

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.

IVD A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System

 Pentru actualizări ale prospectului, accesați: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317

DOMENIUL DE UTILIZARE

Testul NeuMoDx CMV Quant Assay este o testare automată, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic, pentru cuantificarea ADN-ului citomegalovirusului (CMV) în eșantioanele de plasmă umană pentru genotipurile de la gB1 la gB4 ale CMV la indivizii infectați cu CMV. Testul NeuMoDx CMV Quant Assay aplicat pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System (sistemele NeuMoDx System) încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acidul nucleic țintă de eșantion, și reacția de polimerizare în lanț în timp real (PCR) pentru a viza secvențele puternic conservate în genomul citomegalovirusului.

NeuMoDx CMV Quant Assay este destinat cuantificării *in vitro* a ADN-ului de citomegalovirus (CMV) în eșantioane de plasmă umană proaspete și congelate, utilizând sistemele NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System. Această analiză este destinată utilizării împreună cu simptomele clinice și cu alți markeri de laborator ai evoluției bolii pentru gestionarea clinică și monitorizarea infecției cu CMV. Analiza nu este destinată utilizării ca testare de screening pentru prezența CMV în sânge sau produși sanguini.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui, care conțin EDTA sau ACD ca agent de anticoagulare, poate fi folosit pentru pregătirea plasmăi. Pentru pregătirea pentru testare, plasma, într-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System, este încărcat pe NeuMoDx System utilizând un suport dedicat de eprubete pentru eșantioane, pentru începerea procesării. Pentru fiecare eșantion, o parte alicotă de 550 μl de probă plasmatică este amestecată cu NeuMoDx Lysis Buffer 1, iar NeuMoDx System parcurge automat toate etapele necesare pentru extracția acidului nucleic țintă, pregătește ADN-ul izolat pentru amplificare PCR în timp real și, dacă aceștia sunt prezenți, amplifică și detectează produșii de amplificare (secțiuni ale țintei genomice CMV în regiuni puternic conservate). NeuMoDx CMV Quant Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (SPC1), care să ajute la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, precum și a erorilor NeuMoDx System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

CMV este un virus ADN dublu catenar comun din familia virusului herpetic uman, care infectează oameni de toate vârstele. Se estimează că până la vârsta de 40 de ani, mai mult de jumătate din populație va fi infectată cu CMV.¹ CMV se răspândește prin fluide corporale, cum ar fi salivă, urină, sânge, lacrimi, spermă și lapte matern. Persoanele imunocompetente infectate cu CMV sunt în mod tipic asimptomatice, dar infecția cu virusul poate fi gravă la bebeluși și la persoanele cu sistemul imunitar slăbit. Mamele gravide pot transmite CMV copiilor lor nenăscuți și pot genera CMV congenital, ceea ce poate duce la pierderea auzului, printre alte întârzieri de dezvoltare și motorii. CMV este un patogen major pentru pacienții imunocompromiși, incluzând pacienții beneficiari de transplant de organe solide, beneficiari ai transplantului de celule hematopoietice, pacienții infectați cu HIV și pacienții tratați cu medicamente imunomodulatoare.² Monitorizarea încărcăturii virale CMV este folosită în principal la aceste populații imunocompromise, unde cauzează multe morbidități, inclusiv pneumonie, boli ale tractului gastro-intestinal, hepatita și encefalita, precum și creșterea probabilității de respingere a organelor și alte infecții oportuniste.

Diagnosticul infecției cu CMV nu se bazează numai pe testarea acidului nucleic (NAT); testarea NAT este utilizată în plus față de testarea antigenului care implică colorarea leucocitelor polimorfonucleare (PMN) pentru proteina matricială structurală precoce de CMV mai slabă, precum și alte simptome pe care pacientul le poate experimenta. Testarea încărcăturii virale de CMV este folosită în mod obișnuit pentru a determina când este necesară terapia antivirală, precum și pentru a monitoriza eficacitatea unor astfel de terapii.³ Deși liniile directe actuale pentru gestionarea și tratamentul infecțiilor cu CMV la indivizi imunocompromiși sunt ambigue în ceea ce privește *momentul* începerii terapiei antivirale, toate necesită monitorizare constantă a încărcăturii virale odată ce terapia antivirală este inițiată, pentru a ajuta la atenuarea efectelor adverse severe ale medicamentelor la astfel de populații.

PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx CMV Quant Assay pe NeuMoDx System utilizează NeuMoDx CMV Quant Test Strip, calibratoare NeuMoDx CMV Calibrators, substanțe de control externe NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 și reactivi NeuMoDx de uz general pentru a efectua analiza. Testul NeuMoDx CMV Quant Assay combină extracția automatizată a ADN-ului, amplificarea și detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele de sânge integral sunt recoltate în eprubete cu EDTA sau ACD, pentru pregătirea plasmăi. Eșantionul de plasmă dintr-o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System este amplasat într-un suport de eprubete pentru eșantioane, care este încărcat ulterior pe NeuMoDx System pentru procesare. Nu mai este necesară nicio altă intervenție a operatorului.

Sistemele NeuMoDx System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza celulară, extracția ADN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de particule paramagnetice. Particulele, împreună cu acizii nucleici legați, sunt încărcate în NeuMoDx Cartridge, unde componenții nelegați, non-ADN sunt spălați ulterior cu NeuMoDx Wash Reagent, iar ADN-ul legat este eluat, utilizând NeuMoDx Release Reagent. Ulterior, sistemele NeuMoDx System utilizează ADN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetați de amplificare NeuDry™, care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea PCR a țintelor SPC1 și specifice CMV. La reconstituirea reactivilor NeuDry PCR, NeuMoDx System distribuie amestecul pregătit compatibil cu PCR în NeuMoDx Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor de ADN de control și țintă (dacă sunt prezente) au loc în zona camerei PCR din NeuMoDx Cartridge. De asemenea, NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a include ampliconul după PCR în timp real, astfel eliminând, în mod esențial, riscul de contaminare post-amplificare.

Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor pentru țintele respective.

Sondele TaqMan constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să tempereze fluorescența emisă de fluorofor prin FRET (Förster Resonance Energy Transfer, transfer de energie de rezonanță Förster).

Sondele TaqMan sunt destinate temperării într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și rupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluorescenței fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclatorul termic pentru PCR cantitativ NeuMoDx System este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de ADN țintă.

O sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor (Excitație: 490 nm și Emisie: 521 nm) la capătul 5', și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3', este utilizată pentru detecția ADN-ului CMV. Pentru detecția SPC1, sonda TaqMan este etichetată cu o vopsea fluorescență alternativă (Excitație: 535 nm și Emisie: 556 nm) la capătul 5', și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul sistemului NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat final (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)). Dacă un rezultat este POSITIVE (POZITIV), software-ul sistemului NeuMoDx System oferă, de asemenea, și o valoare cantitativă asociată probei sau raportează dacă valoarea calculată pentru concentrație se încadrează în limitele de cuantificare.

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Testări pe unitate	Teste per pachet
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip <i>Reactivi PCR deshidratați care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice CMV, sonde și soluții de amorsare TaqMan specifice SPC1.</i>	16	96

Reactivi și consumabile necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particule paramagnetice deshidratate, enzimă litică și substanțe de control pentru procesarea probei</i>
800400	NeuMoDx CMV Calibrators <i>Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe pentru CMV, pentru a stabili validitatea curbei standard</i>
900401	NeuMoDx CMV External Controls <i>Seturi de unică folosință de substanțe de control pozitive și negative la CMV pentru a stabili validitatea zilnică a NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µL) with Filters
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µL) with Filters

Instrumentar necesar

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

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării (generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe din calibratoarele NeuMoDx CMV Calibrator [REF 800400]).
- Substanțele de control externe NeuMoDx CMV External Control [REF 900401] trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Volumul minim al eșantionului este de 1 ml de plasmă cu EDTA/ACD, utilizând suportul pentru 32 de eprubete; volumul mai mic de 1 ml poate genera o eroare NeuMoDx System.
- Efectuarea unei analize pentru CMV pe eșantioane depozitate la temperaturi necorespunzătoare sau pe perioade care depășesc perioadele de depozitare specificate poate genera rezultate nevalide sau eronate atunci când se utilizează NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Evitați în permanență contaminarea microbiană și deoxiribonucleazică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. Se recomandă utilizarea pipetelor de transfer sterile de unică folosință fără DNază. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeurii biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeurii biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx CMV Quant Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și the NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx CMV Quant Test Strip sau NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a NeuMoDx Lysis Buffer 1; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt disponibile la cerere.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ și în Documentul CLSI M29-A4.⁵
- Eliminați reactivii nefolosii și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.

DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Toți reactivii și consumabilele NeuMoDx (cu excepția substanțelor de control externe și a calibratoarelor) sunt stabili în ambalajul primar la o temperatură cuprinsă între 18 și 23 °C până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs.
- O NeuMoDx CMV Quant Test Strip încărcată în NeuMoDx System este stabilă timp de 14 zile; software-ul sistemului NeuMoDx System va solicita eliminarea bandelelelor de testare care au fost utilizate pe instrumentul NeuMoDx System mai mult de 14 zile; bandelele NeuMoDx CMV Quant Test Strip noi trebuie deschise și încărcate pe NeuMoDx System.
- Calibratoarele și substanțele de control NeuMoDx sunt neinfecțioase, dar ar trebui să fie aruncate împreună cu deșeurile biopericuloase de laborator după utilizare, deoarece vor conține materie țintă după procesare pe sistem, care ar putea genera contaminarea dacă nu sunt manipulate corespunzător.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

1. Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.
2. Nu congelați eșantioanele de sânge integral sau alte eșantioane depozitate în eprubete primare.
3. Pentru pregătirea eșantioanelor de plasmă, sângele integral trebuie recoltat în eprubete sterile, utilizând EDTA sau ACD drept anticoagulanți. Urmați instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor.
4. Sângele integral recoltat în dispozitivele enumerate mai sus poate fi depozitat și/sau transportat timp de până la 24 de ore la o temperatură cuprinsă între 2 și 25 °C înainte de pregătirea plasmei. Pregătirea plasmei trebuie realizată în conformitate cu instrucțiunile producătorului.

5. Eșantioanele pregătite de plasmă pot rămâne pe NeuMoDx System timp de până la 8 ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate.
6. Eșantioanele pregătite de plasmă trebuie depozitate între 2 și 8 °C timp de maxim 7 zile înainte de testare, și maxim 8 ore la temperatura camerei.
7. Eșantioanele pregătite pot fi depozitate la ≤ -20 °C timp de până la 26 săptămâni pentru plasmă înainte de procesare; probele plasmatiche nu trebuie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare înainte de utilizare.
 - a. Dacă probele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C); vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.
 - b. După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 8 ore.
8. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
9. Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării CMV.
10. Accesați secțiunea *Pregătirea testării*.

Procesul global de punere în aplicare a analizei NeuMoDx CMV Quant Assay este sintetizat mai jos, în *Figura 1*.

