

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

FIGYELEM! Kizárólag az Amerikai Egyesült Államokból történő exportra

IVD *In vitro* diagnosztikai használatra a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékekkel


A termékátjékoztatóval kapcsolatos frissítések a következő weboldalon találhatóak: www.qiagen.com/neumodx-ifu
 Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 [REF 500100])
 Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600317 [REF 500200] vagy 40600655 [REF 500201])

ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx CMV Quant Assay egy automatizált, *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a citomegalovírus (CMV) DNS-ének humán plazmamintákban történő kvantitatív meghatározására szolgál CMV-vel fertőzött egyénekben a CMV gB1–gB4 genotípusai esetében. A NeuMoDx 288 Molecular System és a NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System készülékek) készülékeken használt NeuMoDx CMV Quant Assay részét képezi a célnukleinsav mintából történő izolálására szolgáló automatikus DNS-extrakció, valamint a citomegalovírus genomjában található erősen konzervált régiókat megcélzó valós idejű polimeráz láncreakció (PCR).

A NeuMoDx CMV Quant Assay a citomegalovírus (CMV) DNS-ének friss és fagyasztott humán plazmamintákból történő *in vitro* kvantitatív meghatározására szolgál a NeuMoDx 288 és a NeuMoDx 96 Molecular System készülékeken alkalmazva. Ezt az assay-t a klinikai képpel és a betegségprogresszió egyéb laboratóriumi markereivel együtt kell értékelni a CMV-fertőzés klinikai kezeléséhez és monitorozásához. Ez az assay nem használható a CMV vérben vagy vérkészítményekben való jelenlétének szűrésére.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-t vagy ACD-t tartalmazó steril vérvételi csövekbe gyűjtött humán teljes vér használható. A vizsgálat előkészítéséhez a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőben található plazmát be kell tölteni a NeuMoDx System készülékbe egy erre a célra szolgáló mintacsőtartó használatával. Minden minta esetében a plazmaminta egy 550 µl-es alikvotját össze kell keverni NeuMoDx Lysis Buffer 1 lízispufferrel, majd a NeuMoDx System automatikusan elvégzi a célnukleinsav extrakciójához szükséges valamennyi lépést, előkészíti az izolált DNS-t a valós idejű PCR-amplifikációra, és ha jelen vannak, amplifikálja és kimutatja az amplifikációs termékeket (a CMV genomjának erősen konzervált cél régióit). A NeuMoDx CMV Quant Assay részét képezi egy DNS-mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1), amely segíti a potenciális gátló anyagok jelenlétének, valamint az extrakciós és az amplifikációs folyamatok során a NeuMoDx System készülék és a reagensek esetében észlelhető hibák monitorozását.

A CMV a humán herpeszvírusok családjába tartozó gyakori kettős szálú DNS-vírus, amely minden korosztályt megfertőzhet. Becslések szerint világszerte 40 éves korukra a lakosság több mint fele átesik CMV-fertőzésen.¹ A CMV testfolyadékokon, például nyálon, vizeletben, véren, könnyön, ondófolyadékon, valamint anyatejben keresztül terjed. A CMV-vel fertőzött immunkompetens személyek általában tünetmentesek, a vírusfertőzés csecsemőknél és legyengült immunrendszerű emberekben azonban súlyos lehet. A várandós nők átadhatják a CMV-t születendő gyermeküknek, ami veleszületett CMV-fertőzést okozhat, ez pedig halláskárosodást és a motoros és egyéb funkciók fejlődési késelmét eredményezheti. A CMV az immunkomprimált betegek, köztük a szilárdszerv-átültetésben részesülők, a hematopoetikussejt-transzplantációban részesülők, a HIV-fertőzött betegek és az immunmoduláns gyógyszerekkel kezelt betegek esetén az egyik fő patogén.² A CMV vírussterhelés monitorozását elsősorban ezen immunkomprimált populációkban alkalmazzák, ahol a vírus számos betegséget okoz, köztük tüdőgyulladást, gastrointestinalis betegséget, hepatitiszt és agyvelőgyulladást, valamint növeli a szervkilökődés és más opportunista fertőzések esélyét.

A CMV-fertőzés diagnózisa nem kizárólag nukleinsav-vizsgálaton (NAT) alapul; a NAT vizsgálatot a CMV korai strukturális belső mátrixfehérjéjének kimutatását célzó, polimorfonukleáris leukociták (PMN-ek) festését magában foglaló antigénvizsgálat mellett alkalmazzák, valamint a beteg által esetleg tapasztalt egyéb tüneteket is figyelembe veszik. A CMV vírussterhelés vizsgálatát rutinszerűen alkalmazzák annak meghatározására, hogy mikor van szükség vírusellenes terápiára, valamint az ilyen terápiák hatékonyságának ellenőrzésére.³ Bár az immunkomprimált személyek CMV-fertőzésének kezelésére vonatkozó jelenlegi irányelvek nem egyértelműek az antivirális terápia megkezdésének időpontját illetően, az antivirális terápia megkezdését követően mind megkövetelik a vírussterhelés folyamatos monitorozását annak érdekében, hogy enyhíthessék a gyógyszerek súlyos mellékhatásait ezekben a populációkban.

AZ ELJÁRÁS ELVE

A NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx CMV Quant Assay a következőket használja az elemzés elvégzéséhez: NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík, NeuMoDx CMV Calibrator kalibrátorok, NeuMoDx CMV External Control külső kontrollok, NeuMoDx Lysis Buffer 1 lízispuffer és NeuMoDx általános felhasználású reagensek. A NeuMoDx CMV Quant Assay automatizált DNS-extrakciót, amplifikációt és valós idejű PCR-módszerrel végzett detektálást kombinál. A plazma előkészítéséhez teljesvér-mintákat kell gyűjteni EDTA-t vagy ACD-t tartalmazó csövekbe. A NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőben lévő plazmamintát mintacsőtartóba kell helyezni, amelyet be kell tölteni a NeuMoDx System készülékbe a feldolgozáshoz. További kezelői beavatkozásra nincs szükség.

A NeuMoDx System készülékek hő, lítikus enzim és extrakciós reagensek kombinálásával automatikusan végzik a sejtlízist, a DNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat paramágneses részecskék segítségével fogják be. A részecskék a hozzájuk kötődő nukleinsavakkal együtt betöltésre kerülnek a NeuMoDx Cartridge kazettába, ahol a NeuMoDx Wash Reagent kimosza a nem kötődő, nem DNS-összetevőket, a NeuMoDx Release Reagent pedig eluálja a kötött DNS-t. Ezután a NeuMoDx System az eluált DNS segítségével rehidratálja a szabadalmazott NeuDry™ amplifikációs reagenseket, amelyek a CMV-re és SPC1-re specifikus célszekvenciák PCR-amplifikációjához szükséges összes elemet tartalmazzák. A NeuDry PCR-reagensek rekonstitúciója után a NeuMoDx System kiadagolja az elkészített, PCR-hez való, használatra kész keveréket a NeuMoDx Cartridge kazettába. A kontroll és a cél DNS-szekvenciák (ha jelen vannak) amplifikációja és detektálása a NeuMoDx Cartridge kazetta PCR-kamrájának területén történik. A NeuMoDx Cartridge kazetta úgy van kialakítva, hogy a valós idejű PCR-t követően az amplikont is tartalmazza, ezáltal lényegében kiküszöbölhető az amplifikáció utáni szennyeződés kockázata.

Az amplifikált célszekvenciák detektálása valós időben, hidrolízispróba (általában használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az amplikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak.

A TaqMan próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens módon kötődő fluorofór- és a 3' végen egy quencher molekulát tartalmaznak. Amíg a próba ép, a fluorofór és a quencher molekula egymáshoz közel helyezkednek el, ami azt eredményezi, hogy a quencher molekula FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén kioltja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát.

Kialakításuk révén a TaqMan próbák feltapadnak a primerek specifikus csoportja által amplifikált DNS-régióon belül. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor felszabadul a fluorofór, és távolabb kerül a quencherrel, ezért a FRET miatti kioltó hatás elmarad, és lehetővé válik a fluorofór fluoreszcenciás detektálása. Az eredményül kapott, a NeuMoDx System kvantitatív PCR-készülékében detektált fluoreszcens jel egyenesen arányos a felszabadított fluorofórral, és összefügg a jelen lévő cél DNS mennyiségével.

A CMV DNS célszekvenciájának detektálásához az 5' végen fluorofórral (gerjesztés: 490 nm, emisszió: 521 nm), a 3' végen pedig sötét quencherrel megjelölt TaqMan próba használatos. Az SPC1 detektálásához a TaqMan próbát váltakozó fluoreszcens festékekkel (gerjesztés: 535 nm, emisszió: 556 nm) jelölik meg az 5' végen, és egy sötét quencherrel a 3' végen. A NeuMoDx System szoftvere monitorozza a TaqMan próbák által az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jeleket. Az amplifikáció befejeztével a NeuMoDx System szoftvere elemzi az adatokat, és kiadja a végleges eredményt (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / UNRESOLVED [Megoldatlan]). Ha az eredmény POSITIVE (Pozitív), a NeuMoDx System szoftvere kvantitatív értéket is megad a mintához, vagy jelenti, ha a kiszámított koncentráció a mennyiségi kimutathatóság tartományán belül esik.

REAGENSEK/FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Teszt/egység	Teszt/csomag
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip Szárított PCR-reagensok, amelyek CMV-re specifikus TaqMan próbákat és primereket, illetve SPC1-re specifikus TaqMan próbákat és primereket tartalmaznak.	16	96

Szükséges, de nem biztosított reagensok és fogyóeszközök (külön kaphatók a NeuMoDx vállalatától)

REF	Tartalom
100200	NeuMoDx Extraction Plate Szárított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontrollok
800400	NeuMoDx CMV Calibrators A standard görbe validálásának meghatározására szolgáló, magas és alacsony koncentrációjú CMV-kalibrátorokat tartalmazó egyszer használatos készletek
900401	NeuMoDx CMV External Controls CMV-re pozitív és negatív kontrollból álló, egyszer használatos készletek a NeuMoDx CMV Quant Assay napi érvényességének megállapításához
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE/CO-RE II hegyek (300 µl)
235905	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE/CO-RE II hegyek (1000 µl)

Szükséges készülékek


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

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip kizárólag a NeuMoDx System készülékekkel használható *in vitro* diagnosztikai használatra.
- A reagensok és a fogyóeszközök a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenset.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenset felhasználni, ha érkezéskor a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült.

- A klinikai minták teszteredményeinek kiadásához rendelkezni kell érvényes (a magas és alacsony koncentrációjú NeuMoDx CMV Calibrator [REF 800400] kalibrátorok feldolgozásával generált) tesztkalibrálással.
- A NeuMoDx CMV Quant Assay teszttel történő vizsgálat során 24 óránként futtatni kell NeuMoDx CMV External Control külső kontrollokat [REF 900401].
- A minimális mintatérfogat 1 ml EDTA-s/ACD-s plazma a 32 csöves mintacsőtartó használata esetén; az 1 ml-nél kisebb térfogat a NeuMoDx System készülék hibáját eredményezheti.
- A nem megfelelő hőmérsékleten vagy a megadott tárolási időn túl tárolt mintákon végzett CMV-assay érvénytelen vagy hibás eredményeket adhat a NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík használatakor.
- Mindig ügyeljen arra, hogy egyik reagensbe és fogyóeszközre se kerüljön mikrobiális vagy dezoxiribonukleáz (DNáz) szennyeződés. Javasoljuk egyszer használatos steril, DNáz-mentes transzferpipetták használatát. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx Cartridge kazettákat. Semmilyen körülmények között se vegye ki a NeuMoDx Cartridge kazettákat a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tartályából (NeuMoDx 288 Molecular System) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolójából (NeuMoDx 96 Molecular System). A NeuMoDx Cartridge kazetta úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a szennyeződést.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a NeuMoDx CMV Quant Test Strip, a teszthez szükséges további fogyóeszközök és reagens, az egyéni védőeszközök (pl. kesztyű és laboratóriumi köpeny), valamint a NeuMoDx System ne szennyeződjenek.
- A NeuMoDx reagens és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes nitril védőkesztyűt kell viselni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx Cartridge kazetta felső felületét, a NeuMoDx CMV Quant Test Strip és a NeuMoDx Extraction Plate zárófoliás felületét vagy a NeuMoDx Lysis Buffer 1 felső felületét. A fogyóeszközök és reagens manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- A Biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS) a következő helyen érhető el: www.qiagen.com/safety
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezet.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagenset kezelnek.
- A mintákat mindig potenciálisan fertőző anyagként, biztonságos, például a *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ és az M29-A4⁵ jelű CLSI dokumentumban leírt laboratóriumi eljárásoknak megfelelően kell kezelni.
- A fel nem használt reagenset és a hulladékot az országos, szövetségi, regionális, állami és helyi szabályozásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
- Vegyszerekkel való munkavégzések mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. A további tudnivalókat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmazzák.

ÓVINTÉZKEDÉSEK

NeuMoDx CMV Quant Test Strip	
	<p>VESZÉLY! Bórsavat tartalmaz.</p> <p>Veszély! Károsíthatja a termékenységet vagy a születendő gyermeket.</p> <p>Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: Kérjen orvosi ellátást. Tárolja elzárva. A tartalmat/edényt jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben, a helyi, regionális, nemzeti és nemzetközi szabályozásnak megfelelően helyezze el.</p>

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Ártalmatlanítás

Ártalmatlanítsa veszélyes hulladékként, a helyi és országos előírásoknak megfelelően. Ez a nem használt termékekre is vonatkozik.

Kövesse a biztonsági adatlapon (Safety Data Sheet, SDS) található ajánlásokat.

A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

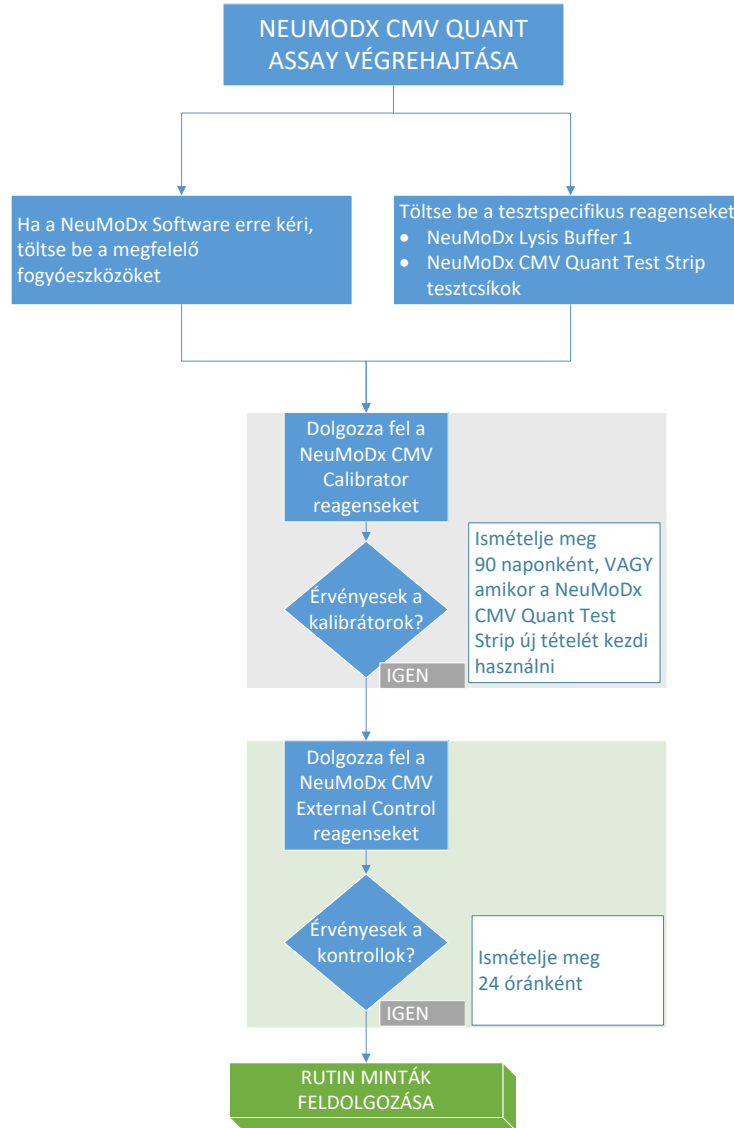
- Az összes NeuMoDx reagens és fogyóeszköz (a külső kontrollok és kalibrátorok kivételével) elsődleges csomagolásában, 18–23 °C között tárolva a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati ideig stabil.

- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík a NeuMoDx System készülékbe töltve 14 napig stabil; a NeuMoDx System szoftvere felszólít a 14 napnál hosszabb ideig a NeuMoDx System készülékben használatban lévő tesztcsíkok eltávolítására, és új NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsíkokat kell felbontani és betölteni a NeuMoDx System készülékbe.
- A NeuMoDx kalibrátorok és kontrollok nem fertőzőek, de használat után a laboratóriumi biológiai veszélyt jelentő hulladékok közé kell dobni őket, mivel a készülékben történő feldolgozás után célanyagot fognak tartalmazni, amely nem megfelelő kezelés esetén szennyeződést okozhat.

MINTAGYŰJTÉS, -SZÁLLÍTÁS ÉS -TÁROLÁS

1. Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.
2. Az elsődleges csövekben tárolt teljesvér- vagy bármilyen más mintákat tilos lefagyasztani.
3. Plazmaminták készítéséhez a teljes vért antikoagulánsként EDTA-t vagy ACD-t tartalmazó steril csövekbe kell venni. Kövesse a mintagyűjtő cső gyártójának utasításait.
4. A fent felsorolt eszközökbe gyűjtött teljes vért legfeljebb 24 órán át szabad tárolni és/vagy szállítani 2–25 °C-on a plazma előkészítése előtt. A plazma-előkészítést a gyártó utasításainak megfelelően kell végezni.
5. Az előkészített plazmaminták a feldolgozás előtt legfeljebb 8 órán át maradhatnak a NeuMoDx System készülékben. Ha ennél hosszabb tárolási időre van szükség, javasolt a mintákat hűteni vagy lefagyasztani.
6. Az előkészített plazmaminták vizsgálat előtt 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig, szobahőmérsékleten pedig legfeljebb 8 órán át tárolhatók.
7. Az előkészített plazmaminták ≤ -20 °C-on legfeljebb 26 hétig tárolhatók a feldolgozás előtt. A plazmamintákat nem szabad több mint 2 fagyasztási/kiolvasztási ciklusnak alávetni felhasználás előtt.
 - a. Ha a mintákat lefagyasztották, hagyja, hogy szobahőmérsékleten (15–30 °C-on) teljesen kiolvadjanak. Ezt követően keverje fel a mintákat vortex keverővel az egyenletes eloszlás érdekében.
 - b. A lefagyasztott minták kiolvasztása után a tesztet 8 órán belül el kell végezni.
8. Szállítás esetén a mintákat a vonatkozó országos és/vagy nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell becsomagolni és felcímkézni.
9. A mintákat egyértelműen kell felcímkézni, és jelezni kell, hogy a mintákat CMV-vizsgálatra szánták.
10. Lépjen tovább „A teszt előkészítése” című részhez.

A NeuMoDx CMV Quant Assay alkalmazásának általános folyamatát az 1. ábra foglalja össze.



1. ábra: A NeuMoDx CMV Quant Assay alkalmazásának folyamata

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

A teszt előkészítése

1. Ragassza fel a minta vonalkódcímkéjét a NeuMoDx System készülékkel kompatibilis mintacsőre.
2. Egy transzferpipetta segítségével vigyen ≥ 1 ml plazmát a vonalkóddal ellátott (másodlagos) mintacsőbe, ha 32 csöves mintacsőtartót használ, vagy > 2 ml-t, ha 24 csöves mintacsőtartót használ. Ügyeljen arra, hogy a plazmamintából ne kerüljön véralvadék a mintacsőbe. Minden egyes mintához használjon új transzferpipettát.
3. A másodlagos csőnek a következő specifikációknak kell megfelelnie, amelyek a feldolgozáshoz használt mintacsőtartótól függően kompatibilisek a NeuMoDx System rendszerrel.
 - 32 csöves mintacsőtartó: 11–14 mm átmérőjű és 60–120 mm magas
 - 24 csöves mintacsőtartó: 14,5–18 mm átmérőjű és 60–120 mm magas

A NeuMoDx™ System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317/40600655).

1. Töltsön fel egy vagy több NeuMoDx System Test Strip Carrier tartót NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tesztcsíktartó(ka)t a NeuMoDx System rendszerbe.
2. Amikor a NeuMoDx System szoftvere arra ad utasítást, adja hozzá a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx System fogyóeszköztartóba, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx System rendszerbe.
3. Amikor a NeuMoDx System szoftvere arra ad utasítást, szükség szerint cserélje ki a NeuMoDx Wash Reagent reagenst, NeuMoDx Release Reagent reagenst, ürítse ki a feltöltési hulladékot, vagy a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályát.
4. Ha a NeuMoDx System szoftver erre kéri, szükség szerint dolgozza fel a kalibrátorokat [REF 800400] és/vagy a külső kontrollokat [REF 900401]. A kalibrátorokkal és kontrollokkal kapcsolatos további információk „Az eredmények feldolgozása” című részben található.
5. Töltsse be a minta-/kalibrátor-/kontrollcsöve(ke)t a standard 32 csöves mintacsőtartóba, és ellenőrizze, hogy minden mintacsőről le van-e véve a kupak.
6. Helyezze a mintacsőtartót az automatikus betöltőpoclok bármelyik nyitott pozíciójába, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartót a NeuMoDx System rendszerbe. Ez elindítja az azonosított teszt(ek)re vonatkozó betöltött minták feldolgozását.

KORLÁTOZÁSOK

- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip csak a NeuMoDx System készülékeken használható.
- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík teljesítményét EDTA/ACD véralvadástgátlóval gyűjtött teljes vérből készült plazmaminták esetében állapították meg; a NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík más klinikai mintatípusokkal való használatát nem vizsgálták, és más mintatípusok esetén a teszt teljesítményjellemzői nem ismertek.
- Mivel a CMV detektálása függ a mintában jelen lévő mikroorganizmusok számától, ezért a minta megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása feltétele a megbízható eredményeknek.
- A kalibrátorokat és a külső kontrollokat a terméktájékoztatókban javasoltak szerint kell feldolgozni, illetve ha a NeuMoDx System szoftver erre felszólítja, a rutin klinikai minták feldolgozása előtt.
- A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a mintacsövek felcserélése hibás eredményekhez vezethet. Ezenkívül álnegatív eredményeket kaphatunk, ha a vírusrészecskék a NeuMoDx CMV Quant Assay detektálási határértéke alatti számban vannak jelen a mintában.
- A NeuMoDx System készüléket kizárólag a NeuMoDx System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek működtethetik.
- Ha sem a két CMV-célszekvencia, sem az SPC1-célszekvencia nem amplifikálódik, a rendszer érvénytelen eredményt ad (Indeterminate [Nem eldönthető] vagy Unresolved [Megoldatlan]), és a tesztet meg kell ismételni.
- Ha a NeuMoDx CMV Quant Assay eredménye Positive (Pozitív), de a mennyiségi érték a kvantitatív határértékeken kívül esik, a NeuMoDx System készülék azt jelenti, hogy a kimutatott CMV a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) alatt vagy a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) felett volt.
- Abban az esetben, ha a detektált CMV értéke az LLoQ alatti, a NeuMoDx CMV Quant Assay megismételhető (ha szükséges) a minta egy másik alikvotjával.
- Ha a detektált CMV értéke az ULoQ fölötti, a NeuMoDx CMV Quant Assay megismételhető az eredeti minta egy hígított alikvotjával. CMV-negatív plazmában vagy Basematrix 53 oldószerben (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) végzett 1:100 vagy 1:1000 arányú hígítás javasolt. Az eredeti minta koncentrációját az alábbiak szerint lehet kiszámolni:

$$\text{Az eredeti mintakonzentráció} = \log_{10}(\text{hígítási tényező}) + \text{a hígított minta jelentett koncentrációja}.$$

- A PCR-gátló anyagok esetenkénti jelenléte a plazmában a rendszer mennyiségi meghatározási hibájához vezethet. Ilyenkor a tesztet javasolt megismételni ugyanannak a mintának a Basematrix oldószerrel elkészített, 1:10 vagy 1:100 arányú hígításával.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes mikroorganizmus jelenlétét, A pozitív eredmény azonban valószínűsíti a citomegalovírus DNS jelenlétét.
- A NeuMoDx CMV Quant Assay által megcélzott konzervált régiókban létrejött deléción vagy mutációk befolyásolhatják a detektálást, és hibás eredményekhez vezethetnek a NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsík használatakor.
- A NeuMoDx CMV Quant Assay eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyéb információk kiegészítéseként kell felhasználni. A teszt nem alkalmas fertőzés diagnosztizálására.
- A szennyeződés elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcsere.

AZ EREDMÉNYEK FELDOLGOZÁSA

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók.

A NeuMoDx System szoftvere a döntési algoritmus és a NeuMoDx CMV Assay assay-definíciós fájljában (CMV ADF) megadott eredményfeldolgozási paraméterek segítségével automatikusan generálja a NeuMoDx CMV Quant Assay eredményeit. A célszekvencia és a mintafeldolgozáshoz használt kontroll amplifikációs állapota alapján a NeuMoDx CMV Quant Assay teszteredményei a következők lehetnek: Negative (Negatív), Positive with a reported CMV concentration (Pozitív, jelentett CMV-koncentrációval), Positive above ULoQ (ULoQ feletti pozitív), Positive below LLoQ (LLoQ alatti pozitív), Indeterminate (Nem eldönthető) vagy Unresolved (Megoldatlan). Az eredményeket az alábbi 1. táblázatban összefoglalt döntési algoritmus alapján jelentik.

1. táblázat: A NeuMoDx CMV Quant Assay döntési algoritmus

Eredmény	CMV	Mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitív)	$[2 \leq C_t \leq 9 \text{ \&ES EPR} > 2 \text{ \&ES EP} \geq 1500]$ VAGY $[9 \leq C_t \leq 41 \text{ \&ES EP} \geq 1500]$	n.a.
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás felső határa (ULoQ) fölött (\log_{10} NE/ml)	[CONC] (Konc.) > 8,0 \log_{10} NE/ml, NO QUANT (Nincs mennyiségi meghatározás)	n.a.
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás alsó határa (LLoQ) alatt (\log_{10} NE/ml)	[CONC] (Konc.) < 1,3 \log_{10} NE/ml, NO QUANT (Nincs mennyiségi meghatározás)	n.a.
Negative (Negatív)	N/A (n.a.) VAGY $[2 \leq C_t < 9 \text{ \&ES EPR} \leq 2]$ VAGY $[9 \leq C_t \leq 41 \text{ \&ES EP} < 1500]$ VAGY $C_t > 41$	AMPLIFIED (Amplifikált) ($28 \leq C_t \leq 34$) és EP ≥ 2000
Indeterminate (Nem eldönthető)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) / Systems Errors Noted (Rendszerhiba észlelve)	
Unresolved (Nem meghatározható)	NOT AMPLIFIED (Nem amplifikált) / No System Error Noted (Nincs detektált rendszerhiba)	

EP = End Point Fluorescence (az alapvonal korrekcióját követően), végponti fluoreszcencia; EPR = End Point Fluorescence Ratio, végpontifluoreszcencia-arány; C_t = Cycling Threshold, ciklusküszöbérték;
Quant = a jelen lévő CMV számított mennyisége \log_{10} NE/ml mértékegységben kifejezve. Lásd az alábbi, „Tesztzel kapcsolatos számítások” című szakaszt.

Tesztzel kapcsolatos számítások

- A NeuMoDx CMV Quant Assay mennyiségi meghatározási tartományán belül eső minták esetében a készülék kiszámítja a CMV DNS koncentrációját a tárolt standard görbe és a kalibrációs koefficiens segítségével.
 - A „kalibrációs koefficiens” a standard görbe validitásának a NeuMoDx CMV Quant Test Strip egyes tételeinél, adott NeuMoDx System készüléken való megállapítása érdekében feldolgozott NeuMoDx CMV kalibrátorok eredményei alapján kerül kiszámításra.
 - A kalibrációs koefficiens a rendszer alkalmazni fogja a CMV DNS koncentrációjának végső meghatározásakor.
- A NeuMoDx CMV Quant Assay eredményei NE/ml és \log_{10} NE/ml mértékegységben jelennek meg a leleten.
- Az ismeretlen minták mennyiségi meghatározási eredményei a WHO 1. nemzetközi CMV-standardjára vezethetők vissza.

Tesztkalibráció

A CMV DNS mintákban történő mennyiségi meghatározásához standard görbén alapuló érvényes kalibrálásra van szükség. Érvényes eredmények generálásához tesztkalibrálást kell végezni a NeuMoDx Molecular, Inc. által biztosított kalibrátorokkal.

Külső kalibrátorok

- A NeuMoDx CMV Calibrator kalibrátorokat kitben [REF 800400] biztosítják, és Basematrix oldószerben előkészített, nem fertőző, tokba zárt CMV-célszekvenciát tartalmaz.
- A NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsikok minden új tételével fel kell dolgozni egy CMV kalibrátorkészletet, ha új CMV assay-definíciós fájl töltenek be a NeuMoDx System készülékbe, ha az aktuális kalibrátorkészlet túllépte a validitási időszakot (ami jelenleg 90 napra van beállítva), vagy ha a NeuMoDx System szoftverét módosítják.

3. A NeuMoDx System szoftver értesíti a felhasználót arról, hogy mikor kell a kalibrátorokat feldolgozni; a kalibrátorok sikeres feldolgozásáig nem lehet a teszteléshez új tesztcsíktételt használni.
4. A kalibráció validitása a következőképpen állapítható meg:
 - a) Két kalibrátorból – magas és alacsony koncentrációjú – álló készletet kell feldolgozni a validitás megállapításához.
 - b) Érvényes eredmények generálásához a 3 párhuzamos közül legalább 2-nek az előre meghatározott paramétertartományba eső eredményeket kell adnia. Az alacsony koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke $3 \log_{10}$ NE/ml, a magas koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke pedig $5 \log_{10}$ NE/ml.
 - c) A készülék kiszámítja a kalibrációs koefficiens a tesztcsíktételek közötti várható eltérések kompenzálása érdekében. Ezt a kalibrációs koefficiens használja a végső CMV-koncentráció meghatározásához.
5. Ha a kalibrátorok egyikénél vagy mindegyikénél sikertelen az érvényességi vizsgálat, egy új üveggel ismételje meg a sikertelen kalibrátor(ok) feldolgozását. Ha az egyik kalibrátor érvénytelen, elég lehet a sikertelen kalibrátor feldolgozását megismételni, mivel a rendszer nem várja el mindkét kalibrátor újrafuttatását.
6. Ha a kalibrátor(ok) validitási tesztje második alkalommal is sikertelen, lépjen kapcsolatba a NeuMoDx Molecular, Inc. vállalattal.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontroll eljárásokért, és meg kell határozni a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosítatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

Külső kontrollok

1. A külső kontrollanyagokat – amelyek pozitív kontrollként nem fertőző, tokba zárt CMV-célszekvenciát tartalmaznak Basematrixban – a NeuMoDx Molecular, Inc. biztosítja a NeuMoDx CMV External Control [REF 900401] kit formájában.
2. Pozitív és negatív külső kontrollokat 24 óránként fel kell dolgozni. Ha nem áll rendelkezésre érvényes külsőkontroll-készlet, a NeuMoDx System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy dolgozzon fel kontrollokat, mielőtt a mintaeredményeket jelenteni lehetne.
3. Ha szükség van külső kontrollokra, vegye ki azok készletét a fagyasztóból, és hagyja az üvegeket teljesen kiolvadni szobahőmérsékleten ($15-30$ °C). Keverje meg óvatosan vortex keverővel a homogenitás biztosításához.
4. Az érintőképernyő és az automatikus betöltőpolcra helyezett mintacsőtartó segítségével töltsen be a pozitív és negatív kontrollokat a NeuMoDx System készülékbe. A NeuMoDx System felismeri a vonalkódot, és amennyiben rendelkezésre állnak a vizsgálathoz szükséges reagensek és fogyóeszközök, megkezdi a mintacsövek feldolgozását.
5. A NeuMoDx System a várt eredmény alapján kiértékeli a külső kontrollok érvényességét. A pozitív kontrollnak CMV Positive (CMV-pozitív), a negatív kontrollnak pedig CMV Negative (CMV-negatív) eredményt kell adnia.
6. A külső kontrollokkal kapcsolatos ellentmondó eredményeket a következőképpen kell kezelni:
 - a) Negatív kontrollminta esetén jelentett pozitív teszteredmény mintaszennyeződés utal.
 - b) Pozitív kontrollminta esetén jelentett negatív teszteredmény reagenssel vagy készülékkel kapcsolatos problémára utalhat.
 - c) A fentiek bármelyike esetén ismételje meg a sikertelen NeuMoDx CMV külső kontroll(oka)t az érvényességi teszten sikertelenek bizonyult kontroll(ok) újonnan felolvasztott üvegével.
 - d) Ha a pozitív NeuMoDx CMV külső kontroll továbbra is Negative (Negatív) eredményt ad, forduljon a NeuMoDx ügyfélszolgálatához.
 - e) Ha a negatív NeuMoDx CMV külső kontroll továbbra is Positive (Pozitív) eredményt ad, mielőtt a NeuMoDx ügyfélszolgálatához fordulna, próbáljon meg kiküszöbölni minden potenciális kontaminációs forrást (többek között cserélje le az ÖSSZES reagenst).

Mintafeldolgozási (belső) kontrollok

A NeuMoDx Extraction Plate extrakciós lemezbe beépítettek egy exogén mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC1), amely minden minta esetében átesik a teljes nukleinsav-extrakciós és valós idejű PCR-amplifikációs folyamaton. A NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsíkok mindegyike tartalmazza az SPC1 specifikus primereit és próbát is, és lehetővé teszi az SPC1 jelenlétének detektálását a CMV DNS-célszekvenciával együtt (ha az jelen van), multiplex valós idejű PCR használatával. Az SPC1 amplifikációjának detektálása lehetővé teszi a NeuMoDx System szoftvere számára a DNS-extrakciós és a PCR-amplifikációs folyamatok hatékonyságának monitorozását.

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx System készüléken elvégzett NeuMoDx CMV Quant Assay nem ad érvényes eredményt, az a leletben Indeterminate (IND, Nem eldönthető) vagy Unresolved (UNR, Megoldatlan) jelöléssel jelenik meg a bekövetkezett hibától függően, és a tesztet meg kell ismételni az érvényes eredményhez.

Az eredmény akkor kap IND (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. IND (Nem eldönthető) eredmény közlésekor javasolt a teszt újbóli elvégzése.

UNR (Megoldatlan) eredmény közlésére olyankor kerül sor, ha nem detektálható a CMV DNS vagy SPC1 érvényes amplifikációja, ami esetleges reagenshibára vagy inhibitorok jelenlétére utal. UNR (Megoldatlan) eredmény közlésekor első lépésként újbóli elvégezhető a teszt. Ha az ismételt tesztelés sikertelen, hígított minta használható az esetleges gátló hatások csökkentésére.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

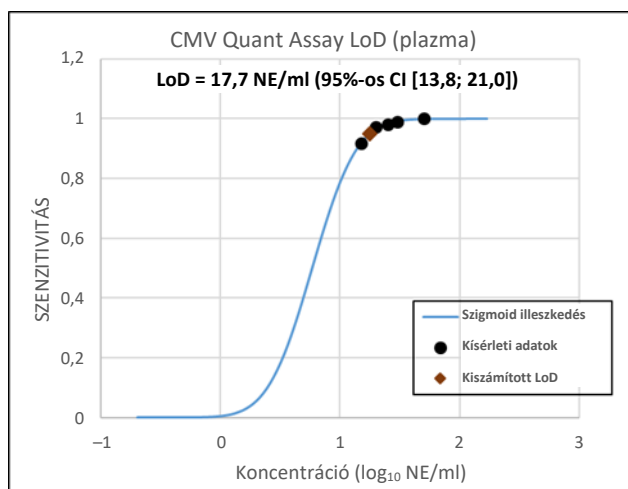
Analitikai szenzitivitás – Detektálási határ a WHO standardjának alkalmazásával

A NeuMoDx CMV Quant Assay analitikai szenzitivitását a teszt NeuMoDx System készülékeken megfigyelhető detektálási határértékének (Limit of Detection, LoD) meghatározásához negatív minták és a WHO 1. nemzetközi standardjának szűrt negatív humán plazmával elkészített hígítási sorának tesztelése révén jellemezték. A LoD a meghatározás szerint az a legalacsonyabb célszekvencia-koncentráció, amelyet 95%-os arányban detektáltak a probit-elemzés szerint. A vizsgálatot 3 napon keresztül végezték több készüléken, több NeuMoDx reagenstétellel. Mindegyik készülék naponta 18 párhuzamost dolgozott fel hígítási szintenként. A detektálási arányok a 2. táblázatban láthatók.

2. táblázat: Pozitív detektálási arányok a NeuMoDx CMV Quant Assay LoD-értékének meghatározásához

Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	PLAZMA		
		Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
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%
Negatív	---	108	0	0,0%

A NeuMoDx CMV Quant Assay LoD-értéke plazmában a gB1 variáns esetén 17,7 NE/ml (1,25 log₁₀ NE/ml) volt, 13,8–21,0 NE/ml (1,14–1,32 log₁₀ NE/ml) értékű 95%-os konfidenciaintervallummal (confidence interval, CI) [2. ábra]. A találati arány elemzés megerősítette, hogy a genotípusok között az LoD értéke 20,0 NE/ml (1,30 log₁₀ NE/ml).



2. ábra: A NeuMoDx CMV Quant Assay LoD-értékének plazmamintákban történő meghatározásához használt probit-elemzés

Analitikai szenzitivitás – mennyiségi meghatározás – a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Meghatározás szerint a mennyiségi meghatározás alsó határa (LLoQ) az a legalacsonyabb célszekvencia-koncentráció, amelynél > 95%-os detektálás érhető el és a TAE ≤ 1,0. Az LLoQ meghatározása érdekében kiszámolták a teljes analitikai hiba (total analytical error, TAE) értékét minden olyan CMV-célkoncentráció esetében, amelynél az LoD-számítások > 95%-os arányú volt a kimutathatóság. A TAE meghatározása:

$$\text{TAE (total analytical error)} = \text{torzítás} + 2 * \text{szórás} \text{ (Westgard-statisztika)}$$

A torzítás az átlagos számított koncentráció és a várható koncentráció közötti különbség abszolút értéke. A szórás a minta mért értékének szórása.

Az LLoQ-vizsgálatban felhasznált CMV-s (gB1 variáns) plazmaminták 5 szintjének összesített eredményei a 3. táblázatban láthatók. Az adatkészlet és a korábban meghatározott LoD alapján az LLoQ értéke 20,0 NE/ml (1,30 log₁₀ NE/ml) volt, ami megerősítésre került a genotípusok között.

3. táblázat: A NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ-értéke a torzítással és a TAE-értékkel

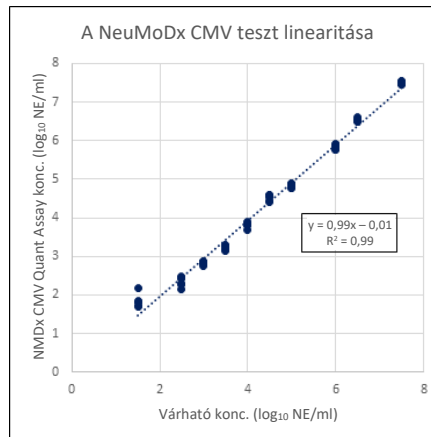
Célkonc. [NE/ml]	Target Conc. (Célkonc.) [log ₁₀ NE/ml]	Plazma				
		Average Conc. (Átlag konc.) [log ₁₀ NE/ml]	Kimutatás (%)	Szórás	Torzítás	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Ezen vizsgálatok eredménye alapján a NeuMoDx CMV Quant Assay LoD- és LLoD-értéke egyaránt 20,0 NE/ml [1,30 log₁₀ NE/ml].

Linearitás és a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULOQ)

A NeuMoDx CMV Quant Assay linearitását és a mennyiségi meghatározás felső határát (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) plazmában a következő anyagok felhasználásával készített hígítási sor segítségével határozták meg:

NeuMoDx tokba zárt CMV-célszekvencia, Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), a WHO 1. nemzetközi standardjára való visszavezethetőséggel. 9 elemből álló panelt hoztak létre poolozott CMV-re negatív plazmából oly módon, hogy a panel lefedje a 8–1,7 log₁₀ NE/ml koncentrációtartományt. A NeuMoDx CMV Quant Assay ULOQ-értéke 8,0 log₁₀ NE/ml volt. A CMV assay NeuMoDx System készülék által jelentett koncentrációi a várható értékekkel összehasonlítva itt láthatók: 3. ábra.



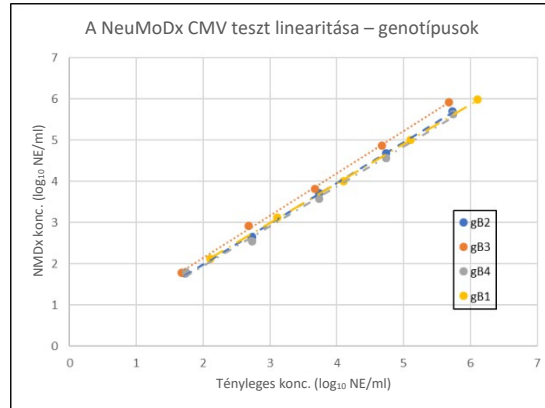
3. ábra: A NeuMoDx CMV Quant Assay linearitása

Genotípusok közötti linearitás

A NeuMoDx CMV Quant Assay linearitását négy CMV-genotípus (gB1, gB2, gB3 és gB4) esetében jellemezték az egyes CMV-genotípusok poolozott CMV-re negatív plazmából előállított öt-öt különböző koncentrációjának vizsgálatával. Az ebben a vizsgálatban tesztelt CMV-célszekvenciák szintje a forrásminta koncentrációjától függött, ezért genotípusonként eltérő volt. A vizsgálatot mindegyik 4 genotípus 5 koncentrációjának 6 párhuzamosával végezték. A négy CMV-genotípus esetében tapasztalt linearitást a 4. táblázatban és a 4. ábrán mutatjuk be.

4. táblázat: A NeuMoDx CMV Quant Assay genotípusok közötti linearitása

Genotípus	Linearitási egyenlet y = NeuMoDx CMV Assay mennyiségi meghatározás x = várható mennyiségi meghatározási érték	R ²
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



4. ábra: A NeuMoDx CMV Quant Assay genotípusok közötti linearitása

Analitikai specifikitás – keresztreaktivitás

Az analitikai specifikitást a vér-/plazmamintákban gyakran előforduló 35 mikroorganizmus, valamint a CMV-hez filogenetikailag hasonló fajok keresztreaktivitás tekintetében történő szűrésével igazolták. A poolokat 5–6 mikroorganizmust tartalmazó csoportokban készítették elő és magas koncentrációban vizsgálták. A tesztelt mikroorganizmusok az 5. táblázatban láthatók. Keresztreaktivitás a tesztelt mikroorganizmusok egyikével sem volt megfigyelhető, ami igazolta a NeuMoDx CMV Quant Assay 100%-os analitikai specifikitását.

5. táblázat: Az analitikai specifikitás igazolásához használt kórokozók

Nem célorganizmusok					
BK polyomavírus	Adenovírus 5-ös típus	Herpes simplex vírus 1-es típusa	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein–Barr-vírus	Hepatitis C vírus	Herpes simplex vírus 2-es típusa	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humán herpes vírus 6-os típusa	Parvovírus B19	Varicella zoster vírus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humán herpes vírus 7-es típusa	JC-vírus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humán herpes vírus 8-as típusa	Humán papillomavírus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B vírus	Humán papillomavírus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analitikai specifikitás – zavaró anyagok, kommenzális mikroorganizmusok

Értékelték a NeuMoDx CMV Quant Assay tesztet interferencia tekintetében nem cél-mikroorganizmusok jelenlétében, a keresztreaktivitás-vizsgálathoz készítettékkel megegyező, a fenti 5. táblázatban felsorolt mikroorganizmus-poolok felhasználásával. A CMV-re negatív plazmát 4–7 elemből álló csoportokban poolozott mikroorganizmusokkal, valamint $3 \log_{10}$ NE/ml koncentrációban CMV-célszekvenciával is preparálták. Ezen kommenzális mikroorganizmusok jelenlétében nem volt megfigyelhető jelentős interferencia, amint azt a zavaró ágenst nem tartalmazó kontrollminták mennyiségi meghatározási eredményeinek minimális eltérése is jelzi.

Analitikai specifikitás – zavaró anyagok, endogén és exogén anyagok

Értékelték a NeuMoDx CMV Quant Assay tesztet a klinikai CMV plazmamintákban jellemzően előforduló exogén és endogén zavaró anyagok jelenlétében. Ide sorolhatók a vérösszetevők rendellenesen magas szintjei, valamint a gyakori vírusellenes gyógyszerek is, amelyek csoportosítása a 6. táblázatban látható. Az egyes anyagokat $3 \log_{10}$ NE/ml CMV-vel preparált, szűrt CMV-negatív humán plazmához adták hozzá, és a mintákat megvizsgálták interferencia szempontjából. Ezenkívül a CMV-fertőzéssel összefüggő gyakori kórállapothoz köthető plazmát is vizsgálták lehetséges interferencia szempontjából. Az összes vizsgált anyag átlagos koncentrációját és a CMV azonos koncentrációjával preparált kontrollmintákhoz viszonyított torzítást a 7. táblázat tartalmazza. Egyik exogén és endogén anyag sem befolyásolta a NeuMoDx CMV Quant Assay specifikitását.

6. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén ágensek (gyógyszerek osztályozása)

Pool	Gyógyszernév	Besorolás	Pool	Gyógyszernév	Besorolás
1. pool	Azatriopin	Immunszuppresszív szer	4. pool	Trimetoprim	Antibiotikum
	Ciklosporin	Immunszuppresszív szer		Vankomicin	Antibiotikum
	Foszkarzet	Vírusellenes szer (Herpesviridae)		Takrolimusz	Immunszuppresszív szer
	Ganciklovir	Vírusellenes szer (CMV)		Everolimusz	Immunszuppresszív szer
	Valganciklovir-hidroklorid	Vírusellenes szer (CMV)		Klavulanát-kálium	Antibiotikum
2. pool	Prednizon	Kortikoszteroid/immunszuppresszív szer	5. pool	Famotidin	Hisztaminreceptor-antagonista
	Cidofovir	Vírusellenes szer (CMV)		Szulfametoxazol	Antibiotikum
	Cefotetan	Antibiotikum (széles spektrumú)		Valaciklovir	Vírusellenes szer (Herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotikum (széles spektrumú)		Letermovir	Vírusellenes szer (CMV)
	Flukonazol	Gombaellenes szer		Tikarcillin-dinátrium	Antibiotikum
3. pool	Mikofenolát-mofetil	Immunszuppresszív szer	Leflunomid	Immunszuppresszív szer	
	Mikofenolát-nátrium	Immunszuppresszív szer			
	Piperacillin	Antibiotikum			
	Szirolimusz/rapamicin	Immunszuppresszív szer			
	Tazobaktám	Módosított antibiotikum			

7. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén és endogén anyagok

Endogén	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
Hemoglobin	2,97	0,07
Trigliceridek	3,03	0,13
Bilirubin	3,01	0,11
Albumin	2,88	-0,02
Exogén (gyógyszerek)	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
1. pool: Azatriopin, ciklosporin, foszkarzet, ganciklovir, valganciklovir-hidroklorid	2,88	-0,02
2. pool: Prednizon, cidofovir, cefotetan, cefotaxim, flukonazol	2,91	0,01
3. pool: Mikofenolát-mofetil, mikofenolát-nátrium, piperacillin, szirolimusz/rapamicin, tazobaktám	2,98	0,08
4. pool: Trimetoprim, vankomicin, takrolimusz, everolimusz, klavulanát-kálium	3,05	0,15
5. pool: Famotidin, szulfametoxazol, letermovir, valaciklovir, tikarcillin-dinátrium, leflunomid	2,87	-0,03
Kórállapot	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
Antinukleáris antitest (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Szisztémás lupus erythematosus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,04	0,14
Rheumatoid arthritis	2,99	0,09

Laboratóriumon belüli precizitás

A NeuMoDx CMV Quant Assay precizitását Exact CMV Positive Control pozitív kontrollal (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) készített CMV-mintákból álló 4 tagú panel 3 párhuzamosának naponta kétszeri vizsgálatával határozták meg, két NeuMoDx 288 System készüléken és egy NeuMoDx 96 System készüléken, 12 napon keresztül. A futtatáson belüli, egy napon belüli és rendszeren belüli pontosságot jellemezték, és az összesített szórás $\leq 0,15 \log_{10}$ NE/ml értékben határozták meg. Kítűnő precizitást igazoltak az összes készülék, nap és futtatás tekintetében, ahogy a **8. táblázatban** látható. A kezelők közötti precizitást nem vizsgálták, mivel a kezelő nem játszik jelentős szerepet a minták feldolgozásában a NeuMoDx System használatában.

8. táblázat: Laboratóriumon belüli precizitás – a NeuMoDx CMV Quant Assay NeuMoDx System készülékeken

Cél CMV-konc. (\log_{10} NE/ml)	Átlagos CMV-konc. (\log_{10} NE/ml)	Készüléken belüli szórás	Napon belüli szórás	Futtatáson belüli szórás	Összesített (laboratóriumon belüli) szórás
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

Tételek közötti reprodukálhatóság

A NeuMoDx CMV Quant Assay tételek közötti reprodukálhatóságát a kulcsfontosságú reagensek – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates és NeuMoDx CMV Quant Test Strip tesztcsíkok – három különböző tételének felhasználásával határozták meg. A teljesítmény meghatározására Exact CMV kontrollal készített, 4 tagú CMV-panelt használtak. A vizsgálatokat a reagensek három tételével, három készüléken végezték 6 napon keresztül. Elemezték a különböző tételeken belül és azok között kapott eltéréseket, amelyek a **9. táblázatban** láthatók. A maximális összesített torzítás $0,12 \log_{10}$ NE/ml, a maximális összesített szórás pedig $0,39 \log_{10}$ NE/ml volt. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző tételek esetében, mivel az összes paneltag mennyiségi meghatározási eredményei a megadott toleranciahatárokon belül estek.

9. táblázat: Tételek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx CMV Quant Assay

Cél CMV-konc. (\log_{10} NE/ml)	Átlagos CMV-konc. (\log_{10} NE/ml)	N (Érvényes eredmények tételenként)	Torzítás	Tételek közötti szórás	Tételeken belüli szórás	Összesített szórás
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

A kontroll hatékonysága

A NeuMoDx CMV Quant Assay részét képezi egy SPC1 kontroll is, amely a folyamatlépés-hibák, illetve az assay teljesítményét befolyásoló gátlás jelentésére szolgál. A hatékonyságot a mintafeldolgozás folyamán potenciálisan előforduló olyan kritikus folyamatlépés-hibák tekintetében reprezentatív körülmények között vizsgálták, amelyeket a NeuMoDx System teljesítményét monitorozó érzékelők nem feltétlenül tudnak kimutatni. A pozitív ($3 \log_{10}$ NE/ml) és negatív mintákat kontroll jelenlétében a következő feltételek mellett vizsgálták: inhibitor jelenléte, nincs mosás és nincs mosási kifújás. A CMV detektálását/mennyiségi meghatározását kedvezőtlenül befolyásoló folyamathibákat az SPC1-célszekvencia teljesítménye is tükrözte, lásd **10. táblázat**. Minden vizsgált esetben bebizonyosodott, hogy vagy a mintafeldolgozási kontroll megfelelően monitorozta a folyamathibákat és az inhibitorok jelenlétét, vagy a várható folyamathiba nem volt jelentősen kedvezőtlen hatással az SPC1 kimutatására, illetve a CMV kimutatására és mennyiségi meghatározására. Ez alapján az SPC1 sikeresnek bizonyult a NeuMoDx System készüléken alkalmazott assay teljesítményének hatékony monitorozásában.

10. táblázat: A mintafeldolgozási kontroll hatékonysága

Tesztelt folyamatlépés-hiba	Az 1. mintafeldolgozási kontroll amplifikációs státusza	CMV-célszekvencia amplifikációs státusza	Az assay eredménye
Presence of Inhibitor (Inhibitor jelenléte)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Unresolved (Nem meghatározható)
No Wash Delivered (Nem történt mosás)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Not Amplified (Nem amplifikált)	Unresolved (Nem meghatározható)
No Wash Blowout (Nincs mosási kifújás)	Amplified (Amplifikált)	Amplified (Amplifikált)	Positive (Pozitív), a kontroll $0,3 \log_{10}$ NE/ml-es határán belüli mennyiségi meghatározással

Érvényes eredmények aránya

Az érvényes eredmények százalékos arányának meghatározásához a NeuMoDx CMV Assay teljesítményértékelése során a NeuMoDx System készülékeken kapott adatok retrospektív elemzését használták. Az érvényes eredmények Positive (Pozitív) vagy Negative (Negatív) státuszúként kerülnek jelentésre; a célszekvencia és a mintafeldolgozáshoz használt kontroll amplifikációs állapota alapján az érvénytelen teszteredmények a következők lehetnek: Indeterminate (IND, Nem eldönthető) vagy Unresolved (UNR, Megoldatlan). Az IND besorolást jellemzően készülékhiba okozza, amely a célszekvencia és/vagy belső folyamatkontroll amplifikációjának sikertelenségéhez vezet. UNR besorolást akkor kap a minta, ha sem a célszekvencia, sem a belső folyamatkontroll nem amplifikálódik, miközben nem észleltek készülékhibát. A retrospektív elemzésben 1100 egyedi NeuMoDx CMV Quant Assay eredmény szerepelt, amely NeuMoDx 288 és NeuMoDx 96 System készülékkel kapott adatokat is magában foglalt. Az UNR aránya 0,91% (10/1100), az IND aránya pedig 0,36% (4/1100) volt, ami megfelel az elemzés elfogadhatósági kritériumainak. Így a NeuMoDx CMV Assay érvényes eredményeinek aránya a NeuMoDx System készülékek esetén 98,7%, 95%-os CI (97,9–99,2) mellett.

Keresztszennyeződés

A NeuMoDx CMV Quant Assay keresztszennyeződési arányát CMV-minták három sorozatával határozták meg, amelyek váltakozva elhelyezett erősen pozitív és negatív mintákból álltak. Össességében a CMV-re negatív plazma 108 párhuzamos mintáját, illetve 6,0 log₁₀ NE/ml koncentrációjú CMV-vel preparált plazma 108 párhuzamos mintáját vizsgálták. A negatív minták mind a 108 párhuzamosát negatívként azonosították, ami igazolta, hogy nem következett be keresztszennyeződés a NeuMoDx System készülékekben történő mintafeldolgozás során.

A mintamatrixok egyenértékűsége

A vizsgálatot a plazma előkészítésére szolgáló etilén-diamin-tetraecetsavat (EDTA) és savas citrát-dextrózt (ACD) tartalmazó mintagyűjtő csövekbe gyűjtött teljes vér esetén tapasztalható mintamatrix-egyenértékűség igazolása céljából végezték. Kiegészítő vizsgálatot végeztek a friss és fagyasztott plazmaminták közötti egyenértékűség meghatározására (a mintákat a két különböző csőtípusba gyűjtötték). A friss mintákat 4 °C-on tartották három CMV-koncentrációszinttel való preparálásukig, majd egyenértékűség tekintetében megvizsgálták őket. Ezután a mintákat legalább 24 óráig –20 °C-on fagyasztva tárolták. A fagyasztva tárolás időszakát követően a mintákat kiolvastották és újra megvizsgálták. A friss és a fagyasztott plazma, valamint az EDTA-s és ACD-s plazmaminták eredményeit regressziós elemzéssel hasonlították össze egyenértékűség szempontjából. Az adatok kiváló egyenértékűséget igazoltak az EDTA-s és ACD-s plazmaminták, valamint a friss és a fagyasztott plazmaminták között, 0,02 és 1,0 közötti értékű meredekséggel és nagyon alacsony torzítással (tengelymetszet), amint ez az alábbi 11. táblázatban is látható.

11. táblázat: A mintamatrixok egyenértékűsége

Paraméterkövetelmények	ACD vs. K2EDTA		Friss vs. fagyasztott	
	Friss	Fagyasztott	ACD	EDTA
Meredekség [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Tengelymetszet [$< 0,5 \log_{10} \text{NE/ml}$]	–0,050	0,018	–0,061	0,020
p -érték $> 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

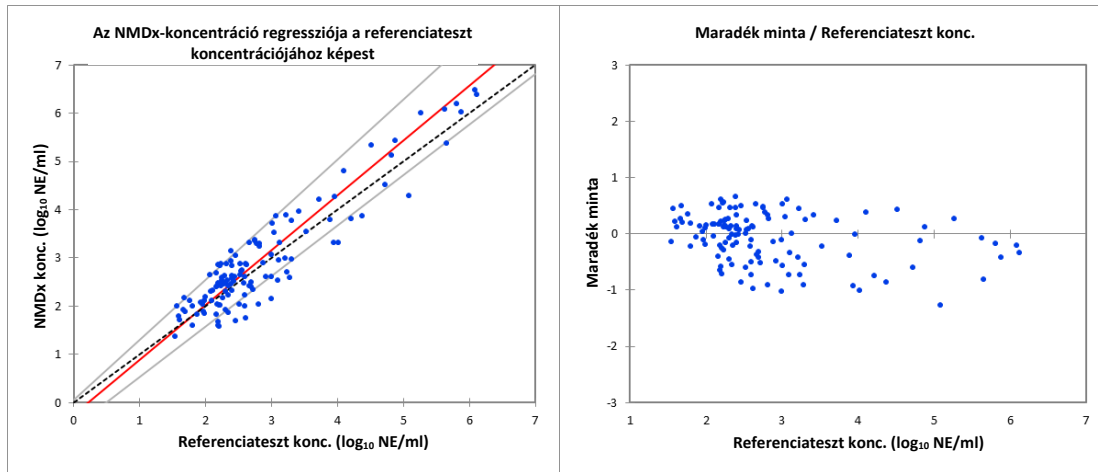
Klinikai módszer-összehasonlítás

A NeuMoDx CMV Quant Assay mennyiségi teljesítményét az FDA/CE által jóváhagyott összehasonlító assay-kkel szemben értékelték CMV-vel fertőzött betegek hígítatlan klinikai mintáinak vizsgálatával. A belső vizsgálatot a NeuMoDx-nél végezték, négy külső referencialaboratóriumból származó, azonosításra alkalmatlan, maradék klinikai minták segítségével egy egyszerűen vak vizsgálat során. Összesen 284 plazmamintát dolgoztak fel a NeuMoDx CMV Quant Assay segítségével (egyszeresen) vak módon, több NeuMoDx Molecular System készüléken.

A NeuMoDx Molecular System készülékeken tapasztalt feldolgozási és rendszerhibák minimálisak voltak, és megfeleltek a kritériumoknak. A mintákból összesen 3 lett Indeterminate (Nem eldönthető, IND) státuszú, ami összesen 1%-os kezdeti IND arányt eredményezett 95%-os CI (0,27–3,32%) mellett. E 3 minta térfogata nem volt elegendő a szokásos munkafolyamat szerinti újbóli feldolgozáshoz. Eredetileg 10 Unresolved (Nem meghatározható, UNR) eredményt kaptak, de követve a CMV Quant Assay UNR eredmények 1:10 arányú, Basematrixban történő hígítására vonatkozó ajánlását, érvényes eredményeket kaptak mind a 10, megfelelően hígított UNR minta újbóli vizsgálatokor, így a teljes feldolgozásihiba-arány 1,06% volt 95%-os CI (0,27% – 3,3%) mellett az IND eredmények miatt, amelyeket nem lehetett megismételni az elégtelen térfogat miatt.

4 minta kapott Quantitation Error (Mennyiségi meghatározási hiba) jelzést; a 4 mintából 3-at meg lehetett ismételni a javasolt eljárás szerint a minta 1:10 arányú, Basematrixban történő hígításával, hogy érvényes mennyiségi meghatározási eredményt kapjanak. A vizsgálat során kapott 283 érvényes eredmény közül 129 minta lett Positive (Pozitív) a NeuMoDx CMV Assay-vel vizsgálva, a referenciatesztek által meghatározott megfelelő koncentrációs értékeket alkalmazva. Ezek közül hat minta esetében öt volt LLoQ alatti, egy pedig ULoQ feletti értékű a referenciateszt alapján, ezért összesen 123 minta esetében kaptak megfelelő koncentrációs értékeket a NeuMoDx CMV Quant Assay és a referencia CE-IVD tesztek alapján is, és ezeket használták fel a mennyiségi meghatározás korrelációs elemzéséhez. A NeuMoDx CMV Assay koncentrációs értékei és a referenciatesztek által megadott értékek közötti korrelációhoz Deming-féle regressziós és Passing–Bablok-féle regressziós elemzéseket végeztek.

A NeuMoDx CMV Quant Assay és a referenciatesztek koncentrációs értékei közötti korreláció ábrázolására a Deming-féle regressziós illesztés és a Passing–Bablok-féle illesztés segítségével egyenértékűségi grafikonokat készítettek az összes vizsgált mintára vonatkozóan, amelyek az 5. ábrán láthatók.



5. ábra: Az ekvivalencia (*balra*) és maradék minták (*jobbra*) ábrái – a NeuMoDx CMV Quant Assay eredményeinek kumulatív elemzése (mindkét NeuMoDx System készüléken) a referenciateszt eredményeivel összehasonlítva az ÖSSZES mintára vonatkozóan, a Passing–Bablok-féle regressziós elemzés alapján.

A Deming-féle regressziós illesztés minőségét 1,1-es értékű meredekségi koefficiens (95%-os CI: 1,0; 1,2) és –0,18-os értékű tengelymetszet (torzítás) (95%-os CI: –0,39; 0,03) jellemzi, igazolva, hogy a NeuMoDx CMV Quant Assay és a referenciatesztek koncentrációeredményei erősen korrelálnak egymással, elfogadható mértékű torzítással. A Passing–Bablok-féle lineáris illesztés minőségét 1,1-es értékű meredekségi koefficiens (95%-os CI: 1,0; 1,2) és –0,24-os értékű tengelymetszet (torzítás) (95%-os CI: –0,51; 0,06) jellemzi, igazolva, hogy a NeuMoDx CMV Quant Assay és a referenciatesztek koncentrációeredményei erősen korrelálnak egymással, elfogadható mértékű torzítással, ahogy az a 12. ábrán látható.

12. táblázat: A Deming és Passing–Bablok lineáris regressziós elemzés összefoglalása

Deming-féle elemzés		Passing–Bablok-elemzés	
Tengelymetszet	Meredekségi koefficiens	Tengelymetszet	Meredekségi koefficiens
–0,18	1,1	–0,24	1,1
95%-os CI (–0,39; 0,03)	95%-os CI (1,0; 1,2)	95%-os CI (–0,51; 0,06)	95%-os CI (1,0; 1,2)

HIVATKOZÁSOK

- 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.

VÉDJEJYEK

A NeuMoDx™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.













A NeuDry™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.

A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

A dokumentumban előforduló minden más terméknév, védjegy vagy bejegyzett védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

SZIMBÓLUMOK

A használati útmutatóban, a csomagoláson vagy a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:

SZIMBÓLUM	JELENTÉS
R only	Kizárólag orvosi rendelvényre
	Gyártó
IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
EC REP	Hivatalos képviselő az Európai Közösségben
REF	Katalógusszám
LOT	Sarzszzám
	Lejárat dátum
	Hőmérsékleti határértékek
	Páratartalom-korlátozás
	Ne használja újra
	<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
	Lásd a használati útmutatót
	Figyelem!
	Biológiai kockázatok
	CE-jelölés
	Egészségi veszély
	Veszély!



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

Műszaki támogatás/vigilanciajelentés: support.giagen.com
Szabadalom: www.neumodx.com/patents



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