

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip -testiliuskat

R only

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD Tarkoitettu NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnostiikkaa varten

Selostepäivitykset ovat osoitteessa: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108
Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys on automaattinen nukleiinihappojen *in vitro* -monistustesti sytomegaloviruksen (Cytomegalovirus, CMV) DNA:n genotyyppien gB1–gB4 kvantifioimiseen CMV-infektioituneiden henkilöiden plasmanäytteistä. NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmissä (NeuMoDx System -järjestelmät) käytettävä NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys sisältää DNA:n eristämisen, jossa eristetään kohdenukleiinihappo näytteestä, sekä reaaliaikaisen polymeerasiketjureaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR), joka kohdistuu erittäin konservoituneisiin sekvensseihin X-proteiinia ja esi-C-proteiinia koodaavalla alueella hepatiitti B:n virusgenomissa.

NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys on tarkoitettu sytomegaloviruksen (Cytomegalovirus, CMV) DNA:n *in vitro* -kvantifioimiseen tuoreista ja pakastetuista ihmisen plasmanäytteistä NeuMoDx 288- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmillä. Tämä testi on tarkoitettu käytettäväksi kliinisen hoidon yhteydessä ja yhdessä muiden taudin etenemistä kuvaavien laboratoriotestien kanssa CMV-infektion kliinisessä hallinnassa ja seurannan toteuttamiseksi. Tätä määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi CMV:n seuloontaan verestä tai verituotteista.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

Ihmisen kokoveri kerätään steriileihin verinäyteputkiin, joissa on joko etyleenidiamiinitetraetikkahappoa (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) tai happositraattidekstroosia (Acid Citrate-Dextrose, ACD) antikoagulanttina plasman valmisteluun. Testin valmisteluvaiheessa NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivassa näyteputkessa oleva plasma asetetaan NeuMoDx System -järjestelmän näyteputkelineeseen, jotta käsittely voidaan aloittaa. Jokaista näytettä varten 550 µl plasma-/seeruminäytteen alikvoottia sekoitetaan NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskurin kanssa. NeuMoDx System -järjestelmä suorittaa kaikki vaiheet automaattisesti: se eristää kohdenukleiinihapon, tekee eristetyt DNA:n valmistelut reaaliaikaisen RT-PCR:n monistusvaihetta varten sekä monistaa ja tunnistaa monistamisen tuotteet, jos niitä on näytteessä (CMV:n kohdegeenisekvenssien osat erittäin konservoituneilla alueilla). NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys sisältää DNA-näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control 1, SPC1), jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä NeuMoDx System -järjestelmän tai reagenssien toimintahäiriöitä eristämisen- ja monistamisprosessien aikana.

CMV on tavallinen kaksisäikeinen DNA-virus, joka kuuluu ihmisen herpesviruksiin ja voi tarttua kaikenikäisiin ihmisiin. On arvioitu, että 40 ikävuoteen mennessä yli puolet väestöstä on saanut CMV-tartunnan.¹ CMV leviää ruumiinnesteiden kuten syljen, virtsan, veren, kyynelneesten, siemennesteen ja rintamaidon välityksellä. CMV-infektion saaneet Immunokompetentit henkilöt ovat tyypillisesti oireettomia, mutta infektio voi olla vaarallinen pikkulapsille ja henkilöille, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt. CMV-virus saattaa siirtyä äidiltä sikiölle ja aiheuttaa synnyttävän CMV-infektion, joka saattaa johtaa kuolon heikkenemiseen sekä muihin kehitys- ja motorisiin häiriöihin. CMV on keskeinen taudinaiheuttaja immuunipuutteisilla potilailla, joita ovat esimerkiksi elinsiirron ja hematopoieettisen solunsiirron vastaanottajat, HIV-potilaat ja immunomoduloivia lääkkeitä käyttävät potilaat.² CMV-viruskuorman seuranta käytetään pääasiassa näihin immuunipuutteisiin ryhmiin, joissa se aiheuttaa monia sairauksia, esimerkiksi keuhkokuumetta, ruuansulatuskanavan sairauksia, hepatiittia ja aivotulehdusta, sekä lisää elinsiirteiden hylkimisen ja muiden opportunististen infektioiden mahdollisuutta.

CMV-infektion diagnosointi ei perustu yksinomaan nukleiinihappotesteihin, vaan myös antigeenitesteihin, joissa tehdään polymorfonukleaaristen leukosyyttien värjäys CMV:n varhaisten rakenteellisten matriksiproteiinien tunnistamiseksi, sekä mahdollisiin muihin potilaan oireisiin. CMV-viruskuorman testausta käytetään yleisesti sen määrittämiseen, milloin viruslääkitys on tarpeen, ja lääkityksen tehoavuuden seurantaan.³ Vaikka immuunipuutteisten potilaiden CMV-infektioiden hallintaa ja hoitoa koskevissa nykyisissä suosituksissa ei ole yksiselitteistä ohjetta siitä, milloin viruslääkitys tulisi aloittaa, niissä kaikissa kehoitetaan jatkuvaan viruskuorman seurantaan viruslääkityksen aloittamisesta lähtien, jotta lääkityksen vakavat sivuvaikutukset voidaan välttää.

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

NeuMoDx System -järjestelmässä NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys käyttää NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaa, NeuMoDx CMV Calibrators -kalibraattorisarjaa, NeuMoDx CMV External Controls -sarjaa, NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuria ja NeuMoDx -järjestelmän yleiskäyttöisiä reagensseja analyysin tekemiseen. NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksessä yhdistyvät automaattinen DNA:n eristys, monistus ja tunnistus reaaliaikaisella PCR:llä. Kokoverinäytteet otetaan EDTA- tai ACD-putkiin plasman valmistelua varten. NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivassa näyteputkessa oleva plasmanäyte asetetaan näyteputkelineeseen, joka asetetaan sitten NeuMoDx System -järjestelmään käsittelyä varten. Muita käyttäjän toimia ei tarvita.

NeuMoDx System -järjestelmät käyttävät lämmön, hajottavan entsyymin ja eristysreagenssien yhdistelmää solujen automaattisessa hajotuksessa, DNA:n eristämiseksi ja estäjien poistamiseksi. Vapautuneet nukleiinihapot tarttuvat paramagneettisiin hiukkasiin. Hiukkaset ja niihin sitoutuneet nukleiinihapot siirretään NeuMoDx Cartridge -kasettiin, jossa sitoutumattomat, muut kuin DNA:n osat pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla ja sitoutunut DNA luodaan NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssilla. Eluoidun DNA:n avulla NeuMoDx System -järjestelmä rehydrioi omistusoikeudelliset NeuDry™ -monistusreagenssit, jotka sisältävät kaikki CMV-spesifisen SPC1-kohteen PCR-monistamiseen tarvittavat osat. Kun NeuDry-PCR-reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasettiin. Kontrolli- ja kohde-DNA-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan NeuMoDx Cartridge -kasetin PCR-kammiossa. Reaaliaikaisen PCR:n jälkeen ampliconit pysyvät NeuMoDx Cartridge -kasetissa, mikä käytännössä poistaa monistamisen jälkeisen kontaminaation riskin.

Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla eli TaqMan®-tekniikalla, jossa käytetään amplikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimien molekyylejä.

TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'-päähen, ja 3'-päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppisellä energiansiirrolla (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalla DNA:n alueella. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'-3'-eksonukleasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresoivan aineen fluoresenssin tunnistus voi tapahtua. NeuMoDx System -järjestelmän kvantitatiivisessa PCR-laitteessa havaittu fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen vapautuneeseen fluoresoivaan aineeseen ja voi korreloida kohde-DNA:n määrän kanssa.

Fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 490 nm ja emissio: 521 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä auttavat havaitsemaan CMV:n DNA:n. TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä SPC1-prosessikontrollin tunnistusta varten (heräte: 535 nm ja emissio: 556 nm) 5'-päässä ja pimeä sammuttaja 3'-päässä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistumisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto analysoi tiedot ja laatii raportin lopullisista tuloksista (POSITIVE [Positiivinen] / NEGATIVE [Negatiivinen] / INDETERMINATE [Epäselvä] / UNRESOLVED [Ratkaisematon]). Jos tulos on POSITIVE (Positiivinen), NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto antaa myös näytteeseen tai raportteihin liittyvän kvantitatiivisen arvon, jos laskettu pitoisuus on kvantifiointirajojen sisällä.

REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Testejä/yksikkö	Testejä/pakkaus
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuska Kuivatut PCR-reagenssit, jotka sisältävät CMV-spesifiset TaqMan-koettimet ja alukkeet SPC1-spesifisten TaqMan-koettimien ja alukkeiden lisäksi.	16	96

Tarvittavat reagenssit ja tarvikkeet, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen NeuMoDx-yhtiöltä)

REF	Sisältö
100200	NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja näytteiden prosessikontrollit
800400	NeuMoDx CMV Calibrator -kalibraattorit Kertakäyttöiset CMV High Calibrator- ja CMV Low Calibrator setit standardikäyrän validiteetin määrittämiseen
900401	NeuMoDx CMV External Control -kontrollit Kertakäyttöinen sarja, CMV-positiiviset ja -negatiiviset kontrollisetit (CMV:n positiiviset ja negatiiviset kontrollit) NeuMoDx CMV Quant Assay -kvantifiointimäärityksen päivittäisen validiteetin määrittämiseen
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuri
400100	NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi
400200	NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi
100100	NeuMoDx Cartridge -kasetti
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (300 µl) ja suodattimet
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II -kärjet (1 000 µl) ja suodattimet

Tarvittavat laitteet

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmä [REF 500100] tai NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmä [REF 500200]

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuska on tarkoitettu *in vitro* -diagnoosiin vain NeuMoDx System -järjestelmillä.
- Älä käytä reagensseja tai tarvikkeita viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suoja- tai viiveste on rikki tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja, jos suoja- tai viiveste on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.
- Validin testikalibroinnin (jonka generoi NeuMoDx CMV Calibrators -sarjan korkean ja matalan kalibraattorin [REF 800400] käsittely) täytyy olla käytettävissä, ennen kuin kliinisistä näytteistä voidaan saada testituloksia.

- NeuMoDx CMV External Controls - kontrollit [REF 900401] on käsiteltävä aina 24 tunnin välein testaamalla ne NeuMoDx CMV Quant Assay -määrittelyksillä.
- Näytteen minimilitavuus on 1 ml EDTA-/ACD-plasmaa tai seerumia 32 putken telineitä käytettäessä; tätä pienemmät määrät voivat aiheuttaa NeuMoDx System -järjestelmävirheen.
- CMV-määrittelyksen tekeminen näytteille, joita on säilytetty väärässä lämpötilassa tai määritettyjä varastointiaikoja pidempään, voi tuottaa epäkelvöllisiä tai virheellisiä tuloksia käytettäessä NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaa.
- Vältä aina reagenssien ja tarvikkeiden mikrobi- ja deoksiribonukleaasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien DNAasittomien kertakäyttöpipettien käyttö on suositeltavaa. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä missään tapauksessa ota NeuMoDx Cartridge -kasetteja biovaarallisen jätteen säiliöstä (NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä) tai biovaarallisen jätteen astiasta (NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä). NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.
- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuska, muut testissä tarvittavat tarvikkeet ja reagenssit, suojavarusteet, kuten käsineet ja laboratoriotakit, ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitriliikäsineitä. Varo, ettet kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskan NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn foliotiivistepintaa tai NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskurin yläpintaa. Tarvikkeita ja reagensseja käsiteltäessä saa koskea vain sivupintoihin.
- Käyttöturvallisuustiedotteet (Safety Data Sheets, SDS) ovat saatavilla pyynnöstä.
- Pese kädet huolellisesti testin jälkeen.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi, syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ ja CLSI Document M29-A4.⁵
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.

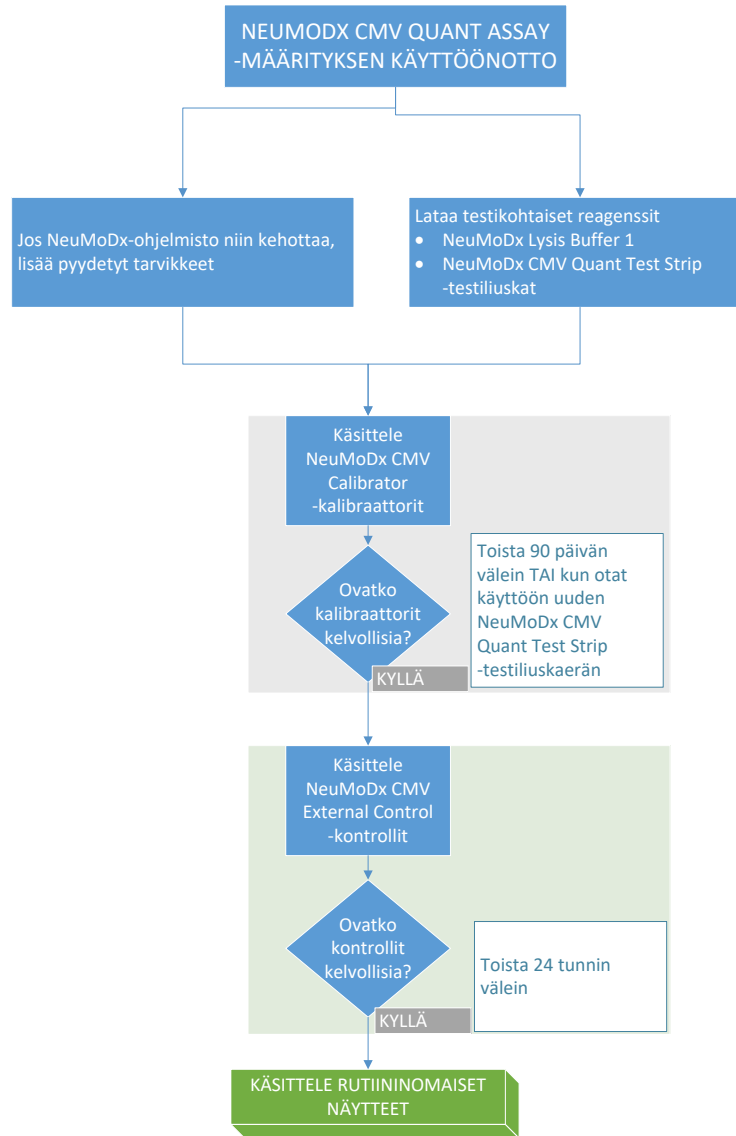
TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITTELY JA VAKAUS

