

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

**R only**

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

**IVD** Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular System

 Värskenduste sisestamiseks minge aadressile: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108 [REF 500100]

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317 [REF 500200] või tootekood 40600655 [REF 500201]

**SIHTOTSTARVE**

Analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay on automatiseeritud, *in vitro* nukleiinhapete amplifitseerimise analüüs tsütomegaloviiruse (CMV) DNA kvantifitseerimiseks inimese plasmaproovides CMV genotüüpidega gB1 kuni gB4 CMV-infektsiooniga indiviidide puhul. Kasutatuna seadmetel NeuMoDx 288 Molecular System ja NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) võimaldab analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay automatiseeritud DNA ekstraheerimist proovidest sihtnukleiinhappe isoleerimiseks ja reaalaaja polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) abil tsütomegaloviiruse genoomis olevate väga kõrgelt konserveerunud sihtmärkjärjestuste amplifitseerimist.

NeuMoDx CMV Quant Assay analüüs on ettenähtud kasutamiseks tsütomegaloviiruse (Cytomegalovirus, CMV) DNA *in vitro* kvantifitseerimiseks värsketes ja külmutatud inimese plasmaproovides NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular Systems süsteemidega. Analüüs on mõeldud kasutamiseks koos kliiniliste näitajate ja muude haiguse kulgu näitavate laboratoorsete markeritega CMV-nakkuse kliiniliseks raviks ja jälgimiseks. Analüüs ei ole ette nähtud kasutamiseks sõelumisanalüüsina, et teha kindlaks CMV olemasolu veres ja veretoodetes.

**KOKKUVÕTE JA SELGITUSED**

Plasma ettevalmistamiseks võib kasutada inimese täisverd, mis on kogutud steriilsetesse verekatsetitesse, milles on antikoaguleeriva aine EDTA või ACD. Testimise ettevalmistamiseks ja töötlemise alustamiseks laaditakse seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis plasma seadmesse NeuMoDx System, kasutades selleks ettenähtud proovikatsutikandjat. Kõikide proovide korral segatakse omavahel 550 µl plasmaproovi alikvoot puhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 1 ning seade NeuMoDx System teeb automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhappe ekstraheerimiseks, valmistab isoleeritud DNA reaalaajas PCR-i amplifitseerimiseks ette ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid (CMV sihtgenoomi kõrgkonserveeritud piirkondade osad). Analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay sisaldab DNA proovi töötlemise kontrolli (Sample Process Control, SPC1), et aidata jälgida võimalikke inhibeervaid aineid ja ka süsteemi NeuMoDx System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ekstraheerimise ja amplifitseerimise protsessi käigus esineda.

CMV on tavaline kaheaahaline DNA-viirus inimese herpesviiruse perekonnast, mis nakatab igas vanuses inimesi. Hinnanguliselt on 40. eluaastaks enam kui pool elanikkonnast saanud CMV nakkuse.<sup>1</sup> CMV levib kehavedelike kaudu, nagu sülg, uriin, veri, pisarad, seemnevedelik ja rinnapiim. CMV-ga nakatunud immunokompetentsed isikud on tüüpiliselt asümptomaatilised, aga viiruse nakkus võib olla tõsine imikutel ja nõrgenenud immuunsüsteemiga isikutel. Rasedad emad võivad anda CMV edasi oma sündimata lastele ja põhjustada kaasasündinud CMV, mis võib põhjustada kuulmise kao lisaks muudele arengu ja motoorse arengu mahajäämustele. CMV on oluline patogeen immuunpuudulikkusega patsientidele, sh soliidorganite siirdamise patsiendid, hematopoeetilise raku siirdamise patsiendid, HIV-nakkusega patsiendid ja immunomoduleerivaid ravimeid saavad patsiendid.<sup>2</sup> CMV viiruskoormuse jälgimist kasutatakse peamiselt nende immuunpuudulikkusega populatsioonide puhul, kus see põhjustab palju haigestumust, sh kopsupõletik, seedetraktihaigused, hepatiit ja entsefaliit ning suurendab elundite äratõukamise ja muude oportunistlike infektsioonide riski.

CMV nakkuse diagnoosimine ei põhine ainult nukleiinhappe testimisel (Nucleic acid testing, NAT); NAT-testimist kasutatakse lisaks antigeenide testimisele, milleks värvitakse CMV varajase struktuurilise madala maatriksi valgu polümorfonukleaarsed leukotsüüdid (PMN), ning muudele patsiendil esinevatele sümptomitele. CMV viiruskoormuse testimist kasutatakse regulaarselt viirusevastase ravi vajaduse kindlaksmääramiseks ja samuti sellise ravi toimivuse jälgimiseks.<sup>3</sup> Kuigi praegused juhised immuunpuudulikkusega isikutel CMV-nakkuse raviks on ebaselged selles osas, millal viirusevastast ravi alustada, nõuavad need kõik pärast viirusevastase ravi alustamist pidevat viiruskoormuse seiret, et aidata nendes populatsioonides ravimite tõsiseid kõrvaltoimeid leevendada.

**PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED**

Analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay kasutab seadmes NeuMoDx System analüüsi teostamiseks testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip, kalibraatoreid NeuMoDx CMV Calibrator, väliseid kontrolle NeuMoDx CMV External Control, lüüsimispuhtrit NeuMoDx Lysis Buffer 1 ja NeuMoDx-i üldotstarbelisi reaktiive. Analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise, amplifitseerimise ja tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Täisvere proovid kogutakse plasma ettevalmistamiseks EDTA- või ACD-katsutitesse. Seadmega NeuMoDx System ühilduvas proovikatsutis olev plasma pannakse proovikatsutikandjasse, mis laaditakse seejärel töötlemiseks seadmesse NeuMoDx System. Kasutaja täiendav sekkumine pole vajalik.

Seade NeuMoDx Systems kasutab automaatse rakkude lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Osakesed koos seotud nukleiinhapetega laaditakse kassetti NeuMoDx Cartridge, kus seondumata, DNA-d mittedisaldavad komponendid pestakse täiendavalt pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent ja seotud DNA elueeritakse vabastusreaktiiviga NeuMoDx Release Reagent abil. Seejärel kasutab seade NeuMoDx System elueeritud DNA-d, et reühidreerida patentitud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivid, mis sisaldavad kõiki CMV spetsiifiliste ja SPC1 sihtmärkide PCR-i amplifitseerimiseks vajalikke elemente. Pärast NeuDry PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud, PCR-iks valmis segu kassetti NeuMoDx Cartridge. DNA kontroll- ja sihtmärk-sekveneerimise (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub kasseti NeuMoDx Cartridge PCR-i kambri. Kassett NeuMoDx Cartridge on lisaks kavandatud amplikoni hoidmiseks pärast reaalaaja PCR-i ja seeläbi sisuliselt välistab amplifikatsioonijärgse saastumisohtu.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaajas hüdrolüüsivõime abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluoreseeritud oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised ampliconidele nende vastavate sihtmärkide jaoks.

Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti lähedal, mille tulemus on kustuti molekul, mis kustutab fluorestsentsi, mille fluorofoor eraldab FRET-i (Försteri resonantsenergia ülekande) kaudu.

TaqMan sondid on sellise kujundusega, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeraas pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeraasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga anniilunud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja katkestab vahetu läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori fluorestsentsi tuvastada. Seadme NeuMoDx System kvantitatiivse PCR termotsükleris tuvastatud tekkinud fluorestsentsisignaali on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida esineva sihtmärk-DNA hulga.

TaqMani sondi, mis on märgistatud fluorofooriga (stimuleerimine: lainepikkusel 490 nm ja kiirgus: lainepikkusel 521) 5'-otsas ja tumedat kustutit 3'-otsas kasutatakse CMV DNA tuvastamiseks. SPC1 tuvastamiseks märgistatakse sond TaqMan alternatiivse fluorestsentsvärviga (stimuleerimine: lainepikkusel 535 nm ja kiirgus: lainepikkusel 556 nm) 5'-otsas ja 3'-otsas kasutatakse tumedat kustutit. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentsisignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab lõpliku tulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA)). Kui tulemus on POSITIVE (POSITIIVNE), siis seadme NeuMoDx System tarkvara esitab ühtlasi prooviga seotud kvantitatiivse väärtuse või teatab, kui arvatud kontsentratsioon on kvantitatiivse määramise piirides.

### REAKTIIVID/KULUKAUBAD

#### Kaasasolevad materjalid

REF	Sisu	Teste ühik	Teste pakis
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> Kuivanud PCR-i reaktiivid, mis sisaldavad CMV-spetsiifilisi TaqMani sonde ja praimereid ning SPC1-spetsiifilisi TaqMani sonde ja praimereid.	16	96

#### Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad reaktiivid ja kulukaubad (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisu
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid
800400	<b>NeuMoDx CMV Calibrators</b> CMV kõrgete ja madalate kalibraatorite ühekordsed komplektid, et määrata standardkõvera kehtivus
900401	<b>NeuMoDx CMV External Controls</b> Ühekordselt kasutatavad CMV positiivsete ja negatiivsete kontrollide komplektid, et määrata analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay päevane kehtivus
400400	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Filtriga otsakud Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl)</b>
235905	<b>Filtriga otsakud Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl)</b>

#### Vajalikud mõõteseadmed


NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] või NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200 või 500201]

### HOIATUS JA ETTEVAATUSABINÕUD

- Testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetega NeuMoDx Systems.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Enne kui testi tulemusi saab kliinilistele proovidele genereerida, peab olema saadaval kehtiv testi kalibreering (saadud, töödeldes kalibraatorikomplektide NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400] kõrgeid ja madalaid kalibraatoreid).

- Väliseid kontrollid NeuMoDx CMV External Control [REF 900401] tuleb kogu analüüsiga NeuMoDx CMV Quant Assay testimise vältel iga 24 tunni järel töödelda.
- Proovi väikseim maht on 1 ml EDTA/ACD plasmat, kui kasutatakse 32-kohalist katsutikandjat; alla 1 ml maht võib põhjustada seadme NeuMoDx System vea.
- Vale temperatuuri juures või määratud säilitamisaegadest kauem säilitatud proovidega CMV analüüsi teostamine võib anda kehtetuid või valesid tulemusi, kui kasutatakse testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Vältige alati kõikide reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleaaasidega (DNAas). Soovitatav on kasutada steriiliseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kasseti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridges bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx 96 Molecular System). Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris analüüsitakse ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx CMV Quant Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaupad ning reaktiivid, isikukaitsevahendid, nt kindad ja laborikitlid ning seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx-i reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitriilkindaid. Ärge puudutage kasseti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip ja ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 1 ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) on saadaval aadressil [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldes proove alati nakkusohtlikena ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> ja CLSI dokumendis M29-A4.<sup>5</sup>
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.
- Kemikaalidega töötamise korral kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lugege lisateavet vastavalt ohutuskaartidelt (Safety Data Sheets, SDS).

### ETTEVAATUSABINÕUD

NeuMoDx CMV Quant Test Strip	
	<p>Sisaldab boorhapet.</p> <p>Oht. Võib kahjustada fertiilsust või loodet.</p> <p>Hankige enne kasutamist erijuhised. Mitte käidelda enne kõigi ettevaatusabinõudega tutvumist ja neist arusaamist. Kanda kaitsekindaid/-rõivaid, kaitseprille/kaitsemaski. KOKKUPUUTUMISEL või kahtluste tekkimisel: pöörduge arsti poole / otsige arstiabi. Hoidke lukustatult. Utiliseerige sisu/mahuti heakskiidetud jäätmekäitlusettevõttes vastavalt kohalikele, piirkondlikele, riiklikele ja rahvusvahelistele määrustele.</p>

### Hädaolukorra teave

CHEMTREC

Väljaspool USA-d ja Kanadat +1 703-527-3887

### Kõrvaldamine

Kõrvaldage ohtlike jäätmetena vastavalt kohalikele ja riiklikele eeskirjadele. See kehtib ka kasutamata toodete kohta.

Järgige ohutuskaardi (Safety Data Sheet, SDS) teavet.

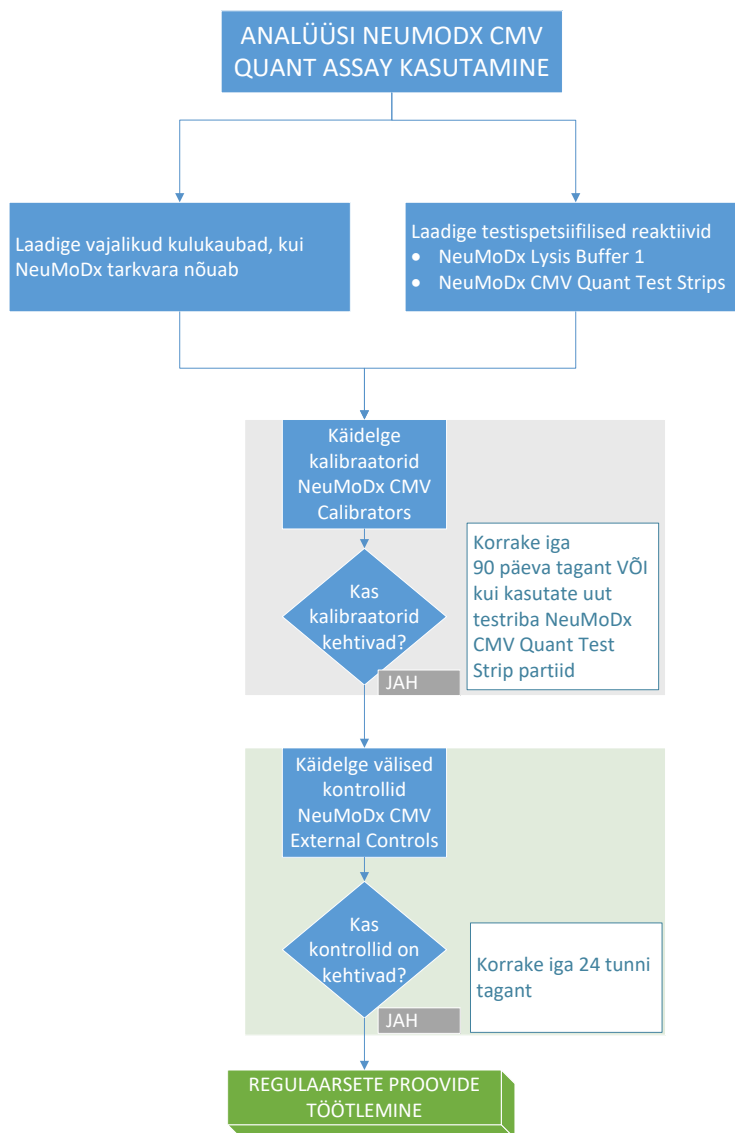
### TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMIN JA STABIILSUS

- Kõik NeuMoDx reaktiivid ja kulukaupad (v.a. välised kontrollid ja kalibraatorid) on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 18–23 °C kuni vahetult tooteetiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip, mis on laaditud seadmesse NeuMoDx System, on stabiilne 14 päeva; seadme NeuMoDx System tarkvara nõuab seadmes NeuMoDx System kauem kui 14 kasutusel olnud testribade eemaldamist ning tuleb avada uued testribad NeuMoDx CMV Quant Test Strip ja laadida seadmesse NeuMoDx System.
- NeuMoDxi kalibraatorid ja kontrollid ei ole nakkuslikud, kuid need tuleb pärast kasutust kõrvaldada labori bioohtlikesse jäätmetesse, kuna need sisaldavad pärast seadmes töötlemist sihtmaterjal, mis võib mittenõuetekohasel käitlemisel saastumist põhjustada.

### PROOVIKOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

1. Käsitleda kõiki proove kui võimaliku nakkusohu allikana.
2. Ärge külmutage täisverd ega primaarsetes katsutites hoitud proove.
3. Plasmaproovide ettevalmistamiseks tuleks täisverd koguda steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulantidena EDTA-d ja ACD-d. Järgige proovi kogumiskatsuti tootja juhiseid.
4. Eespool nimetatud seadmetesse kogutud täisverd võib enne plasma ettevalmistamist säilitada ja/või transportida kuni 24 tundi temperatuuril 2–25 °C. Plasma tuleb ettevalmistada vastavalt tootja juhistele.
5. Ettevalmistatud plasmaproove võib enne töötlemist hoida seadmes NeuMoDx System kuni 8 tundi. Kui on vaja kauem hoida, on soovitatav proovid enne jahutada või külmutada.
6. Ettevalmistatud plasmaproove tuleb hoida temperatuuril 2 kuni 8 °C mitte kauem kui 7 päeva enne testimist ja toatemperatuuril kuni 8 tundi.
7. Ettevalmistatud proove võib temperatuuril  $\leq -20$  °C enne töötlemist säilitada plasma korral kuni 26 nädalat; plasmaproove ei tohi olla enne kasutamist enam kui 2 korda külmutada/sulatada.
  - a. Kui proovid külmutada, laske proovidel toatemperatuuril (15–30 °C) täielikult üles sulada; keerutage lähtemahutis, et saada ühtlaselt jaotunud proov.
  - b. Kui külmunud proovid on üles sulanud, tuleb testida 8 tunni jooksul.
8. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.
9. Sildistage proovid selgelt ja näidake, et need proovid on CMV testimiseks.
10. Minge edasi jaotisesse *Testi ettevalmistamine*.

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay kasutamise üldine protsess on kokku võetud allpool *joonisel 1*.



Joonis 1. Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay kasutamise töövoog

## KASUTUSJUHE

### Testi ettevalmistamine

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi võõtkoodisilt.
2. Kandke ülekandepipetti kasutades  $\geq 1$  ml plasmat võõtkoodiga proovikatsutisse (sekundaarne), kui kasutate 32-kohalist katsutikandjat või  $> 2$  ml, kui kasutate 24-kohalist katsutikandjat. Jälgige hooliga, et plasmaproovis leiduvaid hüübeid ei kantaks üle proovikatsutisse. Kasutage iga proovi jaoks muud ülekandepipetti.
3. Teisene katsuti peab vastama järgmistele katsuti spetsifikatsioonidele, mis ühilduvad seadmega NeuMoDx System, töötlemiseks kasutatava proovikatsutikandja alusel.
  - 32-kohaline katsutikandja: 11–14 mm läbimõõt ja 60–120 mm kõrgus
  - 24-kohaline katsutikandja: 14,5–18 mm läbimõõt ja 60–120 mm kõrgus

### Seadme NeuMoDx™ System kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317/40600655)

1. Täitke üks või enam süsteemi NeuMoDx System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx CMV Quant Test Strip ja kasutage puutekraani, et laadida testribakandja(d) süsteemi NeuMoDx System.
2. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
3. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, siis asendage reaktiivid NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tühjendage praimingujäätmete mahuti või bioohtlike jäätmete mahuti vastavalt vajadusele.
4. Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, töödelge seadmeid Calibrators [REF 800400] ja/või External Controls [REF 900401] vastavalt vajadusele. Rohkem teavet kalibraatorite ja kontrollide kohta leiab jaotisest *Tulemuste töötlemine*.
5. Laadige proovi-/kalibraator-/kontrollkatsuti(d) standardsesse 32-kohalise proovikatsutikandjasse ja veenduge, et kõigilt proovikatsutitelt oleksid korgid eemaldatud.
6. Asetage proovikatsutikandja automaatlaadija riili mis tahes vabale kohale ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatava(te) testi(de) jaoks laaditud proovide töötlemine.

### PIIRANGUD

- Testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip tohib kasutada ainult seadmetega NeuMoDx Systems.
- Testribade NeuMoDx CMV Quant Test Strip toimivus on kindlaks tehtud plasmaproovidega, mis on valmistatud täisverest ja kogutud antikoagulandina EDTA-d/ACD-d kasutades; testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip kasutamist teiste kliiniliste proovide tüüpidega ei ole hinnatud ja teiste proovitüüpidega on testi toimivusnäitajad teadmata.
- Kuna CMV tuvastamine sõltub proovis esinevate organismide arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
- Kalibraatorid ja välised kontrollid tuleb töödelda vastavalt pakendis sisalduvatele soovitudele ja kui seda soovib seadme NeuMoDx System tarkvara enne tavapärase kliiniliste proovide töötlemist.
- Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segiajamise tulemusel võib saada valed tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate viiruseosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tuvastuspiir.
- Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
- Kui nii CMV sihtmärgi kui ka SPC1 sihtmärgi amplifikatsiooni ei toimu, esitatakse kehtetu tulemus – Indeterminate (Määramatu) või Unresolved (Lahendamatu) ja testi tuleb korrata.
- Kui analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemus on Positive (Positiivne), kuid kvantitatiivne väärtus on alla kvantitatiivse määramispiiri, teavitab seade NeuMoDx System, kas tuvastatud CMV väärtus oli allpool kvantitatiivset alampiiri (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) või ülalpool kvantitatiivset ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Kui tuvastatud CMV on allpool LLoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay korrata (soovi korral) proovi teise alikvoodiga.
- Kui tuvastatud CMV on ülalpool ULoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay korrata algse proovi lahendatud alikvoodiga. Soovituslik lahendamise suhe on 1 : 100 või 1 : 1000 CMV negatiivse plasma või lahendajaga Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Algse proovi kontsentratsiooni saab arvutada järgnevalt.

$$\text{Algse proovi kontsentratsioon} = \log_{10}(\text{lahjendustegur}) + \text{lahjendatud proovi esitatud kontsentratsioon}.$$

- PCR-inhibiitorite juhuslik esinemine plasmas võib tekitada süsteemis kvantiteerimisvea; sellisel juhul on soovitatav, et testi korratakse sama prooviga, mida on lahjendatud lahendajaga Basematrix suhte juures 1 : 10 või 1 : 100.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata elujõuliste organismide esinemist. Positiivne tulemus aga viitab tsütomegaloviiruse DNA esinemisele.
- Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay sihtmärgiks olevates konserveerunud piirkondades esinevad deletsioonid või mutatsioonid võivad mõjutada testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip abil RNA tuvastamist või viia ekslike tulemusteni.
- Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemusi tuleb kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena; analüüs ei ole ette nähtud nakkuse diagnoosimiseks.
- Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

### TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused).

Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on toodud NeuMoDx CMV analüüsi definitsiooni failis (CMV Assay Definition File, CMV ADF). Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemus võib olla esitatud kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne) koos CMV kontsentratsiooniga, Positive (Positiivne) ülalpool ULoQ-d, Positive (Positiivne) allpool LLoQ-d, Indeterminate (Määratlematu) või Unresolved (Lahendamatu) vastavalt sihtmärgi ja proovi töötlemise kontrolli amplifikatsiooni seisule. Tulemused esitatakse otsusetegemise algoritmi põhjal, mis on esitatud tabelis 1.

**Tabel 1. Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay otsusetegemise algoritm**

Tulemus	CMV	Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiivne)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (JA) } EPR > 2 \text{ AND (JA) } EP \geq 1500]$ OR (VÕI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (JA) } EP \geq 1500]$	N/A (Pole kohaldatav)
Positive (Positiivne), üle kvantifitseerimise ülempiiri [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] ( $\log_{10}$ IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) $> 8,0 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	N/A (Pole kohaldatav)
Positive (Positiivne), alla kvantifitseerimise alampiiri [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] ( $\log_{10}$ IU/ml)	[CONC] (KONTSENTRATSIOON) $< 1,3 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (ILMA KVANT.)	N/A (Pole kohaldatav)
Negative (Negatiivne)	EI KOHALDATA OR (VÕI) $[2 < Ct < 9 \text{ AND (JA) } EPR \leq 2]$ OR (VÕI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (JA) } EP < 1500]$ OR (VÕI) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLIFITSEERITUD) $(28 < Ct < 34)$ ja $EP \geq 2000$
Indeterminate (Määramatu)	NOT AMPLIFIED/ System Errors Noted (MITTEAMPLIFITSEERITUD, Tuvastati süsteemivead)	
Unresolved (Lahendamata)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (MITTEAMPLIFITSEERITUD, Süsteemivigu ei tuvastatud)	

EP = End Point Fluorescence (lõpp-punkti fluorestsents) pärast alusjoone suhtes korrigeerimist; EPR = End Point Fluorescence Ratio (lõpp-punkti fluorestsentsi määr);  $C_t$  = Cycling Threshold (tsüklimise lävi);  
Quant = arvutatud olemasoleva CMV kvantiteet, väljendatud ühikuga  $\log_{10}$  IU/ml. Vaadake allpool testi arvutamist.

### Testi arvutamine

- Proovide puhul, mis on analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay kvantitatiivses määramisvahemikus, arvutatakse proovide CMV DNA kontsentratsioon, kasutades salvestatud standardkõverat koos kalibreerimiskoeffitsiendiga.
  - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse töödeldud kalibraatorite NeuMoDx CMV Calibrator tulemuste põhjal, et tagada standardkõvera kehtivus testribade NeuMoDx CMV Quant Test Strip spetsiifilise partii spetsiifilises seadmes NeuMoDx System.
  - Kalibreerimiskoeffitsient hõlmatakse CMV DNA kontsentratsiooni lõpliku määratlusse.
- Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemused esitatakse ühikutes  $\log_{10}$  IU/ml.
- Tundmatute proovide kvantifitseerimise tulemus on jälgitav WHO 1. CMV rahvusvahelise standardini.

### Testi kalibreerimine

Proovide CMV DNA kvantifitseerimiseks on vaja teha standardkõvera põhjal nõuetekohane kalibreering. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab testi kalibreerima, kasutades ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. varustatud kalibraatoreid.

### Välised kalibraatorid

- Kalibraator NeuMoDx CMV Calibrator [REF 800400] sisaldab mittenakkusohklikke kapseldatud CMV sihtmärke lahjendis Basematrix.
- CMV kalibraatorite komplekti töötlemine on vajalik iga uue testribade NeuMoDx CMV Quant Test Strips partii korral, uue CMV analüüsi definitsiooni fail laadimisel seadmesse NeuMoDx System või parajasti kasutusel olevate kalibraatorite komplekti kehtivusaja lõppemisel (hetkel seatud 90 päevale) või kui seadme NeuMoDx System tarkvara muudetakse.
- Seadme NeuMoDx System tarkvara teavitab kasutajat, kui kalibraatoreid tuleb töödelda. Testribade uut partiid ei saa testimiseks kasutada, kuni kalibraatorid on edukalt töödeldud.
- Kalibraatorite kehtivus määratakse järgnevalt.
  - Kahe kalibraatori komplekti – kõrge ja madal – tuleb kehtivuse määramiseks töödelda.



- b) Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab vähemalt kaks kolmest kordusest andma tulemuse eelnevalt määratletud parameetrite piires. Madala kalibraatori nominaalne sihtmärk on  $3 \log_{10}$  IU/ml ja kõrge kalibraatori nominaalne sihtmärk on  $5 \log_{10}$  IU/ml.
  - c) Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse, et võtta arvesse testribade partiide vahelised ootuspärased erinevused. Seda kalibreerimiskoeffitsienti kasutatakse, et määrata lõplik CMV kontsentratsioon.
5. Kui ühe või mõlema kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, siis töödelge ebaõnnestunud kalibraatorit/kalibraatoreid uuesti, kasutades uut viaali. Juhul kui ühe kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, saab korrata ainult ebaõnnestunud kalibraatori kontrolli, kuna süsteem ei nõua kasutajalt mõlema kalibraatori uuesti kasutamist.
  6. Kui kalibraator(ite) kehtivuse kontroll ebaõnnestub kaks korda järjest, võtke ühendust ettevõttega NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

### Välised kontrollid

1. Ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. pakub välise kontrolli materjale, mis sisaldavad terviklikku mittenakuslikku kapseldatud CMV viirust Basematrix lahuses positiivsete kontrollidena, komplektina NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401].
2. Positiivsed ja negatiivsed välised kontrollid tuleb töödelda iga 24 tunni tagant. Kui kehtiv välise kontrollide komplekt puudub, nõuab seade NeuMoDx System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et proovi tulemusi saaks esitada.
3. Kui on vaja väliseid kontrole, võtke välise kontrollide komplekt külmikust välja ja laske viaalidel toatemperatuuril ( $15-30^{\circ}\text{C}$ ) seista, kuni need on täiesti üles sulanud. Keerutage homogeensuse saamiseks õrnalt lähtemahutis.
4. Kasutades puutekraani ja automaatlaadija riulile paigutatud proovikatsutikandjat, laadige positiivse ja negatiivse kontrolliproovi viaalid seadmesse NeuMoDx System. Seade NeuMoDx System tunneb ära vöökoodi ja alustab proovikatsutite töötlemist, välja arvatud juhul, kui testimiseks vajalikud reaktiivid või kulukaubad pole saadaval.
5. Seade NeuMoDx System hindab välise kontrollide kehtivust eeldatava tulemuse põhjal. Positiivne kontroll peab andma CMV tulemuse Positive (Positiivne) ja negatiivne kontrolliproov peab andma CMV tulemuse Negative (Negatiivne).
6. Välise kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.
  - a) Negatiivse kontrolliproovi katsetulem Positive (Positiivne) näitab proovi saastumise probleemi.
  - b) Positiivse kontrolliproovi katsetulem Negative (Negatiivne) võib osutada reaktiiviga või instrumendiga seotud probleemile.
  - c) Kummalgi ülaltoodud juhul korra ebaõnnestunud välise kontrolli (kontrolle) NeuMoDx CMV External Control värskest sulatatud viaali(de)ga, mille kontroll(id) ei ole kehtivuse testi läbinud.
  - d) Kui positiivne väline kontroll NeuMoDx CMV External Control annab uuesti tulemuse Negative (Negatiivne), võtke ühendust seadme NeuMoDx klienditoeaga.
  - e) Kui negatiivne NeuMoDx CMV kontroll External Control annab jätkuvalt tulemuse Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastamise allikad, k.a KÕIGI reaktiivide asendamine enne NeuMoDx klienditeenindusega ühenduse võtmist.

### Prooviprotsessi (sisemine) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx Extraction Plate on kätetud eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) ning see läbib iga prooviga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaalse PCR amplifikatsiooni protsessi. Iga testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip sisaldab ka praimereid ja SPC1-spetsiifilist sondi, mis võimaldavad mitmekordse reaalse PCR-i kaudu tuvastada SPC1 ja sihtmärgiks oleva CMV DNA-d (olemasolu korral). SPC1 amplifikatsiooni tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx System tarkvaral jälgida DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

### Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx System tehtud analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (Määramatu) (IND) või Unresolved (Lahendamatu) (UNR) olenevalt tekkinud veatüübist.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus IND. Kui esitatakse tulemus IND, on soovitatav teha kordusanalüüs.

UNR-i tulemus esitatakse, kui ei tuvastata kehtivat CMV DNA või SPC1 amplifikatsiooni, mis viitab võimalikule reaktiivi veale või inhibiitorite esinemisele. Juhul, kui esitatakse UNR-i tulemus, on esimese sammuna soovitatav teha kordusanalüüs. Kui kordustest ebaõnnestub, võib proovi mistahes inhibiitorite mõjude vähendamiseks kasutada lahjendatud proovi.



### TOIMIVUSNÄITAJAD

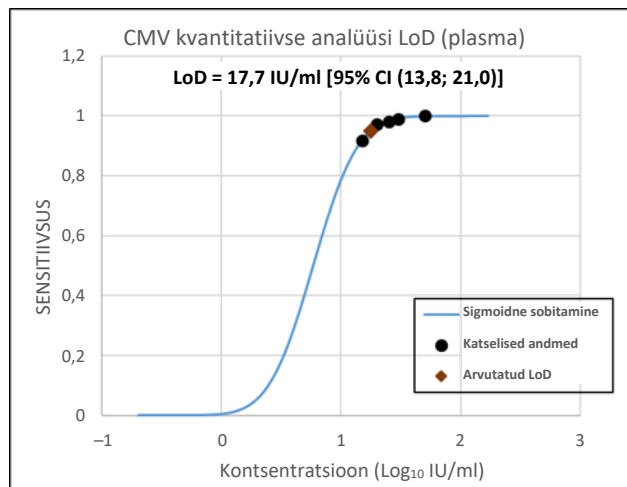
#### Analüütiline sensitiivsus – tuvastuspiir WHO standardi abil

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay analüütiline sensitiivsus määrati testides WHO 1. rahvusvahelise standardi negatiivseid proove ja lahuseeriat sõelutud negatiivses inimese plasmas, et määrata tuvastamispiir (Limit of Detection, LoD) seadmetes NeuMoDx Systems. LoD defineeriti kui madalaim sihttase, mis tuvastati probit-analüüsiga 95% juhtudel. Uuring viidi läbi 3 päeva jooksul mitmete süsteemide abil, kasutades eri NeuMoDx reaktiivide partiid. Iga süsteem töötles päevas 18 kordust igal lahjendatuse tasemel. Tuvastamismäärad on näidatud tabelis 2.

**Tabel 2.** Positiivsed tuvastusmäärad analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay LoD-i määramisel

Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [ $\log_{10}$ IU/ml]	PLASMA		
		Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
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%

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay LoD plasmas määrati variandi gB1 puhul tasemele 17,7 IU/ml ( $1,25 \log_{10}$  IU/ml) 95% usaldusvahemikuga (CI) of 13,8–21,0 IU/ml, ( $1,14$ – $1,32 \log_{10}$  IU/ml) [joonis 2]. LoD genotüüpide lõikes on 20,0 IU/ml ( $1,30 \log_{10}$  IU/ml), määratud kokkulangevuse analüüsiga.



**Joonis 2.** Probit-analüüs, mida kasutati, et määrata analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay LoD plasmaproovides

#### Analüütiline sensitiivsus – Kvantitatiivne määramispiir – Alumine kvantitatiivne määramispiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Kvantitatiivne alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) on defineeritud alumise sihttasemenähtena, mille juures saavutatakse tuvastus > 95% juhtudel JA analüütiline koguviga (Total Analytical Error, TAE) on  $\leq 1,0$ . LLoQ määramiseks arvutati LoD arvutuse osana analüütiline koguviga (Total Analytical Error, TAE) iga CMV sihttaseme kohta, mille korral oli tuvastus > 95%. TAE on defineeritud järgnevalt.

$$TAE = \text{nihe} + 2 * SD \text{ (Westgardi statistika)}$$

Nihe on keskmise arvutatud kontsentratsiooni ja eeldatava kontsentratsiooni erinevuse absoluutväärtus. SD on proovi määratud kvantitatiivse väärtuse standardhälve.

LLoQ-uuringus kasutatud CMV (variant gB1) plasmaproovide 5 taseme koondandmed on esitatud tabelis 3. Selle andmestiku ja varasemalt määratud LoD-i põhjal määrati LLoQ-i väärtuseks 20,0 IU/ml ( $1,30 \log_{10}$  IU/ml) ja see kinnitati genotüüpide lõikes.

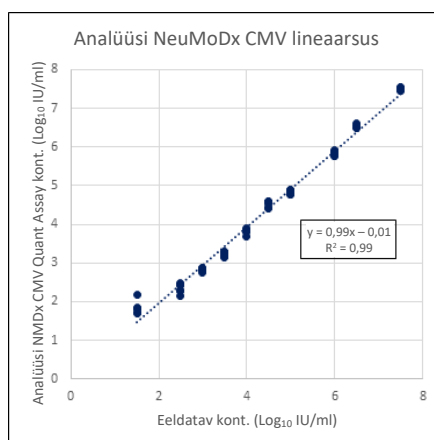
**Tabel 3.** NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ, koos nihke ja TAE-ga

Sihtkont. [IU/ml]	NMDx kont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	Plasma				
		Keskmine kont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	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

Nende uuringute tulemuste põhjal määrati analüüsil NeuMoDx CMV Quant Assay nii LoD kui ka LLoQ väärtuseks 20,0 IU/ml [ $1,30 \log_{10}$  IU/ml].

### Kvantitatiivse ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) lineaarsus ja määramine

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay lineaarsus ja kvantitatiivne ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) määrati plasmas, valmistades ette lahjenduste seeria, milleks kasutati NeuMoDxi kapseldatud CMV sihtmärki ja kontrolli Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), mille jälgitavus on määratud WHO 1. rahvusvahelise standardini. Mitme CMV-negatiivse plasma liitproovi abil valmistati 9-liikmeline paneel, et luua testimispaneel kontsentratsioonivahemikus 8–1,7  $\log_{10}$  IU/ml. Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay seerumiproovide ULOQ määrati tasemele 8,0  $\log_{10}$  IU/ml. Seadme NeuMoDx System esitatud CMV analüüsi kontsentratsioonide võrdlus ootuspäraste väärtustega on esitatud *joonisel 3*.

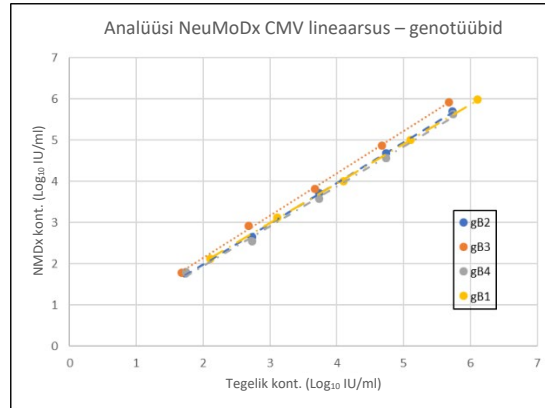

**Joonis 3.** Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay lineaarsus

### Lineaarsus genotüüpide lõikes

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay lineaarsus nelja CMV genotüübi lõikes (gB1, gB2, gB3 ja gB4) määrati testides iga CMV genotüübi viit erinevat kontsentratsiooni, mis oli valmistatud CMV-negatiivse plasma kogumist. Selles uuringus analüüsitud CMV sihtmärkide kontsentratsioonid sõltusid alproovi kontsentratsioonist ja seega erinesid genotüüpide lõikes. Uuring teostati iga 4 genotüübi 6 korduse testimisega 5 kontsentratsioonil. Lineaarsus nelja CMV genotüübi lõikes on toodud *tabelis 4* ja *joonisel 4*.

