

REF 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA

IVD Til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular SystemsOpdateringer til indlægssedler kan findes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System, p/n 40600108

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System, p/n 40600317

TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx EBV Quant Assay er en automatiseret, *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af human Epstein-Barr-virus (EBV) DNA i plasma. NeuMoDx EBV Quant Assay er implementeret i NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) og indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra plasma og realtids-polymerasekædereaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) til målsøgning af to højt bevarede regioner i Epstein-Barr-virus-genomet.

NeuMoDx EBV Quant Assay er beregnet til *in vitro*-påvisning og kvantificering af Epstein-Barr-virus-DNA i friske og frosne humane plasmaprøver med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems. NeuMoDx EBV Assay er beregnet til at blive anvendt til diagnosticering og overvågning af EBV-infektioner. Analysen kan bruges til at måle EBV-DNA-niveauer med henblik på vurdering af respons på antiviral behandling. Denne analyse er beregnet til anvendelse i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for fremskreden sygdom med henblik på kliniske behandling og overvågning af EBV-infektion. Analysen er ikke beregnet til anvendelse som en screeningstest for tilstedeværelsen af EBV i blod eller blodprodukter.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamlet i sterile blodprøvetagningsrør, der indeholder EDTA som antikoagulationsmiddel, kan bruges til klargøring af plasma. For at påbegynde testning placeres plasma i et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i en prøverørsholder og sættes på arbejdsbordet i NeuMoDx System. Bland for hver prøve en 250 µl alikvot af plasmaprøven med NeuMoDx Lysis Buffer 5, og NeuMoDx System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyren. Klargør det isolerede DNA til realtids-PCR-amplifikation, og amplificer og påvis amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede (to højt bevarede regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielt inhibitoriske stoffer og NeuMoDx System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocessen.

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

Brug af overvågning af EBV-virusmængde letter diagnosen og behandlingen af EBV-associeret PTLD. Imidlertid er påvisning af EBV-nukleinsyre i blodet ikke tilstrækkeligt til at kunne stille diagnosen EBV-associeret PTLD. Nukleinsyre-testning (Nucleic Acid Testing, NAT) bør kun anvendes i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører for fremskreden sygdom med henblik på den kliniske behandling og overvågning af patienter med EBV-infektion. Selvom de nuværende retningslinjer for kontrol og behandling af EBV-infektioner hos immunkompromitterede individer er tvetydige med hensyn til, hvornår man skal iværksætte antiviral terapi, kræver de alle konstant overvågning af virusmængde, så snart en antiviral terapi er iværksat, for at hjælpe med at mildne de alvorlige bivirkninger af lægemidlerne i sådanne populationer.^{3,4}

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx EBV Quant Assay i NeuMoDx System anvender NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 og NeuMoDx-universalreagenser til analysen. NeuMoDx EBV Quant Assay kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, amplifikation og påvisning med realtids-PCR. Prøver af fuldblod opsamles i EDTA-rør til klargøring af plasma. Plasmaprøven i et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System, anbringes i en prøverørsholder og sættes på arbejdsbordet i NeuMoDx System med henblik på behandling. Der kræves ingen yderligere indblanding fra operatøren.

NeuMoDx Systems anvender en kombination af varme, lytiske enzymer og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre cellelysis, DNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigivne nukleinsyrer fanges af paramagnetiske partikler. Partiklerne sammen med de bundne nukleinsyrer isættes i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne/ikke-DNA-komponenter vaskes yderligere væk med NeuMoDx Wash Reagent, og det bundne DNA elueres med NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx Systems anvender derefter det eluerede DNA til at rehydrere egne NeuDry™-amplifikationsreagenser med alle de elementer, der er nødvendige for PCR-amplifikation af de EBV-specifikke mål og SPC1. Efter rekonstitution af de NeuDry PCR-reagenser dispenserer NeuMoDx System den forberedte PCR-klare blanding ind i en NeuMoDx Cartridge. Amplifikation og påvisning af kontrollen og målsekvenserne for DNA (hvis disse findes) sker i PCR-kammeret i NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge er også designet til at indeholde amplikonet efter realtids-PCR og i bund grund eliminere risikoen for kontamination efter amplifikation.

NeuMoDx EBV Quant Assay er målrettet mod to højt bevarede regioner, BALF5 og BXFL1, i EBV-genomet. Det dobbelte mål design reducerer risikoen for falsk negative resultater i tilfælde af mutation, hvilket øger analysens robusthed. De amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseprobekemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidprobemolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål.

TaqMan-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket resulterer i, at quenchemolekylet quencher den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

TaqMan-prober er designet således, at de afhælder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhædet til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og forårsager tab af tæt nærhed til quencheren, hvorved quenchingeffekten, der skyldes FRET, ophæves og tillader påvisning af fluorescens fra fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres, er direkte proportionalt med den frigivne fluorofor og kan korreleres til mængden af mål-DNA, der er til stede.

En TaqMan-probe mærket med en fluorofor (490/521 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden anvendes til at påvise EBV-DNA. Til påvisning af SPC1 mærkes TaqMan-proben med en anden fluorescerende farve (535/556 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden. NeuMoDx System-software monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx System-softwaren dataene og rapporterer et resultat (POSITIVE (positivt)/NEGATIVE (negativt)/INDETERMINATE (ubestemmeligt)/UNRESOLVED (uafklaret)). Hvis resultatet er POSITIVE (positivt), leverer NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven eller rapporterne, hvis den beregnede koncentration er uden for grænserne for kvantificering.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip <i>Tørrede PCR-reagenser med EBV- og SPC1-specifikke TaqMan-prober og primere.</i>	16	96

Yderligere nødvendige materialer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller</i>
800500	NeuMoDx EBV Calibrators <i>Høje og lave EBV-kalibratorsæt til engangsbrug til at fastlægge standardkurvens gyldighed</i>
900501	NeuMoDx EBV External Controls <i>Sæt med EBV-positive og -negative kontroller til engangsbrug til at fastlægge den daglige gyldighed af NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx EBV Quant Assay er kun til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx Systems.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ og i CLSI-dokument M29-A4.⁶
- Et positivt resultat indikerer tilstedeværelse af EBV-DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay må kun anvendes af personale, der er uddannet i brug af NeuMoDx System og håndtering af smittefarligt materiale.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.
- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.
- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- En gyldig testkalibrering (genereret ved at behandle høje og lave NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.

- NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501] skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Mindste prøvevolumen af sekundære alikvoter afhænger af rørstørrelse/prøverørsholder som defineret nedenfor. Et volumen under den anførte minimumværdi kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (Kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Anvendelse af prøver, der har været opbevaret ved forkert temperatur eller i længere tid end den anførte opbevaringstid, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater.
- Undgå altid mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Brugen af sterile DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug anbefales. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx EBV Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekitter og NeuMoDx System ikke er kontaminerede.
- Der skal bruges rene, pulverfri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste flade i NeuMoDx Cartridge, den folieforseglede flade i NeuMoDx EBV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx Lysis Buffer 5 ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) kan fås på anmodning.
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser.

PRODUKTOPBEVARING, -HÅNTERING OG -STABILITET

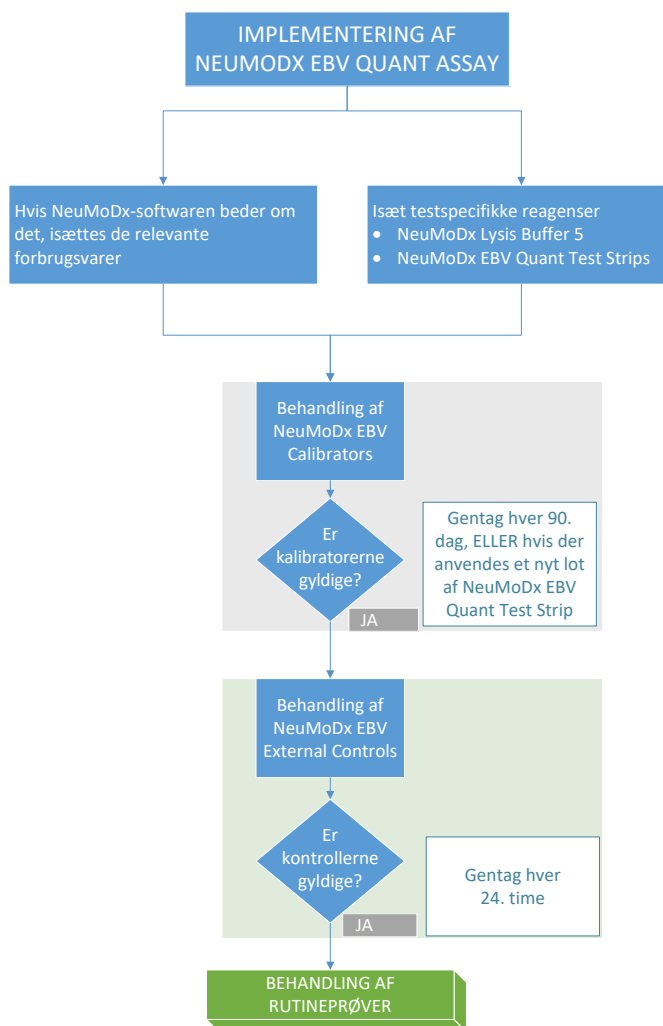
- NeuMoDx EBV Quant Test Strips er stabile i den primære emballage indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket, når de opbevares ved 18-23 °C.
- Ingen forbrugsvarer og reagenser må anvendes efter den angivne udløbsdato.
- Et testprodukt må ikke anvendes, hvis den primære eller sekundære emballage er blevet synligt kompromitteret.
- Hvis et testprodukt tidligere har været sat i et andet NeuMoDx System, må produktet ikke anvendes igen.
- Når NeuMoDx EBV Quant Test Strip er isat, kan den forblive i NeuMoDx System i 14 dage. Den resterende holdbarhed for isatte teststrimler spores af softwaren og rapporteres til brugeren i realtid. Systemet beder brugeren om at fjerne en eventuel teststrimmel, der har været i brug ud over den tilladte periode.
- Selvom NeuMoDx EBV Calibrators og NeuMoDx EBV External Controls er ikke-infektive, skal de kasseres efter brug som biologisk farligt laboratorieaffald for at mindske risikoen for kontaminering som følge af den indeholdte mÅlnukleinsyre.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

Håndter alle prøver, som om de kan overføre smitstoffer.

- Fuldblod eller prøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
- Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrørene.
- Fuldblod, der er opsamlet i de enheder, der er anført på listen ovenfor, skal opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2 °C til 25 °C inden klargøring af plasma. Klargøring af plasma skal foretages i henhold til fabrikantens instruktioner.
- Klargjorte plasmaprøver kan opbevares i NeuMoDx System i op til 8 timer inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses.
- Klargjort plasma skal opbevares mellem 2 til 8 °C i maksimalt 7 dage før testning og i maksimalt 8 timer ved stuetemperatur.
- Klargjorte plasmaprøver kan opbevares ved < -20 °C i op til 8 uger for plasma inden behandling. Plasmaprøver må ikke udsættes for mere end 2 cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes.
 - Hvis prøverne fryses, skal de tørt helt op ved stuetemperatur (15-30 °C). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - Når de frosne prøvet er tørt, skal testen udføres inden for 8 timer.
- Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.
- Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at prøverne er til EBV-testning.
- Fortsæt med afsnittet Testklargøring.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx EBV Quant Assay opsummeres nedenfor i figur 1.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx EBV Quant Assay

BRUGSANVISNING

Testklargøring

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Overfør en alikvot af plasmaet til et prøverør med stregkode, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til nedenstående mængder:
 - Prøverørsholder (32 rør): 11-14 mm i diameter og 60-120 mm i højden, mindste fyldningsvolumen ≥ 400 ml
 - Prøverørsholder (24 rør): 14,5-18 mm i diameter og 60-120 mm i højden, mindste fyldningsvolumen ≥ 850 ml

Betjening af NeuMoDx System

Der står flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems (p/n 40600108 og 40600317)

1. Sæt NeuMoDx EBV Quant Test Strip(s) i én eller flere NeuMoDx System-teststripholder(e), og brug berøringsskærmen til at sætte teststripholder(ne) i NeuMoDx System.
2. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, tilsættes de nødvendige påkrævede forbrugsvarer til NeuMoDx Systems holdere til forbrugsvarer, og berøringsskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, udskiftes NeuMoDx Wash Reagent og NeuMoDx Release Reagent. Primingaffaldet eller beholderen til biologisk farligt affald tømmes efter behov.

4. Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal Calibrators [REF 800500] og/eller External Controls [REF 900501] behandles som påkrævet. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
5. Sæt prøverøret/prøverørene ind i en standardudgave af prøverørsholderen til 32 røer, og sørg for, at hæfterne er taget af alle prøverøer.
6. Anbring prøverørsholderen på en ledig plads på hylden til automatisk isætning, og brug berøringsskærmen til at isætte holderen i NeuMoDx System. Dette vil indlede behandlingen af prøverne til den eller de identificerede test(s).

BEGRÆNSNINGER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip kan kun anvendes på NeuMoDx System.
- Ydeevnen for NeuMoDx EBV Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort fra fuldblod, der var opsamlet med EDTA som antikoagulerende middel. Anvendelsen af NeuMoDx EBV Quant Test Strip sammen med andre kliniske prøvetyper er ikke vurderet, og ydelseskarakteristika for testen kendes ikke for andre prøvetyper.
- Da påvisningen af EBV afhænger af antallet af vira, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
- Kalibratorer og eksterne kontroller skal behandles i henhold til anbefalingen i indlægssedlerne, og som NeuMoDx System-softwaren angiver, inden behandling af rutinemæssige kliniske prøver.
- Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forkert identifikation af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx System, må betjene NeuMoDx System.
- Hvis både EBV-målene og SPC1-målet ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
- Hvis resultatet fra NeuMoDx EBV Quant Assay er Positive (positiv), men kvantificeringsværdien er under grænserne for kvantificering, vil NeuMoDx System rapportere, om det påviste EBV var *under* en laveste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Hvis det påviste EBV var under LLoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay om ønsket gentages med en anden alikvot af prøven.
- Hvis det påviste EBV var over ULoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:100 eller 1:1000 i EBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Systemet beregner automatisk koncentrationen af den oprindelige prøve som følger: Oprindelig prøvekoncentration = \log_{10} (fortyndingsfaktor) + rapporteret koncentration af den fortyndede prøve, så længe fortyndingsfaktoren er valgt korrekt i softwaren inden gentagelse.
- Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma, som kan føre til en Quantitation Error (kvantificeringsfejl) i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af aktiv virusinfektion. Et positivt resultat angiver snarere, at det er sandsynligt, at der er Epstein-Barr-virus-DNA.
- Selvom sandsynligheden er meget lille, kan deletion eller mutationer i de bevarede regioner af EBV-genomet, som NeuMoDx EBV Quant Assay er målrettet mod, få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Resultater fra NeuMoDx EBV Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
- God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen 'Results' (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx Systems berøringskærm.

NeuMoDx EBV Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx EBV Assay-definitionsfil (EBV ADF). Et NeuMoDx EBV Quant Assay-resultat kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret EBV-koncentration, Positive (Positivt) over ULoQ, Positive (Positivt) under LLoQ, Indeterminate (ubestemmeligt) eller Unresolved (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra beslutningsalgoritmen i *tabel 1*.

Tabel 1: Beslutningsalgoritme for NeuMoDx EBV Quant Assay

Resultat	EBV	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND } (OG) \text{ EPR} > 2 \text{ AND } (OG) \text{ EP} \geq 1500]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (OG) \text{ EP} \geq 1500]$	ikke relevant
Positive (Positivt), over øverste grænse for kvantificering [ULoQ] (Log_{10} IE/ml)	[KONC] > 8,0 Log_{10} IE/ml, NO QUANT (UDEN KVANT)	ikke relevant
Positive (Positivt) under nederste grænse for kvantificering [LLoQ] (Log_{10} IE/ml)	[KONC] < 2,3 Log_{10} IE/ml, NO QUANT (UDEN KVANT)	ikke relevant
Negative (Negativt)	N/A OR (ELLER) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (OG) \text{ EPR} \leq 2]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND } (OG) \text{ EP} < 1500]$ OR (ELLER) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFICERET) ($29 \leq Ct \leq 35$) and (og) $\text{EP} \geq 2000$
Indeterminate (Ubestemmeligt)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted (Ikke amplificeret/systemfejl registreret)	
Unresolved (uafklaret)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (ikke amplificeret/ingen systemfejl registreret)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens) (efter baselinekorrektion); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensratio); Ct = Cycling Threshold (cyklusgrænse);
Quant = beregnet kvantitet af EBV udtrykt i Log_{10} IE/ml. Se nedenfor under Testberegning.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantificeringsområdet for NeuMoDx EBV Quant Assay, beregnes koncentrationen af EBV-DNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten.
 - Der beregnes en "kalibreringskoefficient" ud fra resultaterne fra de behandlede NeuMoDx EBV Calibrators for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for hvert lot af NeuMoDx EBV Quant Test Strips på et bestemt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficienten indgår automatisk i systemet i den endelige bestemmelse af koncentrationen af EBV-DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay-resultaterne rapporteres i Log_{10} IE/ml.
- Den deraf følgende kvantificering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques.

Testkalibrering

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

Kalibratorer

- NeuMoDx EBV Calibrators leveret i et kit [REF 800500] og indeholder ikke-infektøst indkapslet EBV-mål klargjort i Basematrix.
- Der skal behandles et sæt EBV-kalibratorer med hvert nyt lot af NeuMoDx EBV Quant Test Strips, hvis en ny EBV Assay-definitionsfil uploades i NeuMoDx System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx System-softwaren ændres.
- NeuMoDx System-softwaren vil informere brugeren om, hvornår kalibratorerne skal behandles. Et nyt lot af teststrimler kan ikke bruges, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.
- Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - Et sæt med to kalibratorer – høj og lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.

- b) For at generere gyldige resultater skal mindst 2 ud af 3 replikater give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er $4 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$, og det nominelle mål for den høje kalibrator er $6 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$.
 - c) Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation i test strip lots; denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige EBV-koncentration.
5. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratorer, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratorene igen.
 6. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for kalibratoren/kalibratorerne for anden gang i træk, skal du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. Der medfølger materialer til ekstern kontrol fra NeuMoDx Molecular, Inc. i et kit, der indeholder NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501]. Disse materialer indeholder ikke-infektøst indkapslet EBV-mål i Basematrix for positive kontroller.
2. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller hver 24. time. Hvis et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx System-softwaren bede brugeren om, at behandle disse kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
3. Hvis eksterne kontroller er påkrævet, skal et sæt af eksterne kontroller hentes fra fryseren, og rørene skal optøes ved stuetemperatur (15-30 °C). Bland indholdet forsigtigt i en vortexer, så det er homogent.
4. Ved hjælp af berøringsskærmen og en prøverørsholder, der er anbragt på hylden til automatisk isætning, isættes hætteglassene med positiv og negativ kontrol i NeuMoDx System. NeuMoDx System vil genkende stregkoden og starte behandling af prøverørene, medmindre der ikke er reagenser eller forbrugsvarer til rådighed til testen.
5. Gyldigheden af eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et EBV Positive (positivt) resultat, og den negative kontrol bør give et EBV Negative (negativt) resultat.
6. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a) Et Positive (positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, angiver et problem med kontamination af en prøve.
 - b) Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c) I hvert af ovenstående tilfælde skal NeuMoDx EBV External Control(s) gentages med frisk optøet hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d) Hvis der fortsat rapporteres et Negative (negativt) resultat for en positiv NeuMoDx EBV External Control, skal du kontakte kundeservice hos NeuMoDx.
 - e) Hvis der fortsat rapporteres et Positive (positivt) resultat for en negativ NeuMoDx EBV External Control, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte ALLE reagenser og forbrugsvarer, inden du kontakter kundeservice hos NeuMoDx.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) i NeuMoDx Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyreekstraktion og realtids-PCR-amplifikation sammen med hver prøve. Desuden indeholder hver NeuMoDx EBV Quant Test Strip primere og probe, der er specifikke for SPC1, så SPC1 kan påvises sammen med mål-EBV-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex-realtids-PCR. Påvisning af SPC1-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx System-softwaren at monitorere effekten af DNA-ekstraktions- og PCR-amplifikationsprocesserne.

Hvis en NeuMoDx EBV Quant Assay, der er udført i NeuMoDx System, ikke leverer et gyldigt resultat, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmelig) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted.

IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

UNR (uafklaret) vil blive rapporteret som resultat, hvis der ikke påvises en gyldig amplifikation af EBV-DNA eller SPC1, hvilket angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, kan der køres en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhæbering.

YDELSESKARAKTERISTIKA

Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse i henhold til standarden fra WHO

Den analytiske sensitivitet i NeuMoDx EBV Quant Assay blev bekræftet gennem testning af EBV-negative plasmaprøver tilsat en lav fortynding af 1st WHO International Standard for EBV for Nucleic Acid Amplification Techniques. Denne bekræftelsestest blev udført ved den forventede påvisningsgrænse (Limit of Detection, LoD) for NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx Systems ved 200 IE/ml. LoD blev defineret som det laveste målniveau, der blev påvist ved ≥ 95 %. Studiet blev foretaget på flere systemer med kvalificerede lot af NeuMoDx-reagenser. Påvisningsrater er afbildet i *Tabel 2*.

Tabel 2: Bestemmelse af LoD for NeuMoDx EBV Quant Assay; Positive påvisningsrater for plasmaprøver

Målkonzentration [IE/ml]	PLASMA		
	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

Analytisk sensitivitet – nederste grænse for kvantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Den nederste grænse for kvantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) defineres som det laveste målniveau, hvor > 95 % påvisning opnås, OG analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) er $\leq 1,0$. For at bekræfte 200 IE/ml som både LoD og LLoQ for EBV Quant Assay blev resultaterne af træfprocentstudiet brugt til at bestemme TAE. Denne beregnede TAE blev defineret:

$$TAE = \text{bias} + 2 * SD \text{ [Westgard-regler]}$$

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantificerede værdi af prøven.

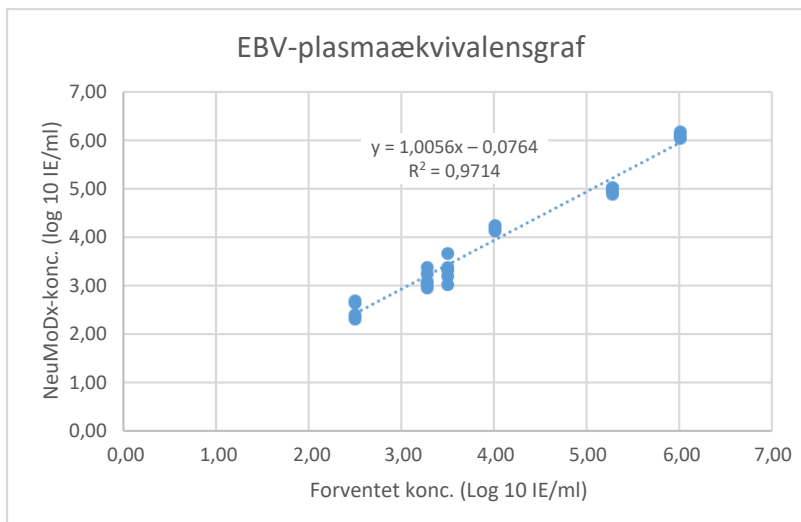
Tabel 3: NeuMoDx EBV Quant Assay LLoQ med bias og TAE

Målkonc. [IE/ml]	Målkonc. [Log ₁₀ IE/ml]	Plasma				
		Gennemsnitlig konc. [Log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Baseret på resultatet af disse studier blev LoD og LLoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay begge fastlagt til at være 200,0 IE/ml [2,30 Log₁₀ IE/ml].

Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (ULoQ)

Lineariteten og den øverste grænse for kvantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) i NeuMoDx EBV Quant Assay blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie ved hjælp af det NeuMoDx-indkapslede EBV-mål og Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med en sporbarhed, der er fastsat i henhold til 1st WHO International Standard for EBV. Et panel med 10 elementer blev klargjort i poolet EBV-negativ plasma for at oprette et panel, der ville dække et koncentrationsområde på 2,0–8,0 Log₁₀ IE/ml. ULoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay blev bestemt til at være 8,0 Log₁₀ IE/ml. Der blev udarbejdet et bekræftelsespanel til vurdering af standardkurvens linearitet, og de EBV-analysekoncentrationer, som blev rapporteret af NeuMoDx System, sammenlignet med de forventede værdier er vist i *figur 2*.



Figur 2: Linearitet for NeuMoDx EBV Quant Assay

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 35 organismer, der kan forekomme i blod-/plasma prøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til EBV med hensyn til krydsreaktivitet. Der blev fremstillet organismer i høj koncentration pools med 5-6 organismer. De testede organismer er vist i *tabel 4*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabel 4: Patogener, der blev anvendt til at påvise analytisk specificitet

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

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay blev vurderet for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt, som dem der var klargjort til test for krydsreaktivitet i listen ovenfor i *tabel 4*. Negativt EBV-plasma fik tilsat de organismer, der var poollet i grupper 4-7. Disse pools fik derefter tilsat EBV-mål i en koncentration på 3 Log₁₀ IE/ml. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer.

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx EBV Quant Assay blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske EBV-plasma prøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale og immunsupprimerende lægemidler, som blev klassificeret i *tabel 5*. Hvert stof blev tilføjet i screenet EBV-negativt humant plasma, der havde fået tilsat 3 Log₁₀ IE/ml EBV, og prøverne blev analyseret for interferens. Desuden blev plasma i almindelige sygdomsstadier, der blev forbundet med EBV-infektion, også testet for mulig interferens. Den gennemsnitlige koncentration og bias for alle testede stoffer sammenlignet med kontrolprøverne, som har fået tilsat samme niveau af EBV, er rapporteret i *tabel 6*. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten i NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabel 5: Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation	Pool	Lægemiddelnavn	Klassifikation
Pool 1	Azathioprin	Immunsupprimerende lægemiddel	Pool 4	Trimethoprim	Antibiotika
	Ciclosporin	Immunsupprimerende lægemiddel		Vancomycin	Antibiotika
	Foscarnet	Antiviralt lægemiddel (herpesviridae)		Tacrolimus	Immunsupprimerende lægemiddel
	Ganciclovir	Antiviralt lægemiddel (EBV)		Everolimus	Immunsupprimerende lægemiddel
	Valganciclovirhydrochlorid	Antiviralt lægemiddel (EBV)		Potassium clavulanate	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Corticosteroid/immunsupprimerende lægemiddel	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviralt lægemiddel (EBV)		Sulfamethoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektret)		Valacyclovir	Antiviralt lægemiddel (herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektret)		Letermovir	Antiviralt lægemiddel (EBV)
	Fluconazol	Svampedræbende middel		Ticarcillin disodium	Antibiotika
Pool 3	Mycophenolatmofetil	Immunsupprimerende lægemiddel	Leflunomid	Immunsupprimerende lægemiddel	
	Mycophenolat sodium	Immunsupprimerende lægemiddel			
	Piperacillin	Antibiotika			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsupprimerende lægemiddel			
	Tazobactam	Modificeret antibiotika			

Tabel 6: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene	Gennemsnitlig konc.	Bias
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Hæmoglobin	3,20	0,23
Triglycerider	3,15	0,28
Bilirubin	3,48	-0,05
Albumin	3,2	0,22
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc.	Bias
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Azathioprin, Ciclosporin, Foscarnet, Ganciclovir, Valganciclovirhydrochlorid	3,30	0,13
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Fluconazol	3,22	0,21
Pool 3: Mycophenolatmofetil, Mycophenolat sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	3,36	0,07
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Potassium clavulanate	3,32	0,11
Pool 5: Famotidin, Sulfamethoxazol, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomid	3,47	-0,10
Sygdomsstadie	Gennemsnitlig konc.	Bias
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,23	0,20
Antinukleært antistof (ANA)	3,33	0,10
Rheumatoid arthritis (RA)	3,19	0,24

Præcision i laboratoriet

Præcisionen af NeuMoDx EBV Quant Assay blev bestemt ved at teste 3 replikater af et panel på 4 elementer af EBV-prøver klargjort med EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) tre gange om dagen via to NeuMoDx 288 Systems og ét NeuMoDx 96 System i løbet af to dage. Præcisionen inden for samme analyse, inden for samme dag og med samme system blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$. Der blev konstateret fremragende præcision uanset valg af system, dage og kørsler, som det er vist i *tabel 7*. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx System.