- Kaikki NeuMoDx-reagenssit ja -tarvikkeet (lukuun ottamatta ulkoisia kontrolleja ja kalibraattoreita) ovat vakaita sisäpakkauksessa 18–23 °C:n lämpötilassa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti.
- NeuMoDx System -järjestelmän työalustalle asetettu NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuska pysyy vakaana 14 vuorokautta. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää käyttäjää poistamaan järjestelmässä yli 14 vuorokautta käytössä olleet reagenssit, jolloin uudet NeuMoDx CMV Quant Test Strips -testiliuskat on avattava ja lisättävä NeuMoDx System -järjestelmään.
- Vaikka NeuMoDx-kalibraattorit ja -kontrollit eivät ole tartuntavaarallisia, ne on hävitettävä biovaarallisen jätteen mukana. Järjestelmässä tehdyn prosessoinnin jälkeen ne sisältävät kohdemateriaalia, joka voi aiheuttaa kontaminaation, jos sitä ei käsitellä oikein.

NÄYTTEIDEN KERUU, KULJETUS JA SÄILYTYS

1. Käsittele kaikkia näytteitä kuin ne pystyisivät siirtämään eteenpäin tarttuvia taudinaiheuttajia.
2. Älä pakasta kokoverta tai ensisijaisissa putkissa olevia näytteitä.
3. Plasmanäytteiden valmistelua varten kokoveri on otettava steriileihin putkiin, joissa käytetään EDTA:a tai ACD:tä antikoagulanttina. Noudata näytteenottoputken valmistajan ohjeita.
4. Edellä mainituilla laitteilla otetut kokoverinäytteet voidaan säilyttää ja/tai kuljettaa 24 tunnin ajan 2–25 °C:ssa ennen plasman valmistelua. Plasman valmistelu on tehtävä valmistajan ohjeiden mukaisesti.
5. Valmisteltuja plasmanäytteitä voidaan säilyttää NeuMoDx System -järjestelmässä enintään 8 tuntia ennen käsittelyä. Jos tarvitaan pidempi säilytysaika, on suositeltavaa asettaa näytteet joko jääkaappiin tai pakastimeen.
6. Valmisteltuja plasmanäytteitä saa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 7 vuorokautta ennen testausta ja enintään 8 tuntia huoneenlämmössä.
7. Valmisteltuja näytteitä voidaan säilyttää ≤ -20 °C:ssa enintään 26 viikkoa ennen käsittelyä. Plasmanäytteitä, ei saa pakastaa/sulattaa enempää kuin kaksi kertaa ennen käyttöä.
 - a. Jos näytteet on pakastettu, niiden on annettava sulaa kokonaan huoneenlämmössä (15–30 °C). Vorteksoi näytteitä, jotta ne jakautuvat tasaisesti.
 - b. Kun pakastetut näytteet on sulatettu, testaus on tehtävä 8 tunnin sisällä.
8. Jos näytteitä kuljetetaan, ne on pakattava ja merkittävä sovellettavien maakohtaisten ja/tai kansainvälisten säädösten mukaisesti.
9. Merkitse näytteet selvästi ja ilmoita, että näytteet ovat CMV-testaukseen.
10. Siirry *Testin valmistelut* -kohtaan.

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen käyttöönottoprosessin yhteenveto on ohessa *kuvassa 1*.



Kuva 1: NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen käyttöönoton työnkulku

KÄYTTÖOHJEET

Testin valmistelut

- Kiinnitä näytteen viivakooditieteketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen.
- Siirrä siirtopipetillä ≥ 1 ml plasmata/seerumia viivakoodilla merkittyyn näyteputkeen (toissijaiseen putkeen), jos käytät 32 putken telineä, tai >2 mL, jos käytät 24 putken telineä. Ole varovainen, ettei siirrä plasmanäytteestä hyytymiä näyteputkeen. Käytä jokaiselle näytteelle eri siirtopipettiä.
- Toissijaisen putken on oltava yhteensopiva NeuMoDx System -järjestelmän ja käsittelyssä käytettävän näyteputkitelineen kanssa.
 - 32 putken teline: halkaisija 11–14 mm ja korkeus 60–120 mm
 - 24 putken teline: halkaisija 14,5–18 mm ja korkeus 60–120 mm

NeuMoDx™ System -järjestelmän käyttö

Lisätietoja on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (osanumerot 40600108 ja 40600317)

1. Aseta vähintään yhteen NeuMoDx System Test Strip -testiliuskatelineeseen NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskoja ja lisää testiliuskatelineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
2. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää lisäämään tarvikkeita, lisää tarvittavat tarvikkeet NeuMoDx System -järjestelmän tarviketelineisiin ja lisää telineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
3. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelman näyttöön tulee sitä koskeva kehote, vaihda NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi ja NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi tai tyhjä esitäytetty jätteen tai biovaarallisen jätteen säiliö tarpeen mukaan.
4. Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto niin kehottaa, käsittele kalibraattorit [REF 800400] ja/tai ulkoiset kontrollit [REF 900401] tarpeen mukaan. Lisätietoa kalibraattoreista ja kontrolleista on *Tulosten käsittely* -osassa.
5. Aseta näyte-/kalibraattori-/kontrolliputket vakiomalliseen 32 putken telineeseen ja varmista, että kaikkien näyteputkien korkit on poistettu.
6. Aseta näyteputkeline automaattilataimen hyllyn avoimeen paikkaan ja lisää teline NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämä käynnistää asetettujen näytteiden pyydyttyjen testien käsittelyn.