**Tabel 4.** Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay lineaarsus genotüüpide lõikes

Genotüüp	Lineaarsuse võrrand	
	$y = \text{NeuMoDx CMV Quant Assay kvantitatiivne väärtus}$	$x = \text{Eeldatav kvantitatiivne väärtus}$
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



**Joonis 4.** Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay lineaarsus genotüüpide lõikes

### Analüütiline spetsiifilisus – ristreaktiivsus

Analüütilist spetsiifilisust näidati, sõeludes 35 organismi, mida levinult leiab vere-/plasmaproovidest, ja liigi suhtes, mis on fülogeneetiliselt sarnased CMV ristreaktiivsusele. Organismid valmistati ette 5–6 organismi kogumites ja neid testiti kõrge kontsentratsiooni juures. Testitud organismid on näidatud tabelis 5. Ühegi testitud organismi korral ei esinenud ristreaktiivsust, mis kinnitab analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay 100% analüütilist spetsiifilisust.

**Tabel 5.** Patogeenid, mida kasutatakse analüütilise spetsiifilisuse tõendamiseks

Mittesihtorganismid					
BK polüomaviirus	5. tüüpi adenoviirus	Herpes Simplex viiruse 1. tüüp	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein-Barri viirus	C-hepatiidi viirus	Herpes Simplex viiruse 2. tüüp	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Inimese herpesviiruse 6. tüüp	Parvoviirus B19	Tuulerõugeviirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Inimese herpesviiruse 7. tüüp	JC-viirus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Inimese herpesviiruse 8. tüüp	Inimese papilloomiviirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
B-hepatiidi viirus	Inimese papilloomiviirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

### Analüütiline spetsiifilisus – segava mõjuga ained, kommensaalsed organismid

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay toimivust segava mõju esinemisel hinnati sihtmärgiks mitteolevate organismide lisamisega, milleks kasutati sama organismide ühendatud proove nagu ristreaktiivsuse analüüsimisel, mis on loetletud ülalolevas tabelis 5. Negatiivset CMV plasmat rikastati 4–7-listes kogumites organismidega ja samuti CMV sihtmärgiga kontsentratsioonis 3 log<sub>10</sub> IU/ml. Olulist segavat mõju ei täheldatud nende kommensaalsete organismide esinemisel, mida näitas minimaalne kvantitatiivne hälve kontrollproovidest, mis ei sisaldanud segavaid aineid.

### Analüütiline spetsiifilisus – segava mõjuga ained, endogeensed ja eksogeensed ained

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay toimivust hinnati CMV kliinilistes plasmaproovides levinud eksogeensete ja endogeensete segavate ainete esinemisel. Nende hulka kuulusid nii verekomponentide liiga kõrge tasemed kui ka levinud viirusevastased ravimid, mis klassifitseeriti tabelis 6. Igat ainet lisati kinnitatud CMV-negatiivsesse inimese plasmasse, mida oli rikastatud 3 log<sub>10</sub> IU/ml CMV-ga ja proove analüüsiti segava mõju suhtes. Lisaks testiti võimaliku interferentsi suhtes tavapärasest haigusseisundis plasmat, mida seostatakse CMV nakkusega. Kõigi testitud ainete keskmine kontsentratsioon ja nihked võrreldes kontrollproovidega, mida rikastati sama CMV tasemega, on esitatud tabelis 7. Mitte ükski eksogeenne ega endogeenne aine ei mõjutanud analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay spetsiifilisust.

**Table 6.** Interferentsi testimine – eksogeensed ained (ravimiklass)

Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon	Kogum	Ravimi nimi	Klassifikatsioon
Kogum 1	Asatiopriin	Immunosupressant	Kogum 4	Trimetopriim	Antibiootikum
	Tsüklosporiin	Immunosupressant		Vankomütsiin	Antibiootikum
	Foskarnet	Viirusevastane (herpesviirused)		Takroliimus	Immunosupressant
	Gantsükloviir	Viirusevastane (CMV)		Everoliimus	Immunosupressant
	Valgantsükloviirvesinikkloriid	Viirusevastane (CMV)		Klavulanaatkaalium	Antibiootikum
Kogum 2	Prednisoon	Kortikosteroid/ immunosupressant	Kogum 5	Famotidiin	Histamiini retseptori antagonist
	Tsidofoviir	Viirusevastane (CMV)		Sulfametoksasool	Antibiootikum
	Tsefotetaan	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Valatsiloviir	Viirusevastane (herpesviirused)
	Tsefotaksiim	Antibiootikum (laia toimespektriga)		Letermoviir	Viirusevastane (CMV)
	Flukonasool	Antifungaalne		Tikartsilliin-dinaatrium	Antibiootikum
Kogum 3	Mükofenolaatmofetiil	Immunosupressant	Leflunomiid	Immunosupressant	
	Mükofenolaatnaatrium	Immunosupressant			
	Piperatsilliin	Antibiootikum			
	Siroliimus/Rapamütsiin	Immunosupressant			
	Tasobaktaam	Modifitseeritud antibiootikum			

**Table 7.** Interferentsi testimine – eksogeensed ja endogeensed ained

Endogeenne	Keskmine kont.	Nihe
	log <sub>10</sub> IU/ml	log <sub>10</sub> IU/ml
Hemoglobiin	2,97	0,07
Triglütseriidid	3,03	0,13
Bilirubiin	3,01	0,11
Albumiin	2,88	-0,02
Eksogeensed (ravimid)	Keskmine kont.	Nihe
	log <sub>10</sub> IU/ml	log <sub>10</sub> IU/ml
Kogum 1: asatiopriin, tsüklosporiin, foskarnet, gantsükloviir, valgantsükloviirhüdrokloriid	2,88	-0,02
Kogum 2: prednisoon, tsidofoviir, tsefotetaan, tsefotaksiim, flukonasool	2,91	0,01
Kogum 3: mükofenolaatmofetiil, mükofenolaat naatrium, piperatsilliin, siroliimus/rapamütsiin, tasobaktaam	2,98	0,08
Kogum 4: trimetopriim, vankomütsiin, takroliimus, everoliimus, klavulanaat-kaalium	3,05	0,15
Kogum 5: famotidiin, sulfametoksasool, letermoviir, valatsükloviir, tikartsilliin-dinaatrium, leflunomiid	2,87	-0,03
Haigusseisund	Keskmine kont.	Nihe
	log <sub>10</sub> IU/ml	log <sub>10</sub> IU/ml
Tuumavastane antikeha (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Süsteemne erütematoosne luupus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,04	0,14
Reumatoidartriit	2,99	0,09

### Laborisisene täpsus

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay täpsus määrati kontrolliga Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ette valmistatud 4-liikmelise paneeli 3 kordusega CMV proovide testimisega kaks korda päevas, kasutades 12 päeva jooksul kaht seadet NeuMoDx 288 Systems ja üht seadet NeuMoDx 96 System. Määrati sarjasisene, päevasisene ja süsteemisene täpsus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati  $\leq 0,15 \log_{10}$  IU/ml. Näidati suurepäraselt päevade- või testideülest täpsust, nagu on näidatud tabelis 8. Kasutajate vahel ei määratud täpsust, kuna kasutaja ei ole proovide töötlemisel süsteemiga NeuMoDx System määrava tähtsusega.

**Tabel 8.** Laborisisene täpsus – analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay seadmetel NeuMoDx Systems

CMV sihtkont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	Keskmine CMV kont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	Süsteemisene SD	Päevasisene SD	Sarjasisene SD	Üldine (Laborisisene) SD
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

### Partiidevaheline reprodutseeritavus

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay partiidevahelist reprodutseeritavust hinnati, kasutades põhireaktiivide (lüüsimispuhver NeuMoDx Lysis Buffer 1, ekstraheerimisplaadid NeuMoDx Extraction Plates ja testriba NeuMoDx CMV Quant Test Strip) kolme eri partiid. Toimivuse hindamiseks kasutati kontrolliga Exact CMV Control valmistatud 4-liikmelist CMV paneeli. Testimisel kasutati kolme reaktiivide partiid, mida analüüsiti kolme seadme abil 6 päeva vältel. Analüüsiti partiide siseseid ja vahelisi varieeruvusi ja need tulemused on esitatud tabelis 9. Maksimaalne üldine nihe oli  $0,12 \log_{10}$  IU/ml ja maksimaalne üldine SD oli  $0,39 \log_{10}$  IU/ml. Samaväärset toimivust näidati kõikides partiides, kuna kõigi paneeli liikmete puhul oli kvantifitseerimine tolerantsi piires.

**Tabel 9.** Partiidevaheline reprodutseeritavus – NeuMoDx CMV Quant Assay

CMV sihtkont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	Keskmine CMV kont. [ $\log_{10}$ IU/ml]	N (kehtivad tulemused partii kohta)	Nihe	Partiidevaheline SD	Partiisene SD	Üldine SD
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

### Kontrolli tõhusus

Analüüs NeuMoDx CMV Quant Assay sisaldab SPC1, mis annab teavet protsessi ebaõnnestumise või analüüsi toimimist mõjutava pärsiva toime kohta. Efektiivsust testiti kriitilisi töötusetappide tõrkeid esindavates tingimustes, mis võivad tekkida proovide töötlemise ajal ja mida seadme NeuMoDx System toimimist kontrollivad sensorid võivad jätta tuvastamata. Positiivseid ( $3 \log_{10}$  IU/ml) ja negatiivseid proove pandi proovile kontrolli olemasolul järgmistes tingimustes: inhibiitori olemasolu, pesureaktiivi kättesaadavuse piiramine ja pesulahuse eemaldamata jätmine. Töötluseetappide tõrkeid, mis mõjutasid negatiivselt CMV tuvastamist/kvantifitseerimist, peegeldas SPC1 sihtmärk, nagu on näidatud tabelis 10. Kõigil testitud juhtudel näidati, et prooviprotsessi kontroll jälgendas protsessi ebaefektiivsust ja inhibiitorite olemasolu adekvaatselt või eeldatav protsessi ebaefektiivsus ei avaldanud olulist negatiivset mõju SPC1 ega CMV tuvastamisele ja kvantifitseerimisele. Seega, SPC1 abil näidati analüüsi toimimise efektiivset jälgimist seadmes NeuMoDx System.

**Tabel 10.** Proovi töötlemise kontrolli tõhusus

Testitud töötlemisetapi tõrge	Proovi töötlemise kontrolli 1 amplifikatsioonistaatus	CMV sihtmärgi amplifikatsioonistaatus	Analüüsi tulemus
Presence of Inhibitor (Inhibiitori sisaldus)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Delivered (Pesemisreaktiivi ei ole)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Blowout (Pesemisreaktiivi väljauhtumist ei toimu)	Amplified (Amplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	Positive (Positiivne) kvantifitseerimine kontrolli $0,3 \log_{10}$ IU/ml ulatuses

### Kehtivate tulemuste määr

Kehtivate tulemuste protsendi määramiseks kasutati retrospektiivse analüüsi andmeid, mis saadi seadmete NeuMoDx Systems abil saadud analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay toimimise tulemuste hindamise käigus. Kehtivaid analüüsitulemusi esitatakse olekutes Positive (positiivne) või Negative (negatiivne); kehtetuid tulemusi võidakse kuvada olekutes Indeterminate (IND) (määramatu) või Unresolved (UNR) (lahendamata) vastavalt sihtmärgi ja proovi protsessi kontrolli amplifikatsiooni olekule. Kuva IND on tavaliselt põhjustatud seadme veast, mille tagajärjel sihtmärgi ja/või protsessisese kontrolli amplifitseerimine ebaõnnestub. Kuva UNR antakse proovidele juhul, kui nii sihtmärgi kui ka protsessisese kontrolli amplifitseerimine ebaõnnestub seadme tõrke tuvastamise puudumisel. Retrospektiivsesse analüüsi kaasati 1 100 individuaalse analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemused, mis sisaldasid nii seadmega NeuMoDx 288 kui ka NeuMoDx 96 Systems saadud andmeid. Tulemuste UNR ja IND tuvastamise määr oli vastavalt 0,91% (10/1100) ja 0,36% (4/1100), mis on vastavuses analüüsi nõuetekohasuse tingimustega. Seega oli analüüsi NeuMoDx CMV Assay kehtivate tulemuste määr eri seadmete NeuMoDx Systems kasutamise korral 95% CI (97,9–99,2) puhul 98,7%.

### Ristsaastumine

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay ristsaastumise määr tehti kindlaks CMV proovide kolme partii analüüsimise käigus, milles kõrged positiivsed proovid paigutati vaheldumisi negatiivsete proovidega. Kokku analüüsiti korduses 108 CMV-negatiivset plasmaproovi ja korduses 108 rikastatud CMV plasmaproovi 6,0 log<sub>10</sub> IU/ml. Kõikide korduses analüüsitud 108 negatiivse proovi tulemused olid negatiivsed, mis näitab, et proovide töötlemise käigus ei tekkinud süsteemis NeuMoDx System ristsaastumist.

### Proovimatriksi ekvivalentsus

Proovimatriksi samaväärsuse demonstreerimiseks kasutati etüleendiamiintetraäädikhape (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) kui ka happelise tsitraatdeksotriisi (acid citrate dextrose, ACD) kogumiskatsutitesse plasma valmistamiseks kogutud täisverd. Lisaks teostati test, et määrata ekvivalentsus värskete ja külmutatud plasmaproovide vahel (kogutud kahte tüüpi katsutisse). Värskeid proove säilitati 4 °C juures, kuni neid rikastati kolme eri CMV tasemega ja analüüsiti samaväärsuse suhtes. Seejärel proovid külmutati vähemalt 24 tundi –20 °C juures. Pärast külmutamisperioodi, sulutati proovid üles ja analüüsiti uuesti. Värske vs. külmutatud plasmaproovide kui ka EDTA vs. ACD proovide tulemusi võrreldi samaväärsuse osas regressioonanalüüsi abil. Andmed näitasid EDTA ja ACD plasmaproovide ning värske ja külmutatud plasmaproovide suurepäraselt samaväärsust, millel oli tõus 0,02/1,0 ja väga väike kõrvalekalle (löikepunkt), nagu on esitatud allpool tabelis 11.

Tabel 11. Proovimatriksi ekvivalentsus

Parameetri nõue	ACD vs. K2EDTA		Värskete vs. külmutatud	
	Värskete	Külmutatud	ACD	EDTA
Tõus [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Intercept (Löikepunkt) [< 0,5 log <sub>10</sub> IU/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
p-väärtus > 0,05	0,848	0,644	0,895	0,631

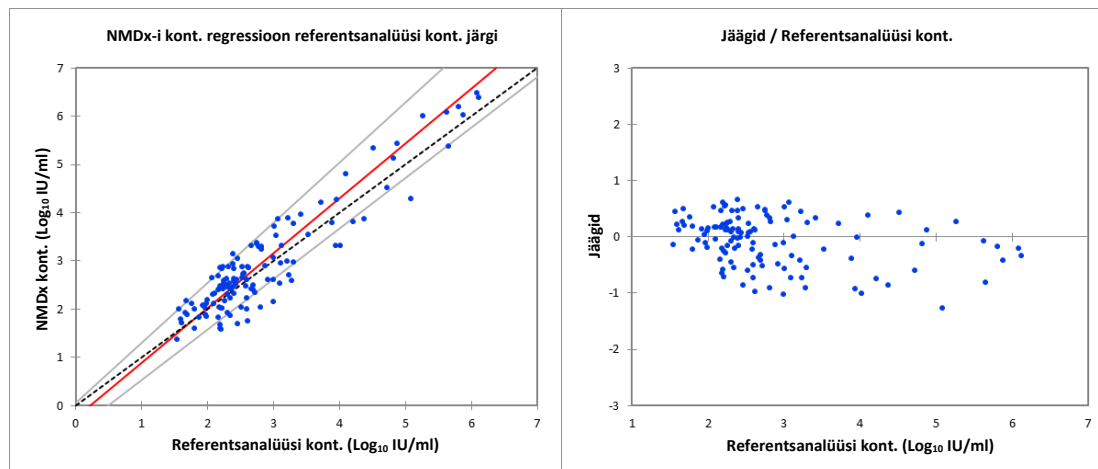
### Kliinilise meetodi võrdlus

Analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay kvantitatiivset toimivust hinnati FDA/CE-heakskiidetud võrdlusanalüüside suhtes, testides CMV infektsiooniga patsientide lahendamata plasma kliinilisi proove. Testimine viidi läbi NeuMoDx-i siseselt ühepoolset pimedas uuringus, kasutades neljalt sõltumatult võrdluslaborilt saadud kliinilisi proove. Kokku töödeldi analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay abil 284 plasmaproovi (ühepoolset) pimedatud viisil, kasutades eri seadmeid NeuMoDx Molecular Systems.

Töötlemis- ja süsteemivigu, mis tekkisid eri seadmetega NeuMoDx Molecular Systems esines minimaalselt ja need vastasid kriteeriumitele. Kokku saadi proovide jaoks 3 tulemust Indeterminate (IND) (Määramatu), mis andis üldise algse 1% IND määra 95% CI juures (0,27–3,32%). Polnud piisavalt proove nende 3 proovi uuesti töötlemiseks hariliku töövoo raames. Algselt saadi 10 tulemust Unresolved (UNR) (Lahendamata), aga järgides analüüsi CMV Quant Assay soovitatud protseduuri 1 : 10 lahenduseks lahjendis Basematrix tulemuste UNR jaoks saadi nõuetekohasel lahendamisel kehtivad tulemused kõigi 10 tulemusega UNR proovi kordusanalüüsimisel, seetõttu oli üldine töötlemise veamäär 1,06% 95% CI juures (0,27%–3,3%) tulemuste Indeterminate (IND) (Määramatu) tõttu, mille analüüsi ei saanud ebapiisava mahu tõttu korrata.

Oli 4 proovi, mis genereerisid lipukese Quantitation Error (Kvantifitseerimisviga) ja kolmele nendest neljast proovist sai teha kordusanalüüsi soovitatud protseduuri kohaselt, kasutades lahjendis Basematrix 1 : 10 lahendatud proovi, et saada kehtiv kvantitatiivne tulemus. Uuringus saadud 283 kehtivast tulemusest 129 esitas analüüs NeuMoDx CMV Assay positiivse ja võrdlustestimine määras samad kontsentratsiooni väärtused. Nendest proovidest kuue puhul oli võrdlustesti järgi viie tulemus alla LLoQ ja ühe tulemus oli üle ULoQ ning seetõttu oli kokku 123 proovile määratud vastavad kontsentratsiooni väärtused nii analüüsiga NeuMoDx CMV Quant Assay kui ka CE-IVD võrdlustestidega ja neid kasutati kvantitatiivse korrelatsiooni analüüsi jaoks. Analüüsil NeuMoDx CMV Quant Assay saadud kontsentratsiooniväärtuste ja referentsanalüüside väärtuste korreleerimiseks kasutati Demingi ja Passing-Babloki regressioonanalüüsi.

Koostati samaväärsuse diagrammid, et näidata kõigi analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay abil testitud proovide kontsentratsioonide ja võrdlusanalüüside kontsentratsiooni väärtuste vahelist korrelatsiooni Demingi ja Passing-Babloki regressioonanalüüsi kaudu, mis on esitatud joonisel 5.



**Joonis 5.** Samaväärsuse (*vasakul*) ja prognoosijäägi (*paremal*) diagrammid – kumulatiivne analüüs (mõlema seadmega NeuMoDx Systems) analüüsi NeuMoDx CMV Quant Assay tulemused võrreldes referentsanalüüsi tulemustega, KÕIK proovid Passing-Babloki regressioonanalüüsi alusel.

Demingi regressiooni sobivust näitab tõusu koefitsient 1,1 usaldusvahemikuga 95% (1,0, 1,2) ja löikepunkt (nihe)  $-0,18$  usaldusvahemikuga 95% ( $-0,39, 0,03$ ), mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx CMV Quant Assay ja võrdlustestidega saadud kontsentratsiooniväärtused on tugevas korrelatsioonis ja sobiva nihkega. Passing-Babloki lineaarset sobivust näitab tõusu koefitsient 1,1 usaldusvahemikuga 95% (1,0, 1,2) ja löikepunkt (nihe)  $-0,24$  usaldusvahemikuga 95% ( $-0,51, 0,06$ ), mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx CMV Quant Assay ja võrdlustestidega saadud kontsentratsiooniväärtused on tugevas korrelatsioonis ja sobiva nihkega, nagu on näidatud tabelis 12.

**Tabel 12.** Demingi ja Passing-Babloki lineaarse regressiooni analüüside kokkuvõte

Demingi analüüs		Passing-Babloki analüüs	
Löikepunkt	Tõusu koefitsient	Löikepunkt	Tõusu koefitsient
$-0,18$ 95% CI ( $-0,39; 0,03$ )	1,1 95% CI (1,0; 1,2)	$-0,24$ 95% CI ( $-0,51; 0,06$ )	1,1 95% CI (1,0; 1,2)

### VIITED

- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
- A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### KAUBAMÄRGID

NeuMoDx™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.

NeuDry™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.












TaqMan® on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.



### SÜMBOLID

Kasutusjuhendis või pakendil ja märgistusel võivad olla järgmised sümbolid.

SÜMBOL	TÄHENDUS
<b>R only</b>	Ainult retsepti alusel
	Tootja
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
<b>EC REP</b>	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
<b>REF</b>	Katalooginumber
<b>LOT</b>	Partii kood
	Kasutamise lõppkuupäev
	Temperatuuri piir
	Niiskuse piirmäär
	Mitte korduskasutada
	Sisaldab piisavalt <n> analüüsi jaoks
	Vaadake kasutusjuhendit
	Ettevaatust!
	Bioloogilised ohud
<b>CE</b>	CE-märgis
	Terviseoht
	Oht



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

Tehniline tugi / järelevalve analüüs: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com)  
Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)



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