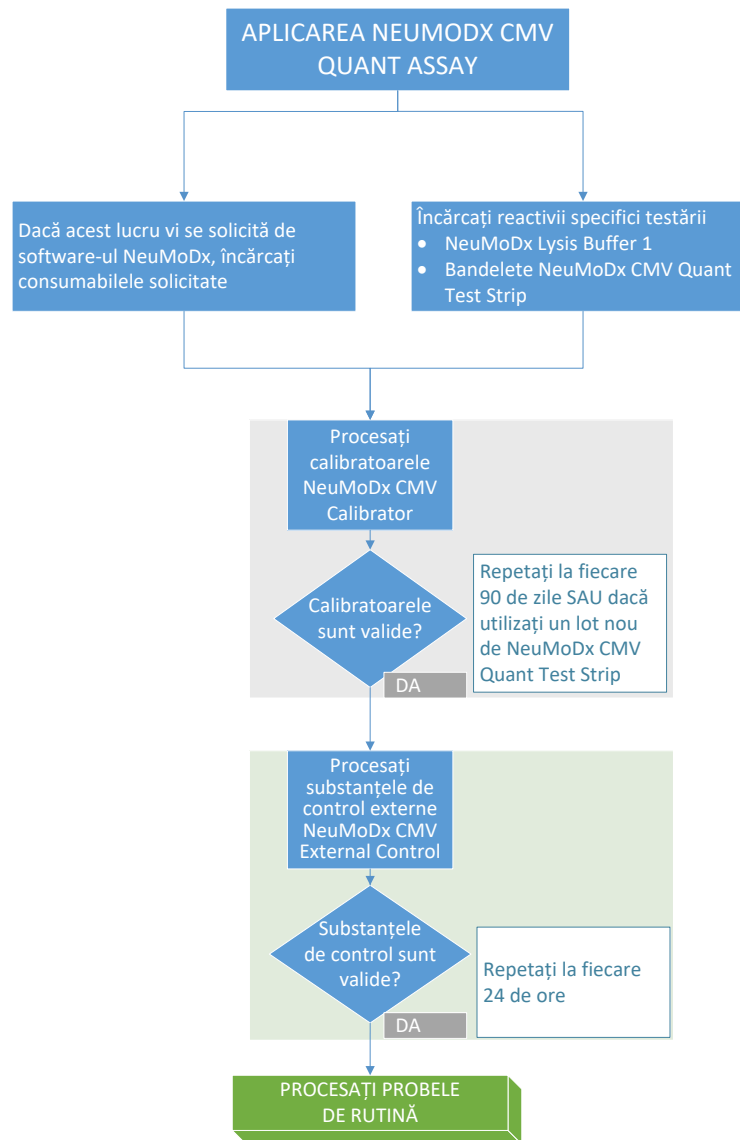


Figura 1: Flux de lucru pentru aplicarea NeuMoDx CMV Quant Assay

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea testării

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System.
2. Folosind o pipetă de transfer, transferați ≥ 1 ml de plasmă în eprubeta (secundară) pentru eșantioane, marcată cu cod de bare, dacă utilizați suportul pentru 32 de eprubete, sau > 2 ml dacă utilizați suportul pentru 24 de eprubete. Aveți grijă să nu transferați cheaguri din proba plasmatică în eprubeta pentru eșantioane. Utilizați câte o pipetă de transfer diferită pentru fiecare eșantion.
3. Eprubeta secundară trebuie să întrunească următoarele specificații pentru eprubete, compatibile cu NeuMoDx System, în funcție de suportul de eprubete pentru eșantioane utilizat pentru procesare.
 - Suport pentru 32 de eprubete: diametru cuprins între 11 mm și 14 mm și înălțime cuprinsă între 60 mm și 120 mm
 - Suport pentru 24 de eprubete: diametru cuprins între 14,5 mm și 18 mm și înălțime cuprinsă între 60 mm și 120 mm

Utilizarea NeuMoDx™ System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System (Nr.P. 40600108 și 40600317)

1. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandele de testare NeuMoDx System cu bandele NeuMoDx CMV Quant Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandele de testare în NeuMoDx System.
2. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.
3. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, goliți recipientul pentru deșeuri de amorsare sau pentru deșeuri biopericuloase, după caz.
4. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, procesați Calibrators [REF 800400] și/sau External Controls [REF 900401], după cum este necesar. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea *Procesarea rezultatelor*.
5. Încărcați eprubetele pentru eșantioane/calibratoare/substanțe de control într-un suport standard pentru 32 de eprubete și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele pentru eșantioane.
6. Amplasați suportul de eprubete pentru eșantioane în orice poziție deschisă pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate.

LIMITĂRI

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
- Performanța testului NeuMoDx CMV Quant Test Strip a fost stabilită pentru eșantioanele plasmatice preparate din sânge integral recoltate cu EDTA/ACD pe post de anticoagulant; utilizarea NeuMoDx CMV Quant Test Strip împreună cu alte tipuri de eșantioane clinice nu a fost evaluată, și caracteristicile de performanță ale testării sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
- Deoarece detecția CMV depinde de numărul de organisme prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
- Calibratoarele și substanțele de control externe trebuie să fie procesate conform recomandărilor din prospecte și așa cum vi se solicită de către software-ul sistemului NeuMoDx System înainte de procesarea probelor clinice de rutină.
- Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încercarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.
- Dacă ținta CMV și ținta SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
- Dacă rezultatul NeuMoDx CMV Quant Assay este Positive (Pozitiv), dar valoarea de cuantificare depășește limitele de cuantificare, NeuMoDx System va raporta dacă CMV detectat a fost *mai mic decât* limita inferioară de cuantificare (LLOQ) sau *mai mare decât* limita superioară de cuantificare (ULOQ).
- În eventualitatea în care CMV detectat a fost mai mic decât LLOQ, NeuMoDx CMV Quant Assay poate fi repetat (dacă se dorește) cu o altă parte alicotă a eșantionului.

- În eventualitatea în care CMV detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx CMV Quant Assay poate fi repetat cu o parte alicotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluare 1:100 sau 1:1000 în plasmă negativă la CMV sau în diluant Basematrix 53 (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Concentrația eșantionului original poate fi calculată după cum urmează:

$$\text{Concentrația eșantionului original} = \log_{10}(\text{factor de diluție}) + \text{concentrația raportată a probei diluate.}$$

- Prezența ocazională a inhibitorilor PCR în plasmă poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului; dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă repetarea testării cu același eșantion diluat în Basematrix la 1:10 sau 1:100.
- Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența organismelor viabile. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv presupune prezența ADN-ului citomegalovirusului.
- Deleția sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx CMV Quant Assay poate afecta detecția sau poate genera un rezultat eronat folosind NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Rezultatele obținute din NeuMoDx CMV Quant Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; testul nu este destinat diagnosticării infecției.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” („Rezultate”) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System.

Rezultatele NeuMoDx CMV Quant Assay sunt generate automat de software-ul sistemului NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului CMV NeuMoDx (CMV ADF). Un rezultat NeuMoDx CMV Quant Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive with a reported CMV concentration (Pozitiv cu o concentrație CMV raportată), Positive above ULoQ (Pozitiv mai mare decât ULoQ), Positive below LLoQ (Pozitiv mai mic decât LLoQ), Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie din *Tabelul 1*.

Tabelul 1: Algoritm de decizie NeuMoDx CMV Quant Assay

Rezultat	CMV	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitiv)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND } (\$I) \text{ EPR} > 2 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} \geq 1500]$ OR (SAU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} \geq 1500]$	Nu se aplică
Positive (Pozitiv), mai mare decât limita superioară de cuantificare [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (\log_{10} UI/ml)	[CONC] > 8,0 \log_{10} UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)	Nu se aplică
Positive (Pozitiv), mai mic decât limita inferioară de cuantificare [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (\log_{10} UI/ml)	[CONC] < 1,3 \log_{10} UI/ml, NO QUANT (FĂRĂ CUANTIFICARE)	Nu se aplică
Negative (Negativ)	N/A (Nu se aplică) OR (SAU) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (\$I) \text{ EPR} \leq 2]$ OR (SAU) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (\$I) \text{ EP} < 1500]$ OR (SAU) Ct > 41	AMPLIFIED (AMPLIFICAT) ($28 \leq Ct \leq 34$) și EP ≥ 2000
Indeterminate (Neconcludent)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Erori de sistem observate)	
Unresolved (Nerezolvat)	NOT AMPLIFIED /No System Errors Noted (NEAMPLIFICAT/Nu s-au observat erori de sistem)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescență cu punct final) (după corecția liniei de bază); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Raportul fluorescenței cu punct final); Ct = Cycling Threshold (Prag de ciclare);

Quant = cantitate calculată de CMV prezent, exprimată în \log_{10} UI/ml. Consultați Calculul pentru testare de mai jos.

