

REF 201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0

R only

IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA

IVD För *in vitro*-diagnostisk användning i NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Gå till www.qiagen.com/neumodx-ifu för uppdaterade bipacksedlar.

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 EBV Quant Assay 2.0 är en automatisk metod för nukleinsyreamplifiering *in vitro* för kvantifiering av Epstein-Barr-virus (EBV) DNA i EDTA plasma från immunkomprometterade patienter.

Med NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 som används i NeuMoDx 288 Molecular System och NeuMoDx 96 Molecular System utförs automatisk DNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från prov och använder realtids-PCR för att söka upp de två i hög grad bevarade områdena i EBV-genomet.

Denna analys är avsedd för att övervaka EBV DNA-nivåer i perifert blod för att bedöma svar på behandling. Denna analys är avsedd för användning tillsammans med klinisk presentation och andra laboratoriemarkörer för sjukdomsförlopp för klinisk hantering och övervakning av EBV-infektion.

Denna analys är inte avsedd för användning som ett screeningtest för förekomst av EBV DNA i blod eller blodprodukter. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 är avsedd för användning av utbildad laboratoriepersonal med särskild utbildning om tekniker för realtids-PCR och *in vitro*-diagnostiska rutiner och/eller NeuMoDx Molecular System. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 är inte avsedd för självtestning eller vid patientnära vård (point-of-care).

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Humant helblod samlas in i sterila blodprovtagningsrör innehållandes EDTA som en antikoagulant för förberedande av plasma. Påbörja testningen genom att placera plasman i ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i en provrörs-carrier och laddas på NeuMoDx Systems-arbetsbordet. För varje prov blandas en 550 µL-alkvot av plasmaprovet 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 (två i höggradigt konserverade regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 inkluderar en DNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) för att underlätta övervaka närvaron av potentiellt hämmande substanser och NeuMoDx System- eller reagensfel som kan påträffas under extraktions- och amplifieringsprocesserna.

EBV är ett vanlig dubbelsträngat DNA-virus i den humana herpesvirusfamiljen som smittar personer i alla åldrar. Det uppskattas att > 90 % av individer världen över smittas eller har smittats av EBV.¹ EBV som sprids genom kroppsvätskor som saliv, blod, sperma och organtransplantationer. Många människor smittas av EBV i barndomen. Dessa individer är vanligtvis asymptomatiska när de infekteras med EBV. Immunokomprometterade personer kan utveckla svårare symptom och komplikationer från EBV-infektion. Latent EBV-infektion utgör den största risken för patienter efter transplantation. Lymfoproliferativa störningar (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLD) efter transplantation inkluderar EBV-driven tumörbildning i B-celler på grund av en effekt av immunsuppressiva medel på immunkontrollen av EBV, en av de viktigaste orsakerna till morbiditet och dödlighet hos patienter som genomgår någon form av organtransplantation.²

EBV-viral belastningsövervakning är ett hjälpmedel för att ställa diagnos av EBV-associerad PTLD och hantera detta. Diagnosen måste dock baseras på en biopsi. EBV-viral belastningsövervakning kan även användas för att bedöma svar på EBV-associerad PTLD-behandling, vanligtvis bestående av Rituximab och minskning av immunsuppressiv behandling.³

PRINCIPER FÖR RUTINEN

I NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 på NeuMoDx System används NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 och NeuMoDx allmänna reagenser för att utföra analysen. Med NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kombineras automatisk DNA-extraktion, amplifiering och detektering med realtids-PCR. Helblodsprover samlas in i EDTA-provrör för preparering av plasma. Plasmaprovet i ett NeuMoDx System-kompatibelt provrör läggs i en provrörs-carrier och laddas i arbetsbordet för NeuMoDx System för bearbetning. Inga andra användaråtgärder behövs.

NeuMoDx Systems använder en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk cellysering, DNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorna fångas upp av magnetiska affinitetsmikrosfärer. Mikrosfärerna med de bundna nukleinsyrorna, laddas i NeuMoDx Cartridge där obundna, icke-DNA-komponenter tvättas bort ytterligare med NeuMoDx Wash Reagent och den bundna DNA elueras med hjälp av NeuMoDx Release Reagent. I NeuMoDx Systems används sedan den eluerade DNA:n för att rehydrera patenterad NeuDry™ amplifieringsreagenser som innehåller alla komponenter som behövs för PCR-amplifiering av de EBV- och SPC1-specifika målen. Efter rekonstituering av NeuDry PCR-reagenserna dispenserar den beredda PCR-klara blandningen i NeuMoDx System till en NeuMoDx Cartridge. Amplifiering och detektering av kontroll- och mål-DNA-sekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammardelen i NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge är konstruerad för att rymma amplikon efter realtids-PCR och eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 riktar sig mot två höggradigt konserverade regioner, BALF5 och BXFL1 i EBV-genomet. Den dubbla måltutformningen minskar risken för falska negativa händelser vid mutation i, en målregion, vilket ökar analysens robusthet. De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolysisproblemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogena oligonukleotid-problemolekyler specifika för amplikonerna 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 quencher nära varandra, vilket leder till att quenchermolekylen binder 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. Allteftersom 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. Försämring av proben frigör fluoroforenen från den och orsakar förlust av den nära bindningen till quencher och övervinner dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforens fluorescens. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras är direkt proportionerlig med frigjord fluoroforen och går att korrelera med mängden aktuella mål-DNA.

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 båda EBV DNA-mål. För detektion av SPC1 är TaqMan-proben märkt med alternativt fluorescerande färg (excitering: 535 nm och emission: 556 nm) vid 5'-änden och en mörk quencher vid 3'-änden. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescenssignal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyseras data i NeuMoDx System-programvaran och rapporterar ett resultat (POSITIVE (Antal positiva)/NEGATIVE (Antal negativa)/INDETERMINATE (Obestämt)/NO RESULT (Inget resultat)). Om ett resultat är POSITIVE (positivt) genererar NeuMoDx System-programvaran också ett kvantitativt värde för provet eller rapporterar om den beräknade koncentrationen är utanför det linjära området.



REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

Material som medföljer

REF	Innehåll	Enheter per förpackning	Tester per enhet	Tester per förpackning
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 <i>Torkade RT-PCR-reagenser som innehåller EBV- och SPC1-specifika TaqMan-prober och primrar.</i>	6	16	96

Material som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från QIAGEN)

REF	Innehåll
800501	NeuMoDx EBV Calibrators <i>EBV hög kalibrator och låg kalibrator för engångsbruk, för fastställning av standardkurvas giltighet (1 ampull för varje kontroll = en uppsättning)</i>
900502	NeuMoDx EBV External Controls <i>Uppsättningar av EBV låg positiva, högt positiva och negativa kontroller för engångsbruk för daglig fastställning av validiteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 (1 ampull per kontroll = 1 uppsättning)</i>
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II-spetsar (300 µL) med filter
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II-spetsar (1000 µL) med filter

Instrument som behövs

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

NeuMoDx System-programvara, version 1.9.2.6 eller senare



VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 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 NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800501]) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502] måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
- Den minsta provvolymen för sekundära alikvoter av EDTA-plasma anges i avsnitt Testberedning. Volym som är mindre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- Användning av prover som har förvarats vid fel temperatur eller längre än den angivna förvaringstiden kan leda till felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller ribonukleas (DNase) av reagenserna eller förbrukningsvarorna. Användning av sterila, DNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas vid användning av sekundära provrör. 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 EBV Quant Test Strip 2.0, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockar och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Bär rena, puderfria nitrilhandskar vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och förbrukningsvaror. Rör inte vid ovansidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 och NeuMoDx Extraction Plate eller ovansidan av NeuMoDx Lysis Buffer ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad medföljer varje reagens (i förekommande fall) på www.giagen.com/neumodx-ifu.
- 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 är smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner såsom de som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ och CLSI-dokument M29-A4.⁵
- Bär lämplig labbrock, skyddsglasögon och engångshandskar vid hantering av kemikalier. Se relevanta säkerhetsdatablad för mer information.
- Kassera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter. Följ rekommendationerna i säkerhetsdatabladen.

NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



Innehåller borsyra. Fara! Orsakar allvarlig ögonirritation. Kan påverka fertiliteten eller skada det ofödda barnet. Inhämta särskilda instruktioner före användning. Använd inte produkten innan du har läst och förstått samtliga säkerhetsanvisningar. Använd skyddshandskar/skyddsrock/skyddsglasögon/skyddsmask. Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp. Förvara på låst plats. Kassera innehållet/behållaren på en godkänd återvinningsstation.

Nödinformation

CHEMTREC

Utanför USA och Kanada: +1 703 527 3887



PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 är stabila i primärförpackningen till och med det utgångsdatum som står på den inre produktetiketten om de förvaras vid 15–28 °C.
2. Efter laddning kan NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 lämnas kvar i NeuMoDx System i 14 dagar. Återstående hållbarhet för de laddade testremorna övervakas via programvaran och rapporteras till användaren i realtid. Systemet kommer att uppmana användaren att ta bort testremor som har gått ut.
3. Även om NeuMoDx EBV Calibrators och NeuMoDx EBV External Controls inte är smittsamma bör oanvänt material kasseras som biologiskt avfall för att minska risken för kontaminering.

INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

Hantera alla prover som potentiella smittbärare.

1. Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
2. Plasmaprov ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA som antikoagulerande medel. Följ anvisningarna från tillverkaren av provtagningsrören.
3. 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.
4. 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 frys.
5. Preparerade plasmaprover ska förvaras vid 2 °C till 8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar i rumstemperatur.
6. Preparerade plasmaprover får förvaras –20 °C i upp till 8 veckor. Frysning/tining av plasmaprover får utföras högst 2 gånger innan användning.
 1. Om proverna är frusna ska du låta dem tina till rumstemperatur (15–30 °C) och vortexblanda så att de blir homogena. Se till att proven uppnått rumstemperatur innan du utför testet.
 2. Upptinade frysta prov måste testas inom 8 timmar.
7. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.

BRUKSANVISNING

Beredning av test

1. Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt beskrivningen nedan.
2. Överför en aliquot av provet till det streckkodsmärkta provröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt de volymer som definieras nedan:
3. För plasmaprover:
 - Provrörs-carrier (32 provrör): 11–14 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym $\geq 750 \mu\text{L}$
 - Provrörs-carrier (24 provrör): 14,5–18 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym $\geq 1100 \mu\text{L}$
 - Minsta provvolym för provrörs-carrier (32 provrör): 1,5 mL mikrocentrifugrör med konisk botten; minsta provvolym $\geq 650 \mu\text{L}$

Användning av NeuMoDx System

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

1. Fyll en eller flera NeuMoDx System Test Strip Carrier(s) med NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) 2.0 och använd pekskärmen för att ladda testremse-carrier i NeuMoDx System.
2. Vid uppmaning i NeuMoDx Systems-programvaran ska nödvändiga förbrukningsvaror tillsättas i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använd pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System.
3. Vid uppmaning i NeuMoDx System-programvaran ska du ersätta NeuMoDx Wash Reagent och NeuMoDx Release Reagent, tömma primningsavfallet eller behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 288 Molecular System), tippa avfallsbehållaren (endast NeuMoDx 96 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System) enligt uppmaningen.
4. Bearbeta kalibratorer [REF 800501] och/eller externa kontroller [REF 900502] om det behövs vid uppmaning i NeuMoDx System-programvaran. Mer information om kalibratorer och kontroller finns i avsnittet *Resultatbearbetning*.
5. Ladda provrör i en provrörs-carrier. Se till att alla provrörslock och eventuella svabbar är borttagna.
6. Placera provrörs-carriern i Autoloader-hyllan och ladda carriern i NeuMoDx System med hjälp av pekskärmen. Detta startar bearbetningen av de laddade proverna för de identifierade testerna. Förutsatt att en giltig testbeställning finns i systemet.

BEGRÄNSNINGAR

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 kan bara användas i NeuMoDx System.
2. Prestanda hos NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 fastställts för plasmaprover som preparerats från helblod insamlade med EDTA som antikoagulerande medel. Användning av NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 med andra källor har inte bedömts, och prestandaegenskaperna för detta test är okända för övriga typer av prover.
3. Eftersom detektion av EBV vanligen är beroende av antalet virala partiklar i provet måste provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt för att ge pålitliga resultat.
4. 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 den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.
5. NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
6. Om både EBV- och SPC1-målen inte amplificeras rapporteras ett resultat som ogiltigt (Indeterminate (obestämt) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
7. Om ett systemfel inträffar innan provbearbetningen har slutförts kommer "No Result" (Inget resultat) att rapporteras och testet bör upprepas.
8. Om detekterad EBV DNA var över ULoQ kan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 upprepas med en utspädd aliquot av det ursprungliga provet. Vi rekommenderar en spädning på 1:100 eller 1:1 000 i EBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA). Systemet kommer automatiskt att beräkna koncentrationen av det ursprungliga provet enligt följande: Ursprunglig provkoncentration = \log_{10} (spädningsfaktor) + rapporterad koncentration av det utspädda provet, så länge spädningsfaktorn har valts korrekt i programvaran innan den upprepas.
9. 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.
10. Ett positivt resultat indikerar förekomst av EBV DNA.
11. Borttagningar eller mutationer i de bevarade regionerna som NeuMoDx EBV Quant Assay är riktad mot kan påverka identifieringen eller kvantifieringen och leda till felaktiga resultat, även om risken för detta är låg.
12. Resultat från NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som finns tillgänglig för läkaren. Testet är inte avsett för diagnosticering av infektioner.
13. God laboratoriesed 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 EBV Quant Assay 2.0 genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i NeuMoDx EBV Quant Assay-definitionsfilen (EBV Quant ADF version 4.0.0 eller senare). Ett NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultat kan anges som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapporterad EBV DNA-koncentration, Indeterminate (Obestämt), No Result (Inget resultat) eller Unresolved (Olöst) baserat på amplifieringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på ADF-beslutsalgoritmen för resultatbearbetning som sammanfattas nedan i *Tabell 1*.

Tabell 1: Tolkning av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultat

Resultat	EBV-mål	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	AMPLIFIED (AMPLIFIERAD) [2 ≤ Ct < 28 AND (OCH) EPR > 1,3 AND (OCH) EP > 1200] OR (ELLER) [28 < Ct < 38 AND (OCH) EP > 1200]	Ej tillämpligt
Positive (Positivt) över övre kvantifieringsgränsen [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log10 IE/mL)	[CONC (KONC)] > 8,0 Log10 IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	Ej tillämpligt
Positive (Positivt), under lägre kvantifieringsgräns [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log10 IE/mL)	[CONC (KONC)] < 1,48 Log10 IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	Ej tillämpligt
Negative (Negativt)	NOT AMPLIFIED (EJ AMPLIFIERAD) Ej tillämpligt OR (ELLER) [2 ≤ Ct < 28 AND (OCH) EPR ≤ 1,3 AND (OCH) EP > 1 200] OR (ELLER) [28 ≤ Ct < 38 AND (OCH) EP > 1 200] OR (ELLER) Ct > 38	AMPLIFIED (AMPLIFIERAD) [29 < Ct < 35 AND (OCH) EP ≥ 2 000]
No Result* (inget resultat)	Not Amplified, System Error Detected; Sample Processing Aborted (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning avbruten)	
Indeterminate* (Obestämt)	Not Amplified, System Error Detected; Sample Processing Completed (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning slutförd)	
Unresolved* (Olöst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes inte)	

EP = slutpunktsfluorescens (End Point Fluorescence) EPR = slutpunktsfluorescenskvot (End Point Fluorescence Ratio), Ct = tröskelvärde för cykling (Cycling Threshold),

Quant = beräknad mängd förekommande EBV uttrycks i log₁₀ IE/mL. Se avsnitt Testberäkning nedan.

* Systemet möjliggör valfri funktion för Rerun (Omkörning)/Repeat (Upprepning) för att möjliggöra automatisk ombearbetning i händelse av ogiltigt resultat för att minimera förseningar i resultatrapportering.

Testberäkning: Prover

- För prover inom det linjära intervallet för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 så beräknas koncentrationen av EBV DNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten.
 - En s.k. kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx EBV Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 i ett specifikt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficienten införlivas automatiskt av systemet i den slutliga bestämningen av koncentrationen av EBV DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0-resultaten anges i IE/mL och Log10 IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen av de ökända proverna kan spåras till Världshälsoorganisationens första internationella standard för Epstein-Barr-virus för nukleinsyraamplifieringstekniker.

Testberäkning: Kalibratorer

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

- NeuMoDx EBV Calibrators levereras i en sats [REF 800501] och innehåller icke-infekterat inkapslat EBV-mål utspätt i Basematrix.
- En uppsättning EBV-kalibratorer behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, när en ny EBV-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 när kalibratorerna behöver bearbetas. En ny lot med testremor kan inte användas innan kalibratorerna har bearbetats utan fel.

4. Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
 1. En uppsättning med två kalibratorer – hög och låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
 2. 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 Log₁₀ IE/mL och för hög kalibrator 5 Log₁₀ IE/mL.
 3. En kalibreringskoefficient beräknas för att kompensera för förväntad variation mellan testremsloter. Kalibreringskoefficienten används vid bestämningen av den slutliga EBV DNA-koncentrationen.
5. Om en eller bägge kalibratorer inte klarar validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator misslyckas med validiteten går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratören eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna igen.
6. Kontakta teknisk support hos QIAGEN om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen igen.

Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat rapporteras det som antingen Indeterminate (Obestämt), No Results (Inget resultat) eller Unresolved (Olöst) baserat på typen av fel som uppstod. Testet bör upprepas för att uppnå ett giltigt resultat.

Resultatet Indeterminate (Obestämt) rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts under provbearbetningen. Om ett Indeterminate (Obestämt) resultat rapporteras rekommenderar vi omtestning.

Ett No Result-resultat (Inget resultat) rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts och provbearbetningen avbryts. Om ett No Result (Inget resultat) rapporteras rekommenderar vi omtestning.

Resultatet Unresolved (Olöst) rapporteras om inget mål upptäcks och det inte förekommer någon amplifiering av provprocesskontrollen, vilket kan vara en indikation på reagensfil eller förekomsten av hämmare. Om ett Unresolved (Olöst) resultat rapporteras rekommenderar vi omtestning som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell hämning (mer information finns i avsnitt Begränsningar).

Se Operatörshandbok till NeuMoDx 288 Molecular System (art.nr: 40600108) eller Operatörshandbok till NeuMoDx 96 Molecular System (art.nr: 40600317) för en lista med felkoder som kan associeras med ogiltiga resultat.

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 kontroller som innehåller icke-infekterat inkapslat EBV-mål i Basematrix för positiva kontroller eller Basematrix för negativa kontroller tillhandahålls av QIAGEN i en sats med NeuMoDx EBV External Controls [REF 900502].
2. Positiva och negativa externa kontroller behöver bearbetas en gång var 24:e timme. Om inga giltiga externa kontrolluppsättningar finns uppmanar programvaran för NeuMoDx System användaren att bearbeta dessa kontroller innan provresultat:

NeuMoDx EBV External Controls	Expected Concentration (Förväntad koncentration)	Färgmärkningschema
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IE/mL (4,18 Log ₁₀ IE/mL)	Röd
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IE/mL (2,18 Log ₁₀ IE/mL)	Grå
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	Ej tillämpligt	Svart

3. Vid bearbetning av externa kontroller ska kontrollerna placeras i en provrörs-carrier. Använd pekskärmen för att ladda carriern på NeuMoDx System från Autoloader-hyllan. NeuMoDx System identifierar streckkoderna och börjar bearbeta kontrollerna, förutsatt att lämpliga reagenser eller förbrukningsvaror som krävs för testning är tillgängliga.
4. Giltigheten för dessa externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet.

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

5. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:

1. Ett Positive (positivt) resultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov kan indikera att kontaminering och att kontrollrutiner i laboratoriet bör ses över för att hitta grundorsaken. Se till att använda olika områden för provberedning, kontrollhantering och RT-PCR-konfiguration. Se *operatörshandboken för NeuMoDx 288 eller 96 Molecular System* för ytterligare felsökningsanvisningar.
2. Ett Negative (negativt) resultat som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns en reagens eller ett instrumentrelaterat problem.
3. Upprepa den underkända kontrollen med nytinade ampuller av de kontroller som underkändes i valideringen i något av ovanstående fall, eller vid No result (Inget resultat) (NR), Unresolved (Olöst) (UNR) eller Indeterminate (Obestämt) (IND) resultat.
4. Om den externa positiva kontrollen återigen ger resultatet Negative (negativt) ska du kontakta den tekniska supporten hos QIAGEN.

5. Om den externa negativa kontrollen återigen ger resultatet Positivt (positivt) försöker du eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byt alla reagenser och upprepa körningen innan du kontaktar den tekniska supporten hos QIAGEN.
6. Om de externa kontrollerna inte ger förväntade resultat upprepa du en uppsättning av positiva och negativa kontroller. Provresultaten rapporteras inte om kontrollerna inte ger förväntade resultat.
7. NeuMoDx System har utrustats med en automatisk funktion för Rerun (Omkörning)/Repeat (Upprepning) som användaren kan välja att använda för att säkerställa att resultatet INVALID (Ogiltig) bearbetas om automatiskt och därmed minska förseningar av resultatrapportering.

Provbearbetning av (interna) kontroller

En exogen probbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC1) inkluderas i NeuMoDx Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-RT-PCR-amplifiering med varje prov/kontroll/kalibrator. De primrar och prober som är specifika för SPC1 ingår i varje NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0. Tillsammans med SPC1 övervakar NeuMoDx System effektiviteten hos DNA-extraktion och RT-PCR-amplifieringsprocesserna.

PRESTANDAEGENSKAPER

ANALYTISK SENSITIVITET – Detektionsgräns

Den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 karakteriseras i två följande steg: 1. Beräkning (probitanalys) av preliminär detektionsgräns (Limit of Detection, LoD) följt av 2. LoD-bekräftelse. I den första delen testades negativa prover och en spädningsserie av Världshälsorganisationens första internationella standard av screenad EBV-negativt humant plasma för att bedöma preliminär detektionsgräns i NeuMoDx Systems. Preliminär LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på 95 %, vilket fastställdes av probitanalysen. I den andra delen bekräftades preliminär LoD genom testning av konstruerad panel på LoD-nivå. Båda delar av studien utfördes i tre dagar med flera system och flera loter av NeuMoDx-reagenser. I första delen bearbetades totalt 144 replikat vid varje spädningssnivå. Detektionsnivåerna visas i *Tabell 2*.

Tabell 2: Preliminär LoD-bedömning av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [\log_{10} IE/ml]	PLASMA		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
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 för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i plasma med Världshälsorganisationens första internationella EBV-standard fastställdes till 29,3 IE/mL (1,47 \log_{10} IE/mL) med 95 % konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 24,4–37,1 IE/mL, (1,39–1,57 \log_{10} IE/mL) [*Bild 1*]. Denna LoD bekräftades sedan med den träfffrekvensanalys som visas i *Tabell 3*.

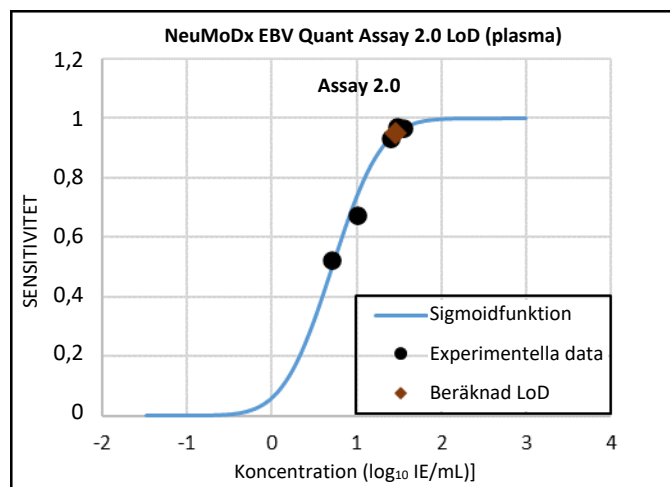


Bild 1: Probitformatanalys användes för att fastställa LoD för NeuMoDx EBV Quant 2.0 i plasmaprov

Tabell 3: LoD-bekräftelse för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

System	Målkonzentration [IE/ml]	Målkonzentration [log ₁₀ IE/mL]	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
N96	29,3	1,47	96	94	97,9 %
N288			96	92	95,8 %
Alla			192	186	96,9 %

LoD för EBV-genotyp 2 (GT2) fastställdes vid 29,3 IE/mL [1,47 Log₁₀ IE/mL] enligt träfffrekvensanalysen.

Baserat på utfallen av båda studier fastställdes LoD för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 till 29,3 IE/mL [1,47 Log₁₀ IE/mL].

Analytisk sensitivitet – lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ definieras som den lägsta målnivån där > 95 % detektion uppnås och totalt analytiskt fel (TAE, Total Analytical Error) ≤ 1,0. För att fastställa LLoQ beräknades TAE för var och en av de EBV-målnivåer som rapporterade > 95 % detektion som en del av LoD-beräkningen. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

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

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 5 nivåerna av Världshälsoorganisationens första internationella standard för EBV-plasmaprover i LLoQ-studien visas i Tabell 4. Baserat på den här datauppsättningen och tidigare bestämd LoD fastställdes LLoQ till 30,0 IE/mL (1,48 Log₁₀ IE/mL) och bekräftades sedan för EBV-genotyp 2 (GT2).

Tabell 4: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLoQ med Bias och TAE

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Plasma				
		Snittkonc. [log ₁₀ IE/mL]	Detektionsnivå	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

Baserat på utfallet av de här studierna fastställdes LoD för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 till 29,3 IE/mL (1,47 log₁₀ IE/mL) och LLoQ fastställdes till 30,0 IE/mL [1,48 log₁₀ IE/mL].

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

Linjäritet och övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fastställdes i plasma genom att förbereda en spädningsserie med NeuMoDx inkapslade EBV-mål och ATCC EBV Culture (ATCC, Manassas, VA) med fastställd spårbarhet till Världshälsoorganisationens första internationella EBV-standard utöver Världshälsoorganisationens första internationella EBV-standard. En panel med 10 deltagare preparerades i poolad EBV-negativ plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 1,48 till 8,0 Log₁₀ IE/mL. ULoQ of the NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fastställdes till 8,0 Log₁₀ IE/mL. En bekräftelsepanel för att bedöma linjäriteten hos standardkurvan bereddes och de EBV-analyskoncentrationer som rapporteras av NeuMoDx System jämfört med de förväntade värdena presenteras i Bild 2.

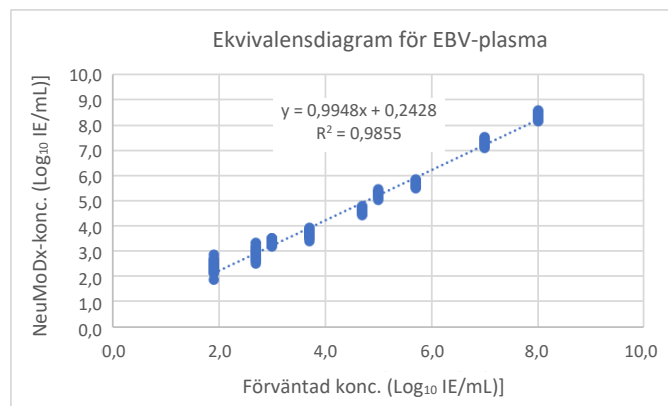


Bild 2: Linjäritet hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Linjäritet hos EBV-genotyp 2 (GT2)

Linjäriteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i EBV-genotyp 2 (GT2) karakteriserades genom testning av elva olika EBV GT2-koncentrationer med fastställd spårbarhet till Världshälsoorganisationens första internationella standard för EBV preparerade i poolad EBV-negativ plasma. Studien omfattade testning av 36 replikat av 11 koncentrationer i två NeuMoDx Systems och tre EBV Quant Test Strips 2.0-loter. Linjäriteten för EBV-genotyp 2 (GT2) presenteras i *Tabell 5* och *Bild 3*.

Tabell 5: Linjäriteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 för EBV-genotyp 2

Genotyp	Linjäritetsekvation $y = \text{NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kvantifiering}$ $x = \text{Förväntat kvantifiering}$	R ²
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761

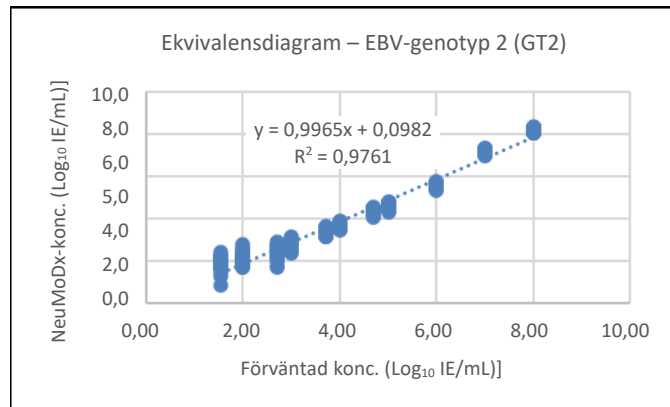


Bild 3: Linjäriteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 för EBV-genotyp 2

Analytisk specificitet – korsreaktivitet

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 36 organismer som kan påträffas i blod-/plasmaprover samt arter som fylogenetiskt liknar EBV i korsreaktivitetssyfte. Organismer med hög koncentration framställdes i pooler med 5–6 organismer. De testade organismerna som visas i *Tabell 6* Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

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

Analytisk specificitet – Störande ämnen, kommensala organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med hjälp av samma organismpooler som förberetts för korsreaktivitetstestningen som beskrivs ovan i *Tabell 6*. Negativt EBV-plasma spetsades med organismerna och poolades i grupper om 4–7. Dessa pooler spetsades sedan med EBV-mål i en koncentration av 90 IE/mL [1,95 Log₁₀ IE/mL]. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här organismerna vilket visas av den minimala avvikelserna i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent.

Analytisk specificitet – Störande ämnen, endogena och exogena substanser

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 utvärderades vid närvaro av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i EBV-kliniska plasmaprover. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala och immunsuppressiva läkemedel vilka klassificerats i *Tabell 7*. Varje substans tillsattes till screenad EBV-negativt humant plasma som spetsats med EBV på 90 IE/mL [$1,95 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$], och proverna analyserades gentemot den rapporterade koncentrationen för den positiva kontrollen med avseende på interferens. Dessutom interferenstestades plasma som smittats med vanliga sjukdomar kopplade till infektion med EBV. Den genomsnittliga koncentrationen och bias för alla substanser som testats jämfört med kontrollproverna spetsade med samma nivå EBV rapporteras i *Tabell 8*. Inga av de exogena eller endogena substanserna påverkade specificiteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0.

Tabell 7: 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)		Takrolimus	Immunsuppressivum
	Ganciklovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Immunsuppressivum
	Valganciclovir hydrochloride	Antiviral (EBV)		Clavulanate potassium	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Kortikosteroid/ Immunsuppressivum	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektrum)		Valacyclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektrum)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Flukonazol	Antifungal		Ticarcillin disodium	Antibiotika
Pool 3	Mykofenolatmofetil	Immunsuppressivum	Leflunomid	Immunsuppressivum	
	Mycophenolate sodium	Immunsuppressivum			
	Piperacillin	Antibiotika			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsuppressivum			
	Tazobaktam	Modifierad antibiotika			

Tabell 8: Interferenstestning – endogena och exogena medel

Endogena + sjukdomstillstånd	Snittkonc.	Bias
	Log ₁₀ IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
Hemoglobin	2,19	0,32
Triglycerider	1,90	0,02
Bilirubin	2,12	0,24
Albumin	1,95	0,07
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	2,08	0,20
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	2,36	0,48
Reumatoid artrit (RA)	1,89	0,01
Positiv kontroll	1,88	Ej tillämpligt
Exogena (läkemedel)	Snittkonc.	Bias
	Log ₁₀ IE/mL	Log ₁₀ IE/mL
Pool 1: Azathioprin, Cyklosporin, Foscarnet, Ganciklovir, Valganciclovirhydroklorid	2,19	0,09
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Flukonazol	2,11	0,01
Pool 3: Mycophenolate mofetil, Mycophenolate sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	2,16	0,06
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanate potassium	2,24	0,14
Pool 5: Famotidine, Sulfamethoxazole, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomide	2,26	0,16
Positiv kontroll	2,10	Ej tillämpligt

Precision inom labbet

Precisionen för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 fastställdes genom att testa tre replikat i en panel med sex prover av EBV-prover beredda med NeuMoDx EBV Positive Control och EBV-kultur (ATCC, Manassas, VA), två gånger per dag, med två NeuMoDx 288 Systems och ett NeuMoDx 96 System över 12 dagar. Precisioner inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den totala standardavvikelsen fastställdes till $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$. Utmärkt precision uppvisades mellan system, dagar och körningar som visas i *Tabell 9*. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren inte har en tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System.

Tabell 9: Precision inom labbet – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 i NeuMoDx Systems

EBV, målkonc. [Log ₁₀ IE/mL]	EBV, snittkonc. [Log ₁₀ IE/mL]	SD inom system	Inom SD för dagen	Inom SD för körning	Total (Inom labb) SD
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

Reproducerbarhet, lot till lot

Reproducerbarhet mellan olika loter av NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 bestämdes genom utvärdering av tre loter av NeuMoDx EBV Quant Test Strips 2.0 som en del av precision inom labbet. En panel av sex medlemmar EBV-positiv plasma användes för att bedöma prestanda (*Tabell 10*). Resultaten mellan loterna analyserades och presenteras i *Tabell 10*. Maximal bias var $0,29 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$ och maximal SD var $0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$ för NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips 2.0. Motsvarande prestanda demonstrerades över loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

Tabell 10: Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Förväntad konc. (Log ₁₀ IE/mL)	Lot 1			Lot 2			Lot 3		
	Genomsn. konc. (Log ₁₀ IE/mL)	Logkonc. SD	Abs-bias	Genomsn. konc. (Log ₁₀ IE/mL)	Logkonc. SD	Abs-bias	Genomsn. konc. (Log ₁₀ 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

Effektivitet hos provprocesskontrollen

Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) ingår i NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 för att rapportera processtegfel eller hämmande som påverkar metodens prestanda. Med NeuMoDx CMV Quant Assay som modell, testades effektiviteten hos SPC1 hos plasmaprover under villkor som är representativa för misslyckade kritiska processteg som potentiellt kan uppstå vid provbearbetning och som *eventuellt inte detekteras* av de inbyggda sensorerna som övervakar prestanda hos NeuMoDx System. Positiva prover med cytomegalovirus (vid $3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$) 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 viralt mål speglades av prestandan för SPC1-målet som det visas i *Tabell 11*. I alla testade instanser visade det sig 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 viralt mål. SPC1 övervakade därmed analysprestanda för NeuMoDx System framgångsrikt.

Tabell 11: Effektiviteten hos provprocesskontrollen för viralt DNA i plasma*

Processteg Testat fel	Status för processkontrollamplifiering 1 för prov	CMV-mål Amplifieringsstatus	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 $0,3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/mL}$ med kontroll

*Cytomegalovirus (CMV) i plasmaprover användes som modellsystem för effektivitetsbedömning av provprocesskontroll.

Korskontaminering

Korskontamineringsgraden för plasmaprover bestämdes genom bearbetning av alternerande högt positiva och negativa EBV-prover. Fem uppsättningar av sådan checkerboard-testning utfördes med totalt 60 replikat av EBV-negativ plasma och 60 replikat av en spetsad EBV-plasma vid 6,0 Log₁₀ IE/mL i både NeuMoDx 288 och 96 Molecular Systems. I både systemtyper rapporterades de 120 replikaten av det negativa provet som negativa, vilket visar förekomsten av ingen korskontaminering under plasmaprovbearbetning i NeuMoDx System.

Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att demonstrera likvärdighet mellan färska och frysta plasmaprover med användning av ett liknande blodburet virus, CMV, som modell. Färska prover förvarades vid 4 °C tills de spetsades med tre nivåer CMV och ekvivalenstestades. Proven frystes i minst 24 timmar i -20 °C Sedan tinades proverna och testades på nytt. Resultaten från färska kontra frysta plasmaprover jämfördes för ekvivalens med regressionsanalys. Data uppvisade utmärkt jämförbarhet mellan färska och frusna plasmaprover med en lutning på 1,0 och mycket låg bias (skärningspunkt), såsom visas i *Tabell 12* nedan.

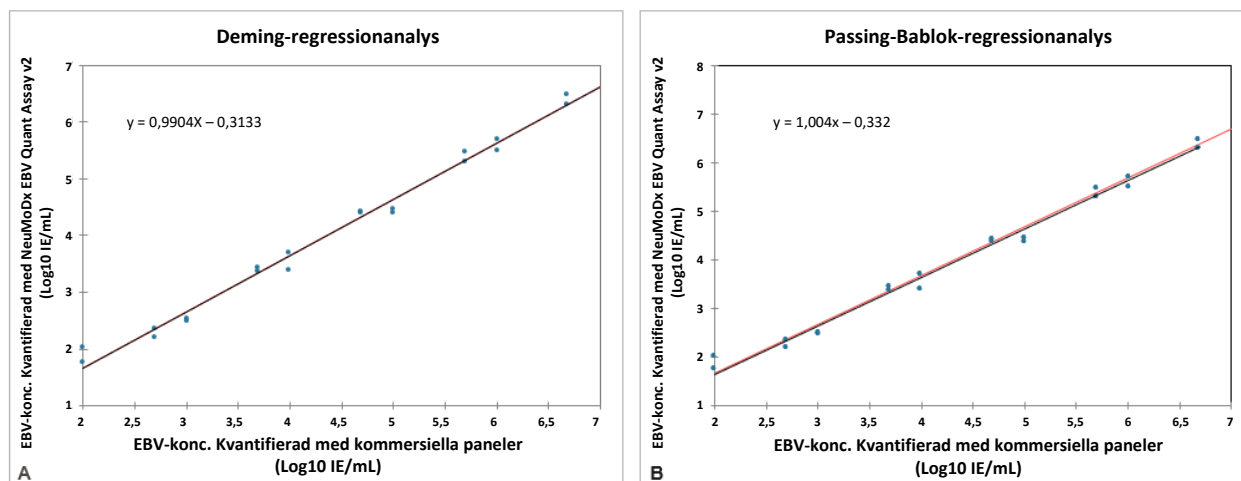
Tabell 12: Provmatrisekvivalens

Parameterkrav	Färskt vs fryst EDTA
Lutning [0,9–1,1]	1,000
Skärningspunkt <0,5 Log ₁₀ IE/mL	0,020
<i>p</i> -värde > 0,05	0,631

Karaktärisering av kvantifieringsprestanda

Den kvantitativa prestanda för NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 kännetecknades av bearbetning av två kommersiella EBV-verifieringspaneler från AcroMatrix och Exact Diagnostics (spårbarhet enligt Världshälsoorganisationens första internationella standard för EBV) i NeuMoDx Molecular Systems.

Utmärkt korrelation erhöles mellan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 och de två kommersiella EBV-verifieringspanelerna (*bild 4*) när de analyserades med antingen Deming Regression- (*bild 4A*) eller Passing-Bablok-metoden (*bild 4B*).


Bild 4. Ekvivalensdiagram mellan AcroMatrix och Exact Diagnostics verifieringspaneler och NeuMoDx EBV Quant Assay.

A. Linjär regressionsanalys med användning av Deming-metoden. B. Linjär regressionsanalys med användning av Passing-Bablok-metoden.

Kvaliteten hos den linjära Deming-regressionsanpassningen illustreras med en totala lutningskoefficient på 0,990 och en skärningspunkt (bias) på -0,313, vilket visar att koncentrationsresultaten erhållna mellan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 och EBV-verifieringspaneler är korrelerade med acceptabel bias. Linjära Passing-Bablok-anpassning stöder också betydelsen av korrelationen mellan resultaten erhållna från NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 och EBV-verifieringspaneler med en total lutningskoefficient på 1,004 och en skärningspunkt (bias) på -0,332. *P*-värdet för Passing-Bablok-analysen beräknades vara 0,988.

Tabell 13: Sammanfattning av linjär regressionsanalys enligt Deming och Passing-Bablok

Deming-analys		Passing-Bablok-analys	
Skärningspunkt	Lutningskoefficient	Skärningspunkt	Lutningskoefficient
-0,313	0,990	-0,332	1,004
95 % KI (-0,620 till -0,007)	95 % KI (0,928, 1,053)	95 % KI (-0,548, -0,116)	95 % KI (0,950, 1,047)

REFERENSER

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.

VARUMÄRKEN

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










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


Seracare® är ett registrerat varumärke som tillhör Seracare Life Sciences, 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.

SYMBOLNYCKEL

R only	Enbart med recept		Innehållet räcker för <n> tester
	Tillverkare		Läs bruksanvisningen före användning
IVD	Medicinsk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Iakttag försiktighet
EC REP	Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen		Hälsofara
REF	Katalognummer	CE	CE-märkning
LOT	Batchkod	CONT	Innehåll
	Utgångsdatum		Innehåller biologiskt material av animaliskt ursprung
	Temperaturbegränsning	Borsvra	Borsyra
	Får ej återanvändas		

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

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

Teknisk support/vaksamhetsrapportering: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents

