

**REF** 201500 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip

R only

IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA

**IVD** För *in vitro*-diagnostisk användning med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular SystemUppdaterade bipacksedlar finns på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108

Se operatörshandboken till NeuMoDx 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317

**AVSEDD ANVÄNDNING**

NeuMoDx EBV Quant Assay är en automatisk metod för nukleinsyreamplicering *in vitro* för kvantifiering av Epstein-Barr-virus (EBV) DNA i plasma. NeuMoDx EBV Quant Assay utförd på NeuMoDx 288 Molecular System och NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System) använder automatisk DNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från plasma och använder PCR (polymeraskedjereaktion) för att söka upp de två i hög grad bevarade områdena i Epstein-Barr-virusgenomet.

NeuMoDx EBV Quant Assay är avsedd för *in vitro*-detektion och -kvantifiering av Epstein-Barr-virus-DNA i färska och frusna humana plasmaprover med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular System. NeuMoDx EBV är avsedd för användning vid diagnos och övervakning av EBV-infektioner. Analysen kan användas för att mäta EBV DNA-nivåer för att bedöma respons på antiviral behandling. Denna analys är avsedd för användning tillsammans med klinisk presentation och andra laboratoriemarkörer för sjukdomsförlopp för klinisk hantering och övervakning av EBV-infektion. Denna analys är inte avsedd för användning som ett screeningtest för förekomst av EBV i blod eller blodprodukter.

**SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING**

Humant helblod samlas in i sterila blodprovtagningsrör innehållandes EDTA som en antikoagulant för förberedande av plasma. Påbörja testningen genom att placera plasman i ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i en provrörs-carrier och laddas på NeuMoDx Systems-arbetsbordet. För varje prov blandas en 250 µL-alkvot av plasmaprovet med NeuMoDx Lysis Buffer 5 och NeuMoDx System utför automatiskt alla steg som krävs för extraktion av målnukleinsyran, preparering av det isolerade DNA:t för realtids-PCR-amplifiering och i förekommande fall, detektion av produkter för amplifiering (två i höggradigt konserverade regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay inkluderar en DNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) för att underlätta övervaka närvaron av potentiellt hämmande substanser och NeuMoDx System- eller reagensfel som kan påträffas under extraktions- och amplifieringsprocesserna.

EBV är ett vanlig dubbelsträngat DNA-virus i den humana herpesvirusfamiljen som smittar personer i alla åldrar. Det uppskattas att >90 % av individer världen över smittas eller har smittats av EBV.<sup>1</sup> EBV som sprids genom kroppsvätskor som saliv, blod, sperma och organtransplantationer. Många människor smittas av EBV i barndomen. Dessa individer är vanligtvis asymptomatiska när de infekteras med EBV. Immunokomprometterade personer kan utveckla svårare symtom och komplikationer från EBV-infektion. Latent EBV-infektion utgör den största risken för patienter efter transplantation. Lymfoproliferativa störningar (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTL) efter transplantation inkluderar EBV-driven tumörbildning i B-celler på grund av en effekt av immunsuppressiva medel på immunkontrollen av EBV, en av de viktigaste orsakerna till morbiditet och dödlighet hos patienter som genomgår någon form av organtransplantation.<sup>2</sup>

Användningen av EBV-viral belastningsövervakning underlättar diagnosen och hanteringen av EBV-associerad PTL. Detektion av EBV-nukleinsyra i blod är emellertid inte tillräckligt för diagnos av EBV-associerad PTL. Nukleinsyratestning (Nucleic Acid Testing, NAT) bör endast användas i samband med klinisk presentation och andra laboratoriemarkeringar för sjukdomsprogression för klinisk hantering och övervakning av EBV-infekterade patienter. Medan aktuella riktlinjer för hantering och behandling av EBV-infektioner hos immunförsvagade personer är tvetydiga när det gäller *när* antiviral behandling ska startas, kräver de alla konstant viral belastningsövervakning när antiviral behandling startas för att bidra till att avhjälpa de allvarliga bieffekterna av medicinering hos sådana grupper.<sup>3,4</sup>

**PRINCIPER FÖR RUTINEN**

NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx System använder sig av NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 och NeuMoDx allmänna reagenser för att utföra analysen. NeuMoDx EBV Quant Assay kombinerar automatisk DNA-extraktion, amplifiering och detektering med realtids-PCR. Helblodsprover samlas in i EDTA-provrör för preparering av plasma. Plasmaprovet i ett NeuMoDx System-kompatibelt provrör läggs i en provrörs-carrier och laddas på arbetsbordet för NeuMoDx System för bearbetning. Inga andra användaråtgärder behövs.

NeuMoDx Systems använder sig av en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk cellysering, DNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorna fångas upp av paramagnetiska partiklar. Partiklarna med de bundna nukleinsyrorna laddas i NeuMoDx Cartridge där obundna, icke-DNA-komponenter tvättas bort ytterligare med NeuMoDx Wash Reagent och det bundna DNA:t elueras med hjälp av NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx Systems använder sedan det eluerade DNA:t för att rehydrera patenterade NeuDry™ amplifieringsreagenser som innehåller alla komponenter som behövs för PCR-amplifiering av de EBV-specifika målen och SPC1. Efter rekonstituering av NeuDry PCR-reagenserna dispenserar NeuMoDx System den beredda, PCR-klara blandningen i en NeuMoDx Cartridge. Amplifiering och detektion av kontroll- och mål-DNA-sekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammaren i NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge är konstruerad för att rymma amplikon efter realtids-PCR och eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

NeuMoDx EBV Quant Assay riktar sig mot två höggradigt konserverade regioner, BALF5 och BXFL1 i EBV-genomet. Den dubbla målutformningen minskar risken för falska negativa händelser vid mutation, vilket ökar analysens robusthet. De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolysprombemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogena oligonukleotid-probmolekyler specifika för amplikonerna för sina respektive mål.

TaqMan-prober består av en fluoroforen som är kovalent bunden till 5'-ändan av oligonukleotidproben och en quencher vid 3'-ändan. När proben är intakt är fluoroforen och quencheren nära varandra, vilket gör att quenchermolekylen undertrycker den fluorescens som fluoroforen emitterar via Förster resonansenergiöverföring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober är konstruerade så att de hybridiseras inom en DNA-region som är amplifierad av en viss uppsättning primrar. Allt eftersom Taq DNA-polymeraset förlänger primern och syntetiserar den nya strängen så degraderar 5' till 3' exonukleasaktiviteten för Taq DNA-polymeraset proben som har fäst till mallen. Försämring av proben frigör fluoroforenen från den och orsakar förlust av den nära bindningen till quencheren och övervinnet dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforens fluorescens. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras är direkt proportionerlig med den frigjorda fluoroforen och kan korreleras med mängden mål-DNA i PCR.

En TaqMan-prob märkt med en fluorofor (490/521 nm) vid 5'-ändan och en mörk quencher vid 3'-ändan används för detektion av EBV DNA. För detektion av SPC1 är TaqMan-proben märkt med alternativt fluorescerande färg (535/556 nm) vid 5'-ändan och en mörk quencher vid 3'-ändan. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescens signal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx System-programvaran data och rapporterar ett resultat (POSITIVE (Positivt) /NEGATIVE (Negativt)/ INDETERMINATE (Obestämt) / UNRESOLVED (Olöst)). Om ett resultat är POSITIVE (positivt) genererar NeuMoDx System-programvaran också ett kvantitativt värde för provet eller rapporterar om den beräknade koncentrationen är utanför kvantifieringsgränserna.

### REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

#### Material som medföljer

REF	Innehåll	Tester per enhet	Tester per förpackning
201500	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip</b> <i>Torkade PCR-reagenser som innehåller EBV- och SPC1-specifika TaqMan-prober och -primrar.</i>	16	96

#### Ytterligare material som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från NeuMoDx)

REF	Innehåll
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800500	<b>NeuMoDx EBV Calibrators</b> <i>EBV låga och höga kalibratorer för engångsbruk, för fastställning av standardkurvas giltighet</i>
900501	<b>NeuMoDx EBV External Controls</b> <i>EBV Positiva och negativa kontroller för engångsbruk, för daglig fastställning av validiteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay</i>
400900	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 5</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µL) med filter</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1 000 µL) med filter</b>

#### Instrument som behövs

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

### VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx EBV Quant Assay är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx System.
- Hantera alltid prover som om de vore smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner enligt de som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>5</sup> och i CLSI-dokument M29-A4.<sup>6</sup>
- Ett positivt resultat indikerar förekomst av EBV DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay får endast utföras av personal som har genomgått utbildning i användning av NeuMoDx System och hantering av smittsamma ämnen.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.

- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.
- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.
- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx EBV External Controls (REF 900501) måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Den minsta provvolymen för sekundära alikvoter beror på provrörens storlek/provrörs-carriern enligt nedanstående definitioner. Volymen som är mindre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- Användning av prover som har förvarats vid fel temperatur eller längre än den angivna förvaringstiden kan leda till felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller deoxyribonukleas (DNase) av reagenserna eller förbrukningsvarorna. Sterila DNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta loss någon NeuMoDx Cartridge efter amplifiering för att undvika kontamination. Hämta inte NeuMoDx Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx EBV Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockar och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och -förbrukningsvaror. Provrör inte vid ovensidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx Extraction Plate eller ovensidan av NeuMoDx Lysis Buffer 5-behållaren; ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) kan beställas.
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.

### PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

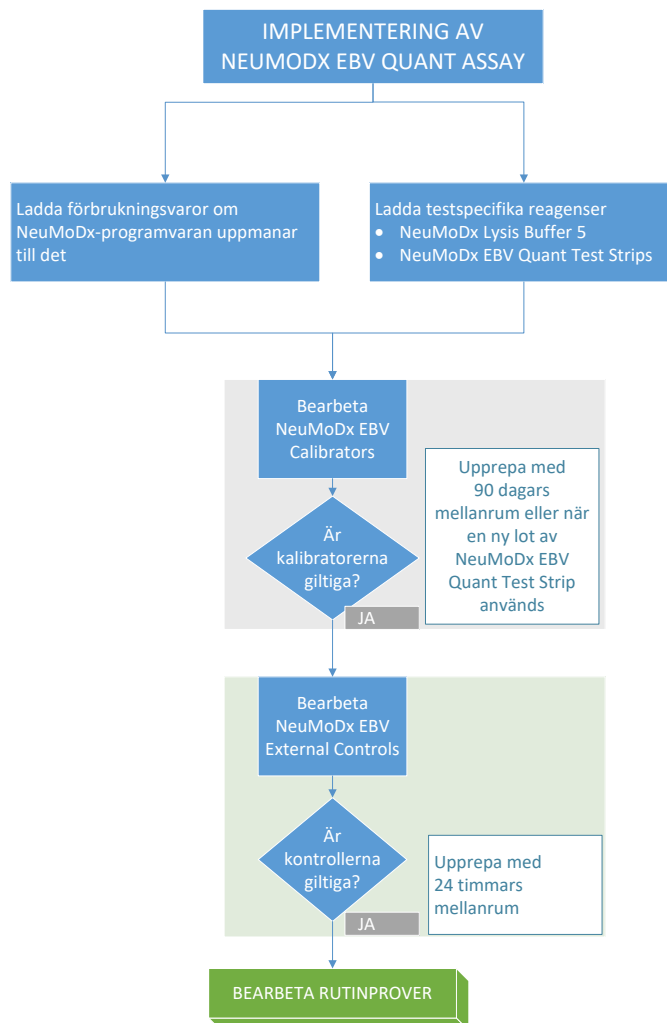
- NeuMoDx EBV Quant Test Strips är stabila i primärförpackningen till och med det utgångsdatum som står på den inre produktetiketten om de förvaras vid 18–23 °C.
- Använd inte förbrukningsvaror och reagenser efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte någon testprodukt om den inre eller yttre förpackningen är synligt skadad.
- Ladda inte om någon testprodukt som redan har laddats på ett annat NeuMoDx System.
- Efter laddning kan NeuMoDx EBV Quant Test Strip lämnas kvar i NeuMoDx System i 14 dagar. Återstående hållbarhet för de laddade testremsorna övervakas via programvaran och rapporteras till användaren i realtid. Systemet kommer att uppmana användaren att ta bort testremsor som har gått ut.
- Även om NeuMoDx EBV Calibrators och NeuMoDx EBV External Controls inte är smittsamma bör oanvänt material kasseras som biologiskt avfall för att minska risken för kontaminering med den nukleinsyra som används.

### INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

*Hantera alla prover som smittbärare.*

- Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
- Plasmaprover ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA som antikoagulerande medel. Följ anvisningarna från tillverkaren av provtagningsrören.
- Helblod som samlats in i behållare enligt ovan går att lagra och/eller transportera i upp till 24 timmar vid 2 °C till 25 °C före plasmaberedningen. Plasmaberedningen ska utföras enligt tillverkarens anvisningar.
- Preparerade plasmaprover kan förvaras i NeuMoDx System i upp till 8 timmar före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven placeras antingen i en kyl eller frys.
- Preparerade plasmaprover ska förvaras vid 2 °C till 8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar i rumstemperatur.
- Preparerade plasmaprover får förvaras vid <math>-20\text{ °C}</math> i upp till 8 veckor för plasma före bearbetning. Frysning/tingning av plasmaprover får utföras högst 2 gånger innan användning.
  - Om proverna är frysta: Låt dem tina helt till rumstemperatur (15–30 °C), blanda i vortexblandare så att de blir homogena.
  - Upptinade frysta prov måste testas inom 8 timmar.
- Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
- Märk proven tydligt och ange att de är avsedda för EBV-testning.
- Fortsätt till avsnittet Beredning av test.

Den övergripande processen för implementering av NeuMoDx EBV Quant Assay sammanfattas nedan i Bild 1.



**Bild 1:** Arbetsflöde för användning av NeuMoDx EBV Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Beredning av test

1. Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Överför en alikvot av plasma till det streckodsmärkta provröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt de volymer som definieras nedan:
  - Provrörs-carrier (32 provrör): 11–14 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym  $\geq$  400 mL
  - Provrörs-carrier (24 provrör): 14,5–18 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym  $\geq$  850 mL

### Användning av NeuMoDx System

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 och 96 Molecular System för utförliga anvisningar (art.nr 40600108 och 40600317)

1. Populera en eller flera NeuMoDx System testremsecarriers med NeuMoDx EBV Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremsecarriern i NeuMoDx System.

2. Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska du tillsätta nödvändiga förbrukningsvaror i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använda pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System.
3. Om NeuMoDx System-programvaran så anmodar ska NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent bytas, primingsavfallet tömmas eller tunnan för biologiskt avfall tömmas efter behov.
4. Bearbeta kalibratorer [REF 800500] och/eller externa kontroller [REF 900501] om det behövs vid uppmaning i NeuMoDx System-programvaran. Mer information om kalibratorer och kontrollerar finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
5. Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en vanlig carrier för 32 provrör. Se till att alla provrörslock är borttagna.
6. Sätt provrörs-carrier på en ledig plats på Autoloader-hyllan och använd pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System. Då inleds bearbetningen av de laddade proverna för de angivna testerna.

### BEGRÄNSNINGAR

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip kan bara användas på NeuMoDx System.
- Prestanda hos NeuMoDx EBV Quant Test Strip har fastställts för plasmaprover som preparerats från helblod insamlade med EDTA som antikoagulerande medel. Användning av NeuMoDx EBV Quant Test Strip med andra kliniska provtyper har inte bedömts och prestandaegenskaperna för detta test är okända för detta test är okända för övriga typer av prover.
- Eftersom detektion av EBV är beroende av antalet virus i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
- Kalibratorer och externa kontroller måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
- Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, lagring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följden eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under detektionsgränsen för NeuMoDx EBV Quant Assay.
- NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
- Om både EBV- och SPC1-målen inte amplifieras rapporteras ett resultat som ogiltigt (Indeterminate (obestämt) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
- Om NeuMoDx EBV Quant Assay är positivt, men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx System om detekterad EBV var *under* lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *över* övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Om detekterad EBV var under LLoQ kan analysen med NeuMoDx EBV Quant Assay upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
- Om detekterad EBV var över ULoQ kan analysen upprepas med NeuMoDx EBV Quant Assay och en utspädd alikvot av det ursprungliga provet. Vi rekommenderar en spädning på 1:100 eller 1:1 000 i EBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Systemet kommer automatiskt att beräkna koncentrationen av det ursprungliga provet enligt följande: Ursprunglig provkoncentration =  $\log_{10}$  (spädningsfaktor) + rapporterad koncentration av det utspädda provet, så länge spädningsfaktorn har valts korrekt i programvaran innan den upprepas.
- Sporadisk förekomst av PCR-hämmare i plasma kan orsaka ett kvantifieringsfel i systemet. I så fall rekommenderar vi att testet upprepas med samma prov utspädd i Basematrix i spädningen 1:10 eller 1:100.
- Ett positivt resultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av aktiv virusinfektion. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av Epstein-Barr-virus DNA.
- Även om sannolikheten är mycket låg kan borttagningar eller mutationer i de bevarade regionerna av EBV-genomet, som är mål för NeuMoDx EBV Quant Assay, påverka detekteringen eller ge upphov till felaktiga resultat med NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Resultat från NeuMoDx EBV Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som finns tillgänglig för läkaren. Testet är inte avsett för diagnosticering av infektioner.
- God laboratoriesed inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

### BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken Results (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx Systems pekskärm.

Resultatet av NeuMoDx EBV Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i NeuMoDx EBV analysdefinitionsfilen (Assay Definition File, ADF). Ett NeuMoDx EBV Quant Assay-resultat kan anges som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapporterad EBV-koncentration, Positive (Positivt) över ULoQ, Positive (Positivt) under LLoQ, Indeterminate (Obestämt) eller Unresolved (Olöst) baserat på amplifieringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på beslutsalgoritmen i *tabell 1*.

**Tabell 1: Beslutsalgoritm för NeuMoDx EBV Quant Assay**

Resultat	EBV	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivt)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (OCH) } EPR > 2 \text{ AND (OCH) } EP \geq 1500]$ ELLER $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (OCH) } EP \geq 1500]$	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Positive (Positivt) över övre kvantifieringsgränsen [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] ( $\log_{10}$ IE/mL)	[CONC (KONC)] $> 8,0 \log_{10}$ IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Positive (Positivt), under lägre kvantifieringsgräns [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] ( $\log_{10}$ IE/mL)	[CONC (KONC)] $< 2,3 \log_{10}$ IE/mL, NO QUANT (INGEN KVANT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)
Negative (Negativt)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT) OR (ELLER) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (OCH) } EPR \leq 2]$ ELLER $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (OCH) } EP < 1500]$ OR (ELLER) $Ct > 38$	AMPLIFIERAD ( $29 \leq Ct \leq 35$ ) AND (OCH) $EP \geq 2\ 000$
Indeterminate (Obestämt)	NOT AMPLIFIED/ Systems Errors Noted (ej amplifierad, systemfel upptäcktes)	
Unresolved (Olöst)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (ej amplifierad, inga systemfel upptäcktes)	

EP = slutpunktsfluorescens (efter baslinjekorrektion); EPR = slutpunktsfluorescenskvot; Ct = tröskelvärde för cykling;  
Quant = beräknad mängd förekommande EBV uttrycks i  $\log_{10}$  IE/mL. Se testberäkning nedan.

### Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx EBV Quant Assay så beräknas koncentrationen av EBV DNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten.
  - En s.k. kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx EBV Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx EBV Quant Test Strips i ett specifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoefficienten införlivas automatiskt av systemet i den slutliga bestämningen av koncentrationen av EBV DNA.
- Resultaten av NeuMoDx EBV Quant Assay rapporteras i  $\log_{10}$  IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen av de okända proverna kan spåras till WHO:s första internationella standard för Epstein-Barr-virus för nukleinsyraamplifieringstekniker.

### Testkalibrering

En giltig kalibrering baserad på standardkurvan krävs för att kvantifiera EBV DNA i proven. För att resultaten ska bli giltiga måste en testkalibrering utföras med kalibratorer från NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kalibratorer

- NeuMoDx EBV Calibrators levereras i en sats [REF 800500] och innehåller icke-infekterat inkapslat EBV-mål utspätt i Basematrix.
- En uppsättning EBV Calibrators behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx EBV Quant Test Strip, när en ny EBV-analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx System eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar) eller om programvaran i NeuMoDx System förändras.
- Programvaran i NeuMoDx System meddelar användaren när kalibratorerna behöver bearbetas. En ny lot med testremisor kan inte användas innan kalibratorerna har bearbetats utan fel.

4. Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
  - a) En uppsättning med två kalibratorer – hög och låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
  - b) Minst två av de tre replikaten måste ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna för att resultaten ska bli giltiga. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är  $4 \log_{10}$  IE/mL och för hög kalibrator  $6 \log_{10}$  IE/mL.
  - c) En kalibreringskoefficient beräknas för att kompensera för förväntad variation mellan testremsloter. Kalibreringskoefficienten används vid bestämningen av den slutliga EBV-koncentrationen.
5. Om en eller bägge kalibratorer inte klarar validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator misslyckas med validiteten så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratören eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna igen.
6. Kontakta NeuMoDx Molecular, Inc. om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen igen.

### Kvalitetskontroll

Lokala föreskrifter anger vanligen att laboratoriet är ansvarigt för kontrollrutiner som övervakar noggrannheten och precisionen i hela den analytiska processen och måste fastställa antalet, typen av och frekvensen för testning av kontrollmaterial med hjälp av prestandaspecifikationer för ett omodifierat, godkänt testsystem.

### Externa kontroller

1. Externa kontrollmaterial som innehåller icke-infekterat inkapslat EBV-mål i Basematrix för positiva kontroller tillhandahålls av NeuMoDx Molecular, Inc. i en sats som innehåller NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
2. Positiva och negativa externa kontroller behöver bearbetas en gång var 24:e timme. Om inga giltiga externa kontrolluppsättningar finns begär NeuMoDx System-programvara användaren att tillhandahålla dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
3. Om externa kontroller krävs ska du hämta en uppsättning externa kontroller från frysen och låt flaskorna tina vid rumstemperatur (15–30 °C). Vortexblanda varsamt så att proven blir homogena.
4. Ladda ampullerna med de positiva och negativa kontrollampullerna i NeuMoDx System via pekskärmen och en provrörs-carrier på Autoloader-hyllan. NeuMoDx System identifierar streckkoden och börjar bearbeta provrören, förutsatt att lämpliga reagenser eller förbrukningsvaror som krävs för testning är tillgängliga.
5. Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge ett EBV Positive (Positivt) resultat och den negativa kontrollen ett EBV Negative (Negativt) resultat.
6. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
  - a) Ett positivt testresultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
  - b) Ett negativt testresultat som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns ett reagens- eller instrumentrelaterat problem.
  - c) I båda fallen ska NeuMoDx EBV External Control testas igen från nytinade ampuller med kontrollen om valideringstestet misslyckas.
  - d) Om den positiva NeuMoDx EBV External Control återigen ger ett Negative (Negativt) resultat ska du kontakta kundtjänst hos NeuMoDx.
  - e) Om den negativa NeuMoDx EBV externa kontrollen återigen ger ett positivt resultat: försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byta ALLA reagenser och förbrukningsvaror innan du kontaktar kundtjänst hos NeuMoDx.

### Provprocesskontroller (interna)

En exogen provbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC1) inkluderas i NeuMoDx Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-PCR-amplifiering med varje prov. SPC1-specifika primrar och prob inkluderas också i varje NeuMoDx EBV Quant Test Strip. Därmed kan närvaron av SPC1 detekteras tillsammans med EBV mål-DNA (i förekommande fall) via multiplex realtids-PCR. Detektering av SPC1-amplifiering gör att programvaran i NeuMoDx System kan övervaka effektiviteten hos DNA-extraktion och PCR-amplifieringsprocesserna.

Om en NeuMoDx EBV Quant Assay som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat rapporteras det som antingen Indeterminate (Obestämt) (IND) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

Ett IND-resultat rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts under provbearbetningen. Om ett IND-resultat rapporteras rekommenderas ett omtest.

Ett UNR-resultat rapporteras om ingen giltig amplifiering av EBV DNA eller SPC1 identifieras, vilket indikerar ett möjligt reagensfel eller att det finns hämmare. Om ett UNR-resultat rapporteras kan ett omtest genomföras som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell provhämmning.

### PRESTANDAEGENSKAPER

#### Analytisk sensitivitet – detektionsgräns enligt WHO-standard

Den analytiska sensitiviteten för NeuMoDx EBV Quant Assay bekräftades genom att testa EBV-negativa plasmaprover spetsades med en låg utspädning enligt WHO:s första internationella standard för EBV för nukleinsyraamplifieringstekniker. Detta bekräftelsestest utfördes vid den förväntade detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) för NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx System vid 200 IE/mL. LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på  $\geq 95\%$ . Undersökningen utfördes med flera system och kvalificerade loter med NeuMoDx-reagenser. Detektionsnivåerna visas i *tabell 2*.

**Tabell 2:** NeuMoDx EBV Quant Assay LoD-bestämning; Positiv detektionsnivå för plasmaprover

Målkoncentration [IE/mL]	PLASMA		
	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

#### Analytisk sensitivitet – lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) definieras som den lägsta målnivån där  $>95\%$  detektion uppnås och totalt analytiskt fel (Total Analytical Error, TAE)  $\leq 1,0$ . För att bekräfta att 200 IE/mL som både LoD och LLoQ för EBV Quant Assay, användes studieresultat med träffnivåmetoden för att bestämma TAE. Denna beräknade TAE definierades:

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

Bias är absolutvärdet för skillnaden mellan medelvärdet av den beräknade koncentrationen och den förväntade koncentrationen. SD avser standardavvikelsen för det kvantifierade värdet för provet.

**Tabell 3:** NeuMoDx EBV Quant Assay LLoQ med Bias och TAE

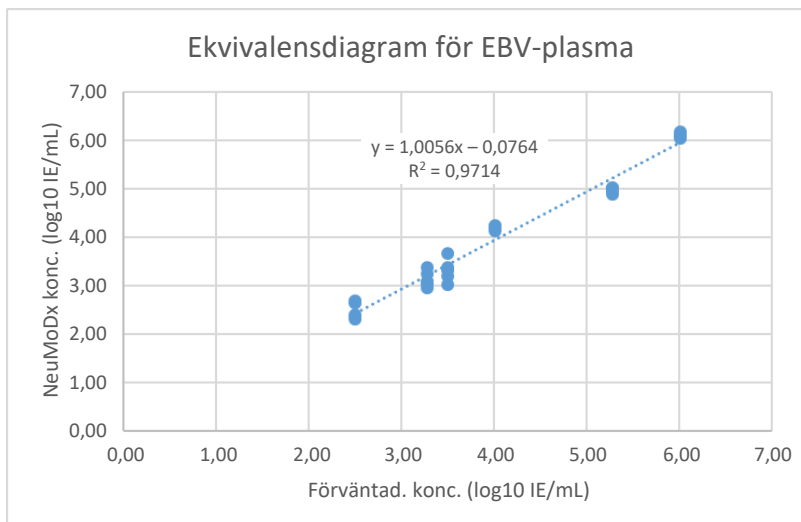
Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	Plasma				
		Snittkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Baserat på utfallen av de här studierna bestämdes LoD och LLoQ för NeuMoDx EBV Quant Assay till 200,0 IE/mL [2,30 log<sub>10</sub> IE/mL].

#### Linjäritet och bestämning av övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Linjäritet och övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) för NeuMoDx EBV Quant Assay fastställdes i plasma genom att förbereda en spädningsserie med NeuMoDx inkapslade EBV-mål och Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med fastställd spårbarhet till WHO:s första internationella standard för EBV. En panel med 10 deltagare preparerades i poolad EBV-negativ plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 2,0 till 8,0 log<sub>10</sub> IE/mL. ULoQ för NeuMoDx EBV Quant Assay fastställdes till 8,0 log<sub>10</sub> IE/mL. En bekräftelsepanel för att bedöma linjäriteten hos standardkurvan bereddes och de EBV-analyskoncentrationer som rapporteras av NeuMoDx System jämfört med de förväntade värdena presenteras i *bild 2*.





**Bild 2:** Linjäritet hos NeuMoDx EBV Quant Assay

### Analytisk specificitet – korsreaktivitet

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 35 organismer som kan påträffas i blod-/plasmaprover samt arter som fylogenetiskt liknar EBV i korsreaktivitetssyfte. Organismer med hög koncentration framställdes i pooler med 5–6 organismer. De testade organismerna visas i *tabell 4*. Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tabell 4:** Patogener som används för att demonstrera analytisk specificitet

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

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, kommensala organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med hjälp av samma organismpooler som förberetts för korsreaktivitetstestningen som beskrivs ovan i *tabell 4*. Negativt EBV-plasma spetsades med organismerna och poolades i grupper om 4-7; dessa pooler spetsades sedan med EBV-mål i en koncentration av  $3 \log_{10}$  IE/mL. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här organismerna vilket visas av den minimala avvikelsen i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent.

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, endogena och exogena substanser

NeuMoDx EBV Quant Assay utvärderades vid närvaro av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i EBV-kliniska plasmaprover. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala och immunsuppressiva läkemedel vilka klassificerats i *tabell 5*. Varje substans tillsattes till screenad EBV-negativt humant plasma som spetsades med  $3 \log_{10}$  IE/mL EBV, och proverna analyserades med avseende på interferens. Dessutom interferenstestades plasma som smittats med vanliga sjukdomar kopplade till infektion med EBV. Den genomsnittliga koncentrationen och bias för alla substanser som testats jämfört med kontrollproverna spetsades med samma nivå EBV rapporteras i *tabell 6*. Inga av de exogena eller endogena substanserna påverkade specificiteten hos NeuMoDx EBV Quant Assay.

**Tabell 5: Interferenstestning – exogena ämnen (läkemedelsklassificeringar)**

Pool	Läkemedelsnamn	Klassificering	Pool	Läkemedelsnamn	Klassificering
Pool 1	Azathioprin	Immunsuppressivum	Pool 4	Trimethoprim	Antibiotika
	Cyklosporin	Immunsuppressivum		Vankomycin	Antibiotika
	Foscarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Takrolimus	Immunsuppressivum
	Ganciklovir	Antiviral (EBV)		Everolimus	Immunsuppressivum
	Valganciclovir hydrochloride	Antiviral (EBV)		Clavulanate potassium	Antibiotika
Pool 2	Prednison	Kortikosteroid/ Immunsuppressivum	Pool 5	Famotidin	Histaminreceptorantagonist
	Cidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoxazol	Antibiotika
	Cefotetan	Antibiotika (bredspektrum)		Valacyclovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Cefotaxim	Antibiotika (bredspektrum)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Flukonazol	Antifungal		Ticarcillin disodium	Antibiotika
Pool 3	Mykofenolatmofetil	Immunsuppressivum	Leflunomid	Immunsuppressivum	
	Mycophenolate sodium	Immunsuppressivum			
	Piperacillin	Antibiotika			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsuppressivum			
	Tazobaktam	Modifierad antibiotika			

**Tabell 6: Interferenstestning – exogena och endogena medel**

Endogena	Snittkonc.	Bias
	Log <sub>10</sub> IE/mL	Log <sub>10</sub> IE/mL
Hemoglobin	3,20	0,23
Triglycerider	3,15	0,28
Bilirubin	3,48	-0,05
Albumin	3,2	0,22
Exogena (läkemedel)	Snittkonc.	Bias
	Log <sub>10</sub> IE/mL	Log <sub>10</sub> IE/mL
Pool 1: Azathioprin, Cyklosporin, Foscarnet, Ganciklovir, Valganciclovirhydroklorid	3,30	0,13
Pool 2: Prednison, Cidofovir, Cefotetan, Cefotaxim, Flukonazol	3,22	0,21
Pool 3: Mycophenolate mofetil, Mycophenolate sodium, Piperacillin, Sirolimus/Rapamycin, Tazobactam	3,36	0,07
Pool 4: Trimethoprim, Vancomycin, Tacrolimus, Everolimus, Clavulanate potassium	3,32	0,11
Pool 5: Famotidine, Sulfamethoxazole, Letermovir, Valacyclovir, Ticarcillin disodium, Leflunomide	3,47	-0,10
Sjukdomstillstånd	Snittkonc.	Bias
	Log <sub>10</sub> IE/mL	Log <sub>10</sub> IE/mL
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	3,23	0,20
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	3,33	0,10
Reumatoid artrit (RA)	3,19	0,24

### Precision inom labbet

Precisionen för NeuMoDx EBV Quant Assay fastställdes genom att testa 3 replikat i en panel med 4 prover av EBV-prover beredda med Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) tre gånger per dag, med två NeuMoDx 288 Systems och ett NeuMoDx 96 System över två dagar. Precisionerna inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den övergripande standardavvikelsen fastställdes till  $\leq 0,33 \log_{10}$  IE/mL. Utmärkt precision demonstrerades mellan system, dagar och körningar som det visas i *tabell 7*. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System.

**Tabell 7:** Precision inom labbet – NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx Systems

EBV, målkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	EBV, snittkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	SD inom system	Inom SD för dagen	Inom SD för körning	Övergripande (Inom labb) SD
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

### Reproducerbarhet lot till lot

Reproducerbarhet mellan olika loter av NeuMoDx EBV Quant Assay bestämdes genom utvärdering av tre loter av nyckelreagenser – NeuMoDx EBV Quant Test Strips och Lysis Buffer 5 – som en del av kvalificeringstest (Qualification Testing, QT). En panel med 4 medlemmar med EBV-positiv plasma användes för att fastställa prestanda (*tabell 8*). Variationen inom och mellan loter analyserades och resultaten presenteras i *tabell 8–9*. Maximal övergripande bias var 0,03 log<sub>10</sub> IE/mL och maximal övergripande SD var 0,20 log<sub>10</sub> IE/mL för NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strips. Maximal övergripande bias var 0,12 log<sub>10</sub> IE/mL och maximal övergripande SD var 0,41 log<sub>10</sub> IE/mL för NeuMoDx Lysis Buffer 5. Motsvarande prestanda demonstrerades mellan eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

**Tabell 8:** Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

EBV, målkonc. [IE/mL]	EBV, snittkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	N (Giltiga resultat per lot)	Bias	Mellan lot SD	SD inom lot	Övergripande SD
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

**Tabell 9:** Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

EBV, målkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	EBV, snittkonc. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	N (Giltiga resultat per lot)	Bias	Mellan lot SD	SD inom lot	Övergripande SD
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

### Effektivitet hos provprocesskontrollen

Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) ingår i NeuMoDx EBV Quant Assay för att rapportera processtegfel eller hämmande som påverkar metodens prestanda. Med NeuMoDx CMV Quant Assay som modell, testades effektiviteten hos SPC1 hos plasmaprover under villkor som är representativa för misslyckade kritiska processteg som potentiellt kan uppstå vid provbearbetning och som *eventuellt inte detekteras* av de inbyggda sensorerna som övervakar prestanda hos NeuMoDx System. Positiva prover med cytomegalovirus (vid 3 log<sub>10</sub> IE/mL) och negativa prover utmanades i närvaron av en kontroll under följande förhållanden: närvaro av hämmare, ingen wash-lösning levererad och ingen wash-utblåsning. Ineffektiviteter hos processen som hade en negativ inverkan på detektion/-kvantifiering av viralt mål speglades av prestandan för SPC1-målet som det visas i *tabell 10*. I alla testade instanser visade det sig att provprocesskontrollen på ett adekvat sätt fångade upp de ineffektiva processdelarna eller eventuellt hämmarnärvaro eller också att den förväntade processineffektiviteten inte signifikant försämrade SPC1-detekteringen eller detekteringen/kvantifieringen av viralt mål. SPC1 övervakade därmed analysprestanda för NeuMoDx System framgångsrikt.

**Tabell 10:** Effektiviteten hos provprocesskontrollen för viralt DNA i plasma\*

Testat processtegfel	Status för processkontrollamplifiering 1 för prov	Status för CMV-målamplicering	Analysresultat
Presence of Inhibitor (Närvaro av hämmare)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Delivered (Ingen sköljning tillförd)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Blowout (Ingen Wash-utblåsning)	Amplified (Amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	Positive (Positiv) med kvantifiering inom 0,3 log <sub>10</sub> IE/mL av kontroll

\*Cytomegalovirus (CMV) i plasmaprover användes som modellsystem för effektivitetsbedömning av provprocesskontroll.

### Korskontaminering

Korskontamineringsgraden för plasmaprover bestämdes genom bearbetning av alternerande högt positiva och negativa prover av ett liknande blodburet DNA-virus, Cytomegalovirus (CMV). Tre uppsättningar av sådan checkerboard-testning utfördes med totalt 108 replikat av CMV-negativ plasma och 108 replikat av en spetsad CMV-plasma vid 6,0 log<sub>10</sub> IE/mL. Alla 108 replikaten av det negativa provet rapporterades som negativa, vilket visar förekomsten av ingen korskontaminering under plasmaprovbearbetning i NeuMoDx System.

### Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att demonstrera likvärdighet mellan färska och frysta plasmaprover med användning av ett liknande blodburet virus, CMV, som modell. Färska prover förvarades vid 4 °C tills de spetsades med tre nivåer CMV och ekvivalenstestades. Därefter frystes proverna i minst 24 timmar vid -20 °C. Efter den här perioden av fryst förvaring så tinades proverna och testades om. Resultaten från färska kontra frysta plasmaprover jämfördes för ekvivalens med regressionsanalys. Data uppvisade utmärkt jämförbarhet mellan färska och frusna plasmaprover med en lutning på 1,0 och mycket låg bias (skärningspunkt), såsom visas i *tabell 11* nedan.

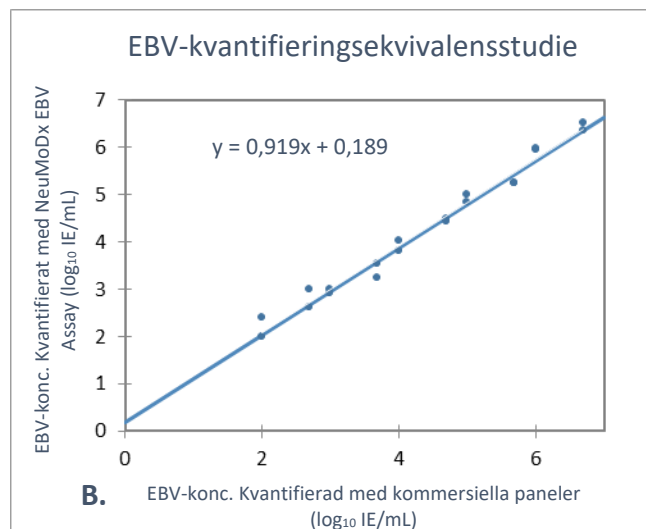
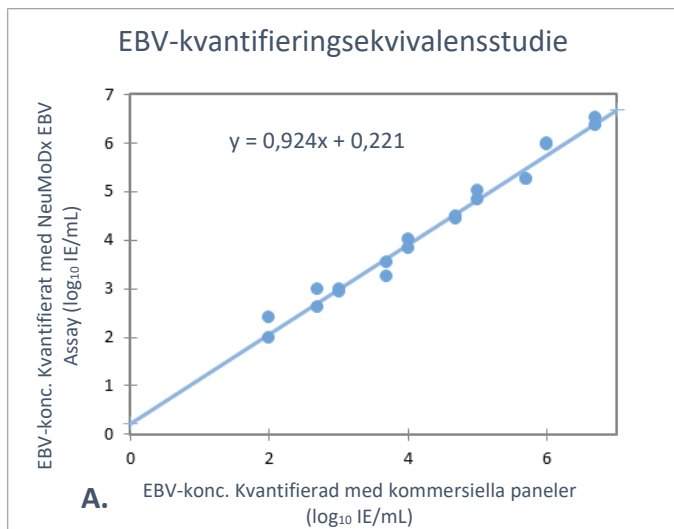
**Tabell 11:** Provmatrisekvivalens

Parameterkrav	Färskt vs fryst EDTA
Lutning [0,9–1,1]	1,000
Skärningspunkt < 0,5 log <sub>10</sub> IE/mL	0,020
p-värde > 0,05	0,631

### Karaktärisering av kvantifieringsprestanda

Den kvantitativa prestanda för NeuMoDx EBV Quant Assay kännetecknades av bearbetning av två kommersiella EBV-verifieringspaneler från AcroMetrix och Exact Diagnostics (spårbarhet enligt WHO:s första internationella standard för EBV) på NeuMoDx Molecular System.

Utmärkt korrelation erhöles mellan NeuMoDx EBV Quant Assay och de två kommersiella EBV-verifieringspanelerna (*bild 3*) när de analyserades med antingen Deming Regression (*bild 3A*) eller Passing-Bablok-metoden (*bild 3B*).



**Bild 3. Ekvivalensdiagram mellan AcroMetrix och Exact Diagnostics verifieringspaneler och NeuMoDx EBV Quant Assay. A. Linjär regressionsanalys med användning av Deming-metoden. B. Linjär regressionsanalys med användning av Passing-Bablok-metoden.**

Kvaliteten hos den linjära Deming-regressionsanpassningen illustreras med en övergripande lutningskoefficient på 0,92 och en skärningspunkt (bias) på 0,22, vilket visar att koncentrationsresultaten erhållna mellan NeuMoDx EBV Quant Assay och EBV-verifieringspaneler korrelerar med acceptabel bias. Linjär Passing-Bablok-anpassning stöder också betydelsen av korrelationen mellan resultaten erhållna från NeuMoDx EBV Quant Assay och EBV-verifieringspaneler med en övergripande lutningskoefficient på 0,92 och en skärningspunkt (bias) på 0,19. *P*-värdet för Passing-Bablok-analysen beräknades vara 0,40.

**Tabell 12: Sammanfattning av linjär regressionsanalys enligt Deming och Passing-Bablok**

Deming-analys		Passing-Bablok-analys	
Skärningspunkt	Lutningskoefficient	Skärningspunkt	Lutningskoefficient
0,22	0,92	0,19	0,92
95 % KI (-0,11 till 0,55)	95 % KI (0,86, 0,99)	95 % KI (-0,08, 0,41)	95 % KI (0,87, 0,99)

**REFERENSER**

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

**VARUMÄRKEN**










NeuMoDx™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

Alla andra produktnamn, varumärken och registrerade varumärken som förekommer i detta dokument tillhör sina respektive ägare.

### SYMBOLER

SYMBOL	BETYDELSE
<b>R only</b>	Enbart med recept
	Tillverkare
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">EC</span> <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REP</span>	Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	Katalognummer
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">LOT</span>	Batchkod
	Utgångsdatum
	Temperaturbegränsning
	Luftfuktighetsgräns
	Får ej återanvändas
	Innehållet räcker till <n> tester
	Läs bruksanvisningen
	Iakttag försiktighet
	Biologiska risker
<b>CE</b>	CE-märkning



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

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



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
Nederländerna



Teknisk support/Vaksamhetsrapportering: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)