Tabel 7: Præcision af NeuMoDx EBV Quant Assay i NeuMoDx System på samme laboratorium

Mål-EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	Gennemsnitlig EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	SD inden for systemet	SD i løbet af en dag	SD inden for kørsel	Samlet SD (på laboratoriet)
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Lot til lot-reproducerbarhed

Lot til lot-reproducerbarhed for NeuMoDx EBV Quant Assay blev bestemt ved at evaluere tre lot med vigtige reagenser – NeuMoDx EBV Quant Test Strips og Lysis Buffer 5 – som del af kvalifikationstestning (Qualification Testing, QT). Et panel med 4 elementer med EBV-positiv plasma blev anvendt til vurdering af ydeevnen (*tabel 8*). Variationen inden for et lot og fra lot til lot blev analyseret, og resultaterne præsenteret i *tabel 8-9*. Maksimal samlet bias var $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$, og maksimal samlet SD var $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ for NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. Maksimal samlet bias var $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$, og maksimal samlet SD var $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ for NeuMoDx Lysis Buffer 5. Der blev konstateret ækvivalent ydeevne i alle lot, da kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen.

Tabel 8: Lot til lot-reproducerbarhed – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Mål-EBV-konc. [IE/ml]	Gennemsnitlig EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	N (Gyldige resultater pr. lot)	Bias	Standardafvigelse fra lot til lot	Standardafvigelse inden for lot	Samlet standardafvigelse
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabel 9: Lot til lot-reproducerbarhed – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Mål-EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	Gennemsnitlig EBV-konc. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	N (Gyldige resultater pr. lot)	Bias	Standardafvigelse fra lot til lot	Standardafvigelse inden for lot	Samlet standardafvigelse
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Effekt af prøveproceskontrol

Prøveproceskontrollen (Sample Process Control, SPC1) indgår i NeuMoDx EBV Quant Assay for at rapportere fejl i procestrin eller hæmning, der påvirker analysens resultater. Ved hjælp af NeuMoDx CMV Quant Assay som model blev effekten af SPC1 testet for plasmaprøver testet under forhold, der er repræsentative for kritiske procestrinfejl, der muligvis kunne opstå under prøvebehandlingen, og som *måske ikke blev påvist* af de sensorer, der monitorerer NeuMoDx Systems ydeevne. Cytomegalovirus-positiv prøver (på $3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$) og negative prøver blev udfordret under følgende forhold: forekomst af hæmmer, ingen vasketilsætning og ingen vaskeudblæsning. Ineffektivitet i processen, der havde en negativ indvirkning på påvisningen/kvantiteringen af det virale mål, blev reflekteret i resultaterne for SPC1-målet som vist i *tabel 10*. I alle udgaver af testen blev det påvist, at enten monitorerede prøveproceskontrollen ikke ineffektivitet i processen og forekomsten af hæmmere tilstrækkeligt, eller den forventede ineffektivitet i processen havde ingen tilstrækkelig indvirkning på SPC1-påvisningen eller påvisningen af virale mål og kvantiteringen. Derfor blev det fastslået, at SPC1 havde en tilfredsstillende effekt med hensyn til monitorering af analysens ydeevne i NeuMoDx System.

Tabel 10: Effekt af prøveproceskontrol for viralt DNA i plasma*

Testet fejl i procestrin	Status for amplifikation af proceskontrol 1 af prøve	Status for amplifikation af CMV-mål	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (forekomst af hæmmer)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Delivered (ingen vasketilsætning)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Blowout (ingen vaskeudblæsning)	Amplified (amplificeret)	Amplified (amplificeret)	Positive (positiv) med kvantificering inden for 0,3 log ₁₀ IE/ml af kontrol

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

Krydskontaminering

Krydskontamineringens hastighed for plasmaprøver blev bestemt ved at behandle skiftevis høje positive og negative prøver af et lignende blodbårent DNA-virus, Cytomegalovirus (CMV). Tre sæt af sådan skakbrættestning blev udført med i alt 108 replikater af CMV-negativt plasma og 108 replikater af CMV-plasma med tilsætning ved 6,0 Log₁₀ IE/ml. Alle 108 replikater af de negative prøver blev rapporteret som negative, hvilket viser, at der ikke var nogen krydskontaminering under plasmaprøvebehandlingen i NeuMoDx System.

Ækvivalens af prøvematrix

Testning blev udført for at demonstrere ækvivalens mellem friske og frosne plasmaprøver ved anvendelse af en lignende blodbåren virus, CMV, som model. De friske prøver blev opbevaret ved 4 °C, indtil de fik tilsat tre niveauer af CMV og blev testet for ækvivalens. Derefter blev prøverne frosset ned i mindst 24 timer ved -20 °C. Efter forløbet af denne tid med opbevaring i nedfrosset tilstand, blev prøverne tøet og omtestet. Resultaterne fra test med friske vs. frosne plasmaprøver blev sammenlignet for at fastslå ækvivalens via en regressionsanalyse. Dataene viste fremragende ækvivalens mellem friske og frosne plasmaprøver med en hældning på 1,0 og meget lille bias (intercept), som det er vist i *tabel 11* nedenfor.

