kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
  3. I hvert av de ovenstående tilfellene, eller ved resultatet No Result (Intet resultat, NR), Unresolved (Uløst, UNR) eller Indeterminate (Ubestemt, IND), må du gjenta den ikke beståtte kontrollen med et nylig tint hetteglass med kontrollen som ikke besto gyldighetstesten.
  4. Hvis den positive eksterne kontrollen fortsetter å rapportere resultatet Negative (Negativt), må du kontakte QIAGEN teknisk støtte.
  5. Hvis den negative eksterne kontrollen fortsetter å rapportere resultatet Positive (Positivt), må du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, herunder bytte alle reagenser og gjenta kjøringen før du kontakter QIAGEN teknisk støtte.
6. Hvis de eksterne kontrollene ikke gir de forventede resultatene, må du gjenta et sett med positive og negative kontroller. Prøveresultater rapporteres ikke hvis kontrollene ikke gir forventede resultater.
7. NeuMoDx System er utstyrt med automatisk funksjon for Rerun/Repeat (Ny kjøring / gjentatt testing) som brukeren kan velge å bruke for å sikre at en prøve med et resultat av typen INVALID (Ugyldig) automatisk behandles på nytt for å minimere forsinkelser i resultatrapporteringen.



## (Interne) kontroller for prøvebehandling

En eksogen prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1) er integrert i NeuMoDx Extraction Plate og gjennomgår hele prosessen av nukleinsyreekstraksjon og sanntids-RT-PCR-amplifikasjon med hver prøve/kontroll/kalibrator. Spesifikke primere og prober for SPC1 er inkludert i hver NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. SPC1 gjør det mulig for NeuMoDx System å overvåke effekten av DNA-ekstraksjonen og RT-PCR-amplifikasjonsprosessene.

## YTELSESEGNSKAPER

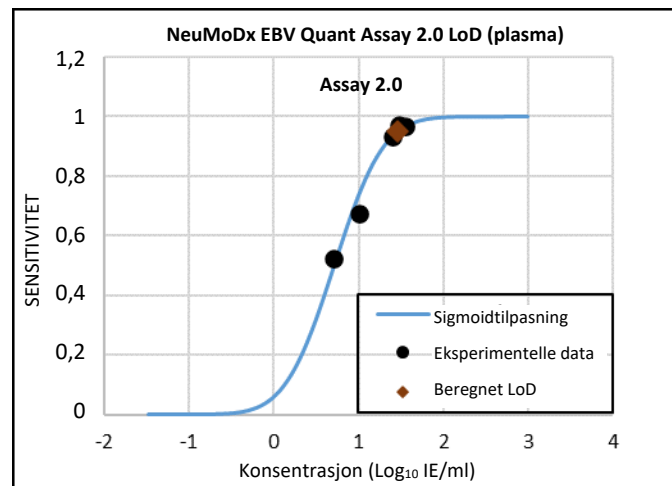
### ANALYTISK SENSITIVITET – detekteringsgrense

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble karakterisert i to sekvensielle stadier: 1. Vurdering av foreløpig detekteringsgrense (Preliminary Limit of Detection, LoD) (Probit-analyse) etterfulgt av 2. LoD-bekreftelse. I del 1 ble negative prøver og en fortyngningsserie av den første internasjonale WHO-standardene i screenet EBV-negativt humant plasma testet for å bestemme foreløpig LoD på NeuMoDx Systems. Foreløpig LoD ble definert som det laveste målnivået oppdaget ved en rate på 95 % som bestemt av Probit-analyse. I del 2 ble foreløpig LoD bekreftet ved å teste et konstruert panel på LoD-nivå. Begge stadiene av studien ble utført over 3 dager på flere systemer med flere partier av NeuMoDx-reagenser. I del 1 ble totalt 144 replikater ved hvert fortyngningsnivå behandlet. Deteksjonshastigheter er avbildet i *tabell 2*.

Tabell 2: Foreløpig LoD-bestemmelse av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [ $\log_{10}$ IE/ml]	PLASMA		
		Antall gyldige tester	Antall positive	Detekteringsrate
35	1,54	144	139	96,5%
30	1,48	144	140	97,2%
25	1,40	143	133	93,0%
10	1,00	144	97	67,4%
5	0,70	143	75	52,4%
NEG	---	144	0	0,0%

LoD-en i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i plasma ved bruk av de første internasjonale WHO-standardene for EBV bestemt til å være 29,3 IE/ml ( $1,47 \log_{10}$  IE/ml) med 95 % konfidensintervall (CI) på 24,4–37,1 IE/ml, ( $1,39$ – $1,57 \log_{10}$  IE/ml) [figur 1]. Denne LoD-en ble deretter bekreftet av treffrateanalyse som er avbildet i *tabell 3*.