Calculul pentru testare

1. Pentru probele aflate în intervalul de cuantificare al NeuMoDx CMV Quant Assay, concentrația de ADN CMV din probe este calculată utilizând curba standard stocată împreună cu coeficientul de calibrare.
 - a. Un „coeficient de calibrare” se calculează pe baza rezultatelor calibratoarelor NeuMoDx CMV Calibrator procesate, pentru a stabili validitatea curbei standard, pentru un anumit lot de NeuMoDx CMV Quant Test Strip, pe un anumit sistem NeuMoDx System.
 - b. Coeficientul de calibrare este încorporat în determinarea finală a concentrației de ADN CMV.
2. Rezultatele NeuMoDx CMV Quant Assay sunt raportate în \log_{10} UI/ml.
3. Cuantificarea rezultată a probelor necunoscute poate fi urmărită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru CMV.

Calibrarea testării

Este necesară o calibrare validă, pe baza curbei standard, pentru a cuantifica ADN-ul CMV în eșantioane. Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie efectuată o calibrare a testării, utilizând calibratoarele furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibratoare externe

1. Calibratoarele NeuMoDx CMV Calibrator sunt furnizate într-un kit [REF 800400] și conțin țintă CMV neinfecțioasă încapsulată, preparată în Basematrix.
2. Cu fiecare lot nou de bandete NeuMoDx CMV Quant Test Strip trebuie procesat câte un set de calibratoare CMV, sau dacă un fișier de definiție a testului CMV nou este încărcat în NeuMoDx System, sau dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul sistemului NeuMoDx System este modificat.
3. Software-ul sistemului NeuMoDx System va anunța utilizatorul cu privire la momentul în care trebuie procesate calibratoare; nu poate fi folosit pentru testare un lot nou de bandete de testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
4. Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
 - a) Un set de două calibratoare - puternice și slabe - trebuie procesat pentru stabilirea validității.
 - b) Pentru generarea unor rezultate valide, cel puțin 2 din cele 3 replicate trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală cu calibrator slab este $3 \log_{10}$ UI/ml, iar ținta nominală cu calibrator puternic este $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Se calculează un coeficient de calibrare pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandete de testare; acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de CMV.
5. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului eșuat (calibratoarelor eșuate) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să execute din nou ambele calibratoare.
6. În cazul în care calibratorul (calibratoarele) eșuează în verificarea validității a doua oară consecutiv, contactați NeuMoDx Molecular, Inc.

Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

Substanțe de control externe

1. Materialele de control externe, care conțin ținta CMV neinfecțioasă încapsulată în Basematrix pentru substanțe de control pozitive, sunt furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc. într-un kit care conține substanțele de control externe NeuMoDx CMV External Control [REF 900401].
2. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate o dată la 24 de ore. Dacă nu există un set de substanțe de control externe valide, software-ul sistemului NeuMoDx System va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
3. Dacă sunt necesare substanțe de control externe, extrageți setul de substanțe de control externe din congelator și lăsați flacoanele să ajungă la temperatura camerei (15-30 °C) până la decongelarea completă a acestora. Vortexați ușor pentru a asigura omogenitatea.
4. Utilizând ecranul tactil și un suport de eprubete pentru eșantioane amplasat pe raftul încărcătorului automat, încărcăți flacoanele cu substanță de control pozitivă și negativă în NeuMoDx System. NeuMoDx System va recunoaște codul de bare și va începe procesarea eprubetelor pentru eșantioane, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
5. Validitatea substanțelor de control externe va fi evaluată de NeuMoDx System în funcție de rezultatul preconizat. Substanța de control pozitivă trebuie să genereze un rezultat pozitiv la CMV, iar substanța de control negativă trebuie să genereze un rezultat negativ la CMV.

6. Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
- Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă indică o problemă de contaminare a eșantionului.
 - Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de instrument.
 - În oricare dintre situațiile de mai sus, repetați procesul pentru substanțele de control externe NeuMoDx CMV External Control eșuate cu un flacon proaspăt decongelat cu substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
 - Dacă substanța de control externă NeuMoDx CMV External Control pozitivă continuă să raporteze un rezultat negativ, contactați departamentul de relații cu clienții NeuMoDx.
 - Dacă substanța de control externă NeuMoDx CMV External Control negativă continuă să raporteze un rezultat pozitiv, încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea TUTUROR reactivilor, înainte de a contacta departamentul de relații cu clienții NeuMoDx.

Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea PCR în timp real cu fiecare probă. Soluțiile de amorsare și sonda specifice pentru SPC1 sunt, de asemenea, incluse în fiecare NeuMoDx CMV Quant Test Strip permițând detecția prezenței SPC1 împreună cu ADN-ul CMV țintă (dacă există) prin PCR multiplex în timp real. Detecția amplificării SPC1 îi permite software-ului sistemului NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificarea PCR.

Rezultate nevalide

Dacă un test NeuMoDx CMV Quant Assay efectuat pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat fie ca Indeterminate (Neconcludent) (IND), fie ca Unresolved (Nerezolvat) (UNR), în funcție de tipul erorii survenite.

Un rezultat IND (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat IND (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio amplificare validă a ADN-ului CMV sau a SPC1, ceea ce indică posibilul eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), testarea poate fi repetată, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

Sensibilitate analitică – Limita de detecție utilizând standardul OMS

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx CMV Quant Assay a fost caracterizată prin testarea eșantioanelor negative și a unei serii de diluție conforme cu Primul standard internațional al OMS în plasma umană negativă testată prin screening, pentru a determina limita de detecție (LoD) pe sistemele NeuMoDx System. Limita de detecție a fost definită drept cel mai scăzut nivel țintă detectat la o rată de 95%, determinată prin analiza de tip Probit. Studiul a fost efectuat timp de 3 zile pe mai multe sisteme cu loturi multiple de reactivi NeuMoDx. Fiecare sistem a procesat câte 18 replicare, la fiecare nivel de diluție, pe zi. Ratele de detecție sunt prezentate în *Tabelul 2*.

