

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

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

**IVD** Til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular SystemsOppdateringer finnes på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 288 Molecular System, art.nr. 40600108

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 96 Molecular System, art.nr. 40600317

**TILTENKT BRUK**

NeuMoDx CMV Quant Assay er en automatisert, *in vitro*-nukleinsyreamplifikasjonstest for kvantifisering av cytomegalovirus (CMV) DNA i humane plasmaprøver for CMV genotyper gB1 til gB4 hos CMV-infiserte personer. NeuMoDx CMV Quant Assay på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) omfatter automatisert DNA-ekstraksjon for å isolere målnukleinsyren fra prøven og sanntids-polymerasekjedereaksjon (Polymerase Chain Reaction, PCR) for å måle de svært konservative sekvensene i cytomegalovirusets genom.

NeuMoDx CMV Quant Assay er ment til *in vitro*-kvantifisering av cytomegalovirus (CMV) DNA i ferske og frosne humane plasmaprøver ved hjelp av NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems. Denne analysen er ment til bruk sammen med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsframgang til kliniske styring og overvåking av CMV-infeksjon. Analysen er ikke ment til bruk som screeningstest for å avdekke forekomst av CMV i blod eller blodprodukter.

**SAMMENDRAG OG FORKLARING**

Humant fullblod innsamlet i sterile blodinnsamlingsrør med enten EDTA eller ACD som antikoagulant kan brukes til klargjøring av plasma. Som forberedelse til testing lastes plasma i et prøverør kompatibelt med NeuMoDx System på NeuMoDx System ved hjelp av en utpekt prøverørstransportør for å starte behandling. For hver prøve blandes en 550 µl alikvot av plasmaprøve med NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som kreves for å ekstrahere målnukleinsyren, forberede det isolerte DNA-et for sanntids-PCR-amplifikasjon, og hvis slikt er til stede, amplifisere og detektere amplifikasjonsproduktene (deler av CMV-genommålet i svært konsentrerte regioner). NeuMoDx CMV Quant Assay omfatter en DNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control 1, SPC1) for å overvåke forekomst av potensielle hemmende stoffer samt NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraksjons- og amplifikasjonsprosessen.

CMV er et vanlig dobbeltrådet DNA-virus i herpesvirusfamilien, som infiserer mennesker i alle aldre. Det anslås at ved 40-års alderen vil mer enn halvparten av befolkningen være infisert med CMV.<sup>1</sup> CMV spres via kroppsvæsker som spytt, urin, blod, tårer, sæd og brystmelk. Immunkompetente individer med CMV-infeksjon er vanligvis asymptomatiske, men infeksjon av viruset kan være alvorlig i spedbarn og mennesker med redusert immunforsvar. Gravide mødre kan overføre CMV til sitt ufødte barn og forårsake medfødt CMV, noe som kan føre til hørselstap og andre utviklingsmessige og motoriske forsinkelser. CMV er et stort patogen for immunkompromitterte pasienter, blant andre mottagere av organtransplantasjon, mottagere av hematopoetisk celletransplantasjon, HIV-smittede pasienter og pasienter som behandles med immunmodifiserende legemidler.<sup>2</sup> Overvåking av CMV-virusbelastning brukes primært i disse immunkompromitterte befolkningsgruppene, hvor det forårsaker dødelighet, blant annet pneumoni, gastrointestinale traktus-sykdommer, hepatitt og encefalitt samt økt sjanse for avvising av organer og andre opportunistiske infeksjoner.

Diagnostisering av CMV-infeksjon er ikke basert på nukleinsyrestesting (Nucleic Acid Testing, NAT) alene; NAT-testing brukes i tillegg til antigenesting, som innbefatter farging av polymorfonukleære leukocytter (Polymorphonuclear Leukocytes, PMN-er) for tidlig strukturell lavere matriseprotein av CMV samt andre symptomer pasienten kan ha. Testing av CMV-virusbelastning brukes rutinemessig for å avgjøre når antiviral terapi er nødvendig samt for å overvåke effektiviteten til slike terapiformer.<sup>3</sup> Mens gjeldene retningslinjer for styring og behandling av CMV-infeksjoner i immunkompromitterte individer er ambigøse for når antiviral terapi bør innledes, krever alle konstant overvåking av virusbelastningen så fort antiviral terapi innledes for å hjelpe til med å redusere medikamentenes bivirkninger i slike befolkningsgrupper.

**PROSEDYREPRINSIPPER**

NeuMoDx CMV Quant Assay på NeuMoDx System bruker NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrators, NeuMoDx CMV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx-reagenser til generell bruk for å utføre analysen. NeuMoDx CMV Quant Assay kombinerer automatisert DNA-ekstraksjon, amplifikasjon og deteksjon ved sanntids-PCR. Fullblodsprøver samles i EDTA- eller ACD-rør for klargjøringen av plasma. Plasmaprøven i et NeuMoDx System-kompatibelt prøverør plasseres i en prøverørstransportør som deretter lastes på NeuMoDx System for behandling. Operatøren trenger ikke å gjøre noe mer.

NeuMoDx Systems bruker en kombinasjon av varme, lytisk enzym og ekstraksjonsreagenser for automatisk utføring av cellelysering, DNA-ekstraksjon og fjerning av hemmere. De frisatte nukleinsyrene innfanges av paramagnetiske partikler. Partiklene, med de bundne nukleinsyrene, blir lastet inn i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne, ikke-DNA-komponentene videre vaskes bort med NeuMoDx Wash Reagent, og det bundne DNA elueres ved å bruke NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx Systems bruker dette eluerte DNA-et til å rehydrere egenutviklede NeuDry™-amplifikasjonsreagenser som inneholder alle elementene som kreves for PCR-amplifikasjon av de CMV-spesifikke og SPC1-målene. Etter at av NeuDry PCR-reagenser er rekonstituert, fordeler NeuMoDx System den klargjorte PCR-blandingen i NeuMoDx Cartridge. Amplifikasjon og deteksjon av DNA-sekvenser for kontroll og mål (hvis de er til stede) skjer i PCR-kammerområdet til NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge er også designet for å inneholde amplikonet etter sanntids-PCR, og i hovedsak eliminere kontaminasjonsrisikoen etter amplifikasjon.

De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprobekjemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) ved bruk av fluorogene oligonukleotidprobemolekyler som er spesifikke for amplikonene for deres respektive mål.

TaqMan-prober består av en fluorofor som er kovalent bundet til 5'-enden av oligonukleotidproben og en slukker i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluorofor og slukker i nærheten, noe som fører til at slukkermolekylet slukker fluorescensen sluppet ut av fluoroforen via FRET (Försters resonansenergioverføring).

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primeren og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'-til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til malen. Nedbryting av proben frisetter fluoroforen og bryter nærheten til slukkeren, noe som dermed overkommer slukkingeffekten på grunn av FRET og tillater fluorescensdeteksjon av fluoroforen. Det resulterende fluorescenssignalet detektert i NeuMoDx System kvantitativ PCR-termosyklus er direkte proporsjonalt med den frisatte fluoroforen og kan korreleres til mengden mål-DNA til stede.

En TaqMan-probe merket med en fluorofor (magnetisering: 490 nm og stråling: 521 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden, brukes til å detektere CMV-DNA. For deteksjon av SPC1 er TaqMan-proben merket med et alternativt fluorescerende fargestoff (magnetisering: 535 nm og stråling: 556 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden. NeuMoDx System-programvaren overvåker det fluorescerende signalet fra TaqMan-probene i slutten av hver amplifikasjonssyklus. Når amplifikasjon er fullført, analyserer NeuMoDx System-programvaren dataene og rapporterer et sluttresultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Ubestemt) / UNRESOLVED (Uløst)). Hvis et resultat er POSITIVE (Positivt), gir NeuMoDx System-programvaren også en kvantitativ verdi knyttet til prøven, eller rapporterer om den beregnede konsentrasjonen er innenfor grensene for kvantifisering.

### REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

#### Medfølgende materiale

REF	Innhold	Tester per enhet	Tester per pakke
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> Tørkede PCR-reagenser som inneholder CMV-spesifikke TaqMan-prober og -primere, SPC1-spesifikk TaqMan-probe og -primere.	16	96

#### Nødvendige reagenser og forbruksartikler som ikke følger med (kan kjøpes separat fra NeuMoDx)

REF	Innhold
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
800400	<b>NeuMoDx CMV Calibrators</b> Sett med CMV høy og lav kalibrator til engangsbruk for å fastsette standardkurvens gyldighet
900401	<b>NeuMoDx CMV External Controls</b> Sett med CMV Positive og negative kontroller til engangsbruk for å etablere daglig gyldighet av NeuMoDx CMV Quant Assay
400400	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre</b>

#### Nødvendige instrumenter

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

### ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip er bare for *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx Systems.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved å behandle høye og lave kalibratorer fra NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]) må være tilgjengelig før testresultater kan genereres for kliniske prøver.

- NeuMoDx CMV External Controls (REF 900401) må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Minste prøvevolum er 1 ml EDTA/ACD-plasma ved bruk av 32-rørs transportør; volum mindre enn 1 ml kan føre til en NeuMoDx System-feil.
- Hvis du utfører en CMV-analyse på prøver oppbevart ved feil temperatur eller over angitt oppbevaringstid, kan dette produsere ugyldige eller feilaktige resultater når du bruker NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Unngå til enhver tid mikrobe- og deoksyribonuklease (DNase)-kontaminering av alle reagenser og forbruksartikler. Bruken av sterile DNase-fri overføringspipetter til engangsbruk anbefales. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifikasjon. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- I tilfeller der PCR-tester med åpne rør også er gjennomført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx CMV Quant Test Strip, de ytterligere forbruksartiklene og reagensene som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Sørg for ikke å berøre den øvre overflaten av NeuMoDx Cartridge, folieforselingsoverflaten av NeuMoDx CMV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øvre overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer 1; håndtering av forbruksartiklene og reagensene må utføres bare ved å berøre sideoverflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) kan fås på anmodning.
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Håndter alltid prøver som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer som de som er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> og i CLSI-dokument M29-A4.<sup>5</sup>
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.

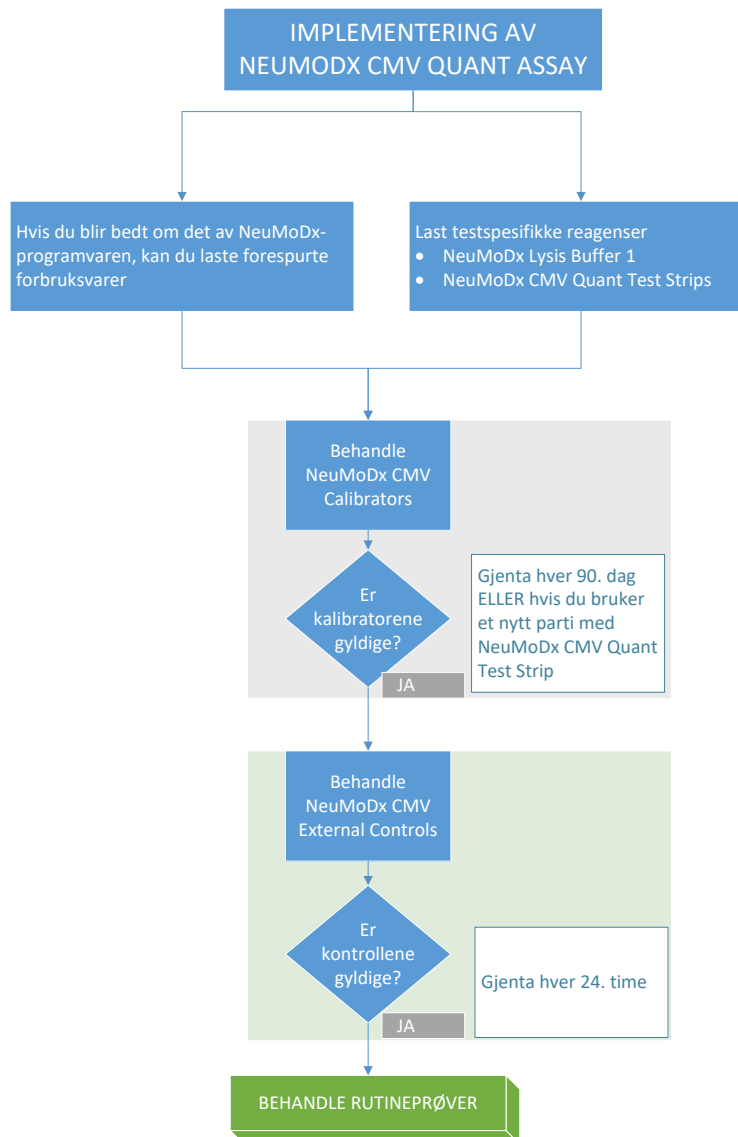
### PRODUKTLAGRING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

- Alle NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler (med unntak av eksterne kontroller og kalibratorer) er stabile i primæremballasjen ved 18 til 23°C innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten.
- En NeuMoDx CMV Quant Test Strip som er lastet inn i NeuMoDx System er stabil i 14 dager; NeuMoDx System-programvaren vil be om fjerning av teststrimlene som har vært i bruk på NeuMoDx System i mer enn 14 dager, og nye NeuMoDx CMV Quant Test Strips vil måtte åpnes og lastes inn på NeuMoDx System.
- NeuMoDx-kalibratorene og kontrollene er ikke-infeksiøse, men bør kasseres i beholderen for biologisk farlig avfall etter bruk ettersom de vil inneholde målmateriale etter behandling på systemet, noe som kan forårsake kontaminering hvis det ikke håndteres korrekt.

### INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

1. Håndter alle prøver som om de vil kunne overføre smittefarlige stoffer.
2. Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
3. For å klargjøre plasmaprøver skal fullblod samles inn i sterile rør ved hjelp av EDTA eller ACD som antikoaguleringsmidler. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret.
4. Fullblod samlet inn i enheter angitt ovenfor kan lagres og/eller transporteres i opptil 24 timer ved 2–25 °C før plasmaklargjøring. Plasmaklargjøring skal utføres ifølge produsentens anvisninger.
5. Klargjorte plasmaprøver kan bli værende på NeuMoDx System i opptil 8 timer før behandling. Hvis ytterligere lagringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses.
6. Klargjorte plasmaprøver skal lagres ved 2–8 °C i høyst 7 dager før testing og høyst 8 timer ved romtemperatur.
7. Klargjorte prøver kan oppbevares ved ≤ -20 °C i opptil 26 uker for plasma før behandling; plasmaprøver bør utsettes for mer enn 2 fryse-/tine-sykluser før bruk.
  - a. Hvis prøver fryses, må disse få tine fullstendig ved romtemperatur (15–30 °C). Roter for å generere en jevnt fordelt prøve.
  - b. Når fryste prøver tines, skal testing skje innen 8 timer.
8. Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.
9. Merk prøver tydelig, og angi at de er til CMV-testing.
10. Gå videre til avsnittet *Testklargjøring*.

Hele prosessen for implementering av NeuMoDx CMV Quant Assay er oppsummert nedenfor i *figur 1*.



Figur 1: Implementeringsarbeidsflyt for NeuMoDx CMV Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Testklargjøring

1. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Bruk en overføringspipette, og overfør  $\geq 1$  ml plasma til det strekkodede prøverøret (sekundærrøret) ved hjelp av en 32-rørs transportør eller  $> 2$  ml hvis en 24-rørs transportør brukes. Sørg for ikke å overføre eventuelle koagler fra plasmaprøven til prøverøret. Bruk en annen overføringspipette for hver prøve.
3. Sekundærrøret må oppfylle følgende rørspekifikasjoner som er kompatible med NeuMoDx System basert på prøverørstransportøren som brukes for behandling.
  - 32-rørstransportør: mellom 11 mm og 14 mm i diameter og mellom 60 mm og 120 mm i høyden
  - 24-rørstransportør: mellom 14,5 mm og 18 mm i diameter og mellom 60 mm og 120 mm i høyden

### Bruk av NeuMoDx™ System

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndbøkene for NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems (art.nr. 40600108 og 40600317)

1. Fyll opp én eller flere NeuMoDx System Test Strip-transportører med NeuMoDx CMV Quant Test Strips, og bruk trykkskjermen til å laste teststrimmeltransportøren(e) inn i NeuMoDx System.
2. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker trykkskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, bytter du NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent og tømmer primingavfallet eller beholderen for biologisk farlig avfall, avhengig av hva som er relevant.
4. Hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren, behandler du Calibrators [REF 800400] og/eller External Controls [REF 900401] etter behov. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
5. Last prøve/kalibrator/kontrollrør(ene) inn i en standard 32-rørs transportør, og sikre at hettene fjernes fra alle prøverørene.
6. Plasser prøverørstransportøren i hvilken som helst tom posisjon på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren inn i NeuMoDx System. Dette vil starte behandling av de lastede prøvene for de identifiserte testene.

### BEGRENSNINGER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip kan bare brukes på NeuMoDx Systems.
- Ytelsen til NeuMoDx CMV Quant Test Strip har blitt etablert for plasmaprøver klargjort fra fullblod samlet inn med EDTA/ACD som antikoagulasjonsvæske; bruk av NeuMoDx CMV Quant Test Strip med andre kliniske prøvetyper har ikke vært vurdert, og ytelseegenskaper for testen er ukjente for andre prøvetyper.
- Siden deteksjon av CMV er avhengig av antallet organismer i prøven, er pålitelige resultater avhengig av riktig prøvetaking, -håndtering og -lagring.
- Kalibratorer og eksterne kontroller må behandles som anbefalt i pakningsvedleggene, og hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvare før rutinemessige kliniske prøver behandles.
- Feilaktige resultater kan skyldes feil innsamling, håndtering og oppbevaring av prøven, teknisk feil eller prøverørsforveksling. I tillegg kan falskt negative resultater forekomme fordi antallet virale partikler i prøven er under grensen for deteksjon av NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
- Hvis både CMV-mål og SPC1-målet ikke amplifiseres, rapporteres et ugyldig resultat (Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst)), og testen bør gjentas.
- Hvis NeuMoDx CMV Quant Assay-resultatet er positivt, men kvantifiseringsverdien er over kvantifiseringsgrensene, vil NeuMoDx System rapportere hvorvidt detektert CMV var *under* nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Hvis den detekterte CMV var under LLoQ, kan NeuMoDx CMV Quant Assay gjentas (hvis ønskelig) med en annen delmengde av prøven.
- Hvis den detekterte CMV er over ULoQ, kan NeuMoDx CMV Quant Assay gjentas med en fortynnet delmengde av den originale prøven. Det anbefales en 1:100 eller 1:1000 fortynning i CMV-negativ plasma eller Basematrix 53-fortynner (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Konsentrasjonen til den opprinnelige prøven kan beregnes på følgende måte:  

$$\text{Opprinnelig prøvekonsentrasjon} = \log_{10}(\text{fortynningsfaktor}) + \text{rapportert konsentrasjon av den fortynnede prøven}.$$
- Sporadisk tilstedeværelse av PCR-hemmere i plasma kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette inntreffer, anbefales det å gjenta testen med samme prøve fortynnet i Basematrix 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat viser ikke nødvendigvis forekomst av levedyktige organismer. Men et positivt resultat er presumptivt for forekomsten av Cytomegalovirus DNA.
- Delesjon eller mutasjoner i de konserverte regionene NeuMoDx CMV Quant Assay har som mål, kan påvirke deteksjon eller kan føre til et feilaktig resultat ved bruk av NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Resultater fra NeuMoDx CMV Quant Assay bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger tilgjengelig for legen. Testen skal ikke brukes til å diagnostisere infeksjon.
- God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

### RESULTATBEHANDLING

Tilgjengelige resultater kan vises eller skrives ut fra fanen «Results» (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på trykkskjermen i NeuMoDx System.

Resultatene fra NeuMoDx CMV Quant Assay genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved hjelp av beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametere angitt i NeuMoDx CMV Assay Definition File (CMV ADF). Et NeuMoDx CMV Quant Assay-resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapportert CMV-konsentrasjon, Positive (Positiv) over ULoQ, Positive (Positiv) under LLoQ, Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst) basert på amplifikasjonsstatus for målet og prøveprosesseringskontrollen. Resultater rapporteres basert på beslutningsalgoritmen i *tabell 1*.

**Tabell 1: Beslutningsalgoritme for NeuMoDx CMV Quant Assay**

Resultat	CMV	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiv)	[2 ≤ Ct ≤ 9 AND (OG) EPR > 2 AND (OG) EP ≥ 1500] OR (ELLER) [9 ≤ Ct ≤ 41 AND (OG) EP ≥ 1500]	I/R
Positive (Positiv), over øvre kvantifiseringsgrense [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (log <sub>10</sub> IE/ml)	[CONC] (KONS) > 8,0 log <sub>10</sub> IE/ml, NO QUANT (INGEN QUANT)	I/R
Positive (Positiv), under nedre kvantifiseringsgrense [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (log <sub>10</sub> IE/ml)	[CONC] (KONS) < 1,3 log <sub>10</sub> IE/ml, NO QUANT (INGEN QUANT)	I/R
Negative (Negativ)	I/R OR (ELLER) [2 ≤ Ct < 9 AND (OG) EPR ≤ 2] OR (ELLER) [9 ≤ Ct ≤ 41 AND (OG) EP < 1500] OR (ELLER) Ct > 41	AMPLIFIED (AMPLIFISERT) (28 ≤ Ct ≤ 34) and (og) EP ≥ 2000
Indeterminate (Ubestemt)	NOT AMPLIFIED (IKKE AMPLIFISERT) / System Errors Noted (Systemfeil oppdaget)	
Unresolved (Uløst)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (IKKE AMPLIFISERT / ingen systemfeil oppdaget)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens) (etter baselinerkorrigering); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensforhold); Ct = Cycling Threshold (Syklusterskel);  
Quant = beregnet mengde CMV til stede uttrykt i log<sub>10</sub> IE/ml. Se Testberegning nedenfor.

### Testberegning

- For prøver innenfor kvantifiseringsområdet av NeuMoDx CMV Quant Assay, beregnes konsentrasjonen av CMV-DNA i prøvene ved hjelp av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten.
  - En «kalibreringskoeffisient» beregnes basert på resultatene fra NeuMoDx CMV Calibrators behandlet for å etablere gyldighet av standardkurven, for et spesifikt parti av NeuMoDx CMV Quant Test Strip, på et spesifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoeffisienten er omfattet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av CMV DNA.
- NeuMoDx CMV Quant Assay-resultater rapporteres i Log<sub>10</sub> IE/ml.
- Den resulterende kvantifiseringen av de ukjente prøvene er sporbar til WHO's 1. CMV internasjonale standard.

### Testkalibrering

En gyldig kalibrering basert på standardkurven er nødvendig for å kvantitere CMV DNA i prøvene. For å generere gyldige resultater må en testkalibrering fullføres ved hjelp av kalibratorer fra NeuMoDx Molecular, Inc.

### Eksterne kalibratorer

- NeuMoDx CMV Calibrators er tilgjengelig i et sett [REF 800400] og inneholder ikke-infeksiøs innkapslet CMV-mål klargjort i Basematrix.
- Et sett av CMV-kalibratorer må behandles med hvert nytt parti av NeuMoDx CMV Quant Test Strips, eller hvis en ny CMV-analysedefinisjonsfil lastes opp til NeuMoDx System, eller hvis det aktuelle settet av kalibratorer er over gyldighetsperioden (for øyeblikket satt til 90 dager), eller hvis NeuMoDx System-programvaren modifiseres.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren om når kalibratorene må behandles; et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes for testing før kalibratorene er ferdig behandlet.

4. Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:
  - a) Et sett med to kalibratorer – høy og lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
  - b) For å generere gyldige resultater må minst 2 av de 3 replikatene gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er  $3 \log_{10}$  IE/ml, og det nominelle målet for høy kalibrator er  $5 \log_{10}$  IE/ml.
  - c) En kalibreringskoeffisient beregnes til å representere forventet variasjon mellom teststrimmelpartier; denne kalibreringskoeffisienten benyttes i bestemmelsen av endelig CMV-konsentrasjon.
5. Hvis én av eller begge kalibratorene ikke består gyldighetskontrollen, må du gjenta behandlingen av de(n) ikke fullførte kalibratoren(e) ved hjelp av et nytt hetteglass. Hvis én kalibrator ikke består gyldighetskontrollen, er det mulig kun å gjenta den ikke fullførte kalibratoren siden systemet ikke krever at brukeren kjører begge igjen.
6. Hvis kalibratorene ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en andre etterfølgende gang, må du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kvalitetskontroll

Ifølge lokale bestemmelser er laboratoriet vanligvis ansvarlig for kontrollprosedyrer som overvåker nøyaktighet og presisjon for hele den analytiske prosessen, og det må fastsette antall, type og frekvens av testkontrollmaterialer ved hjelp av kontrollerte ytelsesspesifikasjoner for et uendret, godkjent testsystem.

### Eksterne kontroller

1. Eksternt kontrollmateriale, som inneholder ikke-smittsomt innkapslet CMV-mål i Basematrix for positive kontroller, er levert av NeuMoDx Molecular, Inc. i et sett som inneholder NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401].
2. Positive og negative eksterne kontroller må behandles én gang hver 24. time. Hvis det ikke finnes et sett med gyldige eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at disse kontrollene må behandles før prøveresultater rapporteres.
3. Hvis det er nødvendig med eksterne kontroller, henter du ut settet med eksterne kontroller fra fryseren og lar hetteglassene stabilisere seg ved romtemperatur (15–30 °C) til de er fullstendig tint. Roter forsiktig for å sikre homogenitet.
4. Bruk trykkskjermen og en prøverørtransportør plassert på autoinnlasterhyllene, og last de positive og negative kontrollhetteglassene inn i NeuMoDx System. NeuMoDx System vil gjenkjenne strekkoden og begynne å behandle prøverørene med mindre reagenser eller forbruksmaterieell som er nødvendig for testing ikke er tilgjengelig.
5. Gyldigheten til eksterne kontroller vil vurderes av NeuMoDx System basert på det forventede resultatet. Den positive kontrollen skal gi et CMV-positivt resultat, og den negative kontrollen bør gi et CMV-negativt resultat.
6. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
  - a) Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve angir et prøvekontamineringsproblem.
  - b) Testresultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
  - c) I hvilket som helst av tilfellene ovenfor må du gjenta mislykkede NeuMoDx CMV External Control(s) med et nylig tint glass med kontrollen(e) som ikke bestod gyldighetstesten.
  - d) Hvis positiv NeuMoDx CMV External Control fortsetter å rapportere et Negative (Negativt) resultat, må du kontakte NeuMoDx' kundeservice.
  - e) Hvis negativ NeuMoDx CMV External Controls fortsetter å rapportere et Positive (Positivt) resultat, må du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, herunder bytte ALLE reagenser før du kontakter NeuMoDx' kundeservice.

### (Interne) prøveprosesskontroller

En eksogen prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1) er inkorporert i NeuMoDx Extraction Plate og gjennomgår hele prosessen med nukleinsyre-ekstraksjon og sanntids-PCR-amplifikasjon med hver prøve. Primere og prober spesifikk for SPC1 er også inkludert i hver NeuMoDx CMV Quant Test Strip som muliggjør deteksjon av tilstedeværelse av SPC1 sammen med mål-CMV-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex sanntids-PCR. Deteksjon av SPC1-amplifikasjon gjør det mulig for NeuMoDx System-programvaren å overvåke effekten av DNA-ekstraksjons- og PCR-amplifikasjonsprosessene.

### Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx CMV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat, rapporteres den som Indeterminate (Ubestemt) (IND) eller Unresolved (Uløst) (UNR) basert på typen feil som har skjedd.

Et ubestemt resultat (IND) rapporteres hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil under prøvebehandlingen. Hvis et ubestemt resultat (IND) rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

Et UNR-resultat rapporteres hvis ingen gyldig amplifikasjon av CMV-DNA eller SPC1 detekteres, noe som angir mulig reagenssvikt eller forekomst av hemmere. Hvis et UNR-resultat rapporteres, kan en ny test utføres på nytt som et første trinn. Hvis en ny test svikter, kan en fortennet prøve brukes til å dempe effektene av eventuell prøvehemming.

### YTELSESEGNSKAPER

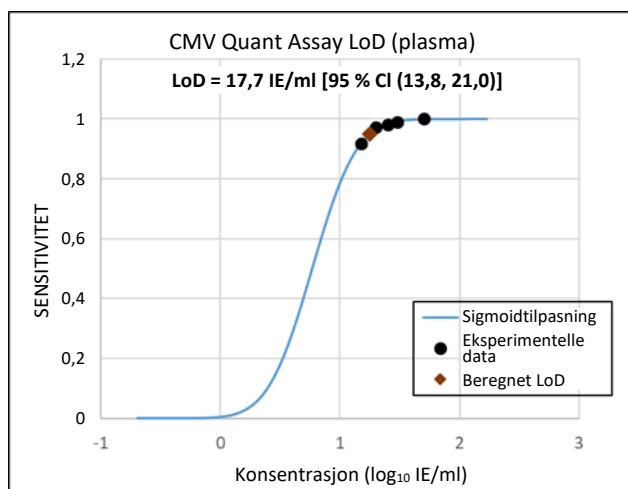
#### Analytisk sensitivitet – Deteksjonsgrense ved bruk av WHO-standard

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx CMV Quant Assay ble karakterisert ved testing av negative prøver og en fortyningsserie av WHO's 1. internasjonale standard i screenet negativt humant plasma for å bestemme deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx Systems. LoD-en ble definert som det laveste målnivået oppdaget ved en rate på 95 % som bestemt av Probit-stilanalyse. Studien ble utført over 3 dager mellom flere systemer med flere partier av NeuMoDx-reagenser. Hvert system behandlet 18 replikater ved hvert fortynningsnivå per dag. Deteksjonsrater vises i *tabell 2*.

**Tabell 2:** Positive deteksjonsrater for LoD-bestemmelse av NeuMoDx CMV Quant Assay

Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [ $\log_{10}$ IE/ml]	PLASMA		
		Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate
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 %

LoD-en av NeuMoDx CMV Quant Assay i plasma for varianten gB1 ble bestemt til å være 17,7 IE/ml ( $1,25 \log_{10}$  IE/ml) med 95 % konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 13,8 til 21,0 IE/ml, ( $1,14$  til  $1,32 \log_{10}$  IE/ml) [*figur 2*]. LoD-en på tvers av genotyper er 20,0 IE/ml ( $1,30 \log_{10}$  IE/ml) som bestemt ved treffrateanalysen.



**Figur 2:** Probit-stilanalyse brukt til å bestemme LoD-en av NeuMoDx CMV Quant Assay i plasmaprøver

#### Analytisk sensitivitet – Kvantiteringsgrense – Nedre kvantiseringsgrense (LLOQ)

Nedre kvantiseringsgrense (LLOQ) er definert som det laveste målnivået ved hvilket > 95 % deteksjon oppnås OG TAE  $\leq 1,0$ . For å bestemme LLOQ ble den totale analytiske feilen (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hvert av CMV-målnivåene som ble detektert å rapportere > 95 % deteksjon som del av LoD-beregning. TAE er definert på følgende måte:

$$\text{TAE} = \text{skjevhet} + 2 \cdot \text{SD} \quad (\text{Westgard-statistikk})$$

Skjevheten er den absolutte verdien av forskjellen mellom gjennomsnittet for beregnet konsentrasjon og den forventede konsentrasjonen. SD henviser til standardavviket fra den kvantifiserte verdien av prøven.

Samlede resultater for de 5 nivåene av CMV (variant gB1) plasmaprøver brukt i LLOQ-studien vises i *tabell 3*. Basert på dette datasettet og den tidligere bestemte LoD-en, ble LLOQ-en bestemt til å være 20,0 IE/ml ( $1,30 \log_{10}$  IE/ml) og bekreftet på tvers av genotyper.



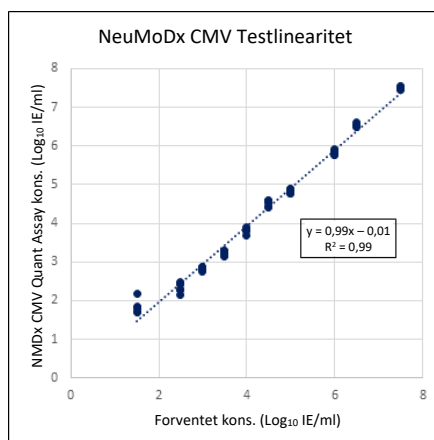
**Tabell 3:** LLoQ for NeuMoDx CMV Quant Assay, med skjevhet og TAE

Målkons. [IE/ml]	Målkons. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Plasma				
		Gjennomsnittlig kons. [ $\log_{10}$ IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	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

Basert på utfallet av disse studiene ble både LoD og LLoQ for NeuMoDx CMV Quant Assay bestemt til å være 20,0 IE/ml [ $1,30 \log_{10}$  IE/ml].

### Linearitet og bestemmelse av øvre kvantiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Linearitet og bestemmelse av øvre kvantiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) til NeuMoDx CMV Quant Assay ble etablert i plasma ved å klargjøre en fortykningsserie med NeuMoDx innkapslet CMV-mål og Exact CMV Positiv Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med etablert sporbarhet til WHO's 1. internasjonale standard. Et panel med 9 medlemmer ble klargjort i gruppert CMV-negativt plasma for å opprette et panel som vil favne et konsentrasjonsområde på 8– $1,7 \log_{10}$  IE/ml. ULoQ-en til NeuMoDx CMV Quant Assay ble bestemt til å være  $8,0 \log_{10}$  IE/ml. CMV-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System sammenlignet med de forventede verdiene presenteres på figur 3.



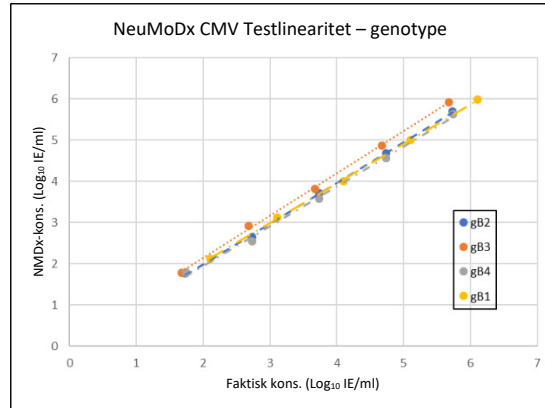
**Figur 3:** Linearitet av NeuMoDx CMV Quant Assay

### Linearitet mellom genotyper

Lineariteten av NeuMoDx CMV Quant Assay mellom fire CMV-genotyper (gB1, gB2, gB3 og gB4) ble karakterisert ved å teste fem forskjellige konsentrasjoner av hver genotype av CMV klargjort i gruppert CMV-negativt plasma. Nivåene av CMV-mål testet i denne studien var avhengig av konsentrasjonen av kildeprøven, og var derfor forskjellige mellom genotyper. Studien ble utført ved å teste 6 replikater av hver av de 4 genotypene ved 5 konsentrasjoner. Linearitet mellom fire CMV-genotyper er presentert i tabell 4 og figur 4.

**Tabell 4:** Linearitet av NeuMoDx CMV Quant Assay mellom genotyper

Genotype	Linearitetsligning $y = \text{NeuMoDx CMV Assay kvantifisering}$ $x = \text{Forventet kvantifisering}$	R <sup>2</sup>
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



**Figur 4:** Linearitet av NeuMoDx CMV Quant Assay mellom genotyper

### Analytisk spesifisitet – Kryssreaktivitet

Analytisk spesifisitet ble vist ved screening av 35 organismer vanligvis funnet i blod-/plasmaprøver samt arter fylogenetisk tilsvarende CMV for kryssreaktivitet. Organismer ble klargjort i grupper på mellom 5 og 6 organismer og testet ved en høy konsentrasjon. De testede organismene vises i *tabell 5*. Det ble ikke observert noen kryssreaktivitet med noen av de testede organismene, noe som bekrefter 100 % analytisk spesifisitet av NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabell 5:** Patogener for visning av analytisk spesifisitet

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

### Analytisk spesifisitet – Interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx CMV Quant Assay ble evaluert for interferens i nærvær av ikke-målorganismer ved hjelp av de samme organismegruppene klargjort for kryssreaktivitetstesting angitt ovenfor i *tabell 5*. Negativt CMV-plasma ble tilsatt organismer gruppert i grupper på 4–7, og også tilsatt CMV-mål ved en konsentrasjon på 3 Log<sub>10</sub> IE/ml. Det ble ikke observert noen signifikant interferens i nærvær av disse kommensale organismene som angitt av det minimale kvantifiseringsavviket fra kontrollprøver som ikke inneholdt noen forstyrrende stoffer.

### Analytisk spesifisitet – Forstyrrende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx CMV Quant Assay ble evaluert i nærvær av typiske eksogene og endogene interfererende stoffer detektert i kliniske CMV-plasmaprøver. Disse inkluderte unormalt høye nivåer av blodkomponenter samt felles antivirale legemidler, som ble klassifisert i *tabell 6*. Hvert stoff ble lagt til screenet CMV-negativt humant plasma tilsatt 3 log<sub>10</sub> IE/ml CMV, og prøver ble analysert for interferens. Dessuten ble vanlig sykdomstilstandsplasma knyttet til CMV-infeksjon også testet for potensiell interferens. Gjennomsnittlig konsentrasjon og skjevhet for alle testede stoffer sammenlignet med kontrollprøver tilsatt samme nivå av CMV, er rapportert i *tabell 7*. Ingen av de eksogene og endogene stoffene påvirket spesifisiteten til NeuMoDx CMV Quant Assay.

**Tabell 6:** Interferenstesting – Eksogene stoffer (legemiddelklassifiseringer)

Gruppe	Legemiddelnavn	Klassifisering	Gruppe	Legemiddelnavn	Klassifisering
Gruppe 1	Azatioprin	Immunsuppressiv	Gruppe 4	Trimetoprim	Antibiotikum
	Ciklosporin	Immunsuppressiv		Vancomycin	Antibiotikum
	Foscarnet	Antiviral (herpesvirus)		Takrolimus	Immunsuppressiv
	Gansiklovir	Antiviral (CMV)		Everolimus	Immunsuppressiv
	Valgansiklovirhydr oklorid	Antiviral (CMV)		Klavulanatkalium	Antibiotikum
Gruppe 2	Prednison	Kortikosteroid/immunsuppressiv	Gruppe 5	Famotidin	Histaminreseptorantagonist
	Cidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfametoksazol	Antibiotikum
	Cefotetan	Antibiotikum (bredspektrum)		Valacyclovir	Antiviral (herpesvirus)
	Cefotaksim	Antibiotikum (bredspektrum)		Letermovir	Antiviral (CMV)
	Fluconazol	Antifungal		Ticarcillin dinatrium	Antibiotikum
Gruppe 3	Mykofenolatmofetil	Immunsuppressiv	Leflunomid	Immunsuppressiv	
	Mykofenolatnatrium	Immunsuppressiv			
	Piperacillin	Antibiotikum			
	Sirolimus/Rapamycin	Immunsuppressiv			
	Tazobaktam	Modifisert antibiotikum			

**Tabell 7:** Interferenstesting – eksogene og endogene stoffer

Endogene	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Hemoglobin	2,97	0,07
Triglyserider	3,03	0,13
Bilirubin	3,01	0,11
Albumin	2,88	-0,02
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Gruppe 1: Azatioprin, ciklosporin, foscarnet, gansiklovir, valganciklovirhydroklorid	2,88	-0,02
Gruppe 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaksim, flukonazol	2,91	0,01
Gruppe 3: Mykofenolatmofetil, mykofenolatnatrium, piperacillin, sirolimus/rapamycin, tazobaktam	2,98	0,08
Gruppe 4: Trimetoprim, vankomycin, takrolimus, everolimus, klavulanatkalium	3,05	0,15
Gruppe 5: Famotidin, sulfametoksazol, letermovir, valgansiklovir, ticarcillindinatrium, leflunomid	2,87	-0,03
Sykdomsstatus	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	log <sub>10</sub> IE/ml	log <sub>10</sub> IE/ml
Antinukleært antistoff (ANA)	2,90	0,00
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,04	0,14
Revmatoid artritt	2,99	0,09

### Presisjon innenfor laboratoriet

Presisjonen til NeuMoDx CMV Quant Assay ble bestemt ved å teste 3 replikater av et panel på 4 medlemmer CMV-prøver klargjort med Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) to ganger daglig, med to NeuMoDx 288 Systems og ett NeuMoDx 96 System over 12 dager. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være  $\leq 0,15 \log_{10} \text{ IE/ml}$ . Utmerket presisjon ble demonstrert på tvers av systemer, dager eller kjøring som vist i *tabell 8*. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver på NeuMoDx System.

**Tabell 8:** Presisjon innen laboratoriet – NeuMoDx CMV Quant Assay på NeuMoDx Systems

Mål-CMV-kons. [ $\log_{10} \text{ IE/ml}$ ]	Gjennomsnittlig CMV-kons. [ $\log_{10} \text{ IE/ml}$ ]	SD innen system	Innen dag-SD	Innen kjøring-SD	Totalt (innenfor laboratoriet) SD
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

### Reproduserbarhet mellom partier

Reproduserbarhet mellom partier for NeuMoDx CMV Quant Assay ble bestemt ved hjelp av tre forskjellige hovedreagenspartier – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates og NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Et panel med 4 medlemmer av CMV klargjort med Exact CMV Control ble brukt til å vurdere ytelse. Testing ble utført ved hjelp av de tre hovedpartireagensene på tre systemer over 6 dager. Variasjonen innen og på tvers av partier ble analysert, og resultatene ble presentert i *tabell 9*. Maksimal generell skjevhet var  $0,12 \log_{10} \text{ IE/ml}$  og maksimalt generelt SD var  $0,39 \log_{10} \text{ IE/ml}$ . Tilsvarende ytelse ble demonstrert mellom partier ettersom alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjon.

**Tabell 9:** Reproduserbarhet mellom partier – NeuMoDx CMV Quant Assay

Mål-CMV-kons. [ $\log_{10} \text{ IE/ml}$ ]	Gjennomsnittlig CMV-kons. [ $\log_{10} \text{ IE/ml}$ ]	N (Gyldige resultater per parti)	Skjevhet	SD mellom partier	SD innen parti	Totalt 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

### Effekt av kontroll

SPC1 inngår i NeuMoDx CMV Quant Assay for å rapportere prosessrinnfeil eller hemming som påvirker ytelsen av analysen. Effekten ble testet under betingelser representative for kritiske prosessrinnfeil som potensielt kan skje under prøvebehandling og som *kanskje ikke detekteres* av systemsensorene som overvåker NeuMoDx System ytelsesovervåkingssensorer. Positive (ved  $3 \log_{10} \text{ IE/ml}$ ) og negative prøver ble utfordret i nærvær av en kontroll under følgende betingelser: forekomst av hemmer, ingen wash-løsning levert og ingen vaskeutblåsning. Prosessineffektiviteter som hadde en negativ effekt på CMV-deteksjon/-kvantifisering, ble spillet av ytelsen til SPC1-målet som vist i *tabell 10*. I alle testede tilfeller ble det vist at enten overvåket prøveprosesskontrollen prosessmanglene og forekomsten av hemmere tilstrekkelig, eller så hadde ikke den forventede prosessmangelen noen vesentlig dårlig effekt på SPC1-deteksjon eller CMV-deteksjon og kvantifisering. Derfor demonstrerte SPC1 suksess med å effektivt overvåke analyseprestasjoner på NeuMoDx System.

**Tabell 10:** Effektivitet av prøveprosesskontrollen

Prosesstrinnsvikt testet	Amplifikasjonsstatus for prøveprosesskontroll 1	CMV-målampifikasjonsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Delivered (Ingen vaskeløsning levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positive (Positiv) med kvantifisering innenfor $0,3 \log_{10} \text{ IE/ml}$ av kontroll

### Gyldig resultat-rate

En retrospektiv analyse av data oppnådd under ytelseevalueringen av NeuMoDx CMV Assay på NeuMoDx Systems ble brukt for å bestemme prosentandelen av gyldige resultater. Gyldige testresultater blir rapportert som Positive eller Negative; ugyldige testresultater kan bli rapportert som enten Indeterminate (Ubestemt) (IND) eller Unresolved (Uløst) (UNR) basert på amplifikasjonsstatusen for målet og prøveprosesskontrollen. En IND-melding typisk forårsaket av instrumentfeil fører til en svikt i amplifikasjon av mål- og/eller internprosesskontrollen. En UNR-melding tilordnes til prøver når både målet og den interne prosesskontrollen ikke kan amplifiseres i fravær av en oppdaget instrumentsvikt. Det var 1 100 individuelle NeuMoDx CMV Quant Assay-resultater inkludert i den retrospektive analysen, som inkluderte data oppnådd på både NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Systems. UNR-raten ble bestemt til å være 0,91 % (10/1100), og IND-raten ble bestemt til å være 0,36 % (4/1100), noe som oppfyller akseptkriteriene for analysen. Derfor ble den gyldige resultatraten av NeuMoDx CMV Assay mellom NeuMoDx Systems fastslått til å være 98,7 % med 95 % CI (97,9–99,2).

### Krysskontaminering

Krysskontamineringsraten for NeuMoDx CMV Quant Assay ble bestemt ved testing av tre sett av CMV-prøver med vekslende høye positive og negative prøver. Samlet involverte dette testing av 108 replikater av CMV-negativ plasma og 108 replikater av et tilsatt CMV-plasma ved 6,0 log<sub>10</sub> IE/ml. Alle 108 replikater av den negative prøven ble rapportert som negative, noe som viser at ingen krysskontaminering skjedde under prøvebehandling på NeuMoDx System.

### Prøvematriseekvivalens

Testing ble utført for å vise prøvematriseekvivalens mellom fullblod samlet inn i både prøvetakingsrør med etylenediamintetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) og syre-citratdeksrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) for klargjøring av plasma. Ytterligere testing ble utført for å bestemme ekvivalens mellom ferske og fryste plasmaprøver (samlet inn i de to rørtypene). Ferske prøver ble holdt ved 4 °C inntil de ble tilsatt tre nivåer av CMV og testet for likeverdighet. Deretter ble prøvene fryst i minst 24 timer ved -20 °C. Etter denne perioden med fryst oppbevaring ble prøvene tint og testet på nytt. Resultater fra fersk vs. fryst plasma og EDTA- vs. ACD-plasmaprøver ble sammenlignet for ekvivalens ved regresjonsanalyse. Dataene demonstrerte utmerket ekvivalens mellom EDTA- og ACD-plasmaprøver og ferske og frosne plasmaprøver med helling innenfor 0,02 av 1,0 og veldig lav skjevhet (skjæringspunkt) som vist i *tabell 11* nedenfor.

**Tabell 11: Prøvematriseekvivalens**

Parameterkrav	ACD vs. K2EDTA		Ferskt vs. fryst	
	Ferskt	Fryst	ACD	EDTA
Helling [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Skjæringspunkt [<0,5 log <sub>10</sub> IE/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
<i>p</i> -verdi > 0,05	0,848	0,644	0,895	0,631

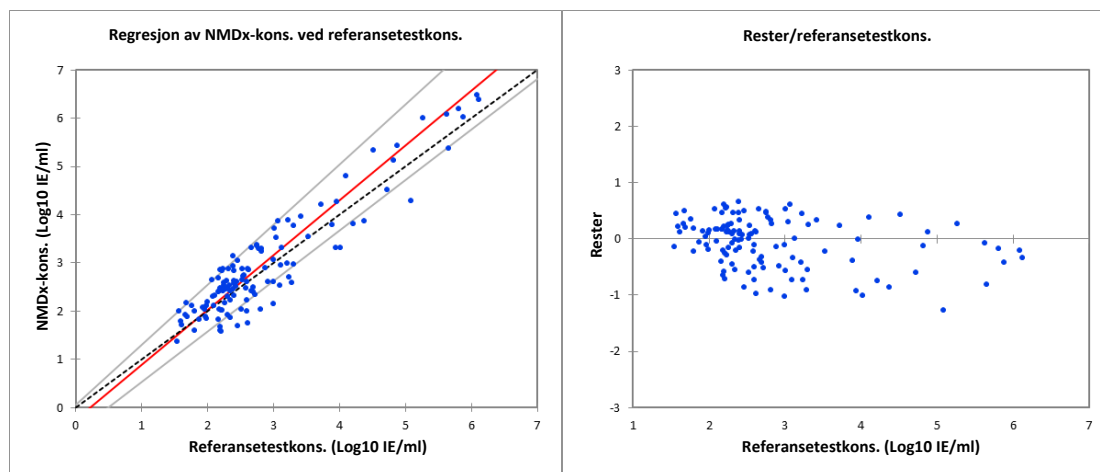
### Klinisk metodesammenligning

Kvalitativ og kvantitativ ytelse av NeuMoDx CMV Quant Assay ble vurdert mot FDA/CE-godkjente sammenligningsanalyser ved å teste uførtynede kliniske prøver fra CMV-infiserte pasienter. Testingen ble utført internt på NeuMoDx gjennom en enkeltblindet studie av anonymiserte, resterende kliniske prøver oppnådd fra fire eksterne referanselaboratorier. I alt 284 plasmaprøver ble behandlet ved hjelp av NeuMoDx CMV Quant Assay på en (enkel)blindet måte mellom flere NeuMoDx Molecular Systems.

Behandlings- og systemfeilene oppnådd på NeuMoDx Molecular Systems var minimale og oppfylte kriteriene. Totalt 3 Indeterminate (Ubestemt) (IND) resultater ble oppnådd for prøvene, noe som resulterte i en total begynnende IND-rate på 1 % med 95 % CI (0,27–3,32 %). Det var ikke tilstrekkelig volum til å behandle disse 3 prøvene på nytt i den normale arbeidsflyten. Det var 10 Unresolved (Uløste) (UNR) resultater innledningsvis, men ved å følge den anbefalte CMV Quant Assay-prosedyren med 1:10 fortytning i Basematrix for UNR-resultater, ble gyldige resultater oppnådd når alle de 10 UNR-prøvene ble fortynnet korrekt og testet på nytt. Den totale feilraten for behandling ble derfor 1,06 % med 95 % CI (0,27 % til 3,3 %) på grunn av de Indeterminate (Ubestemte) resultatene som ikke kunne bli testet på nytt på grunn av utilstrekkelig volum.

Det var 4 prøver som genererte et flagg for kvantifiseringsfeil, og 3 av de 4 kunne testes på nytt i henhold til den anbefalte prosedyren med en 1:10 fortytning av prøven i Basematrix for å oppnå et kvantitativt gyldig resultat. Av de 283 gyldige resultatene som ble oppnådd under studien, ble 129 prøver rapportert som positive av NeuMoDx CMV Assay med korresponderende konsentrasjonsverdier tilordnet av referansetestene. For seks av disse prøvene, ble fem rapportert under LLoQ, og ett ble rapportert over ULoQ av referansetesten, og derfor fikk 123 prøver korresponderende konsentrasjonsverdier tilordnet av både NeuMoDx CMV Quant Assay og referanse CE IVD-testene, og disse ble bruk brukt til kvantitativ korrelasjonsanalyse. Demming-regresjons- og Passing-Bablok-regresjonsanalyser ble brukt til å korrelere mellom konsentrasjonsverdiene fra NeuMoDx CMV Assay og verdiene rapportert av referansetestene.

Ekvivalensgrafer ble generert til å representere korrelasjonen mellom NeuMoDx CMV Quant Assay-konsentrasjoner og referansetestenes konsentrasjonsverdier for alle prøver testet med Deming-regresjonstilpasning og Passing-Bablok-tilpasning. De presenteres på *figur 5*.



**Figur 5:** Graf for Ekvivalens (*venstre*) og Rest (*høyre*) – Kumulativ analyse (mellom begge NeuMoDx Systems) av NeuMoDx CMV Quant Assay-resultater sammenlignet med referansetestresultater for ALLE prøver basert på Passing-Bablok-regresjonsanalyse.

Kvaliteten på Deming-regresjonstilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 1,1 med en 95 % CI (1,0, 1,2) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,18 med en 95 % CI (-0,39, 0,03), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx CMV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet. Kvaliteten på Passing-Bablok-lineærttilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 1,1 med en 95 % CI (1,0, 1,2) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,24 med en 95 % CI (-0,51, 0,06), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx CMV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet slik det fremgår av *tabell 12*.

**Tabell 12:** Sammendrag av Deming-analyse og Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient
-0,18	1,1	-0,24	1,1
95 % CI (-0,39, 0,03)	95 % CI (1,0, 1,2)	95 % CI (-0,51, 0,06)	95 % CI (1,0, 1,2)

### REFERANSER

- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
- A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### VAREMERKER




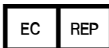











NeuMoDx™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® er et registrert varemerke som tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavn, varemerker og registrerte varemerker som kan forekomme i dette dokumentet, tilhører respektive eiere.

### SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
	Reseptpliktig
	Produsent
	Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostikk
	Autorisert representant i EU
	Katalognummer
	Partinummer
	Siste forbruksdato
	Temperaturbegrensning
	Fuktighetsbegrensning
	Må ikke gjenbrukes
	Inneholder nok til $<n>$ tester
	Se bruksanvisningen
	Forsiktig
	Biologiske risikoer
	CE-merke

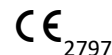


NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108, USA

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



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



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

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