

REF

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

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA

IVD

Til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular SystemsOpdateringer 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 EBV Quant Assay 2.0 er en automatiseret *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af human Epstein-Barr-virus (EBV)-DNA i EDTA plasma fra immunsupprimerede transplanterede patienter.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 som udført på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og realtids-PCR-målsøgning af de to højt bevarede regioner i EBV-genomet.

Analysen er beregnet til brug som en hjælp til overvågningen af EBV-DNA-niveauerne i perifert blod for at kunne vurdere viral respons på behandling. 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 EBV-infektion.

Analysen er ikke beregnet til anvendelse som en screeningstest for tilstedeværelsen af EBV-DNA i blod eller blodprodukter. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er beregnet til at blive brugt af uddannet klinisk laboratoriepersonale, der har fået særlige anvisninger og er blevet oplært i teknikkerne i forbindelse med realtids-PCR og *in vitro*-diagnostiske procedurer og/eller NeuMoDx Molecular Systems. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er ikke beregnet til selvtest eller brug på behandlingsstedet.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamlet i sterile blodprøvetagningsrør, der indeholder EDTA som antikoagulationsmiddel, kan bruges til klargøring af plasma. For at påbegynde testning placeres plasma i et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i en prøverørsholder og sættes på arbejdsbordet i NeuMoDx System. Bland for hver prøve en 550 µL alikvot af plasmaprøven med 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 amplifier og påvis amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede (to højt bevarede regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielt inhibitoriske stoffer og NeuMoDx System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocessen.

EBV er en almindelig dobbeltstretet DNA-virus af den humane herpesvirusgruppe, som inficerer personer af alle aldre. Det anslås, at > 90 % af verdens befolkning er eller har været inficeret med EBV.¹ EBV spredes gennem kropsvæsker såsom spyt, blod, sæd og organtransplantation. Mange mennesker bliver smittet med EBV i barndommen. Disse individer er typisk asymptomatiske, selvom de er inficeret med EBV. Immunkompromitterede personer kan udvikle mere alvorlige symptomer og komplikationer som følge af EBV-infektion. Latent EBV-infektion udgør den største risiko for patienter, der lige har fået foretage en transplantation. Posttransplantationsrelaterede lymfomer (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLDs) inkluderer EBV-drevet tumordannelse i B-celler på grund af virkningen af immunsuppressive midler på immunkontrollen af EBV, en af de mest signifikante årsager til sygelighed og dødelighed hos patienter, der gennemgår nogen form for organtransplantation.²

Overvågning af EBV-virusmængde kan bruges som en hjælp ved diagnoser og behandlingen af EBV-associeret PTLD. Diagnosen skal dog stilles ved hjælp af en biopsi. Overvågning af EBV-virusmængde kan også bruges til at overvåge responsen på EBV-associeret PTLD-behandling, normalt med Rituximab og en reduktion af immunsuppressiv behandling.³

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i NeuMoDx System anvender NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx-universalreagenser til analysen. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, amplifikation og påvisning med realtids-PCR. Prøver af fuldblod opsamles i EDTA-rør til klargøring af plasma. Plasmaprøven i et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, anbringes i en prøverørsholder og sættes på arbejdsbordet i NeuMoDx System med henblik på 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 magnetiske affinitetsmikrosfærer. Mikrosfærene 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™-amplifikationsreagenser med alle de elementer, der er nødvendige for PCR-amplifikation af de EBV-specifikke mål og SPC1. Efter rekonstitution af de NeuDry PCR-reagenser 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 amplikonet efter realtids-PCR og i bund og grund eliminere risikoen for kontamination efter amplifikation.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 er målrettet mod to højt bevarede regioner, BALF5 og BXFL1, i EBV-genomet. Det dobbelte måldesign reducerer risikoen for falsk negative resultater i tilfælde af mutationer i én målregion, hvilket øger analysens robusthed. De amplifierede mål påvises i realtid med hydrolyseprobe kemi (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 afhænder 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 afhæret til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og forårsager tab af tæt nærhed til quencheren, hvorved quenchingeffekten, der skyldes FRET, ophæves og tillader påvisning af fluorescens fra fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres, er direkte proportionalt 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 EBV DNA-mål. 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 resultat (POSITIVE (POSITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (UBESTEMMELIGT)/NO RESULT (INTET RESULTAT)/UNRESOLVED (UAFKLARET)). Hvis resultatet er POSITIVE (POSITIV), leverer NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven eller rapporterne, hvis den beregnede koncentration er uden for grænserne for det lineære område.



REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Enheder pr. pakke	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 Tørrede RT-PCR-reagenser med EBV- og SPC1-specifikke TaqMan-prober og primere.	6	16	96

Nødvendige materialer, der ikke medfølger (kan fås separat hos QIAGEN)

REF	Indhold
800501	NeuMoDx EBV Calibrators Høje og lave EBV-kalibratorsæt til engangsbrug til at fastlægge standardkurvens gyldighed (1 hætteglas for hver kontrol = 1 sæt)
900502	NeuMoDx EBV External Controls Sæt med Lavt positive, Højt positive og negative EBV-kontroller til engangsbrug til at fastlægge den daglige gyldighed af NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (1 hætteglas til hver kontrol = 1 sæt)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE-/CO-RE II-spidsler (300 µL) med filtre
235905	Hamilton CO-RE-/CO-RE II-spidsler (1000 µL) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

NeuMoDx System Software version 1.9.2.6 eller nyere



ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er udelukkende 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 NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Mindste prøvevolumen af sekundære alikvoter af EDTA-plasma er beskrevet nærmere nedenfor i afsnittet Testklargøring. Et volumen under den anførte minimumværdi kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (Kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Anvendelse af prøver, der har været opbevaret ved forkert temperatur eller i længere tid end den anførte opbevaringstid, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater.

- Undgå mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Hvis der anvendes sekundære rør, anbefales det at bruge sterile, DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug. 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 EBV Quant Test Strip 2.0, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekitler og NeuMoDx System ikke er kontamineret.
- 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 EBV Quant Test Strip 2.0 eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx Lysis Buffer-beholderen ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for hvert reagens (efter relevans) findes på www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- 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
- Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information.
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser. Følg anvisningerne i sikkerhedsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS).

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Indeholder borsyre. Fare! Forårsager alvorlig øjenirritation. Kan forårsage fertilitetsproblemer eller skade det ufødte barn. Læs de særlige instrukser inden brug. Brug først produktet, når alle sikkerhedsforholdsregler er læst grundigt. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenskyttelse/ansigtsbeskyttelse. Hvis du har været eksponeret for produktet eller er bekymret herfor: Søg lægehjælp. Opbevares under lås. Indholdet/beholderen bortskaffes på godkendt behandlingsanlæg.

Oplysninger til brug i nødstilfælde

CHEMTREC

Uden for USA og Canada: +1 703-527-3887



PRODUKTOPBEVARING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 er stabile i den primære emballage indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket, når de opbevares ved 15 °C-28 °C.
2. Når NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er isat, kan den forblive i NeuMoDx System i 14 dage. Den resterende holdbarhed for isatte teststrimler spores af softwaren og rapporteres til brugeren i realtid. Systemet beder brugeren om at fjerne en eventuel teststrimmel, der har været i brug ud over den tilladte periode.
3. Selvom NeuMoDx EBV Calibrators og NeuMoDx EBV External Controls er ikke-infektøse, skal de kasseres efter brug som biologisk farligt affald for at mindske risikoen for kontaminering.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

Håndter alle prøver, som om de kan overføre smitstoffer.

1. Fuldblod eller prøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
2. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrørene.
3. 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.
4. 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.
5. Klargjort plasma skal opbevares mellem 2 til 8 °C i maksimalt 7 dage før testning og i maksimalt 8 timer ved stuetemperatur.
6. Klargjorte plasmaprøver kan opbevares ved -20 °C i op til 8 uger. Plasmaprøver må ikke udsættes for mere end 2 cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes.
 1. Hvis prøverne fryses, skal de tørt helt op ved stuetemperatur (15 °C-30 °C). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne. Prøverne skal have stuetemperatur, inden testen udføres.
 2. Når de frosne prøvet er tørt, skal testen udføres inden for 8 timer.
7. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.

BRUGSANVISNING

Testklargøring

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, som beskrevet nedenfor.
2. Overfør en alikvot af prøven til et prøverør med stregkode, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til nedenstående mængder:
3. *For plasmaprøver:*
 - Prøverørsholder (32 rør): 11-14 mm i diameter og 60-120 mm i højden, mindste fyldningsvolumen $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Prøverørsholder (24 rør): 14,5-18 mm i diameter og 60-120 mm i højden, mindste fyldningsvolumen $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Prøverørsholder med lav volumen (32 rør): Mikrocentrifugerør på 1,5 mL med konisk bund, mindste fyldningsvolumen $\geq 650 \mu\text{l}$

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 EBV Quant Test Strip(s) 2.0 i én eller flere 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, skal du skifte NeuMoDx Wash Reagent og NeuMoDx Release Reagent og tømme Priming Waste, Biohazard Waste Container (kun NeuMoDx 288 Molecular System), Tip Waste Bin (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller Biohazard Waste Bin (kun NeuMoDx 96 Molecular System) efter behov.
4. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal Calibrators [REF 800501] og/eller External Controls [REF 900502] behandles som påkrævet. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
5. Sæt prøverørene i en prøverørsholder, og sørg for, at hæfterne er taget af alle rør, og pødepindene er taget ud.
6. Anbring prøverørsholderen/-ne på hylden til automatisk isætning, og brug berøringsskærmen til at isætte holderen/-ne i NeuMoDx System. Derved startes behandlingen af de isatte prøver for de identificerede tests, forudsat at der er en gyldig testbestilling i systemet.

BEGRÆNSNINGER

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kan kun bruges på NeuMoDx Systems.
2. Ydeevnen af NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klagt fra fuldblod, der var opsamlet med EDTA som antikoagulerende middel. Brugen af NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 sammen med andre kilder er ikke vurderet, og ydelseskarakteristika kendes ikke for andre prøvetyper.
3. Da påvisningen af EBV generelt afhænger af antallet af viruspartikler, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
4. Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falsk negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx System, må betjene NeuMoDx System.
6. Hvis hverken EBV-målet eller SPC1-målet amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (Ubestemmeligt) eller Unresolved (Uafklaret)), og testen skal gentages.
7. Hvis der optræder en systemfejl, inden prøven af færdigbehandlet, rapporteres "No Result" (Intet resultat), og testen skal gentages.
8. Hvis det påviste EBV-DNA var over ULoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 gentages med et fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:100 eller 1:1000 i EBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Systemet beregner automatisk koncentrationen af den oprindelige prøve som følger: Oprindelig prøvekoncentration = \log_{10} (fortyndingsfaktor) + rapporteret koncentration af den fortyndede prøve, så længe fortyndingsfaktoren er valgt korrekt i softwaren inden gentagelse.
9. Forekomst af PCR-hæmmere i plasma, som kan føre til en Quantitation Error (Kvantiteringsfejl) i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
10. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelse af EBV-DNA.
11. Selvom der kun er lille sandsynlighed herfor, kan deletioner eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx EBV Quant Assay er målrettet mod, få indflydelse på påvisningen og/eller kvantificeringen og føre til et fejlbehæftet resultat.
12. Resultater fra NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
13. 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 EBV Quant Assay 2.0-resultater genereres automatisk af NeuMoDx System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx EBV Quant Assay-definitionsfilen (EBV Quant-ADF-version 4.0.0 eller nyere). Et NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapporteret EBV-DNA-koncentration, Indeterminate (Ubestemmeligt), No Result (Intet resultat) eller Unresolved (Uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra ADF-beslutningsalgoritmen for resultatbehandling, som er opsummeret nedenfor i *tabel 1*.

Tabel 1: Fortolkning af resultater i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Resultat	EBV-mål	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	AMPLIFIED (AMPLIFICERET) [2 ≤ Ct < 28 AND (OG) EPR > 1.3 AND (OG) EP > 1200] OR (ELLER) [28 < Ct < 38 AND (OG) EP > 1200]	N/A (ikke relevant)
Positive (Positivt), over øverste grænse for kvantitering [ULOQ] (Log₁₀ IE/mL)	[KONC] > 8,0 Log ₁₀ IE/mL, NO QUANT (UDEN KVANT)	N/A (ikke relevant)
Positive (Positivt), under nederste grænse for kvantitering [LLOQ] (Log₁₀ IE/mL)	[KONC] < 1,48 Log ₁₀ IE/mL, NO QUANT (UDEN KVANT)	N/A (ikke relevant)
Negative (Negativt)	NOT AMPLIFIED (IKKE AMPLIFICERET) N/A (ikke relevant) 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	AMPLIFIED (AMPLIFICERET) [29 < Ct < 35 and (og) EP ≥ 2000]
No Result* (Intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ikke amplificeret, Systemfejl registreret, Prøvebehandling afbrudt)	
Indeterminate* (Ubestemmeligt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ikke amplificeret, Systemfejl registreret, Prøvebehandling fuldført)	
Unresolved* (Uafklaret)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplificeret, Ingen systemfejl registreret)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensratio); C_t = Cycling Threshold (cyklusgrænse);

Quant = beregnet kvantitet af EBV udtrykt i log₁₀ IE/mL. Se afsnittet Testberegning nedenfor.

* Systemet giver mulighed for valgfri Rerun/Repeat (Genkørsel/Gentagelse) for at aktivere genbehandling i tilfælde af et ugyldigt resultat og dermed minimere forsinkelserne i rapportering af resultater.

Testberegning: Prøver

- For prøver, der ligger inden for det lineære område for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, beregnes koncentrationen af EBV-DNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten.
 - Der beregnes en "kalibreringskoefficient" ud fra resultaterne fra de behandlede NeuMoDx EBV Calibrators for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for hvert lot af NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 på et bestemt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficienten indgår automatisk i systemet i den endelige bestemmelse af koncentrationen af EBV-DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultater rapporteres i IE/mL og Log₁₀ IE/mL.
- Den deraf følgende kvantitering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques.

Testberegning: Kalibratorer

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

- NeuMoDx EBV Calibrators leveret i et kit [REF 800501] og indeholder ikke-infektiøst indkapslet EBV-mål klargjort i Basematrix.
- Der skal behandles et sæt EBV-kalibratorer med hvert nyt lot af NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, hvis en ny EBV Assay-definitionsfil uploades i NeuMoDx System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (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 teststrimler kan ikke bruges, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.

4. Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 1. Et sæt med to kalibratorer – høj og lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.
 2. 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 Log₁₀ IE/mL, og det nominelle mål for den høje kalibrator er 5 Log₁₀ IE/mL.
 3. Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation i test strip lots; denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige EBV-DNA-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/kalibratorene for anden gang i træk, skal du kontakte QIAGEN Teknisk support.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, der er udført på NeuMoDx System, ikke leverer et gyldigt resultat, rapporteres den som enten Indeterminate (Ubestemmeligt), No Results (Intet resultat) eller Unresolved (Uafklaret) baseret på den fejlttype, der fandt sted, og testen skal gentages for at opnå et gyldigt resultat.

Der rapporteres et Indeterminate (Ubestemmeligt) resultat, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl under prøvebehandling. Hvis Indeterminate (Ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

No Result (Intet resultat) rapporteres, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl, og prøvebehandlingen afbrydes. Hvis No Result (Intet resultat) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

Der rapporteres et Unresolved (Uafklaret) resultat, hvis der ikke påvises et mål, og der ikke er amplifikation i prøveproceskontrollen, som angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis Unresolved (Uafklaret) rapporteres som resultat, anbefales en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel hæmning (se afsnittet Begrænsninger for at få flere oplysninger).

Se brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System (P/N: 40600108) eller brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317) for at se en liste over fejlkoder, der kan knyttes til Invalid Results (Ugyldige resultater).

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 eksterne kontroller med ikke-infektiøst indkapslet EBV-mål i Basematrix for positive kontroller eller Basematrix for negative kontroller i et kit, der indeholder NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
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:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Forventet koncentration)	Farveskema for etiketter
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IE/mL (4,18 Log ₁₀ IE/mL)	Rød
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IE/mL (2,18 Log ₁₀ IE/mL)	Grå
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	N/A (ikke relevant)	Sort

3. Når der behandles eksterne kontroller, skal de mærkede kontroller anbringes i en prøverørsholder, og berøringsskærmen skal bruges til at isætte holderen i NeuMoDx System fra hylde til automatisk isætning. NeuMoDx System vil genkende stregkoderne og starte behandling af kontroller, medmindre der ikke er tilstrækkelige reagenser eller forbrugsvarer til testningen.
4. Gyldigheden af disse eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx System baseret på de forventede resultater.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV-kvantificeringsresultat	SPC1-resultat
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV-POSITIV) [Konc] 3,68–4,68 Log ₁₀ IE/mL	SPC1-positiv
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV-POSITIV) [konc] 1,58–2,78 Log ₁₀ IE/mL	SPC1-positiv
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV-NEGATIV)	SPC1-positiv

5. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 1. Et Positive (Positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, kan indikere kontaminering, og laboratoriets kvalitetskontrolprocedurer skal undersøges for at fastlægge årsagen. Sørg for at bruge separate områder til klargøring af prøve, kontrolhåndtering og opsætning af RT-PCR. Se yderligere fejlfindingsråd i *brugervejledningen til NeuMoDx 288 eller 96 Molecular System*.
 2. Et Negative (Negativt) resultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.

- I begge ovenstående tilfælde eller i tilfælde af et No Result (Intet resultat) (NR), Unresolved (Uafklaret) (UNR) eller Indeterminate (Ubestemmeligt) (IND)-resultat skal de mislykkede kontroller gentages med nyoptøede hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
- Hvis der fortsat rapporteres et Negative (Negativt) resultat for en positiv ekstern kontrol, skal du kontakte QIAGEN Teknisk support.
- Hvis der fortsat rapporteres et Positive (Positivt) resultat for en negativ ekstern kontrol, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte alle reagenser og gentage kørslen, inden du kontakter QIAGEN Teknisk support.
- Hvis de eksterne kontroller ikke giver de forventede resultater, skal der køres en ny test med et nyt sæt positive og negative kontroller. Prøveresultaterne rapporteres ikke, hvis kontrollerne ikke giver de forventede resultater.
- NeuMoDx System har en automatisk funktion til automatisk Rerun (Ny kørsel)/Repeat (Gentagelse), som brugeren kan vælge for at sikre, at et INVALID (UGYLDIGT) resultat automatisk genbehandles for at sikre så hurtige resultater som muligt.

(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 RT-PCR-amplifikation i realtid sammen med hver prøve/kontrol/kalibrator. Primerne og proben, der er specifikke for SPC1, er indeholdt i hver NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. Denne SPC1 gør det muligt for NeuMoDx System at monitorere effektiviteten af DNA-ekstraktions- og RT-PCR-amplifikationsprocesserne.

YDELSKARAKTERISTIKA

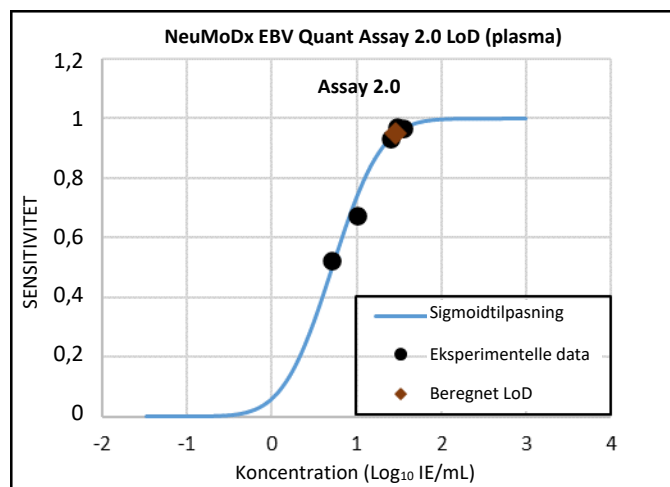
ANALYTISK SENSITIVITET – påvisningsgrænse

Den analytiske sensitivitet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev karakteriseret i to sekventielle trin: 1. Foreløbig vurdering af påvisningsgrænse (Limit of Detection, LoD) (probitanalyse) efterfulgt af 2. LoD-bekræftelse. I del 1 blev negative prøver og en fortyndingsserie af WHO 1st International Standard i screenet EBV-negativt humant plasma testet for at fastlægge den foreløbige LoD på NeuMoDx Systems. Foreløbig LoD blev defineret som det laveste målniveau, der blev påvist ved 95 % som bestemt ved probitanalyse. I del 2 blev den foreløbige LoD bekræftet ved at teste et konstrueret panel på LoD-niveauet. Begge trin af undersøgelsen blev foretaget i løbet af 3 dage i flere systemer med flere lots af NeuMoDx-reagenser. I del 1 blev der i alt behandlet 144 replikater på hvert fortyndingsniveau. Påvisningsrater er afbildet i *tabel 2*.

Tabel 2: Foreløbig fastlæggelse af LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [\log_{10} IE/mL]	PLASMA		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
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 for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i plasma ved brug af 1st WHO International Standard for EBV blev fastlagt til at være 29,3 IE/mL (1,47 \log_{10} IE/mL) med 95 % konfidensinterval (CI) for 24,4–37,1 IE/mL, (1,39–1,57 \log_{10} IE/mL) [Figur 1]. Denne LoD blev efterfølgende bekræftet via en analyse med træfprocent, som er afbildet i *tabel 3*.



Figur 1: Probitanalyse anvendt til bestemmelse af LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i plasmaprøver

Tabel 3: Bekræftelse af LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

System	Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/mL]	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
N96	29,3	1,47	96	94	97,9 %
N288			96	92	95,8 %
Alle			192	186	96,9 %

LoD for EBV-genotype 2 (GT2) blev bekræftet af være 29,3 IE/mL [1,47 Log₁₀ IE/mL] som fastlagt af analysen med træfprocent.

Baseret på resultatet fra begge undersøgelser er LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fastlagt at være 29,3 IE/mL [1,47 Log₁₀ IE/mL].

ANALYTISK SENSITIVITET –laveste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLOQ defineres som det laveste målniveau, hvor > 95 % påvisning opnås, OG analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) er ≤ 1,0. For at bestemme LLOQ blev TAE beregnet for hver af de EBV-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning som en del af LoD-beregningen. TAE defineres som følger:

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

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 1st WHO International Standard for EBV-plasmaprøver, som blev brugt i LLOQ-undersøgelsen, er vist i *tabel 4*. Baseret på dette datasæt og tidligere fastlagt LoD blev LLOQ fastlagt til 30,0 IE/mL (1,48 Log₁₀ IE/mL) og efterfølgende bekræftet for EBV-genotype 2 (GT2).

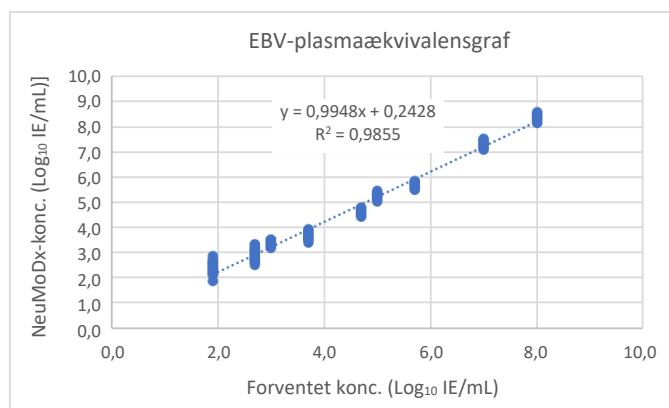
Tabel 4: LLoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 med bias og TAE

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Plasma				
		Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/mL]	Påvisningsrate	SD	Bias	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

Baseret på resultatet af disse undersøgelser blev LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fastlagt til 29,3 IE/mL (1,47 log₁₀ IE/mL), og LLoQ blev fastlagt til 30,0 IE/mL [1,48 log₁₀ IE/mL].

Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (ULOQ)

Lineariteten og den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie ved hjælp af NeuMoDx-indkapslet EBV-mål og ATCC EBV Culture (ATCC, Manassas, VA) med en sporbarhed, der er fastsat i henhold til 1st WHO International Standard for EBV, ud over 1st WHO International Standard for EBV. Et panel med 10 elementer blev klargjort i poollet EBV-negativ plasma for at oprette et panel, der ville dække et koncentrationsområde på 1,48–8,0 Log₁₀ IE/mL. ULOQ for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev bestemt til at være 8,0 Log₁₀ IE/mL. Der blev udarbejdet et bekræftelsespanel til vurdering af standardkurvens linearitet, og de EBV-analysekoncentrationer, som blev rapporteret af NeuMoDx System, sammenlignet med de forventede værdier er vist i *Figur 2*.



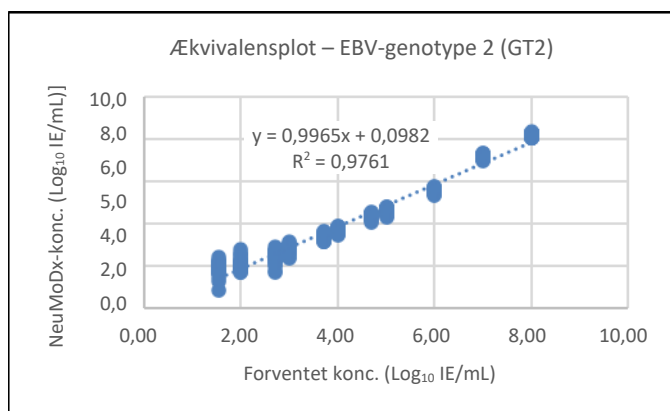
Figur 2: Linearitet af NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Linearitet af EBV-genotype 2 (GT2)

Lineariteten for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på tværs af EBV-genotype 2 (GT2) blev karakteriseret ved at teste 11 forskellige koncentrationer af EBV GT2, og der blev fastlagt sporbarhed til 1st WHO International Standard for EBV, klargjort i poollet EBV-negativt plasma. Undersøgelsen blev udført ved at teste 36 replikater i 11 koncentrationer på tværs af 2 NeuMoDx Systems og 3 lots af EBV Quant Test Strips 2.0. Lineariteten for EBV-genotype 2 (GT2) er vist i *tabel 5* og *figur 3*.

Tabel 5: Linearitet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for EBV-genotype 2

Genotype	Linearitetsligning y = NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-kvantitering x = forventet kvantitering	R ²
GT2	y = 0,9965x-0,0982	0,9761



Figur 3: Linearitet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for EBV-genotype 2

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 36 organismer, der kan forekomme i blod-/plasma prøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til EBV med hensyn til krydsreaktivitet. Der blev fremstillet organismer i høj koncentration pools med 5-6 organismer. De testede organismer er vist i *tabel 6*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Tabel 6: 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>
Cytomegalovirus	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	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 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 6*. Negativt EBV-plasma fik tilsat de organismer, der var poollet i grupper 4-7. Disse pools fik derefter tilsat EBV-mål i en koncentration på 90 IE/mL [1,95 Log₁₀ IE/mL]. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse 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 EBV Assay 2.0 blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske EBV-plasmaprøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale og immunsupprimerende lægemidler, som blev klassificeret i *tabel 7*. Hvert stof blev tilføjet i screenet EBV-negativt humant plasma, der havde fået tilsat EBV ved 90 IE/mL [$1,95 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$], og prøverne blev analyseret for interferens ved at sammenligne den rapporterede koncentration med den positive kontrol. Desuden blev plasma i almindelige sygdomsstadier, der blev forbundet med EBV-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 EBV, er rapporteret i *tabel 8*. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Tabel 7: 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 (EBV)		Everolimus	Immunsupprimerende lægemiddel
	Valganciclovirhydrochlorid	Antiviralt lægemiddel (EBV)		Potassium clavulanate	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Corticosteroid/ immunsupprimerende lægemiddel	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviralt lægemiddel (EBV)		Sulfamethoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektret)		Valacyclovir	Antiviralt lægemiddel (herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektret)		Letermovir	Antiviralt lægemiddel (EBV)
	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 8: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogent + sygdomsstadie	Gennemsnitlig konc.	Bias
	Log ₁₀ IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
Hæmoglobin	2,19	0,32
Triglycerider	1,90	0,02
Bilirubin	2,12	0,24
Albumin	1,95	0,07
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	2,08	0,20
Antinukleært antistof (ANA)	2,36	0,48
Rheumatoid arthritis (RA)	1,89	0,01
Positive Control (Positiv kontrol)	1,88	ikke relevant
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	Log ₁₀ IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
Pool 1: Azathioprin, Ciclosporin, Foscarnet, Ganciclovir, Valganciclovirhydrochlorid	2,19	0,09
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Fluconazol	2,11	0,01
Pool 3: Mycophenolatmofetil, Mycophenolat sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	2,16	0,06
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Potassium clavulanate	2,24	0,14
Pool 5: Famotidin, Sulfamethoxazol, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomid	2,26	0,16
Positive Control (Positiv kontrol)	2,10	ikke relevant

Præcision i laboratoriet

Præcisionen af NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev bestemt ved at teste 3 replikater af et panel på 6 elementer af EBV-prøver klargjort med NeuMoDx EBV Positive Control og EBV-kultur (ATCC, Manassas, VA) to gange om dagen via to NeuMoDx 288 Systems og to NeuMoDx 96 Systems 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 $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$. Der blev konstateret fremragende præcision uanset valg af system, dage og kørsler, som det er vist i *tabel 9*. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx System.

Tabel 9: Præcision på samme laboratorium – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på NeuMoDx Systems

Mål-EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$]	Gennemsnitlig EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$]	SD inden for systemet	SD i løbet af en dag	SD inden for kørsel	Samlet SD (på laboratoriet)
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

Lot til lot-reproducerbarhed

Lot til lot-reproducerbarhed for NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev bestemt ved at evaluere 3 lots med NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 som del af undersøgelsen af præcision på samme laboratorium. Et panel med 6 elementer med EBV-positiv plasma blev anvendt til vurdering af ydeevnen (*tabel 10*). Resultaterne genereret på tværs af lots blev analyseret og er vist i *tabel 10*. Maksimal bias var $0,29 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$, og maksimal SD var $0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$ for NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle lot, da kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen.

Tabel 10: Lot til lot-reproducerbarhed – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 Test Strip

Forventet konc. ($\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$)	Lot 1			Lot 2			Lot 3		
	Gns. konc. ($\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$)	Logkonc. SD	Abs. bias	Gns. konc. ($\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$)	Logkonc. SD	Abs. bias	Gns. konc. ($\text{Log}_{10} \text{ IE/mL}$)	Logkonc. SD	Abs. bias
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

Effekt af prøveproceskontrol

Prøveproceskontrollen (Sample Process Control, SPC1) indgår i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 for at rapportere fejl i processtrin eller hæmning, der påvirker analysens resultater. Ved hjælp af NeuMoDx CMV Quant Assay som model blev effekten af SPC1 testet for plasmaprøver 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. Cytomegalovirus-positiv prøver (på $3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$) og negative prøver blev udfordret under følgende forhold: forekomst af hæmmer, ingen vasketilsætning og ingen vaskeudblæsning. Ineffektivitet i processen, der havde en negativ indvirkning på påvisningen/kvantiteringen af det virale mål, blev reflekteret i resultaterne for SPC1-målet som vist i *tabel 11*. 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 ingen tilstrækkelig indvirkning på SPC1-påvisningen eller påvisningen af virale mål og kvantiteringen. Derfor blev det fastslået, at SPC1 havde en tilfredsstillende effekt med hensyn til monitorering af analysens ydeevne i NeuMoDx System.

Tabel 11: Effekt af prøveproceskontrol for viralt DNA i plasma*

Fejl testet 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 kvantitering inden for $0,3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$ kontrol

*Cytomegalovirus (CMV) i plasmaprøver blev anvendt som modelsystem for vurdering af prøveproceskontrollens effektivitet.

Krydskontaminering

Krydskontamineringshastigheden for plasmaprøver blev bestemt ved at behandle skiftevis høje positive og negative prøver af EBV. Fem sæt af sådan skakbrættestning blev udført med i alt 60 replikater af EBV-negativt plasma og 60 replikater af EBV-plasma med tilsætning ved 6,0 Log₁₀ IE/mL på både NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems. På tværs af begge systemtyper blev alle 120 replikater af de negative prøver rapporteret som negative, hvilket viser, at der ikke var nogen krydskontaminering under plasmaprøvebehandlingen på NeuMoDx Systems.

Ækvivalens af prøvematrix

Testning blev udført for at demonstrere ækvivalens mellem friske og frosne plasmaprøver ved anvendelse af en lignende blodbåren virus, CMV, som model. De friske prøver blev opbevaret ved 4 °C, indtil de fik tilsat tre niveauer af CMV og blev testet for ækvivalens. Prøverne blev frosset 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 friske vs. frosne plasmaprøver blev sammenlignet for at fastslå ækvivalens via en regressionsanalyse. Dataene viste fremragende ækvivalens mellem friske og frosne plasmaprøver med en hældning på 1,0 og meget lille bias (intercept), som det er vist i *tabel 12* nedenfor.

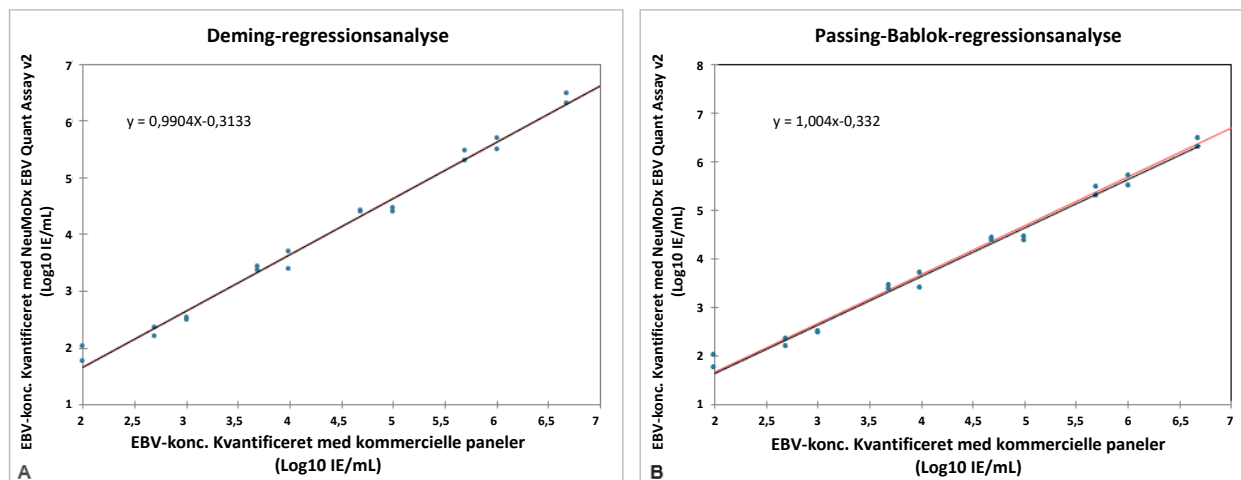
Tabel 12: Ækvivalens af prøvematrix

Parameterkrav	Frisk vs. frosset EDTA
Hældning [0,9-1,1]	1,000
Intercept < 0,5 Log ₁₀ IE/mL	0,020
<i>p</i> -værdi > 0,05	0,631

Ydelseskarakteristika for kvantificering

Den kvantitative ydeevne af NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 blev beskrevet ved behandling af to kommercielle EBV-verifikationspaneler fra AcroMetrix og Exact Diagnostics (sporbar i henhold til 1st WHO International Standard for EBV) på NeuMoDx Molecular Systems.

Der blev opnået fremragende korrelation mellem NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 og de to kommercielle EBV-verifikationspaneler (*figur 4*), når prøverne blev analyseret med enten Deming-regression (*figur 4A*) eller Passing-Bablok-metoden (*figur 4B*).


Figur 4. Diagram for ækvivalens mellem AcroMetrix- og Exact Diagnostics-verifikationspaneler og NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Lineær regressionsanalyse ved hjælp af Deming-metode. B. Lineær regressionsanalyse ved hjælp af Passing-Bablok-metode.

Kvaliteten af Deming-regressionstilpasningen illustreres med en samlet hældningskoefficient på 0,990 og en intercept (bias) på -0,313, hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i forhold til EBV-verifikationspaneler er korreleret og har acceptabel bias. Den lineære tilpasning af Passing-Bablok understøtter også betydningen af korrelationen mellem de resultater, der blev opnået fra NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, og EBV-verifikationspaneler med en samlet hældningskoefficient på 1,004 og en intercept (bias) på -0,332. *p*-værdien af Passing-Bablok-analyse blev beregnet til 0,988.

Tabel 13: Oversigt over lineær regressionsanalyse med Deming og Passing-Bablok

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

REFERENCER

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.

VAREMÆRKER

NeuMoDx™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
















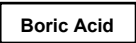

NeuDry™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.


Seracare® er et registreret varemærke, der tilhører Seracare Life Sciences, Inc.

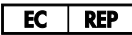
TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

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

SYMBOLFORKLARING

 Kun B	Receptpligtig		Indholdet er tilstrækkeligt til <n> tests
	Producent		Læs brugsanvisningen
	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik		Forsigtig
	Autoriseret repræsentant i EU		Sundhedsrisiko
	Katalognummer		CE-mærke
	Batchkode		Indeholder
	Anvendes inden		Indeholder biologisk materiale af animalsk oprindelse
	Temperaturbegrænsning		Borsyre
	Må ikke genbruges		

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

 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