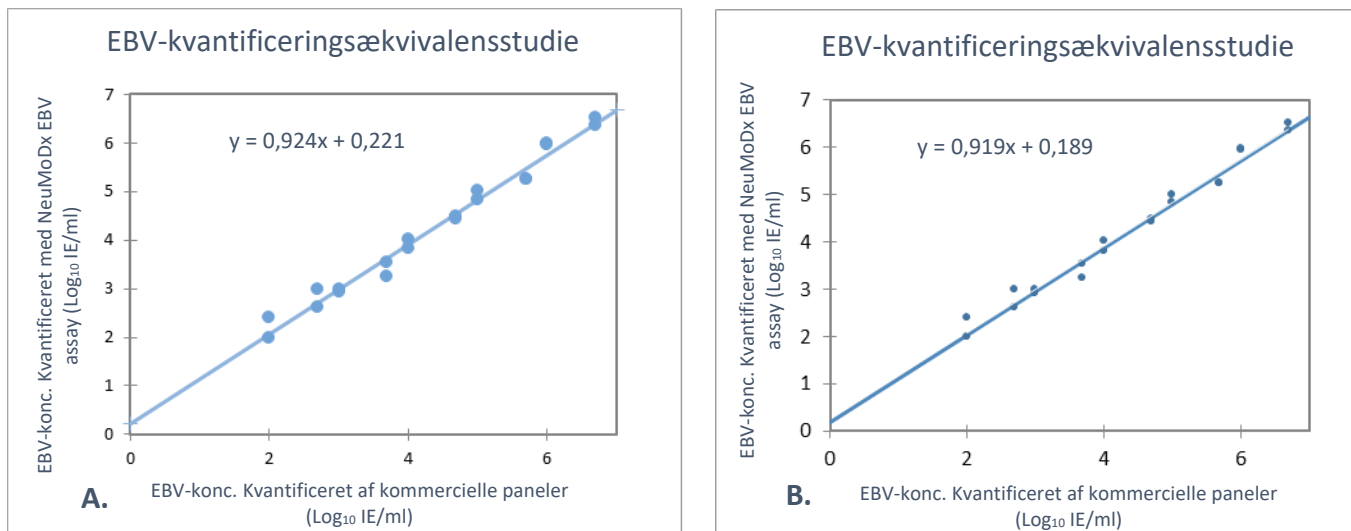
Tabel 11: Ækvivalens af prøvematrix

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

Ydelseskarakteristika for kvantificering

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

Der blev opnået fremragende korrelation mellem NeuMoDx EBV Quant Assay og de to kommercielle EBV-verifikationspaneler (*figur 3*), når prøverne blev analyseret med enten Deming-regression (*figur 3A*) eller Passing-Bablok-metoden (*figur 3B*).



Figur 3. Diagram for ækvivalens mellem AcroMetrix- og Exact Diagnostics-verifikationspaneler og NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Lineær regressionsanalyse ved hjælp af Deming-metode. B. Lineær regressionsanalyse ved hjælp af Passing-Bablok-metode.

Kvaliteten af Deming-regressionstilpasningen illustreres med en samlet hældningskoefficient på 0,92 og en intercept (bias) på 0,22, hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx EBV Quant Assay i forhold til EBV-verifikationspaneler er korreleret og har acceptabel bias. Den lineære tilpasning af Passing-Bablok understøtter også betydningen af korrelationen mellem de resultater, der blev opnået fra NeuMoDx EBV Quant Assay, og EBV-verifikationspaneler med en samlet hældningskoefficient på 0,92 og en intercept (bias) på 0,19. *p*-værdien af Passing-Bablok-analyse blev beregnet til 0,40.

Tabel 12: Oversigt over lineær regressionsanalyse med Deming og Passing-Bablok

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Intercept	Hældningskoefficient	Intercept	Hældningskoefficient
0,22	0,92	0,19	0,92
95 % CI (-0,11 og 0,55)	95 % CI (0,86, 0,99)	95 % CI (-0,08, 0,41)	95 % CI (0,87, 0,99)

REFERENCER

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

VAREMÆRKER










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

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

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

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

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
R only	Receptpligtig
	Producent
IVD	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinsk udstyr
EC REP	Autoriseret repræsentant i EU
REF	Katalognummer
LOT	Batchkode
	Anvendes inden
	Temperaturbegrænsning
	Fugtighedsbegrænsning
	Må ikke genbruges
	Indholdet er tilstrækkeligt til $<n>$ tests
	Læs brugsanvisningen
	Forsigtig
	Biologiske risici
CE	CE-mærke



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



Teknisk support/indberetning af bivirkninger og uønskede hændelser: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents