

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met de NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems*Ga voor updates van bijsluiters naar: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108 [REF 500100]**Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317 [REF 500200] of O/N 40600655 [REF 500201]***BEOOGD GEBRUIK**

De NeuMoDx CMV Quant Assay is een geautomatiseerde *in vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van DNA van het cytomegalovirus (CMV) in menselijke plasma- en serumspecimens voor CMV-geototypes gB1 tot en met gB4 van met CMV geïnfecteerde personen. De NeuMoDx CMV Quant Assay, zoals geïmplementeerd in het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) maakt gebruik van geautomatiseerde DNA-extractie om het doelnucleïnezuur van het specimen te isoleren en van een realtime polymerasekettingreactie (Polymerase Chain Reaction, PCR) om zich te richten op de sterk geconserveerde sequenties in het CMV-genoom.

De NeuMoDx CMV Quant Assay is bedoeld voor de *in vitro* kwantificering van DNA van het cytomegalovirus (CMV) uit verse en bevroren menselijke plasmamonsters met het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System. Deze assay moet in combinatie met het klinische beeld en andere laboratoriummarkers van het ziekteverloop worden gebruikt om een CMV-infectie klinisch te behandelen en monitoren. De assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningstest die erop gericht is de aanwezigheid van CMV in bloed of bloedproducten op te sporen.

SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedverzamelbuisje met ofwel EDTA ofwel ACD als antistollingsmiddel. Ter voorbereiding op de test wordt het plasma overgebracht naar een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System. Dit buisje wordt in een speciale specimendrager in het NeuMoDx System geplaatst om de verwerking in gang te zetten. Van elk plasmamonster wordt een aliquot deel van 550 µl gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 1. Het NeuMoDx System voert vervolgens automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor de extractie van het beoogde nucleïnezuur, het voorbereiden van het geïsoleerde DNA voor realtime PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten (gedeelten van het CMV-genoomdoel in de sterk geconserveerde gebieden). De NeuMoDx CMV Quant Assay omvat een DNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) als hulpmiddel voor het opsporen van zowel mogelijke remmers als fouten van het NeuMoDx System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

CMV is een veelvoorkomend virus van dubbelstrengs DNA van de menselijke herpesfamilie en mensen van alle leeftijden kunnen geïnfecteerd raken. Naar schatting is meer dan de helft van de wereldbevolking van 40 jaar en ouder geïnfecteerd met CMV.¹ CMV wordt verspreid via lichaamsvloeistoffen, zoals speeksel, urine, bloed, tranen, sperma en moedermelk. Immunocompetente personen die met CMV zijn geïnfecteerd, zijn meestal asymptomatisch, maar een infectie met dit virus kan wel ernstig zijn bij baby's en personen met een verzwakt immuunsysteem. Zwangere moeder kunnen CMV overdragen op hun ongeboren kind en zo een congenitale CMV-infectie veroorzaken, wat kan leiden tot gehoorverlies en een achterstand in de ontwikkeling en motorische vaardigheden. CMV is een belangrijke pathogeen voor immuungecompromitteerde patiënten, waaronder ontvangers van een orgaantransplantaat, ontvangers van een bloedstamceltransplantaat, patiënten met een hiv-infectie en patiënten die met immuunmodulerende geneesmiddelen worden behandeld.² Vooral bij deze immuungecompromitteerde populatie wordt de CMV-virusbelasting gemonitord als het leidt tot veel morbiditeiten, zoals een longontsteking, gastro-intestinale aandoening, hepatitis en hersenontsteking evenals een toename van de kans op afstoting van organen en andere opportunistische infecties.

De diagnose CMV-infectie wordt niet uitsluitend op basis van een nucleïnezuurtest (Nucleic Acid Test, NAT) gesteld, maar ook op basis van antigeentests waarbij polymorfonucleaire leukocyten (PMN's) worden gekleurd voor een vroeg structureel lager matrixeiwit van CMV evenals op andere symptomen waar de patiënt last van kan hebben. De CMV-viruslast wordt routinematig getest om te bepalen of er antivirale therapie nodig is en om de doeltreffendheid van een dergelijke therapie te controleren.³ De huidige richtlijnen voor het beheren en behandelen van CMV-infecties bij immuungecompromitteerde personen zijn onduidelijk met betrekking tot *wanneer* er met de antivirale therapie wordt gestart. Volgens alle richtlijnen moet de viruslast continu worden gemonitord zodra er met antivirale therapie is aangevangen, zodat de ernstige bijwerkingen van geneesmiddelen bij dergelijke populaties kunnen worden verlicht.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

Voor het uitvoeren van de analyse maakt de NeuMoDx CMV Quant Assay op het NeuMoDx System gebruik van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 en reagentia van NeuMoDx voor algemeen gebruik. Met de NeuMoDx CMV Quant Assay wordt geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van DNA gecombineerd door middel van realtime PCR. Voor de bereiding van plasma worden volbloedspecimens verzameld in EDTA- of ACD-buisjes. Het plasmamonster wordt overgebracht naar een Specimen Tube Carrier (specimenbuisjesdrager) die compatibel is met het NeuMoDx System en dat buisje wordt vervolgens in het NeuMoDx System geplaatst voor verwerking. De bediener hoeft verder niets meer te doen.

De NeuMoDx Systems gebruiken een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch cellysis en DNA-extractie uit te voeren en remmende stoffen te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes met de gebonden nucleïnezuuren worden in de NeuMoDx Cartridge geplaatst, waar vervolgens de ongebonden bestanddelen die geen DNA zijn, worden weggewassen met het NeuMoDx Wash Reagent en het gebonden DNA wordt geëluëerd met het NeuMoDx Release Reagent. De NeuMoDx Systems doordrenken daarna de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde DNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de PCR-amplificatie van het CMV-specifieke doelmateriaal en SPC1-doelmateriaal. Na reconstitutie van de NeuDry PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide PCR-mengsel over naar de NeuMoDx Cartridge. De amplificatie en detectie van de controle- en doel-DNA-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer van de NeuMoDx Cartridge. De NeuMoDx Cartridge is ook zodanig ontworpen dat hij na realtime PCR het amplificaat vasthoudt en zo het risico op besmetting na amplificatie vrijwel elimineert.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan[®]-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificatiespecifieke oligonucleotideprobleemoleculen voor hun respectievelijke doelen.

TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor dooft door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en fluorescentiedetectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doel-DNA dat aanwezig is.

Er wordt een TaqMan-probe gebruikt die gemerkt is met een fluorofoor (bekrachtiging: 490 nm en emissie 521 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde voor het detecteren van CMV-DNA. Voor de detectie van de SPC1 is de TaqMan-probe gemerkt met een alternatieve fluorescerende kleurstof (bekrachtiging: 535 en emissie 556 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem een definitieve uitslag (POSITIVE/NEGATIVE/INDETERMINATE/UNRESOLVED (POSITIEF/NEGATIEF/ONBEPAALED/ONBEKEND)). Als een resultaat POSITIEF is, geeft de software van het NeuMoDx System ook een kwantitatieve waarde die met het monster wordt geassocieerd en verschijnt er een melding als de berekende concentratie zich binnen de grenzen voor kwantificering bevindt.

REAGENTIA/VERBRUIKSARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Tests per eenheid	Tests per pakket
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip <i>Gedroogde PCR-reagentia die CMV-specifieke TaqMan-probes en -primers en SPC1-specifieke TaqMan-probe en -primers bevatten.</i>	16	96

Reagentia en verbruiksartikelen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i>
800400	NeuMoDx CMV Calibrators <i>Sets met CMV hoge kalibrator en CMV lage kalibrator voor eenmalig gebruik voor het vaststellen van de validiteit van de standaardcurve</i>
900401	NeuMoDx CMV External Controls <i>Sets met CMV-positieve en CMV-negatieve controles voor eenmalig gebruik om de dagelijkse validiteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay vast te stellen</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µL) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µL) met filters

Benodigde instrumenten


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

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx CMV Quant Test Strip is uitsluitend geschikt voor *in-vitro*diagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.

- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn (verkregen door het verwerken van hoge en lage kalibrators uit de set NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- De NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Het minimale specimenvolume is 1 ml EDTA/ACD-plasma bij gebruik van de drager voor 32 buisjes; een volume kleiner dan 1 ml kan resulteren in een fout van het NeuMoDx System.
- Het uitvoeren van een CMV-assay op specimens die bij een ongeschikte temperatuur of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten wanneer u gebruikmaakt van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. U kunt het best steriele, DNase-vrije wegwerppipetten gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om contaminatie te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om contaminatie te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx CMV Quant Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip of de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer 1 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijkanten vast.
- Veiligheidsinformatiebladen (Safety Data Sheets; SDS) zijn beschikbaar op www.qiagen.com/safety
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimens of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimens altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ en in CLSI-document M29-A4.⁵
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's).

VOORZORGSMAATREGELEN

NeuMoDx CMV Quant Test Strip	
GEVAAR	Bevat: boorzuur.
	Gevaar! Kan de vruchtbaarheid of het ongeboren kind schaden.
	Voor gebruik speciale aanwijzingen raadplegen. Niet hanteren tot alle voorzorgsmaatregelen zijn gelezen en begrepen. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. Bij blootstelling of twijfel: Medische hulp inschakelen. In een vergrendelde opberging bewaren. Voer de inhoud/bak af naar een erkende stortlocatie in overeenstemming met lokale, regionale, nationale en internationale richtlijnen.

Informatie bij noodgevallen

CHEMTREC

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

Afvoeren

Voer af als gevaarlijk afval in overeenstemming met lokale en nationale wetgeving. Dit is ook van toepassing op ongebruikte producten.

Volg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad (VIB).

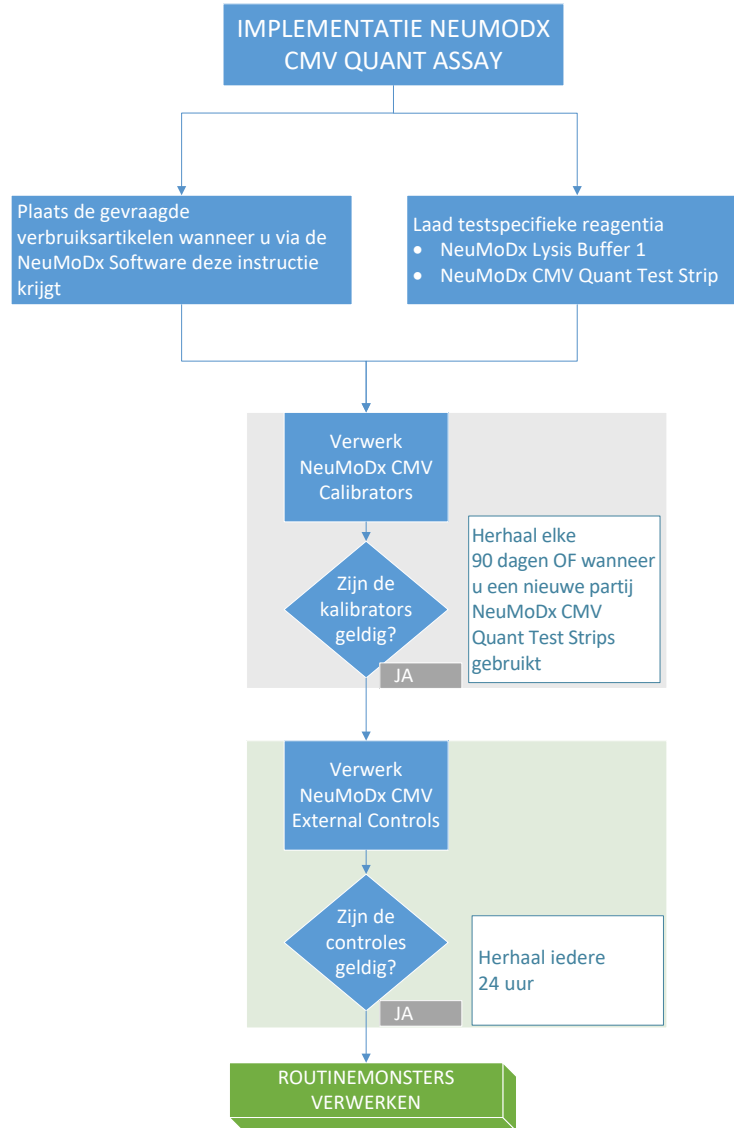
OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- Alle NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen (met uitzondering van externe controles en kalibrators) blijven in de primaire verpakking tot de op het productlabel vermelde houdbaarheidsdatum stabiel bij een temperatuur van 18 tot 23°C.
- Een NeuMoDx CMV Quant Test Strip die in het NeuMoDx System is geplaatst, is 14 dagen stabiel; het NeuMoDx System geeft een melding wanneer gebruikte teststrips langer dan 14 dagen in het NeuMoDx System zijn geplaatst en geeft aan dat er nieuwe NeuMoDx CMV Quant Test Strips in het NeuMoDx System moeten worden geplaatst.
- De NeuMoDx-kalibrators en controles zijn niet-infectieus, maar moeten na gebruik worden weggegooid in de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval, omdat ze na verwerking in het systeem doelmateriaal bevatten waardoor er besmetting kan plaatsvinden als ze niet correct worden behandeld.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

1. Hanteer alle specimens alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.
2. Vries geen volbloed of specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
3. Voor de bereiding van plasmamonsters moet er volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA of ACD als antistollingsmiddel. Volg de instructies van de fabrikant van de buisjes voor specimenafname.
4. Volbloed dat is afgenomen met de bovengenoemde hulpmiddelen kan maximaal 24 uur worden bewaard en/of getransporteerd bij een temperatuur van 2 °C tot 25 °C voorafgaand aan het bereiden van het plasma. Het bereiden van plasma moet worden uitgevoerd conform de instructies van de fabrikant.
5. Bereide plasmamonsters kunnen maximaal 8 uur in het NeuMoDx System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren.
6. Bewaar bereide plasmamonsters voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 8 uur bij kamertemperatuur.
7. Bereide plasmamonsters kunnen voorafgaand aan verwerking maximaal 26 weken worden bewaard bij een temperatuur van ≤ -20 °C. Plasmamonsters dienen niet aan meer dan 2 cycli van invriezen/ontdooien te worden onderworpen voorafgaand aan gebruik.
 - a. Als de monsters bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 °C-30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
 - b. Zodra de bevroren monsters ontdooit zijn, dienen de tests binnen 8 uur te worden uitgevoerd.
8. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
9. Label de specimens duidelijk en geef aan dat de specimens moeten worden getest op CMV.
10. Ga verder met de instructies in de paragraaf *Testvoorbereiding*.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx CMV Quant Assay is hieronder samengevat in *afbeelding 1*.



Afbeelding 1: Workflow voor de toepassing van de NeuMoDx CMV Quant Assay

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System.
2. Breng met een pipet ≥ 1 ml plasma over naar het specimenbuisje/secundaire buisje met barcode bij gebruik van de drager voor 32 buisjes of breng > 2 ml over bij gebruik van de drager voor 24 buisjes. Let op dat er geen klonten van het plasmamonster in het specimenbuisje terechtkomen. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
3. Het secundaire buisje moet voldoen aan de volgende specificaties voor compatibiliteit met het NeuMoDx System. Deze specificaties zijn gebaseerd op de buisjesdrager waarin de specimenbuisjes worden verwerkt.
 - Drager voor 32 buisjes: een diameter van 11 mm tot 14 mm en een hoogte van 60 mm tot 120 mm
 - Drager voor 24 buisjes: een diameter van 14,5 mm tot 18 mm en een hoogte van 60 mm tot 120 mm

Bediening van NeuMoDx™ System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems (o/n 40600108 & 40600317/40600655) voor gedetailleerde instructies

1. Plaats NeuMoDx CMV Quant Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx System-teststripdragers en plaats de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
2. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
3. Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent of leeg het primerafval of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van het NeuMoDx System.
4. Verwerk de kalibrators [REF 800400] en/of externe controles [REF 900401] als u de instructie hiervoor krijgt via de software van het NeuMoDx System. Meer informatie over kalibrators en controles vindt u terug in de paragraaf *Resultaten verwerken*.
5. Plaats de specimen-/kalibrator-/controlebuisjes in een standaarddrager voor 32 buisjes en controleer of alle dopjes van de specimenbuisjes zijn verwijderd.
6. Plaats de specimenbuisjesdrager in een open positie in het autoladerrek en laad de drager met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Hierdoor begint de verwerking van de geladen specimen voor de geïdentificeerde test(s).

BEPERKINGEN

- De NeuMoDx CMV Quant Test Strip kan alleen in NeuMoDx Systems worden gebruikt.
- De prestaties van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip zijn vastgesteld voor plasmamonsters die bereid zijn met volbloed dat met EDTA/ACD als antistollingsmiddel is afgenomen. Het gebruik van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip met andere klinische bronnen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken van deze test voor andere soorten specimen zijn onbekend.
- Aangezien detectie van CMV afhankelijk is van het aantal organismen dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimen worden afgenomen, behandeld en bewaard.
- De kalibrators en externe controles moeten worden verwerkt zoals aanbevolen in de bijsluiters en wanneer de software van het NeuMoDx System dit aangeeft, voordat er routinematige klinische monsters worden verwerkt.
- Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimen, technische fouten of het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen fout-negatieve resultaten zich voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
- Als zowel het CMV-doelmateriaal als het SPC1-doelmateriaal niet amplificeert, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
- Als het resultaat van de NeuMoDx CMV Quant Assay positief is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx System aan of de gedetecteerde CMV-waarde *lager* dan de ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) of *hoger* dan de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) was.
- Als de gedetecteerde CMV-waarde lager dan de LLoQ was, kan de NeuMoDx CMV Quant Assay (indien gewenst) worden herhaald met een ander aliquot deel van het specimen.
- Als de gedetecteerde CMV-waarde hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx CMV Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunding van 1:100 of 1:1000 in CMV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA, VS) wordt aanbevolen. De concentratie van het oorspronkelijke specimen kan als volgt worden berekend:

$$\text{Oorspronkelijke specimenconcentratie} = \log_{10}(\text{verdundingsfactor}) + \text{gerapporteerde concentratie van het verdunde monster.}$$
- De incidentele aanwezigheid van PCR-remmers in plasma kan resulteren in een kwantificeringsfout in het systeem. Als dat gebeurt, wordt aanbevolen om de test te herhalen met hetzelfde specimen, verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
- Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende organismen. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er cytomegalovirus-DNA aanwezig is.
- Verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden waar de NeuMoDx CMV Quant Assay zich op richt, kunnen gevolgen hebben voor de detectie of kunnen tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- De resultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie. De test is niet bedoeld voor het diagnosticeren van de infectie.
- Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimen van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System.

De resultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx CMV assaydefinitiebestand (CMV ADF) worden vermeld. Een NeuMoDx CMV Quant Assay-resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (negatief), Positive (positief) (met een gerapporteerde CMV-concentratie), Positive above ULoQ (positief boven ULoQ), Positive below LLoQ (positief onder LLoQ), Indeterminate (onbepaald) of Unresolved (onbekend), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het beslissingsalgoritme in *tabel 1*.

Tabel 1: Beslissingsalgoritme NeuMoDx CMV Quant Assay

Resultaat	CMV	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1)
Positive (Positief)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (EN) } EPR > 2 \text{ AND (EN) } EP \geq 1500]$ OR (OF) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (EN) } EP \geq 1500]$	N/A (N.v.t.)
Positive (Positief), hoger dan de bovengrens voor kwantificering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log_{10} IE/ml)	[CONC] > 8,0 Log_{10} IE/ml, NO QUANT (geen quant)	N/A (N.v.t.)
Positive (Positief), lager dan de ondergrens voor kwantificering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log_{10} IE/ml)	[CONC] < 1,3 Log_{10} IE/ml, NO QUANT (geen quant)	N/A (N.v.t.)
Negative (Negatief)	N.v.t. of $[2 \leq Ct < 9 \text{ en } EPR \leq 2]$ OR (OF) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (EN) } EP < 1500]$ OR (OF) Ct > 41	GEAMPLIFICEERD ($28 \leq Ct \leq 34$) en EP ≥ 2000
Indeterminate (Onbepaald)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD / Systeemfouten gedetecteerd)	
Unresolved (Onbekend)	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NIET GEAMPLIFICEERD/Geen systeemfouten gedetecteerd)	

EP = End Point Fluorescence (Fluorescentie op eindpunt) (na correctie van de baseline); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Verhouding van fluorescentie op eindpunt); C_t = Cycling threshold (Cyclisdrempel);

Quant = berekende hoeveelheid aanwezige CMV, uitgedrukt in log_{10} IE/ml. Zie testberekening hieronder.

Testberekening

- Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx CMV Quant Assay wordt de concentratie CMV-DNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt.
 - De 'kalibratiecoëfficiënt' wordt berekend op basis van de resultaten van de NeuMoDx CMV Calibrators die zijn verwerkt om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen voor een specifieke partij NeuMoDx CMV Quant Test Strips met een specifiek NeuMoDx System.
 - De kalibratiecoëfficiënt wordt meegenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie CMV-DNA.
- De resultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay worden gerapporteerd in log_{10} IE/ml.
- De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar tot de 1e internationale norm voor CMV van de WHO.

Testkalibratie

Om CMV-DNA in de specimina te kunnen kwantificeren, moet er een geldige kalibratie worden uitgevoerd op basis van de standaardcurve. Om geldige testresultaten te genereren, moet een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverde kalibrators.

Externe kalibrators

- De NeuMoDx CMV Calibrators worden in een set geleverd [REF 800400] en bevatten niet-infectueus ingesloten CMV-doelmateriaal dat in Basematrix is bereid.
- Er moet telkens een set CMV-kalibrators worden verwerkt bij elke nieuwe partij NeuMoDx CMV Quant Test Strips, wanneer er een nieuw CMV assaydefinitiebestand naar het NeuMoDx System wordt geüpload, wanneer de validiteitsperiode van de huidige set kalibrators is verstreken (momenteel ingesteld op 90 dagen) of wanneer de software van het NeuMoDx System wordt gewijzigd.

- De software van het NeuMoDx System geeft een melding weer wanneer de kalibrators moeten worden verwerkt. Totdat de kalibrators met succes zijn verwerkt, kan er geen nieuwe partij teststrips worden gebruikt voor het uitvoeren van tests.
- De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
 - Er moet een set van twee kalibrators, een hoge en een lage, worden verwerkt om de validiteit vast te stellen.
 - Om geldige resultaten te genereren, moeten ten minste 2 van de 3 replica's resultaten opleveren die zich binnen de vooraf gedefinieerde parameters bevinden. Het nominale doel voor de lage kalibrator is $3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ en het nominale doel voor de hoge kalibrator is $5 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$.
 - De kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om de verwachte variatie tussen teststrippartijen te verklaren; deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt bij het bepalen van de uiteindelijke CMV-concentratie.
- Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, verwerkt u de ongeldige kalibrator(s) opnieuw met een nieuwe flacon. Als één kalibrator de validiteitstest niet heeft doorstaan, kunt u de test ook alleen met de gefaalde kalibrator herhalen, omdat het niet vereist is dat de gebruiker beide kalibrators opnieuw test.
- Als de kalibrator(s) twee opvolgende keren ongeldig worden verklaard, neemt u contact op met NeuMoDx Molecular, Inc.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Externe controles

- NeuMoDx Molecular, Inc. stuurt met de NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] externe-controlemateriaal mee dat niet-infectueus ingesloten CMV-materiaal in Basematrix bevat voor positieve controles.
- Positieve en negatieve externe controles moeten iedere 24 uur worden verwerkt. Als er geen set met geldige externe controles bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx System de gebruiker erop dat deze controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd.
- Als externe controles vereist zijn, haalt u de set met externe controles uit de vriezer en bewaart u de flacons bij kamertemperatuur (15-30 °C) totdat ze volledig ontdooid zijn. Zwenk voorzichtig om homogeniteit te verkrijgen.
- Plaats de flacons met een positieve en negatieve controle in het NeuMoDx System met behulp van het aanraakscherm en een specimenbuisjesdrager die op het autoladerrek is geplaatst. Het NeuMoDx System herkent de barcode en begint met de verwerking van de specimenbuisjes, tenzij er voor de test benodigde reagentia of verbruiksartikelen ontbreken.
- De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een CMV-positief resultaat op te leveren en de negatieve controle een CMV-negatief resultaat.
- In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
 - Een Positive (Positief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatieve-controlemonster duidt op besmetting van het specimen.
 - Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan erop wijzen dat er een probleem is met reagentia of het instrument.
 - In beide bovengenoemde gevallen herhaalt u de NeuMoDx CMV External Controls met een pas ontdooid flacon met de controle(s) die de validiteitstest niet heeft/hebben doorstaan.
 - Als de positieve NeuMoDx CMV External Control een Negative (negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de klantenservice van NeuMoDx.
 - Als de negatieve NeuMoDx CMV External Control een Positive (positief) resultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen, onder meer door ALLE reagentia te vervangen. Neem contact op met de klantenservice van NeuMoDx als het probleem aanhoudt.

(Interne) monsterverwerkingscontrole

In de NeuMoDx Extraction Plate is een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) opgenomen, die met elk monster het gehele proces van nucleïnezuurextractie en realtime PCR-amplificatie ondergaat. Er zijn ook SPC1-specifieke primers en een SPC1-specifieke probe opgenomen in elke NeuMoDx CMV Quant Test Strip, waardoor de aanwezigheid van SPC1 en het doel-CMV-DNA (indien aanwezig) kan worden gedetecteerd via multiplexe realtime PCR. Detectie van SPC1-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx System de doeltreffendheid van de DNA-extractie en PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx CMV Quant Assay die met het NeuMoDx System is uitgevoerd, geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald) (IND) of Unresolved (Onbekend) (UNR), afhankelijk van de fout die is opgetreden.

Een IND-resultaat wordt gerapporteerd als er een fout wordt gedetecteerd in het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR (onbekend) als er geen geldige amplificatie van CMV-DNA of de SPC1 is gedetecteerd. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Als er een UNR-resultaat wordt gerapporteerd, kunt u als eerste proberen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om de effecten van mogelijke monsterremming te verminderen.

PRESTATIEKENMERKEN

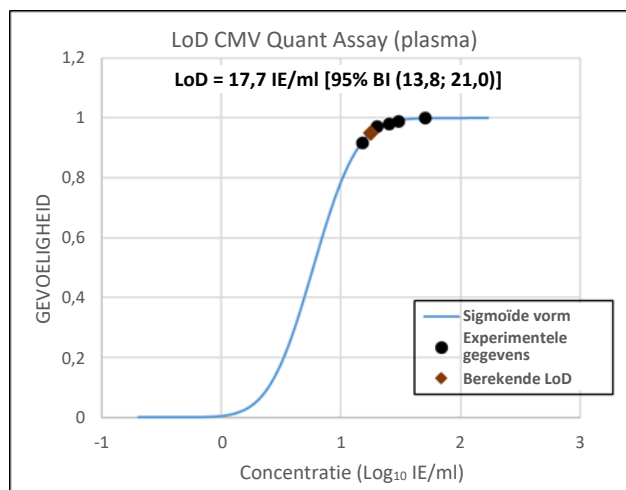
Analytische gevoeligheid – Detectielimiet op basis van de WHO-norm

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx CMV Quant Assay werd gekenmerkt door het testen van negatieve specimen en een verdunde reeks van de 1e internationale norm van de WHO in gescreend negatief menselijk plasma om de detectielimiet (Limit of Detection, LoD) op de NeuMoDx Systems te bepalen. De LoD werd bepaald als het laagste doelniveau waarbij 95% werd gedetecteerd, zoals vastgesteld met een probitanalyse. Het onderzoek werd uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere systemen en met meerdere partijen NeuMoDx-reagentia. Met elk systeem werden 18 replica's van elke verdunningsconcentratie per dag verwerkt. De detectiepercentages zijn weergegeven in *tabel 2*.

Tabel 2: Positieve detectiepercentages voor de bepaling van de LoD van de NeuMoDx CMV Quant Assay

Doelconcentratie [IE/ml]	Doelconcentratie [\log_{10} IE/ml]	PLASMA		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
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%

De LoD van de NeuMoDx CMV Quant Assay in plasma van de variant gB1 werd vastgesteld op 17,7 IE/ml (1,25 \log_{10} IE/ml) met een 95% betrouwbaarheidsinterval van 13,8 tot 21,0 IE/ml (1,14 tot 1,32 \log_{10} IE/ml) [*afbeelding 2*]. De LoD voor verschillende genotypes is 20,0 IE/ml (1,30 \log_{10} IE/ml), zoals vastgesteld aan de hand van een trefpercentage-analyse.



Afbeelding 2: Probitanalyse die werd gebruikt om de LoD van de NeuMoDx CMV Quant Assay te bepalen voor plasmamonsters

Analytische gevoeligheid – Kwantificeringslimiet – Ondergrens voor kwantificering (LLOQ)

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) is vastgesteld als de laagste doelconcentratie waarbij er een detectie is van > 95% EN een TAE van $\leq 1,0$. Om de LLOQ te bepalen, werd de totale analytische fout (Total Analytical Error, TAE) berekend voor elke CMV-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd als onderdeel van de LoD-berekening. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

$$\text{TAE} = \text{vertekening} + 2 \cdot \text{SD} \text{ (Westgard-statistiek)}$$

De vertekening is de absolute waarde van het verschil tussen het gemiddelde van de berekende concentratie en de verwachte concentratie. SD verwijst naar de standaardafwijking (Standard Deviation) van de gekwantificeerde waarde van het monster.

De verzamelde resultaten voor de 5 concentraties CMV-plasmamonsters (variant gB1) die bij het LLoQ-onderzoek werden gebruikt, zijn weergegeven in *tabel 3*. Op basis van deze gegevensset en de eerder vastgestelde LoD werd de LLoQ vastgesteld op 20,0 IE/ml (1,30 log₁₀ IE/ml) en bij verschillende genotypes bevestigd.

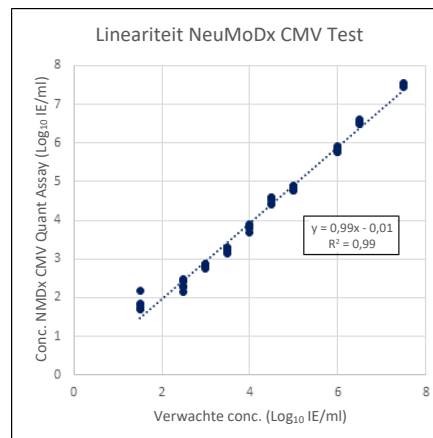
Tabel 3: LLoQ NeuMoDx CMV Quant Assay, met vertekening en TAE

Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma				
		Gemiddelde conc. [log ₁₀ IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	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

Op basis van de resultaten van deze onderzoeken werden de LoD en LLoQ van de NeuMoDx CMV Quant Assay beide vastgesteld op 20,0 IE/ml [1,30 log₁₀ IE/ml].

Lineariteit en het bepalen van de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULOQ)

De lineariteit en de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) van de NeuMoDx CMV Quant Assay werden in plasma vastgesteld door een reeks verdunningen te bereiden met ingesloten CMV-doelmateriaal van NeuMoDx en een Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX, VS) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 1e internationale norm van de WHO. Er werd een 9-ledenpanel bereid in gebundeld CMV-negatief plasma om een panel te creëren met een concentratiebereik van 8-1,7 log₁₀ IE/ml. De ULOQ van de NeuMoDx CMV Quant Assay werd vastgesteld op 8,0 log₁₀ IE/ml. De vergelijking tussen de CMV-assayconcentraties die door het NeuMoDx System werden gerapporteerd en de verwachte waarden is weergegeven in *afbeelding 3*.



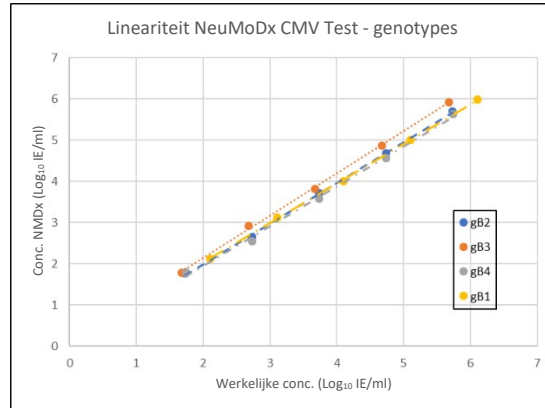
Afbeelding 3: Lineariteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay

Lineariteit bij verschillende genotypes

De lineariteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay over vier CMV-genotypes (gB1, gB2, gB3 en gB4) werd gekenmerkt door ten minste vijf verschillende concentraties van elk genotype van CMV, bereid in gebundeld CMV-negatief plasma, te testen. De hoeveelheid aan CMV-doelmateriaal dat in dit onderzoek werd getest, was afhankelijk van de concentratie van het bronspecimen en verschilde daarom per genotype. Het onderzoek werd uitgevoerd door 6 replica's van elk van de 4 genotypes bij 5 concentraties te testen. De lineariteit over vier CMV-genotypen wordt weergegeven in *tabel 4* en *afbeelding 4*.

Tabel 4: Lineariteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay bij verschillende genotypes

Genotype	Lineariteitsvergelijking y = kwantificering NeuMoDx CMV Assay x = verwachte kwantificering	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



Afbeelding 4: Lineariteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay bij verschillende genotypes

Analytische specificiteit – Kruisreactiviteit

De analytische specificiteit is aangetoond door 35 organismen die vaak voorkomen in bloed-/plasmamonsters en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met CMV te testen op kruisreactiviteit. De organismen werden onderverdeeld in groepen van 5 tot 6 organismen en getest bij een hoge concentratie. De geteste organismen staan in *tabel 5*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx CMV Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 5: Gebruikte pathogenen voor het aantonen van analytische specificiteit

Niet-doelorganismen					
BK-polyomavirus	Adenovirus type 5	Herpes-simplexvirus type 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein-barrvirus	Hepatitis C-virus	Herpes-simplexvirus type 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humaan herpesvirus type 6	Parvovirus B19	Varicella-zostervirus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humaan herpesvirus type 7	JC-virus	Hiv 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Humaan herpesvirus type 8	Humaan papillomavirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B-virus	Humaan papillomavirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen

De NeuMoDx CMV Quant Assay werd beoordeeld op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met behulp van dezelfde organismegroepen door voor de kruisreactiviteitstest waren bereid, zoals hierboven beschreven in *tabel 5*. CMV-negatief plasma werd verrijkt met 4-7 groepen organismen. Daarnaast werd er CMV-doelmateriaal aan toegevoegd met een concentratie van 3 log₁₀ IE/ml. Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze commensale organismen, wat wordt aangeduid met de minimale afwijking in kwantificering met de controlespecimens die geen interfererend middel bevatten.

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, endogene en exogene stoffen

De NeuMoDx CMV Quant Assay werd beoordeeld in de aanwezigheid van typische exogene en endogene interfererende stoffen die in klinische CMV-plasmamonsters kunnen voorkomen. Dat waren onder meer abnormaal hoge waarden van bloedcomponenten en vaak voorkomende antivirale geneesmiddelen, die zijn geclassificeerd in *tabel 6*. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend CMV-negatief menselijke plasma dat was verrijkt met 3 log₁₀ IE/ml CMV. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie. Daarnaast werd plasma met veelvoorkomende ziektekiemen die met een CMV-infectie worden geassocieerd, ook op mogelijke interferentie getest. De gemiddelde concentratie en vertekening van alle geteste stoffen in vergelijking met de controlemonsters die met dezelfde CMV-concentratie waren verrijkt, zijn weergegeven in *tabel 7*. Geen enkele exogene en endogene stof had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabel 6: Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie	Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie
Pool 1	Azathioprine	Immuunsuppressivum	Pool 4	Trimethoprim	Antibioticum
	Cyclosporine	Immuunsuppressivum		Vancomycine	Antibioticum
	Foscarnet	Antiviraal middel (Herpesvirussen)		Tacrolimus	Immuunsuppressivum
	Ganciclovir	Antiviraal middel (CMV)		Everolimus	Immuunsuppressivum
	Valganciclovir-hydrochloride	Antiviraal middel (CMV)		Clavulaanzuur	Antibioticum
Pool 2	Prednison	Corticosteroïde/ immuunsuppressivum	Pool 5	Famotidine	Histaminereceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviraal middel (CMV)		Sulfamethoxazol	Antibioticum
	Cefotetan	Antibioticum (breed spectrum)		Valacyclovir	Antiviraal middel (Herpesvirussen)
	Cefotaxim	Antibioticum (breed spectrum)		Letermovir	Antiviraal middel (CMV)
	Fluconazol	Antischimmelmiddel		Ticarcilline-dinatrium	Antibioticum
Pool 3	Mycofenolaatmofetil	Immuunsuppressivum	Leflunomide	Immuunsuppressivum	
	Mycofenolaatnatrium	Immuunsuppressivum			
	Piperacilline	Antibioticum			
	Sirolimus (rapamycine)	Immuunsuppressivum			
	Tazobactam	Gemodificeerd antibioticum			

Tabel 7: Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

Endogeen	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Hemoglobine	2,97	0,07
Triglyceriden	3,03	0,13
Bilirubine	3,01	0,11
Albumine	2,88	-0,02
Exogeen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Azathioprine, cyclosporine, foscarnet, ganciclovir, valganciclovirhydrochloride	2,88	-0,02
Pool 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaxim, fluconazol	2,91	0,01
Pool 3: Mycofenolaatmofetil, mycofenolaatnatrium, piperacilline, sirolimus (rapamycine), tazobactam	2,98	0,08
Pool 4: Trimethoprim, vancomycine, tacrolimus, everolimus, clavulaanzuur	3,05	0,15
Pool 5: Famotidine, sulfamethoxazol, letermovir, valacyclovir, ticarcilline-dinatrium, leflunomide	2,87	-0,03
Ziektebeeld	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Antinucleair antilichaam (ANA)	2,90	0,00
Systemische lupus erythematoses (SLE)	3,04	0,14
Reumatoïde artritis	2,99	0,09

Binnen-laboratoriumprecisie

De precisie van de NeuMoDx CMV Quant Assay is bepaald door 3 replica's van een 4-ledenpanel van CMV-specimens die met Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX, VS) zijn bereid, tweemaal per dag gedurende 12 dagen te testen met twee NeuMoDx 288 Systems en één NeuMoDx 96 System. De precisie binnen een sessie, binnen een dag en binnen een systeem werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,15 \log_{10}$ IE/ml. Er werd een hoge precisie aangetoond binnen verschillende systemen, dagen of analyses, zoals weergegeven in *tabel 8*. Het verschil in precisie tussen bedieners is niet gekenmerkt, aangezien de bediener geen significante rol speelt bij het verwerken van monsters met het NeuMoDx System.

Tabel 8: Binnen-laboratoriumprecisie – NeuMoDx CMV Quant Assay met NeuMoDx Systems

Conc. doel-CMV [log ₁₀ IE/ml]	Conc. gemiddelde CMV. [log ₁₀ IE/ml]	SD binnen een systeem	SD binnen een dag	SD binnen een run	Algemene SD (binnen laboratorium)
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

Reproduceerbaarheid van partij tot partij

De reproduceerbaarheid tussen partijen van de NeuMoDx CMV Quant Assay werd bepaald met behulp van drie verschillende partijen sleutelreagentia: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates en NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Ter beoordeling van de prestaties werd een 4-ledenpanel van CMV-monsters gebruikt dat met Exact CMV Control was bereid. De tests werden gedurende 6 dagen met drie systemen en met de drie partijen reagentia uitgevoerd. De variaties binnen één partij en tussen de partijen werden geanalyseerd en de resultaten zijn weergegeven in *tabel 9*. De maximale algehele vertekening was $0,12 \log_{10}$ IE/ml en de maximale algehele standaardafwijking (Standard Deviation, SD) was $0,39 \log_{10}$ IE/ml. De gelijkwaardige prestaties tussen partijen werden aangetoond, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de tolerantiespecificatie viel.

Tabel 9: Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx CMV Quant Assay

Conc. doel-CMV [log ₁₀ IE/ml]	Conc. gemiddelde CMV. [log ₁₀ IE/ml]	N (Geldig Resultaat Per Lot)	Vertekening	SD tussen partijen	SD binnen partij	Algehele 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

Effectiviteit van controle

De NeuMoDx CMV Quant Assay bevat een SPC1 om fouten in de processtappen of remmingen die de prestaties van de assay beïnvloeden, te rapporteren. De effectiviteit werd getest onder omstandigheden die representatief zijn voor cruciale procesfouten die tijdens de monsterverwerking kunnen optreden en die *mogelijk niet worden gedetecteerd* door de prestatiebewakingssensoren van het NeuMoDx System. Er werden positieve (met $3 \log_{10}$ IE/ml) en negatieve specimens aan de volgende omstandigheden onderworpen: aanwezigheid van een remmer, geen Wash-oplossing afgegeven en geen Wash-lek. Procesinefficiënties die een ongewenst effect hadden op de detectie/kwantificering van CMV werden weerspiegeld door de prestaties van het SPC1-doelmateriaal zoals weergegeven in *tabel 10*. In alle geteste gevallen werd aangetoond dat de procesinefficiënties en de aanwezigheid van remmers op adequate wijze werd gemonitord door de monsterverwerkingscontrole of dat de verwachte procesinefficiëntie geen significant nadelig effect had op de detectie van SPC1 of op de detectie en kwantificering van CMV. Hiermee is aangetoond dat de assayprestaties effectief kunnen worden bewaakt met SPC1 op het NeuMoDx System.

Tabel 10: Effectiviteit van de monsterverwerkingscontrole

Procesfout getest	Amplificatiestatus monsterverwerkingscontrole 1	Amplificatiestatus CMV-doelmateriaal	Resultaat assay
Presence of Inhibitor (Aanwezigheid van remmer)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Delivered (Geen Wash-oplossing afgegeven)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Blowout (Geen Wash-lek)	Amplified (Geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	Positive (Positief) met kwantificering in 0,3 log ₁₀ IE/ml controle

Percentage geldige resultaten

Voor het bepalen van het percentage geldige resultaten werd er een retrospectieve analyse uitgevoerd van de gegevens die verkregen zijn tijdens de prestatie-evaluatie van de NeuMoDx CMV Assay in de NeuMoDx Systems. Geldige testresultaten worden gerapporteerd als Positive (positief) of Negative (negatief); ongeldige testresultaten worden gerapporteerd als indeterminate (IND) (Onbepaald) of Unresolved (UNR) (Onbekend) op basis van de amplificatiestatus van het doel en de monsterverwerkingscontrole. Een IND wordt doorgaans veroorzaakt door een instrumentfout die amplificatie van het doel en/of de interne verwerkingscontrole verhindert. Een UNR wordt toegewezen aan monsters wanneer zowel het doel als de interne verwerkingscontrole niet amplificeren in de afwezigheid van een gedetecteerde instrumentfout. In de retrospectieve analyse zijn 1100 NeuMoDx CMV Quant Assay-resultaten opgenomen, waaronder gegevens die zijn verkregen via de NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems. Het UNR-percentage bedroeg 0,91% (10/1100) en het IND-percentage bedroeg 0,36% (4/1100), waardoor er aan de aanvaardingscriteria van de analyse is voldaan. Het geldige-resultaatpercentage van de NeuMoDx CMV Assay in NeuMoDx Systems werd dus vastgelegd op 98,7% met een betrouwbaarheidsinterval van 95% (97,9-99,2).

Kruisbesmetting

Het kruisbesmettingspercentage van de NeuMoDx CMV Quant Assay werd vastgesteld door drie sets CMV-specimens met afwisselend hoogpositieve en hoognegatieve monsters te testen. In totaal werden daarvoor 108 replica's van CMV-negatief plasma en 108 replica's van met CMV verrijkt plasma met 6,0 log₁₀ IE/ml getest. Alle 108 replica's van het negatieve specimen werden als negatief gerapporteerd, wat aangeeft dat er geen kruisbesmetting was tijdens de monsterverwerking op het NeuMoDx System.

Matrxequivalentie van het specimen

Er zijn tests uitgevoerd om de matrxequivalentie van het specimen aan te tonen tussen volbloed dat in verzamelbuisjes met ethyleendiaminetetraazijnzuur (EDTA) of zuurcitraatdextrose (Acid Citrate Dextrose, ACD) is afgenomen voor de bereiding van plasma. Er werden aanvullende tests uitgevoerd om de equivalentie tussen verse en bevroren plasmamonsters (verzameld in de twee soorten buisjes) te bepalen. Verse specimens werden bij een temperatuur van 4 °C bewaard tot ze werden verrijkt met drie CMV-concentraties en ze op equivalentie werden getest. Vervolgens werden de monsters minimaal 24 uur bevroren bij een temperatuur van -20 °C. Na deze periode van bevroren opslag werden de specimens ontdooid en opnieuw getest. De resultaten van de verse versus de bevroren plasmamonsters en de plasmamonsters met EDTA versus ACD werden op equivalentie vergeleken door middel van een regressie-analyse. Uit deze gegevens blijkt dat er een uitstekende equivalentie bestaat tussen plasmamonsters met EDTA en ACD, en tussen verse en bevroren plasmamonsters met een helling van maximaal 0,02 van 1,0 en een zeer lage vertekening (intercept), zoals weergegeven in *tabel 11* hieronder.

Tabel 11: Equivalentie specimenmatrix

Parametervereiste	ACD vs. K2EDTA		Vers vs. bevroren	
	Vers	Bevroren	ACD	EDTA
Helling [0,9-1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Intercept [$< 0,5 \log_{10}$ IE/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
<i>p</i> -waarde $> 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

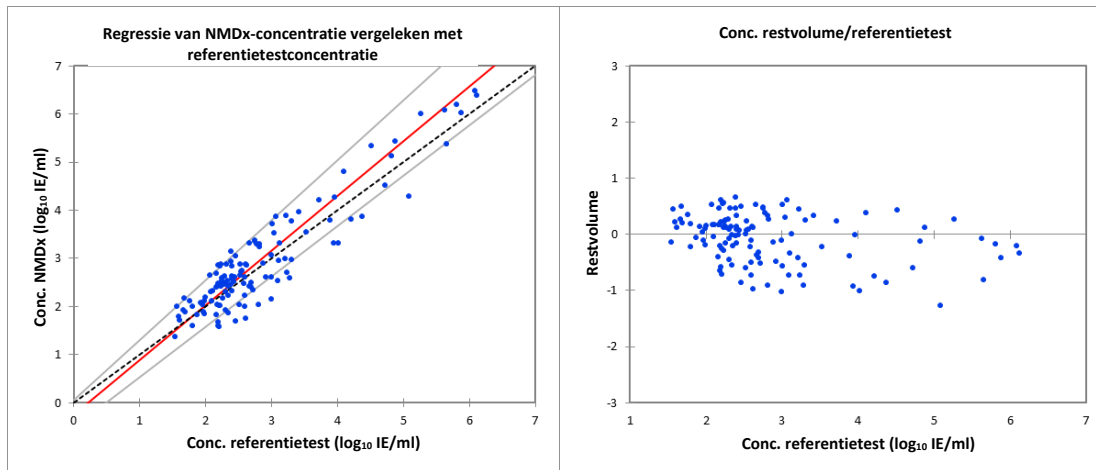
Vergelijking van klinische methoden

De kwantitatieve prestaties van de NeuMoDx CMV Quant Assay werden vergeleken met FDA-/CE-goedgekeurde vergelijkingsassays door onverdunde klinische specimens van met CMV geïnfecteerde patiënten te testen. De tests werden intern bij NeuMoDx uitgevoerd door middel van een enkelblind onderzoek van geanonimiseerde, overgebleven, klinische specimens die afkomstig waren van vier externe referentielaboratoria. In totaal werden er met de NeuMoDx CMV Quant Assay 284 plasmamonsters (enkelblind) verwerkt in meerdere NeuMoDx Molecular Systems.

De verwerkings- en systeemfouten die optraden bij de NeuMoDx Molecular Systems waren minimaal en voldeden aan de criteria. De monsters leidden tot in totaal 3 Indeterminate (IND, onbepaald) resultaten, wat resulteerde in een algeheel oorspronkelijk IND-percentage van 1% met een 95% BI (0,27-3,32%). Er was onvoldoende volume om deze 3 specimens volgens de reguliere workflow opnieuw te verwerken. In eerste instantie werden er 10 Unresolved (UNR, onbekend) resultaten verkregen, maar na een aanbevolen procedure met een CMV Quant Assay met een verdunning van 1:10 in Basematrix bij UNR-resultaten, werden er geldige resultaten verkregen na hernieuwde tests van alle 10 de UNR-monsters die in de juiste verhouding waren verdund. Het percentage totale verwerkingsfouten werd zo vastgesteld op 1,06% met een 95% BI (0,27%-3,3%), omdat de IND-resultaten (Indeterminate, onbepaald) vanwege onvoldoende volume niet opnieuw konden worden getest.

4 monsters leveren een 'Quantitation Error' (kwantitatieve fout) op en 3 van die 4 monsters konden opnieuw conform de aanbevolen procedure worden getest met een verdunning van 1:10 in Basematrix, waarna er een geldig kwantitatief resultaat werd verkregen. Van de 283 geldige resultaten die het onderzoek opleverde, werden 129 monsters door de NeuMoDx CMV Assay als Positive (Positief) gerapporteerd met de overeenkomstige concentratiewaarden die door de referentietests werden toegekend. Vijf van die monsters werden met de referentietest gerapporteerd als onder LLoQ en één monster als boven ULoQ. In totaal hadden 123 monsters overeenkomende concentratiewaarden die door zowel de NeuMoDx CMV Quant Assay en de CE-IVD- tests ter referentie werden toegekend. Deze monsters werden vervolgens voor de kwantitatieve correlatie-analyse gebruikt. Er werden Deming- en Passing-Bablok-regressie-analyses toegepast om de concentratiewaarden van de NeuMoDx CMV Assay te correleren met de waarden van de referentietests.

Er werden equivalentiegrafieken gegenereerd om de correlatie tussen de NeuMoDx CMV Quant Assay-concentraties en de concentratiewaarden van de referentietests voor alle geteste monsters weer te geven met behulp van de Deming- en Passing-Bablok-regressie-analyse. Deze zijn weergegeven in *afbeelding 5*.



Afbeelding 5: Equivalentiegrafiek (*links*) en restvolumegrafiek (*rechts*): cumulatieve analyse (met beide NeuMoDx Systems) van de resultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay, vergeleken met de referentietestresultaten van ALLE monsters op basis van Passing-Bablok-regressie-analyse.

De kwaliteit van de Deming-regressie-analyse blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 1,1 met een 95% BI (1,0; 1,2) en een intercept (vertekening) van -0,18 met een 95% BI (-0,39; 0,03), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben. De kwaliteit van de lineaire regressieanalyse van Passing-Bablok blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 1,1 met een 95% BI (1,0; 1,2) en een intercept (vertekening) van -0,24 met een 95% BI (-0,51; 0,06), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx CMV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben, zoals weergegeven in *tabel 12*.

Tabel 12: Overzicht van de lineaire regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Intercept	Hellingscoëfficiënt	Intercept	Hellingscoëfficiënt
-0,18 95% BI (-0,39; 0,03)	1,1 95% BI (1,0, 1,2)	-0,24 95% BI (-0,51, 0,06)	1,1 95% BI (1,0, 1,2)

REFERENTIES

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

HANDELSMERKEN

NeuMoDx[™] is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.












NeuDry[™] is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan[®] is een gedeponeerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

SYMBOLLEN

De volgende symbolen kunnen in de gebruikshandleiding of op de verpakking en etiketten zijn weergegeven:

SYMBOOL	BETEKENIS
R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift
	Fabrikant
IVD	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel
EC REP	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
REF	Catalogusnummer
LOT	Batchcode
	Uiterste gebruiksdatum
	Temperatuurbepering
	Vochtigheidsbepering
	Niet hergebruiken
	Inhoud voldoende voor <n> tests
	Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Voorzichtig
	Biologische risico's
CE	CE-markering
	Gezondheidsgevaar
	Gevaar



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

Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support.qiagen.com
Patent: www.neumodx.com/patents



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