Tabelul 2: Rate de detecție pozitive pentru determinarea LoD a NeuMoDx CMV Quant Assay

Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintei [\log_{10} UI/ml]	PLASMĂ		
		Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
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 pentru NeuMoDx CMV Quant Assay în plasmă pentru varianta gB1 a fost determinată a fi 17,7 UI/ml ($1,25 \log_{10}$ UI/ml) cu interval de încredere (Î) 95% de la 13,8 până la 21,0 UI/ml, ($1,14$ - $1,32 \log_{10}$ UI/ml) [*Figura 2*]. LoD pentru genotipuri este de 20,0 UI/ml ($1,30 \log_{10}$ UI/ml) determinată prin analiza ratei de succes.

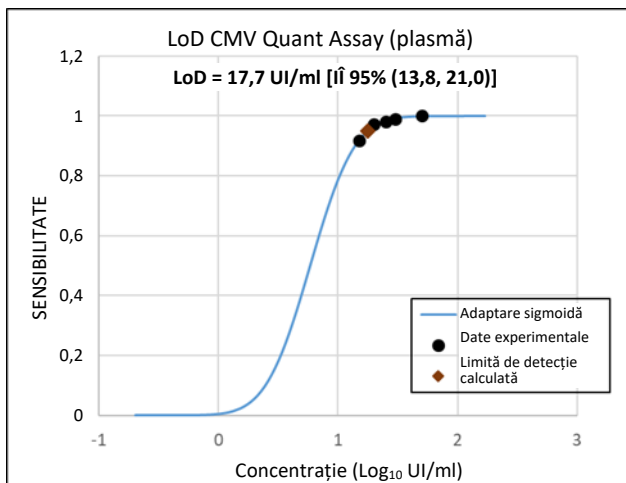


Figura 2: Analiză de tip Probit utilizată pentru determinarea LoD a NeuMoDx CMV Quant Assay în probele plasmatice

Sensibilitate analitică – Limită de cuantificare – Limită inferioară de cuantificare (LLOQ)

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) este definită ca cel mai mic nivel al țintei la care se obține o detecție > 95% și TAE ≤ 1,0. Pentru a determina LLOQ, eroarea analitică totală (TAE) a fost calculată pentru fiecare dintre nivelurile țintei CMV pentru care s-a demonstrat că raportează o detecție > 95% ca parte a calculului LoD. TAE este definită după cum urmează:

$$\text{TAE} = \text{abatere} + 2 \cdot \text{SD} \text{ (Statistică Westgard)}$$

Abaterea este valoarea absolută a diferenței dintre media concentrației calculate și a concentrației preconizate. SD se referă la abaterea standard a valorii cuantificate a probei.

Rezultatele compilate pentru cele 5 niveluri ale eșantioanelor plasmatice CMV (variantea gB1) folosite în studiul LLOQ sunt prezentate în *Tabelul 3*. Pe baza acestui set de date și LoD determinată anterior, LLOQ a fost determinată a fi de 20,0 UI/ml (1,30 log₁₀ UI/ml) și a fost confirmată pe genotipuri.

Tabelul 3: LLOQ NeuMoDx CMV Quant Assay, cu abaterea și TAE

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [log ₁₀ UI/ml]	Plasmă				
		Conc. medie [log ₁₀ UI/ml]	Detectie (%)	SD	Abatere	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

Pe baza rezultatelor acestor studii, LoD și LLOQ ale NeuMoDx CMV Quant Assay au fost determinate ambele ca fiind de 20,0 UI/ml [1,30 log₁₀ UI/ml].

Liniaritatea și determinarea limitei superioare de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Liniaritatea și limita superioară de cuantificare (ULoQ) ale NeuMoDx CMV Quant Assay au fost stabilite în plasmă prin pregătirea unei serii de diluție utilizând ținta CMV încapsulată NeuMoDx și substanța de control pozitivă Exact CMV (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) cu trasabilitate stabilită în conformitate cu Primul standard internațional al OMS. Un panel cu 9 membri a fost pregătit în plasma comasată negativă la CMV pentru a crea un panel care să se întindă pe un interval de concentrații de 8-1,7 log₁₀ UI/ml. S-a determinat că ULoQ a NeuMoDx CMV Quant Assay este 8,0 log₁₀ UI/ml. Concentrațiile analizei CMV raportate de NeuMoDx System comparativ cu valorile preconizate sunt prezentate în *Figura 3*.

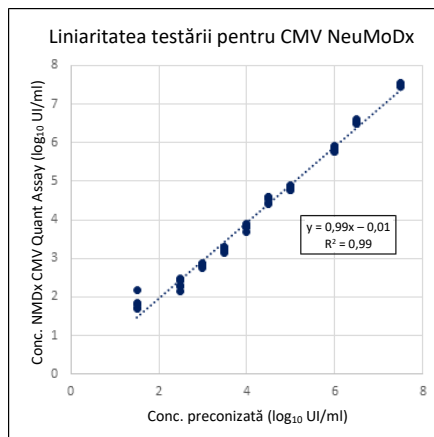


Figura 3: Liniaritatea NeuMoDx CMV Quant Assay

Liniaritatea între genotipuri

Liniaritatea NeuMoDx CMV Quant Assay pe patru genotipuri CMV (gB1, gB2, gB3 și gB4) a fost caracterizată prin testarea a cinci concentrații diferite ale fiecărui genotip CMV preparat în plasmă comasată negativă la CMV. Nivelurile țintelor CMV testate în cadrul acestui studiu au depins de concentrația eșantionului sursă și, astfel, au fost diferite între genotipuri. Studiul a fost efectuat prin testarea a 6 replicare ale fiecăruia dintre cele 4 genotipuri la 5 concentrații. Liniaritatea la nivelul celor patru genotipuri CMV este prezentată în *Tabelul 4* și *Figura 4*.

Tabelul 4: Liniaritatea NeuMoDx CMV Quant Assay între genotipuri

Genotip	Ecuția liniarității y = cuantificarea analizei CMV NeuMoDx x = cuantificare preconizată	R ²
gB1	$y = 0,960x + 0,103$	0,994
gB2	$y = 0,989x + 0,009$	0,996
gB3	$y = 1,023x + 0,099$	0,967
gB4	$y = 0,968x + 0,004$	0,992

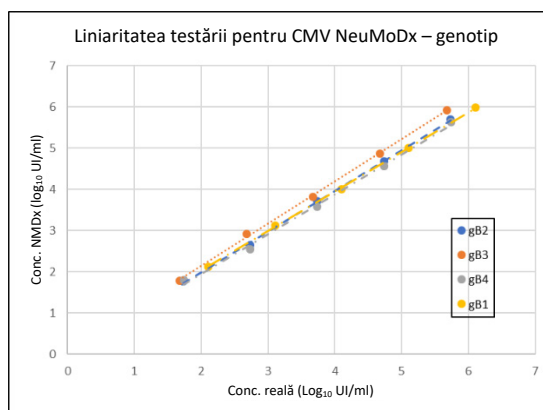


Figura 4: Liniaritatea NeuMoDx CMV Quant Assay între genotipuri

Specificitate analitică – Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 35 de organisme frecvent întâlnite în eșantioane de sânge/plasmă, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu CMV pentru reactivitate încrucișată. Organismele au fost pregătite în surse de câte 5 – 6 organisme și testate la o concentrație ridicată. Organismele testate sunt prezentate în *Tabelul 5*. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100% pentru NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabelul 5: Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică

Organisme non-țintă					
Poliomavirus BK	Adenovirus tip 5	Virusul Herpes Simplex tip-1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Virusul Epstein-Barr	Virusul hepatitei C	Virusul Herpes Simplex tip-2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virusul herpetic uman tip-6	Parvovirus B19	Virusul varicelo-zosterian	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virusul herpetic uman tip-7	Virusul JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Virusul herpetic uman tip-8	Virus papiloma uman 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virusul hepatitei B	Virus papiloma uman 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, organisme comensale

NeuMoDx CMV Quant Assay a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme pregătite pentru testarea reactivității încrucișate, enumerate mai sus, în *Tabelul 5*. Plasma negativă la CMV a fost îmbogățită cu organismele comensale în grupuri de 4-7, și a fost îmbogățită, de asemenea, cu țintă CMV la o concentrație de 3 log₁₀ UI/ml. Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme comensale, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență.

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, substanțe endogene și exogene

NeuMoDx CMV Quant Assay a fost evaluat în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la eșantioanele clinice de plasmă CMV. Acestea au inclus niveluri anormal de ridicate ale componentilor sanguini, precum și medicamente antivirale comune, care au fost clasificate în *Tabelul 6*. Fiecare substanță a fost adăugată în plasma umană testată prin screening negativ la CMV îmbogățită cu 3 log₁₀ UI/ml CMV și probele au fost analizate pentru interferență. În plus, a fost testată plasma comună stadiului bolii, asociată cu infecția cu CMV, pentru o posibilă interferență. Concentrația medie și abaterea tuturor substanțelor testate în comparație cu probele de control îmbogățite cu același nivel de CMV sunt raportate în *Tabelul 7*. Niciuna dintre substanțele exogene și endogene nu a afectat specificitatea NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabelul 6: Testarea interferenței – Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

Sursă	Denumire medicament	Clasificare	Sursă	Denumire medicament	Clasificare
Sursa 1	Azatioprină	Imunosupresor	Sursa 4	Trimetoprim	Antibiotic
	Ciclosporină	Imunosupresor		Vancomicină	Antibiotic
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Tacrolimus	Imunosupresor
	Ganciclovir	Antiviral (CMV)		Everolimus	Imunosupresor
	Valganciclovir clorhidrat	Antiviral (CMV)		Clavulanat de potasiu	Antibiotic
Sursa 2	Prednison	Corticosteroid/imunosupresor	Sursa 5	Famotidină	Antagonist al receptorilor histaminici
	Cidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfametoxazol	Antibiotic
	Cefotetan	Antibiotic (spectru larg)		Valaciclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaximă	Antibiotic (spectru larg)		Letermovir	Antiviral (CMV)
	Fluconazol	Antifungic		Ticarcilină disodică	Antibiotic
Sursa 3	Micofenolat mofetil	Imunosupresor		Leflunomidă	Imunosupresor
	Micofenolat sodic	Imunosupresor			
	Piperacilină	Antibiotic			
	Sirolimus/Rapamicină	Imunosupresor			
	Tazobactam	Antibiotic modificat			

Tabelul 7: Testarea interferenței - Agenți exogeni și endogeni

Endogenă	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Hemoglobină	2,97	0,07
Trigliceride	3,03	0,13
Bilirubină	3,01	0,11
Albumină	2,88	-0,02
Exogen (medicamente)	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Sursa 1: Azatioprină, Ciclosporină, Fosfarnet, Ganciclovir, Valganciclovir clorhidrat	2,88	-0,02
Sursa 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaximă, Fluconazol	2,91	0,01
Sursa 3: Micofenolat mofetil, Micofenolat sodic, Piperacilină, Sirolimus/Rapamicină, Tazobactam	2,98	0,08
Sursa 4: Trimetoprim, Vancomicină, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanat de potasiu	3,05	0,15
Sursa 5: Famotidină, Sulfametoxazol, Letermovir, Valaciclovir, Ticarcilin disodic, Leflunomidă	2,87	-0,03
Stadiul bolii	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Anticorp anti-nuclear (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Lupus eritematos sistemic (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,04	0,14
Artrită reumatoidă	2,99	0,09

Precizia în laborator

Precizia NeuMoDx CMV Quant Assay a fost determinată prin testarea a 3 replicare ale unui panel de 4 membri din eşantioane de CMV preparate cu substanță de control pozitivă Exact CMV (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) de două ori pe zi, folosind două sisteme NeuMoDx 288 System și un sistem NeuMoDx 96 Sistem în decurs de 12 zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării, precizia din timpul zilei și precizia în sistem, și abaterea standard globală s-a determinat a fi ≤ 0,15 log₁₀ UI/ml. Precizia excelentă a fost demonstrată pe toate sistemele, în toate zilele sau în toate rulările, după cum se arată în *Tabelul 8*. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx System.

Tabelul 8: Precizie în laborator – NeuMoDx CMV Quant Assay pe sisteme NeuMoDx System

Conc. țintă CMV [log ₁₀ UI/ml]	Conc. medie CMV [log ₁₀ UI/ml]	SD în sistem	SD în timpul zilei	SD în execuție	SD globală (în laborator)
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

Reproductibilitatea de la un lot la altul

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx CMV Quant Assay a fost determinată utilizând trei loturi diferite de reactivi cheie – NeuMoDx Lysis Buffer 1, plăcile NeuMoDx Extraction Plate și bandelele NeuMoDx CMV Quant Test Strip. Un panel de 4 membri de CMV preparat cu substanță de control Exact CMV a fost utilizat pentru a evalua performanța. Testarea a fost efectuată utilizând cele trei loturi de reactivi pe trei sisteme timp de 6 zile. Variația din cadrul lotului și între loturi a fost analizată, iar rezultatele au fost prezentate în *Tabelul 9*. Abaterea globală maximă a fost 0,12 log₁₀ UI/ml și SD globală maximă a fost 0,39 log₁₀ UI/ml. Performanța echivalentă a fost demonstrată între loturi, deoarece cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță.

Tabelul 9: Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx CMV Quant Assay

Conc. țintă CMV [log ₁₀ UI/ml]	Conc. medie CMV [log ₁₀ UI/ml]	N (Rezultate valide pe lot)	Abatere	SD între loturi	SD în lot	SD globală
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

Eficacitatea substanței de control

SPC1 este inclusă în NeuMoDx CMV Quant Assay pentru a raporta erorile din timpul etapelor de procesare sau inhibarea care afectează performanța analizei. Eficacitatea a fost testată în condiții reprezentative erorilor critice din timpul etapelor de procesare, care puteau apărea în timpul procesării probelor și care *era posibil să nu fie detectate* de senzorii de monitorizare a performanței NeuMoDx System. Eșantioanele pozitive (la 3 log₁₀ UI/ml) și negative au fost provocate în prezența unei substanțe de control, în următoarele condiții: Presence of inhibitor (Prezența inhibitorului), No wash solution delivered (Nicio soluție de spălare furnizată) și No Wash Blowout (Lipsă suflare spălare). Ineficiențele în procesare, care au afectat negativ detecția/cuantificarea CMV, au fost reflectate de performanța țintei SPC1, după cum se arată în *Tabelul 10*. În toate cazurile testate, s-a demonstrat că substanța de control pentru procesarea probei a monitorizat în mod adecvat ineficiențele în procesare și prezența inhibitorilor, sau că ineficiența anticipată în procesare nu a avut un efect negativ semnificativ asupra detecției SPC1 sau a detecției și cuantificării CMV. Prin urmare, SPC1 a demonstrat succesul în monitorizarea eficientă a performanței analizei pe NeuMoDx System.

Tabelul 10: Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei

Eroare în timpul etapelor de procesare testată	Starea de amplificare a substanței de control pentru procesarea probei 1	Starea de amplificare a țintei CMV	Rezultatul analizei
Presence of Inhibitor (Prezența inhibitorului)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Delivered (Niciun reactiv de spălare furnizat)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Blowout (Lipsă suflare spălare)	Amplified (Amplificat)	Amplified (Amplificat)	Positive (Pozitiv) cu cuantificarea în 0,3 log ₁₀ UI/ml din substanța de control

Rata rezultatelor valide

O analiză retrospectivă a datelor obținute în timpul evaluării performanței NeuMoDx CMV Assay pe sistemele NeuMoDx System a fost utilizată pentru determinarea procentului de rezultate valide. Rezultatele valide ale testării sunt raportate ca Positive (Pozitiv) sau Negative (Negativ); rezultatele nevalide ale testării pot fi raportate ca Indeterminate (Neconcludent) (IND) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR), în funcție de starea țintei și a substanței de control pentru procesarea probei. Un rezultat IND este, de obicei, generat de o eroare a instrumentului, care duce la un eșec al țintei și/sau al substanței de control interne pentru procesare, care trebuie amplificate. Un rezultat UNR este alocat probelor atunci când atât ținta, cât și substanța de control internă pentru procesare nu reușesc să amplifice în absența unei erori detectate a instrumentului. În analiza retrospectivă au fost incluse 1.100 de rezultate individuale ale NeuMoDx CMV Quant Assay, care au inclus date obținute pe sistemele NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 System. S-a determinat că rata UNR este egală cu 0,91% (10/1100), iar rata IND, 0,36% (4/1100); acestea au întrunit criteriile de acceptare ale analizei. Prin urmare, rata rezultatelor valide ale NeuMoDx CMV Assay pe sisteme NeuMoDx System s-a concluzionat a fi de 98,7% cu î 95% (97,9- 99,2).

Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru NeuMoDx CMV Quant Assay a fost determinată prin testarea a trei seturi de eșantioane de CMV, formate din eșantioane puternic pozitive și negative. În total, aceasta a implicat testarea a 108 de replicare de plasmă negativă la CMV și 108 de replicare ale unui eșantion plasmatic CMV îmbogățit, la 6,0 log₁₀ UI/ml. Toate cele 108 de replicare ale eșantionului negativ au fost raportate ca negative, ceea ce demonstrează că nu s-a produs nicio contaminare încrucișată în timpul procesării probelor pe NeuMoDx System.

Echivalența matricelor eșantioanelor

Testarea a fost efectuată pentru a demonstra echivalența matricelor eșantioanelor dintre sângele integral recoltat în eprubete de recoltare cu acid etilendiaminetetraacetic (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) și acid-citrat-dextroză (ACD) pentru pregătirea plasmei. S-a efectuat o testare suplimentară pentru a determina echivalența dintre eșantioanele de plasmă proaspete și cele congelate (recoltate în două tipuri de eprubete). Eșantioanele proaspete au fost păstrate la 4 °C până când au fost îmbogățite cu trei niveluri de CMV și testate pentru echivalență. După aceea, probele au fost congelate timp de minim 24 de ore la -20 °C. După această perioadă de depozitare în stare congelată, eșantioanele au fost decongelate și retestate. Rezultatele obținute de la eșantioanele plasmatice proaspete și congelate, precum și cele de la eșantioanele plasmatice cu EDTA și cu ACD, au fost comparate pentru echivalență prin analiză de regresie. Datele au demonstrat o echivalență excelentă între eșantioanele de plasmă cu EDTA și ACD și eșantioanele de plasmă proaspete și congelate cu pante în intervalul 0,02 și 1,0 și abatere (intersecție) foarte mică, așa cum este prezentat în *Tabelul 11* de mai jos.

Tabelul 11: Echivalența matricelor eșantioanelor

Cerință privind parametrii	ACD comparat cu K2EDTA		Proaspăt comparat cu Congelat	
	Proaspăt	Congelat	ACD	EDTA
Pantă [0,9-1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Intersecție [$<0,5 \log_{10}$ UI/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
valoarea $p > 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

Compararea metodelor clinice

Performanța cantitativă a NeuMoDx CMV Quant Assay a fost evaluată în raport cu analizele comparative cu aprobare FDA/CE, prin testarea eșantioanelor clinice nediluate de la pacienți infectați cu HCV. Testarea a fost efectuată intern, la NeuMoDx, prin intermediul unui studiu simplu orb al eșantioanelor clinice cu elementele de identificare anulate, reziduale, obținute de la patru laboratoare externe de referință. Un total de 284 de eșantioane plasmatiche au fost procesate utilizând NeuMoDx CMV Quant Assay într-un mod (simplu) orb, pe mai multe sisteme NeuMoDx Molecular System.

Erorile de procesare și de sistem obținute pe sistemele NeuMoDx Molecular System au fost minime și au întrunit criteriile. Un total de 3 rezultate Indeterminate (Neconcludent) (IND) au fost obținute pentru probe, care a dus la o rată globală inițială IND de 1% cu Î 95% (0,27-3,32%). Nu a existat un volum suficient pentru a reprocessa aceste 3 eșantioane în fluxul normal de lucru. Au fost obținute inițial 10 rezultate Unresolved (Nerezolvat) (UNR), dar urmând procedura recomandată pentru CMV Quant Assay pentru o diluție de 1:10 în Basematrix pentru rezultate UNR (Nerezolvat), rezultate valide au fost obținute la repetarea testării tuturor celor 10 probe UNR diluate corespunzător. Prin urmare, rata de eroare totală de procesare a fost de 1,06% cu Î 95% (0,27%-3,3%) din cauza rezultatelor Indeterminate (Neconcludent) care nu au putut fi testate din nou, din cauza volumului insuficient.

Au existat 4 probe care au generat o semnalizare Quantitation Error (Eroare de cuantificare) și 3 dintre cele 4 au putut fi testate din nou, în conformitate cu procedura recomandată, folosind o diluție de 1:10 a probei în Basematrix pentru a obține un rezultat cantitativ valid. Dintre cele 283 de rezultate valide obținute în studiu, NeuMoDx CMV Assay a raportat 129 de probe pozitive, cu valori de concentrație corespunzătoare atribuite prin testările de referință. Pentru șase dintre aceste probe, cinci au fost raportate sub LLoQ și una a fost raportată peste ULoQ de testarea de referință și, prin urmare, un total de 123 de probe au avut valori de concentrație corespunzătoare atribuite atât de NeuMoDx CMV Quant Assay, cât și de testările de referință CE-IVD, și au fost folosite pentru analiza cantitativă a corelării. S-au folosit analizele de regresie Deming și Passing-Bablok pentru a face corelarea dintre valorile concentrațiilor NeuMoDx CMV Assay și valorile raportate de testările de referință.

Au fost generate reprezentări grafice ale echivalenței pentru a reprezenta corelarea dintre concentrațiile NeuMoDx CMV Quant Assay și valorile concentrațiilor de referință, pentru toate probele testate, utilizând adaptarea prin regresie Deming și Passing-Bablok, acestea fiind prezentate în Figura 5.

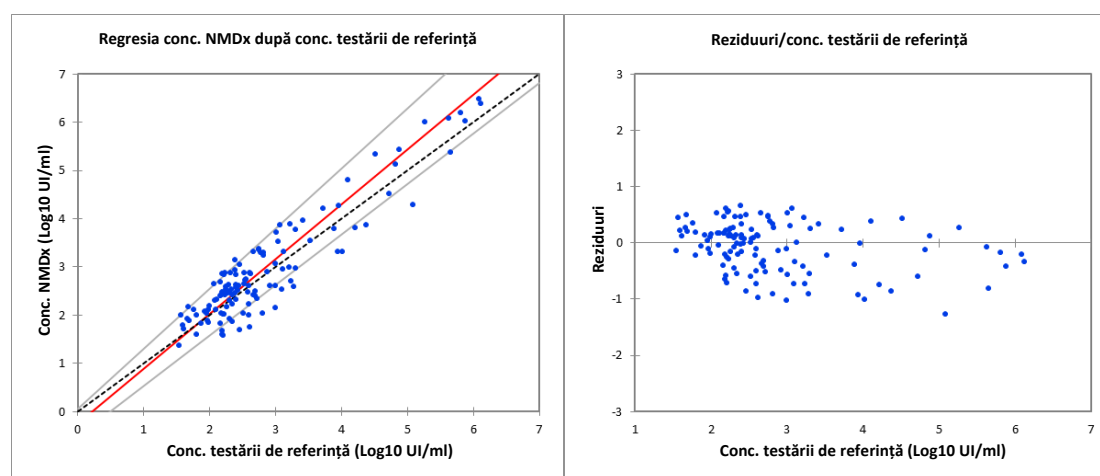


Figura 5: Reprezentări grafice ale echivalenței (*stânga*) și reziduurilor (*dreapta*) – Analiză cumulativă (pentru cele două sisteme NeuMoDx System) a rezultatelor NeuMoDx CMV Quant Assay în comparație cu rezultatele testărilor de referință pentru TOATE probele, pe baza analizei de regresie Passing-Bablok.

Calitatea adaptării prin regresie Deming este ilustrată de un coeficient al pantei egal cu 1,1, cu un Î 95% (1,0, 1,2), și o intersecție (abatere) de -0,18 cu un Î 95% (-0,39, 0,03), demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx CMV Quant Assay și testările de referință sunt extrem de bine corelate și prezintă o abatere acceptabilă. Calitatea adaptării liniare Passing-Bablok este ilustrată de un coeficient al pantei egal cu 1,1, cu un Î 95% (1,0, 1,2), și o intersecție (abatere) de -0,24 cu un Î 95% (-0,51, 0,06), demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx CMV Quant Assay și testările de referință sunt extrem de bine corelate și prezintă o abatere acceptabilă, după cum se arată în Tabelul 12.

Tabelul 12: Sumarul analizei de regresie liniară Deming și Passing-Bablok

Analiză Deming		Analiză Passing-Bablok	
Intersecție	Coeficientul pantei	Intersecție	Coeficientul pantei
-0,18	1,1	-0,24	1,1
Î 95% (-0,39, 0,03)	Î 95% (1,0, 1,2)	Î 95% (-0,51, 0,06)	Î 95% (1,0, 1,2)

REFERINȚE

1. Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
2. 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.
3. 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.
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.

MĂRCI COMERCIALE











NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

SIMBOLURI

SIMBOL	SEMNIFICAȚIE
R only	Doar pe bază de rețetă
	Producător
IVD	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană
REF	Număr de catalog
LOT	Cod lot
	Termen de valabilitate
	Limită de temperatură
	Limitare a umidității
	A nu se reutiliza
	Conține suficient pentru $<n>$ (de) testări
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție
	Riscuri biologice
CE	Marcaj CE

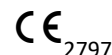


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

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



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



Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: support@qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents