

**REF** 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip**R only**

IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA

**IVD** För *in vitro*-diagnostisk användning med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular SystemUppdaterade bipacksedlar finns på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108

Se operatörshandboken till NeuMoDx 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317

**AVSEDD ANVÄNDNING**

NeuMoDx CMV Quant Assay är ett automatiserat *in vitro*-nukleinsyreampliceringstest för kvantifiering av cytomegalovirus (CMV) DNA i prover med human plasma för CMV-genotyper gB1 till gB4 hos CMV-infekterade individer. NeuMoDx CMV Quant Assay utförd på NeuMoDx 288 Molecular System och NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System) använder automatisk DNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från prov och använder en realtidspolymeraskedjereaktion (PCR) för att söka upp de i hög grad bevarade sekvenserna i cytomegalovirusgenomet.

NeuMoDx CMV Quant Assay är avsedd för *in vitro*-detektion och -kvantifiering av cytomegalovirus (CMV) DNA i färsk och frusna prover av human plasma med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular System. Denna analys är avsedd för användning tillsammans med klinisk presentation och andra laboratoriemarkörer för sjukdomsförlopp för klinisk hantering och övervakning av CMV-infektion. Denna analys är inte avsedd för användning som ett screeningtest för förekomst av CMV i blod eller blodprodukter.

**SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING**

Humant helblod som samlats in i sterila blodprovtagningsrör med antingen EDTA eller ACD som antikoagulant kan användas för förberedande av plasma. För att förbereda för testning laddas plasma i ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i NeuMoDx System med hjälp av en dedikerad provrörscarrier för att påbörja bearbetning. För varje prov blandas en 550 µL-alikvot av plasmaprovet med NeuMoDx Lysis Buffer 1 och NeuMoDx System utför automatiskt alla steg som krävs för extraktion av målnukleinsyran, preparering av den isolerade DNA:n för realtids-PCR-amplifiering och i förekommande fall, detektion av produkter för amplifiering (delar av CMV-genommålet i två i hög grad bevarade områden). NeuMoDx CMV Quant Assay innehåller en DNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) för att underlätta övervakning beträffande närvaro av potentiella hämmande substanser samt NeuMoDx System- eller reagensfel som kan uppstå under extraktions- och amplifieringsprocessen.

CMV är ett vanlig dubbelsträngat DNA-virus i den humana herpesvirusfamiljen som smittar personer i alla åldrar. Det uppskattas att vid 40 års ålder har mer än hälften av populationen att ha smittats av CMV.<sup>1</sup> CMV sprids genom kroppsvätskor som saliv, urin, blod, tårar, sperma och bröstmjölk. Immunokompetenta personer som infekterats med CMV är vanligtvis asymtomatiska, men infektion med viruset kan vara allvarlig hos spädbarn och personer med försvagade immunsystem. Gravida mödrar kan överföra CMV till sina ofödda barn och orsaka medfödd CMV, vilket kan leda till hörselnedsättning och andra utvecklingsmässiga och motoriska fördröjningar. CMV är en viktig patogen för immunsvaga patienter, inklusive transplantatmottagare av fasta organ, mottagare av hematopoietiska celltransplantationer, HIV-infekterade patienter och patienter som behandlats med immunmodulerande läkemedel.<sup>2</sup> Övervakning av CMV-virusbelastningen används i första hand i dessa immunokomprometterade populationer, där det orsakar olika typer av morbiditet, inklusive lunginflammation, mag-tarmsjukdomar, hepatit och encefalit samt ökar risken för organavvisning och andra opportunistiska infektioner.

Diagnosen CMV-infektion baseras inte enbart på nukleinsyratestning (NAT). NAT-testning används utöver antigenester, som inbegriper färgning av polymorfonukleära leukocyter (PMN) för tidigt strukturellt lägre matrixprotein för CMV samt andra symptom som patienten kan uppleva. Testning av CMV-virusbelastning används rutinmässigt för att fastställa när antiviral behandling är nödvändig samt för att övervaka effekten av sådana behandlingar.<sup>3</sup> Medan aktuella riktlinjer för hantering och behandling av CMV-infektioner hos immunförsvagade personer är tveitydiga när det gäller när antiviral behandling ska inledas, kräver de alla konstant övervakning av virusbelastningen när antiviral behandling inleds för att bidra till att avhjälpa de allvarliga bieffekterna av medicinering hos sådana grupper.

**PRINCIPER FÖR RUTINEN**

NeuMoDx CMV Quant Assay på NeuMoDx System använder NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 och NeuMoDx allmänna reagenser för att utföra analysen. NeuMoDx CMV Quant Assay kombinerar automatisk DNA-extraktion, amplifiering och detektion genom realtids-PCR. Helblodprover samlas in i EDTA- eller ACD-rör för beredning av plasma. Plasmaprovet i ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System placeras i en provrörshållare, som sedan laddas i NeuMoDx System för bearbetning. Inga andra användaråtgärder behövs.

NeuMoDx System använder en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk cellysning, DNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorna fångas upp av paramagnetiska partiklar. Partiklarna med de bundna nukleinsyrorna laddas i NeuMoDx Cartridge där obundna, icke-DNA-komponenter tvättas bort ytterligare med NeuMoDx Wash Reagent och det bundna DNA:t elueras med hjälp av NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System använder sedan det eluerade DNA:t för att rehydrera patenterade NeuDry™ amplifieringsreagenser som innehåller alla komponenter som behövs för PCR-amplifiering av de CMV-specifika målen och SPC1-målen. Efter rekonstituering av NeuDry PCR-reagenserna dispenserar NeuMoDx System den beredda, PCR-klara blandningen i en NeuMoDx Cartridge. Amplifiering och detektion av kontroll- och mål-DNA-sekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammardelen i NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge är konstruerad för att rymma amplicon efter realtids-PCR och eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolyspkemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogena oligonukleotid-probmolekyler specifika för applikationerna för sina respektive mål.

TaqMan-prober består av en fluoroforen som är kovalent bunden till 5'-ändan av oligonukleotidproben och en quencher vid 3'-ändan. När proben är intakt är fluoroforen och quencheren nära varandra, vilket gör att quenchermolekylen undertrycker den fluorescens som fluoroforen emitterar via Förster resonansenergiöverföring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober är konstruerade så att de hybridiseras inom en DNA-region som är amplifierad av en viss uppsättning primrar. Allt eftersom Taq DNA-polymeraset förlänger primern och syntetiserar den nya strängen så degraderar 5' till 3' exonukleasaktiviteten för Taq DNA-polymeraset proben som har fäst till mallen. Degradering av proben frigör fluoroforenen från den och bryter den nära bindningen till quencheren och övervinner dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforens fluorescens. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras i NeuMoDx Systems kvantitativa PCR-termocykler är direkt proportionerlig med den frigjorda fluoroforen och kan korreleras med mängden mål-DNA som finns.

En TaqMan-prob märkt med fluoroforen (excitering: 490 nm och emission: 521 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden används för detektion av CMV DNA. För detektion av SPC1 är TaqMan-proben märkt med alternativ fluorescerande färg (excitering: 535 nm och emission: 556 nm) vid 5'-ändan och en mörk quencher vid 3'-ändan. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescens signal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx System-programvaran data och rapporterar ett slutligt resultat (POSITIVE (POSITIVT)/NEGATIVE (NEGATIVT)/INDETERMINATE (OBESTÄMT)/UNRESOLVED (OLÖST)). Om ett resultat är POSITIVE (POSITIVT) genererar NeuMoDx System-programvaran också ett kvantitativt värde för provet eller rapporterar om den beräknade koncentrationen är inom kvantifieringsgränserna.

### REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

#### Material som medföljer

REF	Innehåll	Tester per enhet	Tester per förpackning
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> <i>Torkade PCR-reagenser som innehåller CMV-specifika TaqMan-prober och primrar samt SPC1-specifik TaqMan-prob och primrar.</i>	16	96

#### Reagenser och förbrukningsvaror som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från NeuMoDx)

REF	Innehåll
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800400	<b>NeuMoDx CMV Calibrators</b> <i>CMV låga och höga kalibratorer för engångsbruk, för fastställning av standardkurvas giltighet</i>
900401	<b>NeuMoDx CMV External Controls</b> <i>CMV Positiva och negativa kontroller för engångsbruk, för daglig fastställning av validiteten hos NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
400400	<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 Tips (300 µL) med filter</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1 000 µL) med filter</b>

#### Instrument som behövs

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

### VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx System.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.
- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.

- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga kalibratorer från NeuMoDx CMV Calibrator [REF 800400]) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx CMV External Controls (REF 900401) måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Den minsta provvolymen är 1 mL EDTA/ACD-plasma vid användning av provrörs-carrier för 32 provrör. Volymen under 1 mL kan leda till fel i NeuMoDx System.
- CMV-testning av prover som lagrats i fel temperatur eller längre tid än den föreskrivna kan leda till ogiltiga eller felaktiga resultat om NeuMoDx CMV Quant Test Strip används.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller deoxyribonukleas (DNase) av alla reagenser och förbrukningsvaror. Sterila DNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta loss någon NeuMoDx Cartridge efter amplifiering för att undvika kontamination. Hämta inte NeuMoDx Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx CMV Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockor och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och -förbrukningsvaror. Rör inte vid ovansidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx CMV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller ovansidan av NeuMoDx Lysis Buffer 1; ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) kan beställas.
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Hantera alltid prover som om de vore smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner såsom de som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> och CLSI-dokument M29-A4.<sup>5</sup>
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.

### PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

- Alla NeuMoDx-reagenser och förbrukningsvaror (förutom externa kontroller och kalibratorer) är stabila i den primära förpackningen vid 18 till 23 °C till och med det angivna utgångsdatumet på den omedelbara produktetiketten.
- En NeuMoDx CMV Quant Test Strip som laddats i NeuMoDx System är stabil i 14 dagar. NeuMoDx System-programvaran uppmanar användaren att ta bort testremсор som varit laddade i NeuMoDx System i mer än 14 dagar och nya NeuMoDx CMV Quant Test Strips måste öppnas och laddas i NeuMoDx System.
- NeuMoDx-kalibratorer och -kontroller är inte smittsamma, men ska kasseras som biologiskt avfall efter användning eftersom de innehåller målmaterial efter bearbetning i systemet som kan orsaka kontaminering om de inte hanteras korrekt.

### INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

1. Hantera alla prover som potentiella smittbärare.
2. Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
3. Plasmaprover ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA eller ACD som antikoagulerande medel. Följ anvisningarna från tillverkaren av provtagningsrören.
4. Helblod som samlats in i behållare enligt ovan går att lagra och/eller transportera i upp till 24 timmar vid 2 °C till 25 °C före plasmaberedningen. Plasmaberedningen ska utföras enligt tillverkarens anvisningar.
5. Preparerade plasmaprover kan förvaras i NeuMoDx System i upp till 8 timmar före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven placeras antingen i en kyl eller fryser.
6. Preparerade plasmaprover ska förvaras vid 2 °C till 8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar i rumstemperatur.
7. Preparerade prover får förvaras vid ≤ -20 °C i upp till 26 veckor för plasma före bearbetningen. Frysning/tining av plasmaprover får utföras högst 2 gånger innan användningen.
  - a. Om proverna är frysta: Låt dem tina helt till rumstemperatur (15–30 °C) och vortexblanda så att de blir homogena.
  - b. Upptinade frysta prov måste testas inom 8 timmar.
8. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
9. Märk proven tydligt och ange att de är avsedda för CMV-testning.
10. Fortsätt till avsnittet *Beredning av test*.

Den övergripande processen för implementering av NeuMoDx CMV Quant Assay sammanfattas nedan i *Bild 1*.

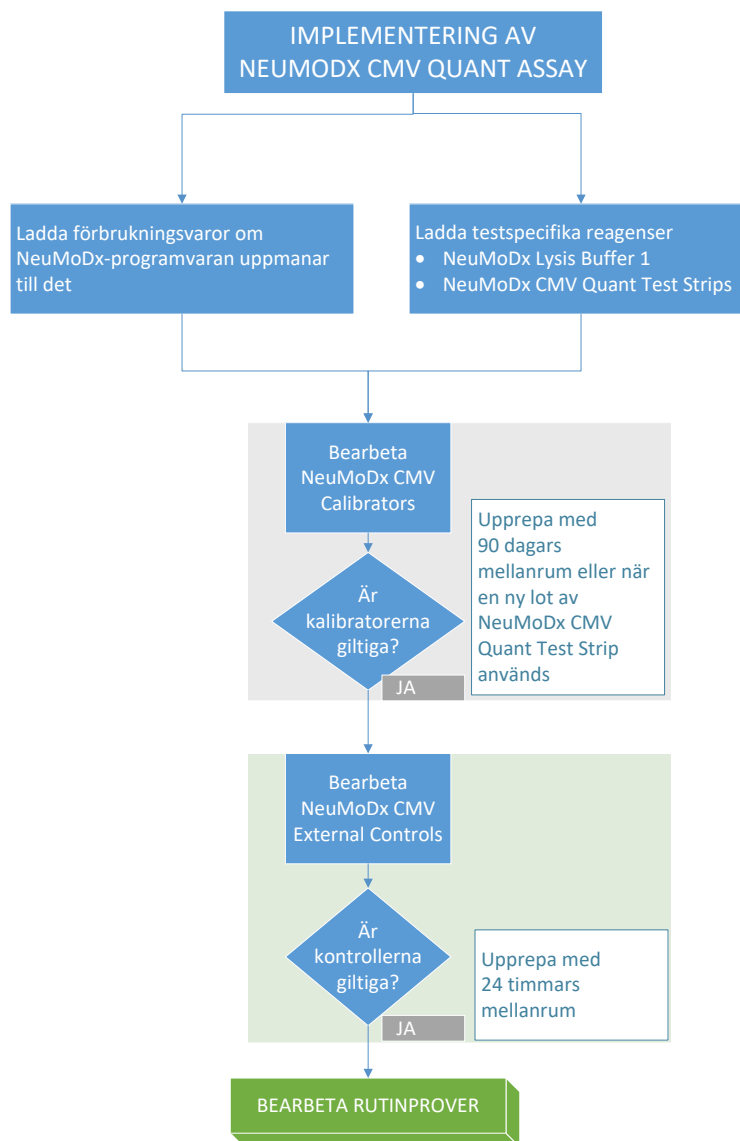


Bild 1: Arbetsflöde för användning av NeuMoDx CMV Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Beredning av test

1. Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Överför  $\geq 1$  mL plasma till det streckkodsmärkta (sekundära) röret med en överföringspipett om carriern för 32 provrör används eller  $> 2$  mL om carriern för 24 provrör används. Se till att inga klumpar överförs från plasmaprovet till provröret. Använd en annan överföringspipett för varje prov.
3. Det sekundära röret måste uppfylla följande rörspecifikationer som är kompatibla med NeuMoDx System på basis av provrörs-carrier som används för bearbetning.
  - Carrier för 32 provrör: mellan 11 mm och 14 mm diameter och mellan 60 mm och 120 mm höjd
  - Carrier för 24 provrör: mellan 14,5 mm och 18 mm diameter och mellan 60 mm och 120 mm höjd

### Användning av NeuMoDx™ System

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 och 96 Molecular System för utförliga anvisningar (art.nr 40600108 och 40600317)

1. Fyll en eller flera NeuMoDx System testremse-carrier(s) med NeuMoDx CMV Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremsecarriern i NeuMoDx System.
2. Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska du tillsätta nödvändiga förbrukningsvaror i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använda pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System.
3. Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska NeuMoDx Wash Reagent eller NeuMoDx Release Reagent bytas, primingsavfallet tömmas eller tunnan för biologiskt avfall tömmas efter behov.
4. Bearbeta kalibratorer [REF 800400] och/eller externa kontroller [REF 900401] om det behövs vid uppmaning i NeuMoDx System-programvaran. Mer information om kalibratorer och kontroller finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
5. Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en vanlig carrier för 32 provrör. Se till att alla provrörslock är borttagna.
6. Sätt provrörs-carrier på en ledig plats på Autoloader-hyllan och använd pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System. Då inleds bearbetningen av de laddade proverna för de angivna testerna.

### BEGRÄNSNINGAR

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip kan bara användas på NeuMoDx System.
- Prestandan för NeuMoDx CMV Quant Test Strip har fastställts för plasmaprover som beretts från helblod som samlats in med EDTA/ACD som antikoagulant. Användning av NeuMoDx CMV Quant Test Strip med andra kliniska provtyper har inte utvärderats och prestandaegenskaperna för testet är okända för andra provtyper.
- Eftersom detektion av CMV är beroende av antalet organismer i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
- Kalibratorer och externa kontroller måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
- Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, lagring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följderna eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under detektionsgränsen för NeuMoDx CMV Quant Assay.
- NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
- Om både CMV- och SPC1-målet inte amplificeras rapporteras ett resultat som ogiltigt (Indeterminate (Obestämt) eller Unresolved (Olöst)). Då ska testet upprepas.
- Om NeuMoDx CMV Quant Assay är positivt, men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx System om detekterad CMV var *under* lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *över* övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Om detekterad CMV var under LLoQ kan analysen med NeuMoDx CMV Quant Assay upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
- Om detekterad CMV var över ULoQ kan analysen upprepas med NeuMoDx CMV Quant Assay och en utspädd alikvot av det ursprungliga provet. Vi rekommenderar en spädning på 1:100 eller 1:1 000 i CMV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen i det ursprungliga provet kan beräknas enligt följande:  
$$\text{Ursprunglig provkoncentration} = \log_{10}(\text{spädningsfaktor}) + \text{rapporterad koncentration av det utspädda provet.}$$
- Sporadisk förekomst av PCR-hämmare i plasma kan orsaka ett kvantifieringsfel i systemet. I så fall rekommenderar vi att testet upprepas med samma prov utspädd i Basematrix i spädningen 1:10 eller 1:100.
- Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av levande organismer. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av cytomegalovirus-DNA.
- Deletioner eller mutationer i de bevarade regionerna av CMV-genom, som är mål för NeuMoDx CMV Quant Assay, kan påverka detekteringen eller ge upphov till felaktiga resultat med NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
- Resultat från NeuMoDx CMV Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som finns tillgänglig för läkaren. Testet är inte avsett för diagnostisering av infektioner.
- God laboratorised inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

### BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken Results (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx Systems pekskärm.

Resultatet av NeuMoDx CMV Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i definitionsfilen till NeuMoDx CMV Assay (CMV ADF). Ett NeuMoDx CMV Quant Assay-resultat kan anges som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapporterad CMV-koncentration, Positive (Positivt) över ULoQ, Positive (Positivt) under LLoQ, Indeterminate (Obestämt) eller Unresolved (Olöst) baserat på amplifieringsstatus för målet och probbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på beslutsalgoritmen i *tabell 1*.

**Tabell 1: Beslutsalgoritm för NeuMoDx CMV Quant Assay**

Resultat	CMV	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (OCH) } EPR > 2 \text{ AND (OCH) } EP \geq 1500]$ ELLER $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (OCH) } EP \geq 1500]$	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Positive (Positivt) över övre kvantifieringsgränsen [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] ( $\log_{10}$ IE/mL)	[CONC (KONC)] $> 8,0 \log_{10}$ IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Positive (Positivt), under lägre kvantifieringsgräns [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] ( $\log_{10}$ IE/mL)	[CONC (KONC)] $< 1,3 \log_{10}$ IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Negative (Negativt)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT) OR (ELLER) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (OCH) } EPR \leq 2]$ ELLER $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (OCH) } EP < 1500]$ OR (ELLER) $Ct > 41$	AMPLIFIERAD ( $28 \leq Ct \leq 34$ ) AND (OCH) $EP \geq 2\ 000$
Indeterminate (Obestämt)	NOT AMPLIFIED/ Systems Errors Noted (ej amplifierad, systemfel upptäcktes)	
Unresolved (Olöst)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (ej amplifierad, inga systemfel upptäcktes)	

EP = slutpunktsfluorescens (efter baslinjekorrektion); EPR = slutpunktsfluorescenskvt;  $C_t$  = tröskelvärde för cykling;  
Quant = beräknad mängd förekommande CMV uttrycks i  $\log_{10}$  IE/mL. Se testberäkning nedan.

### Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx CMV Quant Assay så beräknas koncentrationen av CMV DNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten.
  - En "kalibreringskoefficient" beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx CMV Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx CMV Quant Test Strip i ett specifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoefficienten räknas in i den slutliga bestämningen av koncentrationen av CMV DNA.
- Resultaten av NeuMoDx CMV Quant Assay rapporteras i  $\log_{10}$  IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen av de okända proverna kan spåras till WHO:s femte internationella standard för CMV.

### Testkalibrering

En giltig kalibrering baserad på standardkurvan krävs för att kvantifiera CMV DNA i proven. För att resultaten ska bli giltiga måste en testkalibrering utföras med kalibratorer från NeuMoDx Molecular, Inc.

### Externa kalibratorer

- NeuMoDx CMV Calibrators levereras i en sats [REF 800400] och innehåller icke-infekterat inkapslat CMV-mål utspätt i Basematrix.
- En uppsättning CMV-kalibratorer behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx CMV Quant Test Strips, eller om en ny CMV-analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx System, eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar), eller om programvaran i NeuMoDx System förändras.
- Programvaran i NeuMoDx System meddelar användaren om när kalibratorerna behöver bearbetas. En ny lot med testremсор kan inte användas innan kalibratorerna har bearbetats utan fel.

4. Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
  - a) En uppsättning med två kalibratorer – hög och låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
  - b) Minst två av de tre replikaten måste ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna för att resultaten ska bli giltiga. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är  $3 \log_{10}$  IE/mL och för hög kalibrator  $5 \log_{10}$  IE/mL.
  - c) En kalibreringskoefficient beräknas för att kompensera för förväntad variation mellan testremsloter. Kalibreringskoefficienten används vid bestämningen av slutlig CMV-koncentration.
5. Om en eller bägge kalibratorer inte godkänns av validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator inte valideras så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratoren eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna igen.
6. Kontakta NeuMoDx Molecular, Inc. om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen igen.

### Kvalitetskontroll

Lokala föreskrifter anger vanligen att laboratoriet är ansvarigt för kontrollrutiner som övervakar noggrannheten och precisionen i hela den analytiska processen och måste fastställa antalet, typen av och frekvensen för testning av kontrollmaterial med hjälp av prestandaspecifikationer för ett omodifierat, godkänt testsystem.

### Externa kontroller

1. Externa kontrollmaterial som innehåller icke-infekterat inkapslat CMV-mål i Basematrix för positiva kontroller tillhandahålls av NeuMoDx Molecular, Inc. i en sats som innehåller NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401].
2. Positiva och negativa externa kontroller behöver bearbetas en gång var 24:e timme. Om inga giltiga externa kontrolluppsättningar finns begär NeuMoDx System-programvara användaren att tillhandahålla dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
3. Om externa kontroller krävs ska du hämta uppsättningen externa kontroller från frysen och låta flaskorna tina vid rumstemperatur (15–30 °C) tills de är helt tinade. Vortexblanda varsamt så att proven blir homogena.
4. Ladda ampullerna med de positiva och negativa kontrollampullerna i NeuMoDx System via pekskärmen och en provrörs-carrier på Autoloader-hyllan. NeuMoDx System identifierar streckkoden och börjar bearbeta provrören, förutsatt att lämpliga reagenser eller förbrukningsvaror som krävs för testning är tillgängliga.
5. Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge ett CMV Positive (positivt) resultat och den negativa kontrollen ett CMV Negative (negativt) resultat.
6. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
  - a) Ett positivt testresultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
  - b) Ett negativt testresultat som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns ett reagens- eller instrumentrelaterat problem.
  - c) I båda fallen ska NeuMoDx CMV External Control testas igen från nytinade ampuller med kontrollen om valideringstestet misslyckas.
  - d) Om den positiva NeuMoDx CMV External Control återigen ger ett Negative (Negativt) resultat ska du kontakta kundtjänst hos NeuMoDx.
  - e) Om den negativa NeuMoDx CMV externa kontrollen återigen ger ett positivt resultat: försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byta ALLA reagenser innan du kontaktar kundtjänst hos NeuMoDx.

### Provprocesskontroller (interna)

En exogen provbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC1) inkluderas i NeuMoDx Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-PCR-amplifiering med varje prov. SPC1-specifika primrar och prob inkluderas också i varje NeuMoDx CMV Quant Test Strip. Därmed kan närvaron av SPC1 detekteras tillsammans med CMV mål-DNA (i förekommande fall) via multiplex realtids-PCR. Detektering av SPC1-amplifiering gör att programvaran i NeuMoDx System kan övervaka effektiviteten hos DNA-extraktion och PCR-amplifieringsprocesserna.

### Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx CMV Quant Assay som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat rapporteras det som antingen Indeterminate (Obestämt) (IND) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

Ett IND-resultat rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts under provbearbetningen. Om ett IND-resultat rapporteras rekommenderas ett omtest.

Ett UNR-resultat rapporteras om ingen giltig amplifiering av CMV DNA eller SPC1 identifieras, vilket indikerar ett möjligt reagensfel eller att det finns hämmare. Om ett UNR-resultat rapporteras kan ett omtest genomföras som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell provhämning.

### PRESTANDAEGENSKAPER

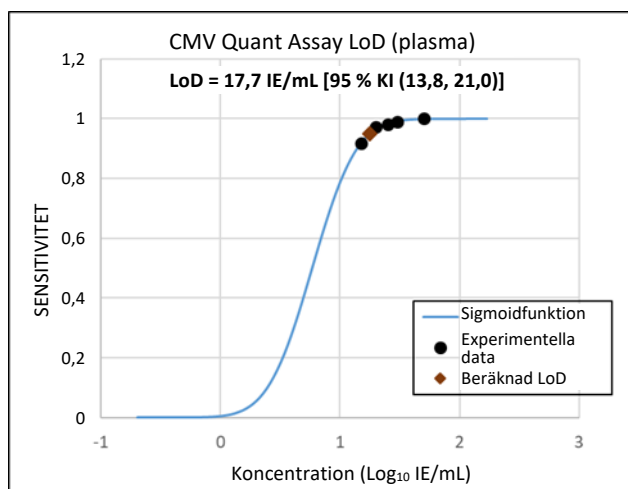
#### Analytisk sensitivitet – detektionsgräns enligt WHO-standard

Den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx CMV Quant Assay bestämdes genom att testa negativa prover och en spädningsserie enligt WHO:s första internationella standard i screenad negativ human plasma för att fastställa detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx System. LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på 95 %, vilket fastställdes av probitanalysen. Undersökningen utfördes i tre dagar med flera system och flera loter med NeuMoDx-reagenser. Varje system behandlade 18 replikat vid varje spädningsnivå per dag. Detektionsnivåerna visas i *tabell 2*.

**Tabell 2:** Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx CMV Quant Assay

Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [ $\log_{10}$ IE/mL]	PLASMA		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
50	1,70	108	108	100,0 %
30	1,48	108	107	99,1 %
25	1,40	108	106	98,1 %
20	1,30	108	105	97,2 %
15	1,18	108	99	91,7 %
NEG	---	108	0	0,0 %

LoD för NeuMoDx CMV Quant Assay i plasma för varianten gB1 fastställdes till 17,7 IE/mL (1,25  $\log_{10}$  IE/mL) med 95 % konfidensintervall (KI) på 13,8–21,0 IE/mL, (1,14–1,32  $\log_{10}$  IE/mL) [*bild 2*]. LoD för genotyper fastställdes vid 20,0 IE/mL (1,30  $\log_{10}$  IE/mL) enligt träffrekvensanalysen.



**Bild 2:** Probitformatanalys användes för att fastställa LoD för NeuMoDx CMV Quant Assay i plasmaprover

#### Analytisk sensitivitet – kvantifieringsgräns– lägre kvantifieringsgräns (LLOQ)

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) definieras som den lägsta målnivån där > 95 % detektion uppnås OCH totalt analytiskt fel (Total Analytical Error, TAE)  $\leq 1,0$ . För att fastställa LLoQ beräknades det totala analytiska felet (Total Analytical Error, TAE) för var och en av målnivåerna för CMV som rapporterade > 95 % detektion som en del av LoD-beräkningen. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

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

Bias är absolutvärdet för skillnaden mellan medelvärdet av den beräknade koncentrationen och den förväntade koncentrationen. SD avser standardavvikelsen för det kvantifierade värdet för provet.

Sammanställda resultat för de fem nivåerna av CMV (variant gB1) plasmaprover som användes i LLoQ-studien visas i *tabell 3*. Baserat på den här datauppsättningen och tidigare bestämd LoD fastställdes LLoQ till 20,0 IE/mL (1,30  $\log_{10}$  IE/mL) och bekräftades sedan för flera genotyper.



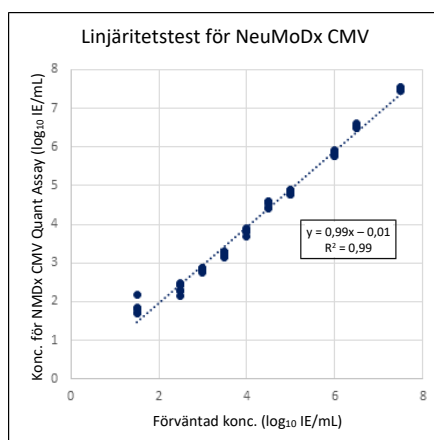
**Tabell 3:** NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ med Bias och TAE

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

Baserat på utfallen av de här studierna bestämdes LoD och LLoQ för NeuMoDx CMV Quant Assay till 20,0 IE/mL [1,30 log<sub>10</sub> IE/mL].

### Linjäritet och bestämning av övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULOQ)

Linjäritet och övre kvantifieringsgräns (ULOQ) hos NeuMoDx CMV Quant Assay fastställdes i plasma genom att förbereda en spädningsserie med NeuMoDx inkapslade CMV-mål och Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med fastställd spårbarhet till WHO:s första internationella standard. En panel med 9 deltagare preparerades i poolad CMV-negativ plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 8 till 1,7 log<sub>10</sub> IE/mL. ULOQ för NeuMoDx CMV Quant Assay fastställdes till 8,0 log<sub>10</sub> IE/mL. De CMV-analyskoncentrationer som NeuMoDx System rapporterat jämfört med de förväntade värdena presenteras i *bild 3*.

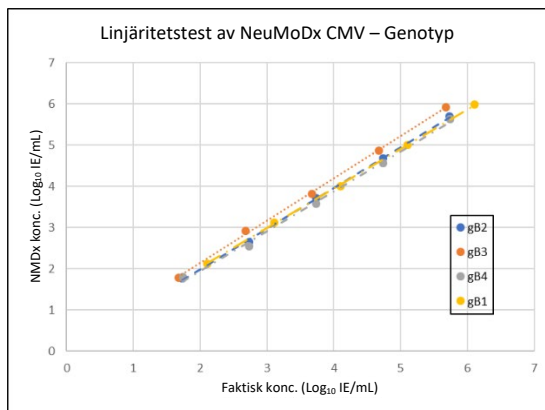

**Bild 3:** Linjäritet hos NeuMoDx CMV Quant Assay

### Linjäritet över genotyper

Linjäriteten hos NeuMoDx CMV Quant Assay för fyra CMV-genotyper (gB1, gB2, gB3 och gB4) bestämdes genom att testa minst fem olika koncentrationer av varje genotyp av CMV preparerade i poolad CMV-negativ plasma. Nivåerna för CMV-målen som testades i den här studien var beroende av koncentrationen av källprovet och skilde sig därmed mellan genotyper. Studien utfördes genom att testa 6 replikat av var och en av 4 genotyper i 5 koncentrationer. Linjäriteten för fyra CMV-genotyper visas i *tabell 4* och *bild 4*.

**Tabell 4:** Linjäritet hos NeuMoDx CMV Quant Assay över genotyper

Genotyp	Linjäritetsekvation y = NeuMoDx CMV Assay Quantitation x = Förväntat kvantifiering	R <sup>2</sup>
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



**Bild 4:** Linjäritet hos NeuMoDx CMV Quant Assay över genotyper

### Analytisk specificitet – korsreaktivitet

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 35 organismer som kan finnas i blod- och plasmaprover och prover som fylogenetiskt liknar CMVi korsreaktivitetssyfte. Organismerna bereddes i pooler på 5–6 organismer vardera och testades vid hög koncentration. De testade organismerna visas i *tabell 5*. Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabell 5:** Patogener som används för att demonstrera analytisk specificitet

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

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, kommensala organismer

NeuMoDx CMV Quant Assay utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med hjälp av samma organismpooler som förberetts för korsreaktivitetstestningen som beskrivs ovan i *tabell 5*. Negativ CMV-plasma spetsades med organismerna och poolades i grupper om 4–7 och spetsades också med CMV-mål i en koncentration av  $3 \log_{10}$  IE/mL. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här kommensala organismerna vilket visas av den minimala avvikelsen i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent.

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, endogena och exogena substanser

NeuMoDx CMV Quant Assay utvärderades vid närvaro av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i CMV-kliniska plasmaprover. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala läkemedel, vilka klassificerats i *tabell 6*. Varje substans tillsattes till screenad CMV-negativ humant plasma som spetsades med  $3 \log_{10}$  IE/mL CMV, och proverna analyserades med avseende på interferens. Dessutom interferenstestades plasma som smittats med vanliga sjukdomar kopplade till infektion med CMV. Den genomsnittliga koncentrationen och bias för alla substanser som testats jämfört med kontrollproverna spetsades med samma nivå CMV rapporteras i *tabell 7*. Inga av de exogena eller endogena substanserna påverkade specificiteten hos NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabell 6:** Interferenstestning – exogena ämnen (läkemedelsklassificeringar)

Pool	Läkemedelsnamn	Klassificering	Pool	Läkemedelsnamn	Klassificering
Pool 1	Azathioprin	Immunsuppressivum	Pool 4	Trimethoprim	Antibiotika
	Cyklosporin	Immunsuppressivum		Vankomycin	Antibiotika
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Tacrolimus	Immunsuppressivum
	Ganciklovir	Antiviral (CMV)		Everolimus	Immunsuppressivum
	Valganciclovir hydrochloride	Antiviral (CMV)		Clavulanate potassium	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Kortikosteroid/Immunsuppressivum	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfametoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektrum)		Valacyclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektrum)		Letermovir	Antiviral (CMV)
	Flukonazol	Antifungal		Ticarcillin disodium	Antibiotika
Pool 3	Mykofenolatmofetil	Immunsuppressivum	Leflunomid	Immunsuppressivum	
	Mycophenolate sodium	Immunsuppressivum			
	Piperacillin	Antibiotika			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsuppressivum			
	Tazobaktam	Modifierad antibiotika			

**Tabell 7:** Interferenstestning – exogena och endogena medel

Endogena	Snittkonc.	Bias
	log <sub>10</sub> IE/mL	log <sub>10</sub> IE/mL
Hemoglobin	2,97	0,07
Triglycerider	3,03	0,13
Bilirubin	3,01	0,11
Albumin	2,88	-0,02
Exogena (läkemedel)	Snittkonc.	Bias
	log <sub>10</sub> IE/mL	log <sub>10</sub> IE/mL
Pool 1: Azathioprin, Cyklosporin, Foscarnet, Ganciklovir, Valganciclovirhydroklorid	2,88	-0,02
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Flukonazol	2,91	0,01
Pool 3: Mycophenolate mofetil, Mycophenolate sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	2,98	0,08
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanate potassium	3,05	0,15
Pool 5: Famotidine, Sulfamethoxazole, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomide	2,87	-0,03
Sjukdomstillstånd	Snittkonc.	Bias
	log <sub>10</sub> IE/mL	log <sub>10</sub> IE/mL
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	3,04	0,14
Reumatoid artrit	2,99	0,09

### Precision inom labbet

Precisionen för NeuMoDx CMV Quant Assay fastställdes genom att testa 3 replikat i en panel med 4 medlemmar med CMV-prover beredda med Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) två gånger per dag, med två NeuMoDx 288 System och ett NeuMoDx 96 System under 12 dagar. Precisionerna inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den övergripande standardavvikelsen fastställdes till  $\leq 0,15 \log_{10}$  IE/mL. Utmärkt precision demonstrerades mellan system, dagar eller körningar som det visas i *tabell 8*. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System.

**Tabell 8:** Precision inom labbet – NeuMoDx CMV Quant Assay på NeuMoDx Systems

CMV, målkonc. [ $\log_{10}$ IE/mL]	CMV, snittkonc. [ $\log_{10}$ IE/mL]	SD inom system	SD inom dag	SD inom körning	Övergripande (Inom labb) SD
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

### Reproducerbarhet lot till lot

Reproducerbarhet från lot till lot för NeuMoDx CMV Quant Assay bestämdes med tre olika loter av nyckelreagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates och NeuMoDx CMV Quant Test Strips. En 4-medlemspanel av CMV preparerad med Exact CMV Control användes för att bedöma prestandan. Testen utfördes med de tre reagensloterna på tre system under 6 dagar. Variationen inom och mellan loter analyserades och resultaten presenteras i *tabell 9*. Maximal övergripande bias var  $0,12 \log_{10}$  IE/mL och maximal övergripande standardavvikelse var  $0,39 \log_{10}$  IE/mL. Likvärdig prestanda demonstrerades mellan loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

**Tabell 9:** Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx CMV Quant Assay

CMV, målkonc. [ $\log_{10}$ IE/mL]	CMV, snittkonc. [ $\log_{10}$ IE/mL]	N (Giltiga resultat per lot)	Bias	Mellan lot SD	SD inom lot	Övergripande SD
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

### Kontrolleffektivitet

SPC1 ingår i NeuMoDx CMV Quant Assay för att rapportera processtegfel eller hämmande som påverkar metodens prestanda. Effektiviteten testades under förhållanden som är representativa för kritiska processtegsfel som kan uppstå vid provbearbetning och som *eventuellt inte detekteras* av sensorerna som övervakar prestandan för NeuMoDx System. Positiva ( $3 \log_{10}$  IE/mL) och negativa prover utmanades i närvaron av en kontroll under följande förhållanden: närvaro av hämmare, ingen wash-lösning levererad och ingen wash-utblåsning. Ineffektiviteter hos processen som hade en negativ inverkan på detektion/-kvantifiering av CMV speglades av prestandan för SPC1-målet som det visas i *tabell 10*. I alla testade instanser kunde det visas att provprocesskontrollen på ett adekvat sätt fångade upp de ineffektiva processdelarna eller eventuell hämmarnärvaro eller också att den förväntade processineffektiviteten inte signifikant försämrade SPC1-detekteringen eller detekteringen/kvantifieringen av CMV. SPC1 övervakade därmed analysprestanda för NeuMoDx System framgångsrikt.

**Tabell 10:** Effektivitet hos provprocesskontrollen

Testat processtegfel	Status för processkontrollamplifiering 1 för prov	Status för CMV-målamplicifiering	Analysresultat
Presence of Inhibitor (Närvaro av hämmare)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Delivered (Ingen sköljning tillförd)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Blowout (Ingen Wash-utblåsning)	Amplified (Amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	Positive (Positivt) med kvantifiering inom $0,3 \log_{10}$ IE/mL med kontroll

### Frekvens av giltiga resultat

En retrospektiv analys av data som erhöles under prestandautvärderingen av NeuMoDx CMV Assay på NeuMoDx Systems användes för bestämning av procentandelen giltiga resultat. Giltiga testresultat rapporteras som Positive (Positivt) (POS) eller Negative (Negativt) (NEG); ogiltiga testresultat kan anges antingen som Indeterminate (Obestämt) (IND) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på status för amplifiering för målet och provprocesskontrollen. Ett IND-resultat orsakas vanligtvis av instrumentfel som leder till att målet och/eller den interna processkontrollen inte amplifieras. Ett UNR-resultat tilldelas prover när både målet och den interna processkontrollen inte amplifieras i frånvaro av ett detekterat instrumentfel. Det fanns 1 100 individuella NeuMoDx CMV Quant Assay-resultat inkluderade i den retrospektiva analysen, som inkluderade data erhållna på både NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 System. UNR-frekvensen bestämdes till 0,91 % (10/1100) och IND-frekvensen bestämdes till 0,36 % (4/1100), vilket uppfyller acceptanskriterierna för analysen. Därför antogs frekvensen av giltiga resultat för NeuMoDx CMV Assay på NeuMoDx System vara 98,7 % med 95 % KI (97,9–99,2).

### Korskontaminering

Korskontamineringshastigheten för NeuMoDx CMV Quant Assay fastställdes genom testning av tre uppsättningar CMV-prov med alternerande höggradigt positiva och negativa prover. Totalt omfattade detta testning av 108 replikat av CMV-negativplasma och 108 replikat av spetsad CMV-plasma vid 6,0 log<sub>10</sub> IE/mL. Alla 108 replikaten av det negativa provet rapporterades som negativa, vilket visar att ingen korskontaminering förekom under provbearbetning i NeuMoDx System.

### Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att påvisa likvärdighet för provmatrisen mellan helblod som samlats i både provrör med etylendiamintetraättiksyra (ethylendiaminetetraacetic acid, EDTA) och sur citratdextros (acid citrate dextrose, ACD) för beredning av plasma. Ytterligare tester utfördes för att fastställa likvärdigheten mellan färska och frysta plasmaprover (insamlade i de två provrörtyperna). Färska prover förvarades vid 4 °C tills de spetsades med tre nivåer CMV och ekvivalenstestades. Därefter frystes proverna i minst 24 timmar vid -20 °C. Efter den här perioden av fryst förvaring så tinades proverna och testades om. Resultaten från färska kontra frysta plasmaprover liksom EDTA- kontra ACD-plasmaprover jämfördes för ekvivalens med regressionsanalys. Data uppvisade utmärkt jämförbarhet mellan EDTA- och ACD-plasmaprover och färska och frusna plasmaprover med en lutning inom 0.02 av 1,0 och mycket låg bias (skärningspunkt), såsom visas i *tabell 11* nedan.

**Tabell 11:** Provmatrisekvivalens

Parameterkrav	ACD jämfört med K2EDTA		Färskt jämfört med fryst	
	Färskt	Fryst	ACD	EDTA
Lutning [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Skärningspunkt [ $<0,5 \log_{10}$ IE/mL]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
$p$ -värde $> 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

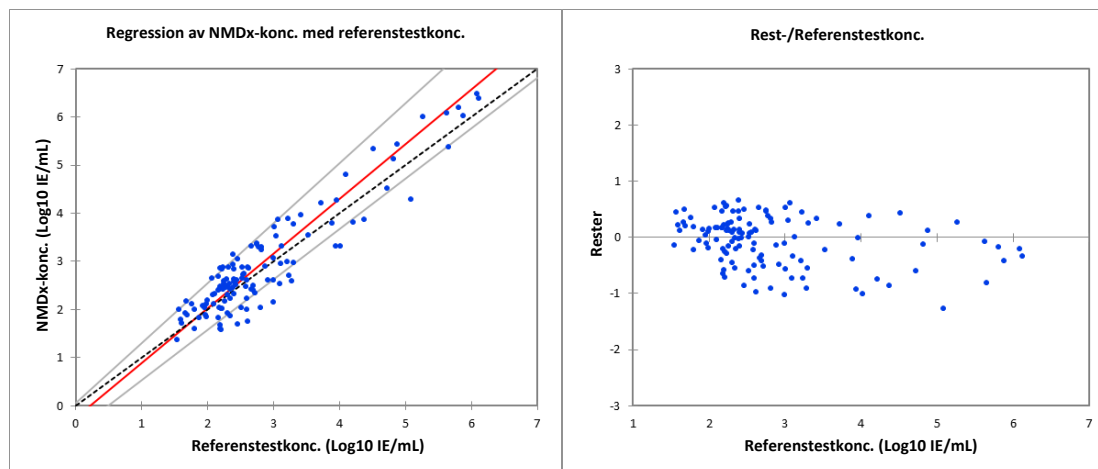
### Jämförelse av klinisk metod

Kvantitativ prestanda hos NeuMoDx CMV Quant Assay utvärderades mot FDA-/CE-godkända jämförelseanalyser genom att testa ospädda kliniska prov från CMV-infekterade patienter. Test utfördes internt hos NeuMoDx med en enkelblindad studie på anonymiserade, kvarvarande kliniska prover som erhållits från fyra externa referenslaboratorier. Totalt 284 plasmaprover bearbetades med NeuMoDx CMV Quant Assay på ett (enkel)blindat sätt på flera NeuMoDx Molecular System.

Bearbetnings- och systemfelen som erhöles över NeuMoDx Molecular System var minimala och uppfyllde kriterierna. Sammanlagt 3 resultat med Indeterminate (Obestämt) (IND) erhöles för proverna, vilket resulterade i en övergripande initial IND-frekvens på 1 % med 95 % KI (0,27–3,32 %). Det fanns inte tillräckligt med volym för att ombearbeta dessa 3 prover under det normala arbetsflödet. Det erhöles ursprungligen 10 resultat med Unresolved (Olöst) (UNR), men enligt CMV Quant Assays rekommenderade procedur för en 1:10-spädning i Basematrix för UNR-resultat erhöles giltiga resultat vid upprepad testning av alla 10 UNR-prover som späts ut på lämpligt sätt. Därför var den totala felfrekvensen för bearbetningen 1,06 % med 95 % KI (0,27 %–3,3 %) på grund av resultat med Indeterminate (Obestämt) som inte kunde testas igen på grund av otillräcklig volym.

Det fanns 4 prover som genererade en kvantifieringsfelflagga och 3 av dessa 4 kunde testas om enligt den rekommenderade proceduren med en 1:10-spädning av provet i Basematrix för att erhålla ett giltigt kvantitativt resultat. Av de 283 giltiga resultat som erhöles i studien rapporterades 129 prover som positiva av NeuMoDx CMV Assay med motsvarande koncentrationvärden som tilldelats av referenstesterna. För sex av dessa prover rapporterades fem under LLoQ och ett rapporterades över ULoQ med hjälp av referenstestet, och därför hade sammanlagt 123 prov motsvarande koncentrationvärden som tilldelats av både NeuMoDx CMV Quant Assay och referens CE-IVD-testerna och användes för kvantitativ korrelationsanalys. Deming-regressions- och Passing-Bablok-regressionsanalyser användes för att korrelera mellan koncentrationvärdena för NeuMoDx CMV Assay och de värden som rapporterats av referenstesterna.

Ekvivalensdiagram genererades för att representera korrelationen mellan NeuMoDx CMV Quant Assay-koncentrationerna och referenstestkoncentrationvärdena för alla prover som testades med Deming-regressionsanpassningen och Passing-Bablok-regressionsanpassningen, såsom visas i *bild 5*.



**Bild 5:** Diagram över ekvivalens (till vänster) och rester (till höger) – Kumulativ analys (över båda NeuMoDx Systems) av NeuMoDx CMV Quant Assay-resultat jämfört med referenstestresultat för ALLA prover baserat på Passing-Bablok-regressionsanalys.

Kvaliteten på Deming-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 1,1 med 95 % KI (1,0, 1,2) och en skärningspunkt på -0,18 med 95 % KI (-0,39, 0,03), vilket visar att de koncentrationsresultat som erhållits mellan NeuMoDx CMV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias. Kvaliteten på den linjära Passing-Bablok-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 1,1 med 95 % KI (1,0, 1,2) och en skärningspunkt på -0,24 med 95 % KI (-0,51, 0,06), vilket visar att de koncentrationsresultat som erhållits mellan NeuMoDx CMV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias, vilket framgår av tabell 12.

**Tabell 12:** Sammanfattning av linjär regressionsanalys enligt Deming och Passing-Bablok

Deming-analys		Passing-Bablok-analys	
Skärningspunkt	Lutningskoefficient	Skärningspunkt	Lutningskoefficient
-0,18	1,1	-0,24	1,1
95 % KI (-0,39, 0,03)	95 % KI (1,0, 1,2)	95 % KI (-0,51, 0,06)	95 % KI (1,0, 1,2)

## REFERENSER

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

## VARUMÄRKEN
















NeuMoDx™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

Alla andra produktnamn, varumärken och registrerade varumärken som förekommer i detta dokument tillhör sina respektive ägare.

### SYMBOLER

SYMBOL	BETYDELSE
	Enbart med recept
	Tillverkare
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
	Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen
	Katalognummer
	Batchkod
	Utgångsdatum
	Temperaturbegränsning
	Luftfuktighetsgräns
	Får ej återanvändas
	Innehållet räcker till <n> tester
	Läs bruksanvisningen
	Iakttag försiktighet
	Biologiska risker
	CE-märkning

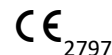


NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108 USA

Sponsor (AUS):  
QIAGEN Pty Ltd  
Level 2 Chadstone Place  
1341 Dandenong Rd  
Chadstone VIC 3148  
Australien



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
Nederländerna



Teknisk support/Vaksamhetsrapportering: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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