Figur 1: Probit-stilanalyse brukt til å bestemme LoD-en av NeuMoDx EBV Quant 2.0 plasmaprøver

Tabell 3: LoD-bekreftelse for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

System	Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [ $\log_{10}$ IE/ml]	Antall gyldige tester	Antall positive	Detekteringsrate
N96	29,3	1,47	96	94	97,9%
N288			96	92	95,8%
Alle			192	186	96,9%

LoD-en for EBV-genotype 2 (GT2) ble bekreftet å være 29,3 IE/ml [ $1,47 \log_{10}$  IE/ml] som bestemt ved treffrateanalyse.

Basert på utfallet av begge studiene ble LoD-en for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bestemt til å være 29,3 IE/ml [ $1,47 \log_{10}$  IE/ml].

## ANALYTISK SENSITIVITET – Nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ er definert som det laveste målnivået der > 95 % deteksjon oppnås OG den totale analytiske feilen (Total Analytical Error, TAE) er  $\leq 1,0$ . For å bestemme LLoQ ble TAE beregnet for hvert av EBV-målnivåene som ble påvist å rapportere > 95 % detektering som del av LoD-beregningen. TAE er definert på følgende måte:

$$\text{TAE} = \text{skjevhet} + 2 \cdot \text{SD} \quad (\text{Westgard-statistikk})$$

Skjevheten er den absolutte verdien av forskjellen mellom gjennomsnittet for beregnet konsentrasjon og den forventede konsentrasjonen. SD henviser til standardavviket fra den kvantifiserte verdien av prøven.

Samlede resultater for de 5 nivåene av den første internasjonale WHO-standarden for EBV-plasmaprøver brukt i LLoQ-studien, vises i *tabell 4*. Basert på dette datasettet og den tidligere bestemte LoD-en, ble LLoQ-en bestemt til å være 30,0 IE/ml (1,48 Log<sub>10</sub> IE/ml) og ble deretter bekreftet for EBV-genotype 2 (GT2).

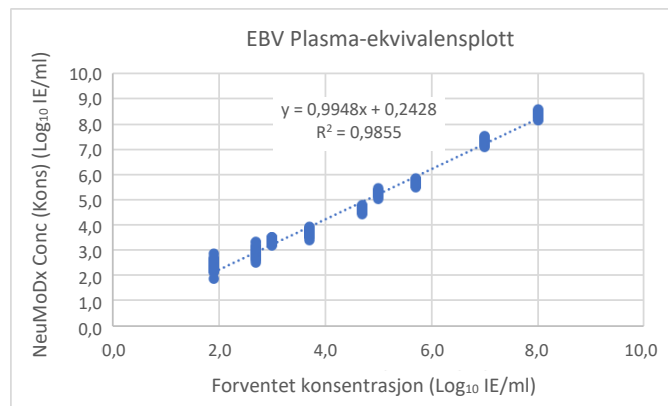
Tabell 4: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLoQ, med skjevhet og TAE

Målkons. [IE/ml]	Målkons. [log <sub>10</sub> IE/ml]	Plasma				
		Gjennomsnittlig kons. [log <sub>10</sub> IE/ml]	Detekteringsrate	SD	Skjevhet	TAE
35	1,54	2,05	96,5%	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	97,2%	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	93,0%	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	67,4%	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	52,4%	0,27	1,13	1,68

Basert på resultatet av disse studiene, ble LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bestemt til å være 29,3 IE/ml (1,47 log<sub>10</sub> IE/ml), og LLoQ ble bestemt til å være 30,0 IE/ml [1,48 log<sub>10</sub> IE/ml].

## Linearitet og bestemmelse av øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Linearitet og øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble etablert i plasma ved å fremstille en fortyningsserie ved bruk av NeuMoDx innkapslet EBV-mål og ATCC EBV-kultur (ATCC, Manassas, VA) med etablert sporbarhet til den første internasjonale WHO-standarden for EBV i tillegg til den første internasjonale WHO-standarden for EBV. Et panel med 10 medlemmer ble fremstilt i samlet EBV-negativt plasma for å lage et panel som ville spenne over et konsentrasjonsområde på 1,48–8,0 Log<sub>10</sub> IE/ml. ULoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble bestemt til å være 8,0 Log<sub>10</sub> IE/ml. Et bekreftelespanel for å vurdere lineariteten til standardkurven ble utarbeidet, og EBV-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System sammenlignet med de forventede verdiene er presentert i *figur 2*.



Figur 2: Lineariteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

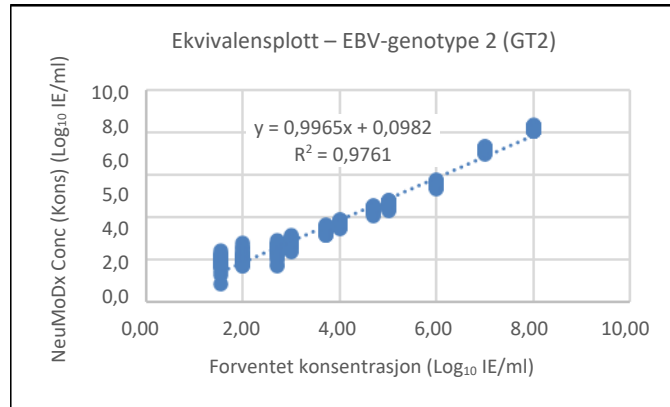
## Lineariteten til EBV-genotype 2 (GT2)

Lineariteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på tvers av EBV-genotype 2 (GT2) ble karakterisert ved å teste elleve forskjellige konsentrasjoner av EBV GT2, med etablert sporbarhet til den første internasjonale WHO-standarden for EBV, fremstilt i samlet EBV-negativt plasma. Studien ble utført ved å teste 36 replikater ved 11 konsentrasjoner på tvers av 2 NeuMoDx Systems og 3 partier EBV Quant Test Strips 2.0. Lineariteten til EBV-genotype 2 (GT2) er presentert i *tabell 5* og *figur 3*.

Tabell 5: Lineariteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for EBV-genotype 2

Genotype	Linearitetsligning y = NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantifisering x = Forventet kvantifisering	R <sup>2</sup>
GT2	y = 0,9965x - 0,0982	0,9761




**Figur 3:** Lineariteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for EBV-genotype 2

### Analytisk spesifisitet – Kryssreaktivitet

Analytisk spesifisitet ble vist ved screening av 36 organismer som kan forekomme i blod-/plasmaprøver samt arter fylogenetisk tilsvarende EBV for kryssreaktivitet. Organismer med høy konsentrasjon ble fremstilt i grupper med 5–6 organismer. Organismene som ble testet, vises i *tabell 6*. Ingen kryssreaktivitet ble observert med noen av organismene som ble testet, noe som bekreftet 100 % analytisk spesifisitet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabell 6:** Patogener brukt til å demonstrere analytisk spesifisitet

Ikke-målorganismer					
BK Polyomavirus	Adenovirus type 5	Herpes Simplex virus type-1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Cytomegalovirus	Hepatitt C-virus	Herpes Simplex virus type-2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humant herpesvirus type-6	Parvovirus B19	Varicella-Zoster-virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humant herpesvirus type-7	JC-virus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humant herpesvirus type-8	Humant papillomvirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitt B-virus	Humant papillomvirus 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

### Analytisk spesifisitet – Interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble evaluert for interferens i nærvær av ikke-målorganismer ved hjelp av de samme organismegruppene klargjort for kryssreaktivitetstesting angitt over i *tabell 6*. Negativt EBV-plasma ble tilsatt organismer samlet i grupper på 4–7, og disse gruppene ble deretter tilsatt EBV-mål i en konsentrasjon på 90 IE/ml [1,95 Log<sub>10</sub> IE/ml]. Ingen signifikant interferens ble observert i nærvær av disse organismene som indikert ved minimal avvikelser av kvantifisering fra kontrollprøver som ikke inneholdt noe interfererende middel.

### Analytisk spesifisitet – Forstyrrende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble evaluert i nærvær av typiske eksogene og endogene interfererende stoffer påvist i kliniske EBV-plasmaprøver. Disse inkluderte unormalt høye nivåer av blodkomponenter samt vanlige antiviralia og immunsuppressiva, klassifisert i *tabell 7*. Hvert stoff ble tilsatt screenet EBV-negativt humant plasma tilsatt EBV ved 90 IE/ml [1,95 Log<sub>10</sub> IE/ml], og prøvene ble analysert for interferens ved å sammenligne den rapporterte konsentrasjonen med den positive kontrollen. I tillegg ble vanlig sykdomsstatus plasma assosiert med EBV-infeksjon testet for potensiell interferens. Gjennomsnittlig konsentrasjon og skjevhet for alle testede substanser sammenlignet med kontrollprøver tilsatt samme nivå av EBV, er rapportert i *tabell 8*. Ingen av de eksogene og endogene stoffene påvirket spesifisiteten til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

**Tabell 7: Interferenstesting – Eksogene stoffer (legemiddelklassifiseringer)**

Gruppe	Legemiddelnavn	Klassifisering	Gruppe	Legemiddelnavn	Klassifisering
Gruppe 1	Azatioprin	Immunsuppressiv	Gruppe 4	Trimetoprim	Antibiotikum
	Ciklosporin	Immunsuppressiv		Vancomycin	Antibiotikum
	Foscarnet	Antiviral (herpesvirus)		Takrolimus	Immunsuppressiv
	Gansiklovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Immunsuppressiv
	Valganciclovir hydroklorid	Antiviral (EBV)		Clavulanate kalium	Antibiotikum
Gruppe 2	Prednison	Kortikosteroid/ immunsuppressiv	Gruppe 5	Famotidin	Histaminreseptorantagonist
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoksazol	Antibiotikum
	Cefotetan	Antibiotikum (bredspektrum)		Valacylovir	Antiviral (herpesvirus)
	Cefotaksim	Antibiotikum (bredspektrum)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Fluconazol	Antifungal		Ticarcillin dinatrium	Antibiotikum
Gruppe 3	Mykofenolatmofetil	Immunsuppressiv		Leflunomid	Immunsuppressiv
	Mykofenolatnatrium	Immunsuppressiv			
	Piperacillin	Antibiotikum			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsuppressiv			
	Tazobaktam	Modifisert antibiotikum			

**Tabell 8: Interferenstesting – Endogene og eksogene stoffer**

Endogen + sykdomsstatus	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	Log <sub>10</sub> IE/ml	Log <sub>10</sub> IE/ml
Hemoglobin	2,19	0,32
Triglyserider	1,90	0,02
Bilirubin	2,12	0,24
Albumin	1,95	0,07
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	2,08	0,20
Antinukleært antistoff (ANA)	2,36	0,48
Revmatoid artritt (RA)	1,89	0,01
Positiv kontroll	1,88	I/R
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	Log <sub>10</sub> IE/ml	Log <sub>10</sub> IE/ml
Gruppe 1: Azatioprin, ciklosporin, foscarnet, gansiklovir, valganciclovirhydroklorid	2,19	0,09
Gruppe 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaksim, flukonazol	2,11	0,01
Gruppe 3: Mykofenolatmofetil, mykofenolatnatrium, piperacillin, sirolimus/rapamycin, tazobaktam	2,16	0,06
Gruppe 4: Trimetoprim, vankomycin, takrolimus, everolimus, klavulanatkalium	2,24	0,14
Gruppe 5: Famotidin, sulfametoksazol, letermovir, valacylovir, ticarcillin-dinatrium, leflunomid	2,26	0,16
Positiv kontroll	2,10	I/R

### Presisjon innenfor laboratoriet

Presisjonen til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble bestemt ved å teste 3 replikater av et panel med 6 medlemmer EBV-prøver fremstilt med NeuMoDx EBV positiv kontroll og EBV-kultur (ATCC, Manassas, VA) to ganger per dag ved bruk av to NeuMoDx 288-systemer og to NeuMoDx 96-systemer over 12 dager. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være  $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ . Utmerket presisjon ble demonstrert på tvers av systemer, dager og kjøring som vist i *tabell 9*. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert, ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver ved bruk av NeuMoDx System.

**Tabell 9:** Presisjon innenfor laboratoriet – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på NeuMoDx Systems

Mål EBV kons. [Log <sub>10</sub> IE/ml]	Gjennomsnittlig EBV kons. [Log <sub>10</sub> IE/ml]	SD innen system	Innen dag-SD	Innen kjøring-SD	Totalt (innenfor laboratoriet) SD
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

### Parti-til-parti-reproduserbarhet

Parti-til-parti-reproduserbarhet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble bestemt ved å evaluere 3 partier av NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 som en del av studien Presisjon innenfor laboratoriet. Et panel med 6 medlemmer EBV-positivt plasma ble brukt til å vurdere ytelse (*tabell 10*). Resultatene som ble generert på tvers av partier ble analysert og presentert i *tabell 10*. Maksimal total skjevhet var 0,29 Log<sub>10</sub> IE/ml, og maksimal samlet SD var 0,18 Log<sub>10</sub> IE/ml for NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Tilsvarende ytelse ble demonstrert på tvers av partier da kvantifisering av alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjonen.

**Tabell 10:** Parti-til-parti-reproduserbarhet – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, teststrimmel

Forventet kons. (Log <sub>10</sub> IE/ml)	Parti 1			Parti 2			Parti 3		
	Gj. kons. (Log <sub>10</sub> IE/ml)	Log-kons SD	Abs-skjevhet	Gj. kons. (Log <sub>10</sub> IE/ml)	Log-kons SD	Abs-skjevhet	Gj.kons (Log <sub>10</sub> IE/ml)	Log-kons SD	Abs-skjevhet
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

### Effektivitet av prøveprosesskontroll

Prøveprosesskontrollen (Sample Process Control, SPC1) er inkludert i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for å rapportere prosessstrinnfeil eller hemming som påvirker analysens ytelse. Ved å bruke NeuMoDx CMV Quant Assay som modell ble effektiviteten til SPC1 testet for plasmaprøver under forhold som var representative for kritiske prosesseringstrinnfeil som potensielt kan oppstå under prøveprosessering og som kanskje ikke blir oppdaget av NeuMoDx Systems overvåkningsensorer. Cytomegalovirus-positivt prøver (ved 3 Log<sub>10</sub> IE/ml) og negative prøver ble utfordret under følgende betingelser: forekomst av hemmer, ingen wash-løsning levert og ingen vaskeutblåsning. Prosessineffektiviteter som hadde en negativ effekt på viral måldetektering/-kvantifisering ble speilet av ytelsen til SPC1-målet som vist i *tabell 11*. I alle testede tilfeller ble det demonstrert at prøveprosesskontrollen overvåket prosessineffektiviteten og tilstedeværelsen av hemmere tilstrekkelig, eller at den forventede prosessineffektiviteten ikke hadde en signifikant negativ effekt på SPC1-detektering eller viral måldetektering og kvantifisering. Derfor demonstrerte SPC1 suksess med å effektivt overvåke analyseprestasjoner på NeuMoDx System.

**Tabell 11:** Effektiviteten av prøveprosesskontrollen for viralt DNA i plasma\*

Prosesstrinnsvikt testet	Amplifiseringsstatus for prøveprosesskontroll 1	CMV-mål Amplifiseringsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Delivered (Ingen vaskeløsning levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positive (Positiv) med kvantifisering innenfor 0,3 Log <sub>10</sub> IE/ml av kontroll

\*Cytomegalovirus (CMV) i plasmaprøver ble brukt som modellsystem for prøveprosesskontrolleffektivitetsvurdering.

### Krysskontaminering

Krysskontamineringshastigheten for plasmaprøver ble bestemt ved å behandle vekslende høye positive og negative prøver av EBV. Fem sett med slik sjakkbrett-testing ble utført med totalt 60 replikater av EBV-negativt plasma og 60 replikater av et tilsatt EBV-plasma ved 6,0 Log<sub>10</sub> IE/ml på både NeuMoDx 288 og 96 Molecular System. Alle 120 replikater av den negative prøven ble rapportert som negative, på tvers av begge systemtyper, noe som viste at ingen krysskontaminering forekom under plasmaprøvebehandling på NeuMoDx System.

## Prøvematriseekvivalens

Testing ble utført for å demonstrere ekvivalens mellom ferske og frosne plasmaprøver ved å bruke et lignende blodbårent virus, CMV, som modell. Ferske prøver ble holdt ved 4 °C inntil de ble tilsatt tre nivåer av CMV og testet for likeverdighet. Prøvene var frosset i minimum 24 timer ved -20 °C. Etter denne perioden med fryst lagring ble prøvene tint og testet på nytt. Resultater fra ferske sammenlignet med frosne plasmaprøver ble sammenlignet for ekvivalens ved regresjonsanalyse. Dataene viste utmerket ekvivalens mellom ferske og frosne plasmaprøver med en helling på 1,0 og svært lav skjevhet (skjæringspunkt), som presentert nedenfor i *tabell 12*.

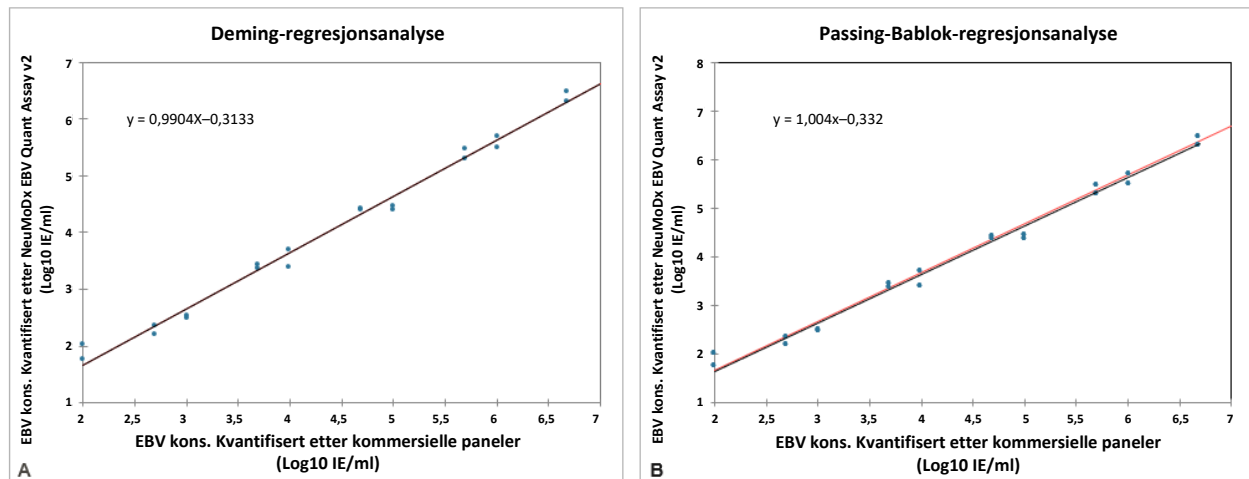
**Tabell 12:** Prøvematriseekvivalens

Parameterkrav	Fersk kontra frosne EDTA
Helling [0,9–1,1]	1,000
Skjæringspunkt < 0,5 Log <sub>10</sub> IE/ml	0,020
p-verdi > 0,05	0,631

## Karakterisering av kvantitativ ytelse

Den kvantitative ytelsen til NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ble karakterisert ved å behandle to kommersielle EBV-verifiseringspaneler fra AcroMetrix og Exact Diagnostics (sporbar til den første internasjonale WHO-Standarden for EBV) på NeuMoDx Molecular Systems.

Utmerket korrelasjon ble oppnådd mellom NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 og de to kommersielle EBV-verifiseringspanelene (*figur 4*) når de ble analysert med enten Deming Regression (*figur 4A*) eller Passing-Bablok-metoden (*figur 4B*).


**Figur 4.** Ekvivalensplott mellom AcroMetrix og Exact Diagnostics verifiseringspaneler og NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Lineær regresjonsanalyse ved bruk av Deming-metoden. B. Lineær regresjonsanalyse ved bruk av Passing-Bablok-metoden.

Kvaliteten på Deming Regression-passformen er illustrert med en samlet hellingskoeffisient på 0,990 og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,313, noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 og EBV-verifikasjonspaneler er korrelert med akseptable skjevheter. Passing-Bablok lineær passform støtter også betydningen av korrelasjonen mellom resultatene oppnådd fra NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 og EBV-verifikasjonspanelene med en samlet hellingskoeffisient på 1,004 og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,332. P-verdien av Passing-Bablok-analysen ble beregnet til å være 0,988.

**Tabell 13:** Sammendrag av Deming-analyse og Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95 % CI (-0,620, -0,007)	95 % CI (0,928, 1,053)	95 % CI (-0,548, -0,116)	95 % CI (0,950, 1,047)

## REFERANSER

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. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

## VAREMERKER

NeuMoDx™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
















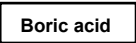

NeuDry™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.


Seracare® er et registrert varemerke som tilhører Seracare Life Sciences, Inc.

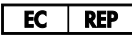
TaqMan® er et registrert varemerke som tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavn, varemerker og registrerte varemerker som kan forekomme i dette dokumentet, tilhører respektive eiere.

## SYMBOLFORKLARING

 <b>Rx only</b>	Reseptpliktig		Inneholder nok til <n> tester
	Produsent		Se bruksanvisningen
	Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostikk		Forsiktig
	Autorisert representant i EU		Helsefare
	Katalognummer		CE-merke
	Partinummer		Inneholder
	Siste forbruksdato		Inneholder biologisk materiale av animalsk opprinnelse
	Temperaturbegrensning		Borsyre
	Må ikke gjenbrukes		

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

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

Teknisk støtte / overvåkingsrapportering: [support@giagen.com](mailto:support@giagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)