RAJOITUKSET

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaa voidaan käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
- NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskan suorituskyky on määritetty kokoverestä valmistettujen, EDTA:a/ACD:tä antikoagulanttina käyttävien plasmanäytteiden osalta. NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskan käyttöä muiden kliinisten näytetyyppien kanssa ei ole arvioitu, eikä tämän testin suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tunneta.
- Koska näytteessä olevien organismien määrä vaikuttaa CMV:n tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
- Kalibraattorit ja ulkoiset kontrollit on käsiteltävä pakkauselosteen ohjeiden ja NeuMoDx System -järjestelmän mahdollisten kehotteiden mukaisesti ennen rutiinomaisten kliinisten näytteiden käsittelyä.
- Näytteiden virheellinen ottaminen, käsittely, säilytys, tekninen virhe tai näyteputkien sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä negatiivisia testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien virushiukkasten määrä on NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen tunnistusrajan alapuolella.
- NeuMoDx System -järjestelmää saa käyttää ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saanut henkilöstö.
- Jos sekä CMV-kohde että SPC1-kohde eivät monistu, järjestelmä raportoi epäkelvollisen tuloksen (Indeterminate [Epäselvä] tai Unresolved [Ratkaisematon]) ja testi on toistettava.
- Jos NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen tulos on Positive (Positiivinen), mutta kvantifointiarvo on kvantifointirajojen ulkopuolella, NeuMoDx System -järjestelmä raportoi, oliko havaittu CMV *alle* kvantifioinnin alarajan (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *yli* kvantifioinnin ylärajan (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Mikäli havaittu CMV oli alle LLoQ-rajaa, NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys voidaan toistaa (tarvittaessa) toisella näytealiquotilla.
- Mikäli havaittu CMV oli yli ULoQ-rajaa, NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys voidaan toistaa laimennetulla alkuperäisellä näytealiquotilla. CMV-negatiivisen plasman tai Basematrix 53:n laimennus (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:100 tai 1:1 000 on suositeltavaa. Alkuperäisen näytteen pitoisuus voidaan laskea seuraavasti:

$$\text{Alkuperäisen näytteen pitoisuus} = \log_{10}(\text{laimennuskerroin}) + \text{laimennetun näytteen ilmoitettu pitoisuus.}$$

- Ajoittainen PCR-estäjien esiintyminen plasmassa voi aiheuttaa järjestelmässä kvantifointivirheen. Jos näin käy, on suositeltavaa toistaa testi samalla näytteellä, joka on laimennettu Basematrix-aineella 1:10 tai 1:100.
- Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä on elinkelpoisia organismeja. Positiivinen tulos kuitenkin viittaa sytomegaloviruksen DNA:n todennäköiseen läsnäoloon.
- NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen kohdealueiden deleetit tai mutaatiot voivat vaikuttaa tunnistukseen tai johtaa virheelliseen tulokseen käytettäessä NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaa.
- NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkäriin käytettävissä olevien tietojen ohella. Testiä ei ole tarkoitettu infektion diagnosointiin.
- Kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratoriotäytännön noudattamista, kuten käsineiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOSTEN KÄSITTELEMINEN

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä.

NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma generoi NeuMoDx CMV Quant Assay -määrittelyn tulokset automaattisesti käyttämällä päätöslogiikkaa ja NeuMoDx CMV Assay Definition File (CMV ADF) -tiedoston sisältämiä käsittelyparametreja. NeuMoDx CMV Quant Assay -määrittelyn tulos voi olla Negative (Negatiivinen), Positive (Positiivinen) ja ilmoitettu CMV-pitoisuus, Positive above ULoQ (Positiivinen ULoQ-rajaa yläpuolella), Positive below LLoQ (Positiivinen LLoQ-rajaa alapuolella), Indeterminate (Epäselvä) tai Unresolved (Ratkaisematon) kohteen monistustilan ja näytteen käsittelykontrollin perusteella. Tulokset raportoidaan *taulukossa* 1 esitetyn ratkaisualgoritmin perusteella.

Taulukko 1: NeuMoDx CMV Quant Assay -testin ratkaisualgoritmi

Tulos	CMV	Näytteen prosessikontrolli (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiivinen)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ JA } EPR > 2 \text{ AND } (JA) EP \geq 1 500]$ OR (TAI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (JA) EP \geq 1 500]$	Ei oleellinen
Positive (Positiivinen), kvantifoinnin ylärajan yläpuolella [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (\log_{10} IU/ml)	[CONC] (PIT.) $> 8,0 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (EI KVANT)	Ei oleellinen
Positive (Positiivinen), alle kvantifoinnin alarajan [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (\log_{10} IU/ml)	[CONC] (PIT.) $< 1,3 \log_{10}$ IU/ml, NO QUANT (EI KVANT)	Ei oleellinen
Negative (Negatiivinen)	N/A (Ei oleellinen) OR (TAI) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND } (JA) EPR \leq 2]$ OR (TAI) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND } (JA) EP < 1 500]$ OR (TAI) $Ct > 41$	AMPLIFIED (Monistettu) ($28 \leq Ct \leq 34$) and (ja) $EP \geq 2 000$
Indeterminate (Epäselvä)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted (Ei monistettu, järjestelmävirhe)	
Unresolved (Ratkaisematon)	NOT AMPLIFIED / No System Errors Noted (Ei monistettu, ei järjestelmävirhettä)	

EP = End Point Fluorescence (Päätepisteen fluoresenssi) (perustasokorjauksen jälkeen); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Päätepisteen fluoresenssisuhde); C_t = Cycle threshold (Syklin kynnyksenarvo); Quant (Kvantitatiivinen) = laskennallinen määrä CMV:tä, ilmoitetaan yksikössä \log_{10} IU/ml. Katso seuraava Testilaskenta.

Testilaskenta

- NeuMoDx CMV Quant Assay -määrittelyn kvantifointialueella olevien näytteiden CMV:n DNA -pitoisuus lasketaan käyttämällä tallennettua standardikäyrää ja kalibrointikerrointa.
 - Myös kalibrointikerroin lasketaan käsiteltyjen NeuMoDx CMV Calibrator -kalibraattoreiden tulosten perusteella, jotta voidaan määrittää standardikäyrän validiteetti tietyn NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaerän osalta tietyssä NeuMoDx System -järjestelmässä.
 - Kalibrointikerroin on sisällytetty CMV:n DNA:n pitoisuuden lopulliseen määrittelyyn.
- NeuMoDx CMV Quant Assay -määrittelyn tulokset ilmoitetaan arvoina \log_{10} IU/ml.
- Tuntemattomien näytteiden saatu kvantifointi on jäljitettävissä Maailman terveysjärjestön (World Health Organization, WHO) 1. kansainväliseen CMV-standardiin.

Testin kalibrointi

Standardikäyrään perustuva validi kalibrointi on tarpeen näytteiden CMV:n DNA:n kvantifoinnissa. Hyväksyttävien tulosten saaminen edellyttää testikalibroinnin tekemistä NeuMoDx Molecular -yhtiön toimittamilla kalibraattoreilla.

Ulkoiset kalibraattorit

- NeuMoDx CMV Calibrators -sarja [REF 800400] sisältää ei-tartuntavaarallista kapseloitua CMV-kohdetta laimennettuna Basematrixilla.
- CMV-kalibraattorisetti on käsiteltävä kunkin uuden NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaerän yhteydessä tai jos uusi CMV-testin määrittystiedosto ladataan NeuMoDx System -järjestelmään tai jos nykyinen kalibraattorisetti on validiteettiajan (parhaillaan määritetty 90 päivään) ulkopuolella tai jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmaa on muokattu.
- NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto ilmoittaa käyttäjälle, milloin kalibraattorit on käsiteltävä. Uutta testiliuskaerää ei voi käyttää testaukseen, ennen kuin kalibraattorit on käsitelty onnistuneesti.

4. Kalibraation validiteetti määritetään seuraavasti:
 - a) Validiteetin määrittäminen edellyttää kahden kalibraattorin – korkean ja matalan – käsittelemistä.
 - b) Hyväksyttävien tulosten generoimista varten ainakin kahden (2) kolmesta (3) replikaatista täytyy tuottaa tuloksia, jotka ovat esimääritettyjen parametrien sisällä. Matalan kalibraattorin nimellinen tavoite on $3 \log_{10}$ IU/ml, ja korkean kalibraattorin nimellinen tavoite on $5 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Kalibroitukerroin lasketaan testiliuskaerien välisen variaation ottamiseksi huomioon. Tätä kalibroitukerrointa käytetään lopullisen CMV-pitoisuuden määrittämisessä.
5. Jos toinen tai molemmat kalibraattorit eivät läpäise validiteettitarkistusta, toista hylätyn kalibraattorin käsittely uudella putkella. Mikäli toisen kalibraattorin validiteettiä ei pystytä varmistamaan, on mahdollista toistaa vain tämän kalibraattorin testi, koska järjestelmä ei edellytä molempien kalibraattorien ajamista uudelleen.
6. Jos kalibraattorit eivät läpäise validiteettitarkistusta toisellakaan kertaa, ota yhteyttä NeuMoDx Molecular, Inc. -yhtiöön.

Laadunvarmistus

Paikallisissa säädöksissä määritetään yleensä, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käytöstä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, hyväksytyt testijärjestelmän verifioituja suoritusasetietoja.

Ulkoiset kontrollit

1. Ulkoiset kontrollimateriaalit, jotka sisältävät ei-tarttuvaa kapseloitua CMV-kohdetta Basematrixissa positiivisiin kontrolleihin, toimittaa NeuMoDx Molecular, Inc. NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] -sarjassa.
2. Positiiviset ja negatiiviset ulkoiset kontrollit on käsiteltävä 24 tunnin välein. Jos valideja ulkoisia kontrolleja ei ole olemassa, NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto kehottaa käyttäjää käsittelemään nämä kontrollit, ennen kuin näytteistä voidaan raportoida tuloksia.
3. Jos ulkoisia kontrolleja tarvitaan, nouda ulkoiset kontrollit pakastimesta ja anna putkien sulaa huoneenlämmössä (15–30 °C), kunnes niiden sisältö on täysin sulanut. Vorteksoi varovasti homogeenisuuden varmistamiseksi.
4. Aseta positiivisen ja negatiivisen kontrollin putket NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön ja automaattilataimen hyllylle asetetun näyteputkelineen avulla. NeuMoDx System -järjestelmä tunnistaa viivakoodin ja alkaa käsitellä näyteputkia, paitsi jos testissä tarvittavia reagensseja ja tarvikkeita ei ole käytettävissä.
5. NeuMoDx System arvioi ulkoisten kontrollien validiteetin odotetun tuloksen perusteella. Positiivisen kontrollin pitäisi antaa CMV Positive (CMV positiivinen) -tulos ja negatiivisen kontrollin CMV Negative (CMV negatiivinen) -tulos.
6. Ulkoisten kontrollien ristiriitaisia tuloksia on käsiteltävä seuraavasti:
 - a) Jos negatiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Positive (Positiivinen) -testitulos, näyte voi olla kontaminoitunut.
 - b) Jos positiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Negative (Negatiivinen) -testitulos, reagenssiin tai laitteeseen saattaa liittyä ongelmia.
 - c) Kummassakin tapauksessa validiteettitarkistuksessa hylätyn ulkoisen kontrollin testi on toistettava vastasulatetuilla NeuMoDx CMV External Control -kontrollien putkilla.
 - d) Jos NeuMoDx CMV External Control -kontrolli tuottaa jatkuvasti negatiivisen tuloksen, ota yhteyttä NeuMoDx-yhtiön asiakaspalveluun.
 - e) Jos negatiivinen NeuMoDx CMV External Control -kontrolli tuottaa jatkuvasti positiivisen tuloksen, yritä poistaa kaikki mahdollisen kontaminaation lähteet ja vaihda KAIKKI reagenssit, ennen kuin otat yhteyttä NeuMoDx-yhtiön asiakaspalveluun.

Näytteen käsittelyn (sisäiset) kontrollit

Eksogeeninen näytteenkäsittelykontrolli (Sample Process Control 1, SPC1) sisältyy NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyyn ja käy läpi koko prosessin nukleinihappojen eristyksestä reaaliaikaiseen PCR-monistukseen jokaisen näytteen osalta. SPC1-spesifiset alukkeet ja koettimet sisältyvät myös jokaiseen NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskaan, joka mahdollistaa SPC1:n ja kohde-CMV:n DNA:n (jos sitä on) läsnäolon tunnistuksen moninkertaisen reaaliaikaisen PCR:n avulla. SPC1:n monistuksen tunnistuksen avulla NeuMoDx System -järjestelmä voi valvoa DNA:n eristämisen ja PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä NeuMoDx CMV Quant Assay -testistä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä, IND) tai Unresolved (Ratkaisematon, UNR) virhetyypin mukaan.

Raportissa on tuloksena IND (Epäselvä), jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen. Jos raportissa on IND (Epäselvä) -tulos, uusintatestausta suositellaan.

UNR (Ratkaisematon) -tulos saadaan, jos kelvollista CMV:n DNA:n tai SPC1:n monistusta ei havaita, mikä osoittaa mahdollisen reagenssin virheen tai estäjien läsnäolon. Jos raportissa on UNR (Ratkaisematon) -tulos, uusintatestaus voidaan tehdä ensimmäisenä toimenä. Jos uusintatestaus epäonnistuu, laimennetulla näytteellä voidaan lieventää näytteen inhibition vaikutuksia.

SUORITUSKYKYMINAISUUDET

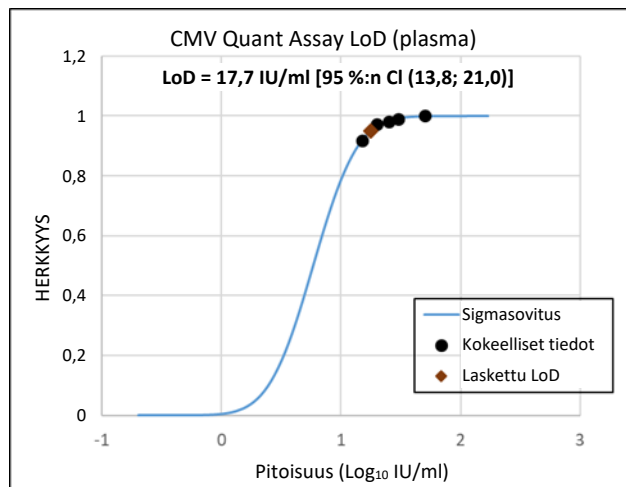
Analyttinen herkkyys – havaitsemisraja WHO:n standardin perusteella

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen analyttinen herkkyys määritettiin testaamalla negatiivisia näytteitä ja WHO:n 1. kansainvälisen standardin mukaista laimennussarjaa seulottuun negatiiviseen ihmisen plasmaan, jotta voitiin määrittää havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) NeuMoDx System -järjestelmissä. LoD:ksi määritettiin matalin kohdetaso, joka havaittiin 95-prosenttisesti Probit-tyyppisen analyysin mukaan. Tutkimus tehtiin kolmena päivänä useilla järjestelmillä ja useilla NeuMoDx-reagenssierillä. Kullakin järjestelmällä käsiteltiin 18 replikaattia kullakin laimennustasolla per päivä. *Taulukko 2* sisältää havaitsemisasteet.

Taulukko 2: Positiivisten tulosten havaitsemisasteet LoD-ajan määrittämistä varten NeuMoDx CMV Quant Assay -testillä

Tavoitepitoisuus [IU/ml]	Tavoitepitoisuus [\log_{10} IU/ml]	PLASMA		
		Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Havaitsemisaste
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 %

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen LoD plasman gB1-variantille määritettiin arvoon 17,7 IU/ml (1,25 \log_{10} IU/ml), kun 95 %:n luottamusväli (Confidence Interval, CI) oli 13,8–21,0 IU/ml, (1,14–1,32 \log_{10} IU/ml) [kuva 2]. Kaikissa genotyypeissä LoD on 20,0 IU/ml (1,30 \log_{10} IU/ml) osumatarkkuusmenetelmällä määritettynä.



Kuva 2: Probit-tyyppinen analyysi, jolla määritettiin NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen LoD plasmanäytteissä

Analyttinen herkkyys – kvantifointiraja – kvantifoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Kvantifoinnin alaraja (LLoQ) on määritelmän mukaan matalin kohdetaso, jolla >95 %:n tunnistus saavutetaan JA TAE on $\leq 1,0$. LLoQ-ajan määrittämiseksi laskettiin analyttinen kokonaisvirhe (Total analytical error, TAE) kustakin CMV-kohdetasosta, jolla todettiin > 95 %:n tunnistaminen osana LoD-laskentaa. TAE:n määritelmä on seuraava:

$$TAE = \text{vinouma} + 2 * SD \text{ (Westgard-tilasto)}$$

Vinouma on lasketun ja odotetun pitoisuuden välinen ero absoluuttisena arvona. SD tarkoittaa näytteen kvantifioitun arvon keskihajontaa.

Kootut tulokset viidestä CMV-plasmanäytteiden tasoista (variantti gB1), joita käytettiin LLoQ-tutkimuksessa, on esitetty *taulukossa 3*. Näiden tietojen ja aiemmin määritetyn LoD-arvon perusteella LLoQ-arvoksi määritettiin 20,0 IU/ml (1,30 \log_{10} IU/ml) kaikissa genotyypeissä.

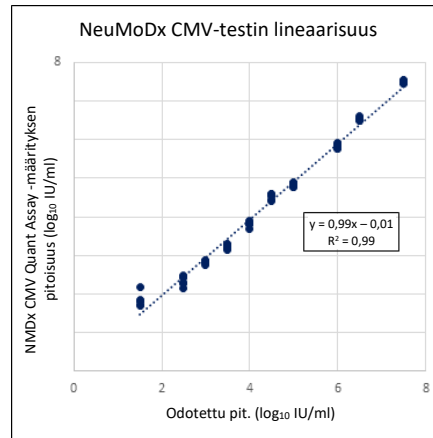
Taulukko 3: NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen LLoQ sekä vinouma ja TAE

Tavoitepit. [IU/ml]	Tavoitepit. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma				
		Keskimääräinen pit. [log ₁₀ IU/ml]	Havaitseminen (%)	SD	Vinouma	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

Näiden tutkimusten tuloksen perusteella NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen LoD ja LLoQ olivat molemmat 20,0 IU/ml [1,30 log₁₀ IU/ml].

Kvantifioinnin ylärajan (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarisuus ja määrittäminen

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus ja kvantifioinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määritettiin plasman osalta valmistelemalla laimennussarja NeuMoDx -yhtiön kapseloidusta CMV-kohteesta ja Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) -kontrollista, joiden jäljitettävyyden on Maailman terveysjärjestön 1. kansainvälisen standardin vaatimusten mukainen. Yhdistetystä CMV-negatiivisesta plasmasta valmistettiin 9-osainen paneeli, joka kattoi pitoisuusalueen 8–1,7 log₁₀ IU/ml. NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen ULoQ oli 8,0 log₁₀ IU/ml. NeuMoDx System -järjestelmän ilmoittamat CMV-määrityksen pitoisuudet verrattuna odotettuihin arvoihin on esitetty kuvassa 3.

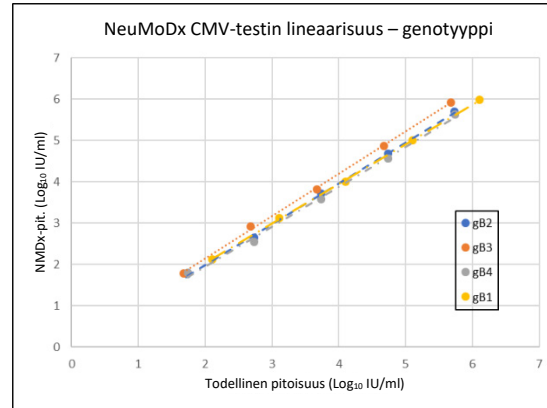

Kuva 3: NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus

Eri genotyyppien lineaarisuus

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen lineaarisuutta neljässä CMV-genotyypissä (gB1, gB2, gB3 ja gB4) tutkittiin testaamalla viisi erilaista pitoisuutta kutakin CMV-genotyyppiä, jotka oli valmistettu yhdistetystä CMV-negatiivisesta plasmasta. Tässä tutkimuksessa testatut CMV-tavoitetasot olivat riippuvaisia lähdennyksen pitoisuudesta ja sen vuoksi ne olivat erilaisia eri genotyyppien osalta. Tutkimuksessa testattiin kustakin neljästä genotyypistä kuusi replikaattia viidessä eri pitoisuudessa. Lineaarisuus neljässä CMV-genotyypissä on esitetty taulukossa 4 ja kuvassa 4.

Taulukko 4: NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus eri genotyypeissä

Genotyyppi	Lineaarisuusyhtälö y = NeuMoDx CMV Assay -määrityksen kvantifointi x = odotettu kvantifointi	R ²
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



Kuva 4: NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus eri genotyypeissä

Analyttinen spesifisyys – ristireaktiivisuus

Analyttinen spesifisyys määritettiin seulomalla 35:n yleisesti veri-/plasmanäytteistä löytyvän organismin sekä fylogeneettisesti CMV:n kaltaisten lajien ristireaktiiviteetti. Organismit valmistettiin 5–6 organismin ryhmissä ja testattiin suurella pitoisuudella. Testatut organismit esitetään taulukossa 5. Ristireaktiiviteettia ei havaittu testattujen organismien osalta, mikä vahvisti NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen 100 prosentin analyttisen spesifisyyden.

Taulukko 5: Analyttisen spesifisyyden osoittamiseen käytetyt patogeenit

Ei-kohdeorganismit					
BK-polyoomavirus	Adenovirus, tyyppi 5	Herpes simplex -virus (HSV) 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein-Barr-virus	Hepatiitti C -virus	Herpes simplex -virus (HSV) 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Ihmissen herpesvirus 6	Parvovirus B19	Varicella-Zoster -virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Ihmissen herpesvirus 7	JC-virus	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Ihmissen herpesvirus 8	Ihmissen papilloomavirus 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatiitti B -virus	Ihmissen papilloomavirus 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Analyttinen spesifisyys – häiritsevät aineet, kommensaaliset organismit

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksestä arvioitiin interferenssi ei-kohde-organismien esiintyessä näytteessä. Arvioinnissa käytettiin samoja organismiryhmiä kuin ristireaktiiviteetin testauksessa (katso edellä oleva taulukko 5). Negatiiviseen CMV-plasmaan lisättiin organismit, jotka oli yhdistetty 4–7 organismin ryhmiksi, sekä CMV-kohdetta pitoisuutena $3 \log_{10}$ IU/ml. Merkittäviä häiriöitä ei havaittu näiden kommensaalisten organismien läsnä ollessa, mikä osoitti minimaalinen kvantifiointipolkeama kontrollinäytteistä, joissa häiritseviä aineita ei ollut.

Analyttinen spesifisyys – häiritsevät aineet, endogeeniset ja eksoogeeniset aineet

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen suorituskyky arvioitiin sellaisten eksoogeenisten ja endogeenisten häiritsevien aineiden läsnäollessa, joita tyyppillisesti löytyy kliinisistä CMV-plasmanäytteistä. Näitä olivat esimerkiksi epänormaalin suuret pitoisuudet veren komponentteja sekä yleiset antivirussläkkeet, jotka on luokiteltu taulukossa 6. Kutakin ainetta lisättiin seulottuun CMV-negatiiviseen ihmisen plasmaan, johon oli lisätty $3 \log_{10}$ IU/ml CMV:tä, ja näytteiden interferenssi analysoitiin. Lisäksi CMV-infektioon liittyvät yleiset sairaustilat testattiin plasmasta mahdollisen interferenssin varalta. Kaikkien testattujen aineiden keskimääräinen pitoisuus ja vinouma verrattuna kontrollinäytteisiin, joihin oli lisätty sama taso CMV:tä, on ilmoitettu taulukossa 7. Mikään eksoogeeninen tai endogeeninen aine ei vaikuttanut NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen spesifisyyteen.

Taulukko 6: Häiriöiden testaus – eksogeeniset aineet (lääkeluokitukset)

Ryhmä	Lääkkeen nimi	Luokitus	Ryhmä	Lääkkeen nimi	Luokitus
Ryhmä 1	Atsatiopriini	Immunosuppressantti	Ryhmä 4	Trimetopriimi	Antibiootti
	Syklosporiini	Immunosuppressantti		Vankomysiini	Antibiootti
	Foskarneetti	Viruslääke (Herpesviridae)		Takrolimuusi	Immunosuppressantti
	Gansikloviiri	CMV-viruslääke		Everolimuusi	Immunosuppressantti
	Valgansikloviiri-hydrokloridi	CMV-viruslääke		Klavulanaattikalium	Antibiootti
Ryhmä 2	Prednisoni	Kortikosteroidi/ immunosuppressantti	Ryhmä 5	Famotidiini	Histamiinireseptorin antagonist
	Sidofoviiri	CMV-viruslääke		Sulfametoksatsoli	Antibiootti
	Sefotetaani	Laajakirjoinen antibiootti		Valasikloviiri	Viruslääke (Herpesviridae)
	Kefotaksiimi	Laajakirjoinen antibiootti		Letermoviiri	CMV-viruslääke
	Flukonatsoli	Sienilääke		Tikarsilliini-dinatrium	Antibiootti
Ryhmä 3	Mykofenolaatti-mofetiili	Immunosuppressantti		Leflunomidi	Immunosuppressantti
	Mykofenolaattinatrium	Immunosuppressantti			
	Piperasilliini	Antibiootti			
	Sirolimuusi/rapamysiini	Immunosuppressantti)			
	Tatsobaktaami	Muunneltu antibiootti			

Taulukko 7: Häiritsevien aineiden testaus – eksogeeniset ja endogeeniset aineet

Endogeeninen	Keskimääräinen pit.	Vinouma
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Hemoglobiini	2,97	0,07
Triglyseridit	3,03	0,13
Bilirubiini	3,01	0,11
Albumiini	2,88	-0,02
Eksogeeniset (lääkkeet)	Keskimääräinen pit.	Vinouma
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Ryhmä 1: Atsatiopriini, siklosporiini, foskarneetti, gansikloviiri, valgansikloviiri/hydrokloridi	2,88	-0,02
Ryhmä 2: Prednisoni, sidofoviiri, sefotetaani, sefotaksiimi, flukonatsoli	2,91	0,01
Ryhmä 3: Mykofenolaatti-mofetiili, mykofenolaattinatrium, piperasilliini, sirolimuusi/rapamysiini, tatsobaktaami	2,98	0,08
Ryhmä 4: Trimetopriimi, vankomysiini, takrolimuusi, everolimuusi, kaliumklavulanaatti	3,05	0,15
Ryhmä 5: Famotidiini, sulfametoksatsoli, letermoviiri, valasykloviiri, tikarsilliini-dinatrium, leflunomidi	2,87	-0,03
Sairaustila	Keskimääräinen pit.	Vinouma
	log ₁₀ IU/ml	log ₁₀ IU/ml
Tumavasta-aine (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Systeeminen lupus erythematosus (SLE)	3,04	0,14
Nivelreuma	2,99	0,09

Laboratorion tarkkuus

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen tarkkuus määritettiin testaamalla 4-osaisen CMV-näytepaneelin kolmea replikaattia, jotka sisälsivät Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) -kontrollia, kahdesti päivässä kahdella NeuMoDx 288 -järjestelmällä ja yhdellä NeuMoDx 96 System-järjestelmällä 12 päivän aikana. Ajon, päivän ja järjestelmän sisäiset tarkkuudet luokiteltiin, ja keskihajonta yhteensä oli $\leq 0,15 \log_{10}$ IU/ml. Erinomainen tarkkuus pystyttiin osoittamaan eri järjestelmissä, eri päivinä tai eri ajoissa *taulukon 8* tietojen mukaisesti. Käyttäjien välistä tarkkuutta ei luokiteltu, koska käyttäjällä ei ole merkittävää roolia näytteiden käsittelyssä NeuMoDx System -järjestelmällä.

Taulukko 8: Tarkkuus laboratorion sisällä – NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys NeuMoDx System -järjestelmällä

CMV:n tavoitepit. [\log_{10} IU/ml]	CMV:n keskimääräinen pit. [\log_{10} IU/ml]	SD järjestelmän sisällä	SD päivän sisällä	SD ajon sisällä	Yhteensä (laboratorion sisällä)
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

Erienvälinen uusittavuus

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen erienvälinen uusittavuus määritettiin käyttämällä kolmea eri avainreagenssieriä – NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuria, NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyjä ja NeuMoDx CMV Quant Test Strip -testiliuskoja. Suorituskyky arvioitiin testaamalla 4-osainen paneeli CMV-näytteitä, jotka sisälsivät Exact CMV Control -kontrollia. Testaus tehtiin käyttämällä kolmea reagenssieriä kolmessa järjestelmässä kuutena (6) päivänä. Variaatio erien sisällä ja välillä analysoitiin ja tulokset on esitetty *taulukossa 9*. Enimmäisvinouma oli yhteensä $0,12 \log_{10}$ IU/ml ja enimmäiskeskihajonta yhteensä $0,39 \log_{10}$ IU/ml. Suorituskyky osoittautui kaikissa erissä samanlaiseksi, kun kaikkien paneelin osien kvantifiointi pysyi määritetyn toleranssin sisällä.

Taulukko 9: Erien välinen toistettavuus – NeuMoDx CMV Quant Assay -määritys

CMV:n tavoitepit. [\log_{10} IU/ml]	CMV:n keskimääräinen pit. [\log_{10} IU/ml]	N (hyväksyttäviä tuloksia per erä)	Vinouma	SD erien välillä	SD erän sisällä	Yhteensä 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

Kontrollin teho

SPC1 on sisällytetty NeuMoDx CMV Quant Assay -määritykseen, jotta voidaan ilmoittaa määrityksen suorituskykyyn vaikuttavista prosessivaiheen virheistä tai estymisestä. Tehokkuutta testattiin olosuhteissa, jotka vastasivat prosessin kriittisten vaiheiden epäonnistumisia, joita voi tapahtua näytteenkäsittelyn aikana ja joita NeuMoDx System -järjestelmän toimintaa valvovat anturit *eivät välttämättä havaitse*. Positiiviset (pitoisuudella $3 \log_{10}$ IU/ml) ja negatiiviset näytteet testattiin kontrollin läsnäollessa seuraavissa olosuhteissa: estäjän läsnäolo, ei pesuliuksen käyttöä eikä pesun ulospuhallusta. Prosessin epätehokkuuksia, joilla oli haitallinen vaikutus CMV:n havaitsemiseen/kvantifiointiin, heijasti SPC1-kohteen suorituskyky, kuten *taulukossa 10* on esitetty. Kaikissa testatuissa tapauksissa osoitettiin, että joko näytteen prosessikontrolli tarkkaili prosessin epätehokkuuksia ja inhibiittorien läsnäoloa riittävästi tai odotetulla prosessin epätehokkuudella ei ole merkittävää haittavaikutusta SPC1:n havaitsemiseen eikä CMV:n havaitsemiseen ja kvantifiointiin. Siksi SPC1 osoittautui onnistuneesti seuraavan määrityksen toimintaa NeuMoDx System -järjestelmässä.

Taulukko 10: Näytteen prosessikontrollin tehokkuus

Prosessin vaiheen testattu virhe	Näytteen prosessikontrollin 1 monistustila	CMV-kohteen monistustila	Määrittystulos
Presence of Inhibitor (Estäjän läsnäolo)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Delivered (Pesua ei tehty)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Blowout (Ei pesun tyhjennystä)	Amplified (Monistettu)	Amplified (Monistettu)	Positive (Positiivinen), kvantifiointi alueella $0,3 \log_{10}$ IU/ml kontrollista

Hyväksyttävien tulosten aste

Retrospektiivinen analyysi tiedoista, jotka saatiin arvioitaessa NeuMoDx CMV Assay -määrityksen suorituskykyä NeuMoDx System -järjestelmissä, oli perusta hyväksyttävien tulosten prosenttiosuudelle. Hyväksyttäviä testituloksia kutsutaan nimillä Positive (Positiivinen) tai Negative (Negatiivinen). Virheelliset testitulokset voivat olla joko Indeterminate (IND, Epäselvä) tai Unresolved (UNR, Ratkaisematon) kohteen monistustilan ja näytteen prosessinhallinnan perusteella. IND-päätöksen aiheuttaa yleensä laitteen virhe, joka aiheuttaa virheen monistuksen kohteessa ja/tai sisäisessä prosessikontrollissa. UNR-päätös määräytyy näytteille, kun sekä kohde että sisäinen prosessikontrolli eivät pysty monistamaan havaitun laitevirheen puuttuessa. Yksittäisiä NeuMoDx CMV Quant Assay -määritystuloksia oli 1 100, jotka sisällytettiin retrospektiiviseen analyysiin. Analyysiin otettiin tietoja sekä NeuMoDx 288- että NeuMoDx 96 System -järjestelmistä. UNR-asteeksi määritettiin 0,91 % (10/1 100) ja IND-asteeksi 0,36 % (4/1100), mikä täytti analyysin hyväksyntäkriteerit. Siksi NeuMoDx CMV Assay -määrityksen validi tulosaste eri kliinisisä matriiseissa ja NeuMoDx System-järjestelmissä oli 98,7 % 95 %:n CI:llä (97,9–99,2).

Ristikontaminaatio

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen ristikontaminaatioaste määritettiin testaamalla kolme CMV-näyteryhmää, jotka sisälsivät vaihtelevasti erittäin positiivisia ja negatiivisia näytteitä. Tämä sisälsi yhteensä 108 CMV-negatiivista plasmanäytteen replikaattia ja 108 lisätyn CMV-plasmanäytteen replikaattia (pitoisuus 6,0 log₁₀ IU/ml). Negatiivisen näytteen kaikki 108 replikaattia raportoitin negatiivisiksi, mikä osoittaa, että ristikontaminaatiota ei tapahtunut NeuMoDx System -järjestelmässä näytteenkäsittelyn aikana.

Näytematriisin ekvivalenssi

Testauksella pyrittiin osoittamaan näytematriisin ekvivalenssi etyleenediamiinitetraetikkahappoputkiin (Ethyleenediamiinetetraacetic Acid, EDTA) ja happositraatidekstroosiputkiin (Acid Citrate Dextrose, ACD) otetun kokoverinäytteen välillä plasman valmistelussa. Lisätestauksella määritettiin tuoreiden ja pakastettujen plasmanäytteiden (otettu kahteen putkityyppiin) ekvivalenssi. Tuoreita näytteitä säilytettiin 4 °C:ssa, kunnes niihin lisättiin kolme CMV-tasoa, ja niiden ekvivalenssi testattiin. Seuraavaksi näytteet pakastettiin vähintään 24 tunniksi –20 °C:ssa. Tämän pakastevarastointijakson jälkeen näytteet sulatettiin ja testattiin uudelleen. Tuoreiden ja pakastettujen plasmanäytteiden sekä EDTA- ja ACD-plasmanäytteiden tulosten vastaavuutta verrattiin regressioanalyysillä. Tiedot osoittivat, että EDTA- ja ACD-plasmanäytteiden ekvivalentti oli erinomainen, ja tuoreiden ja pakastettujen plasmanäytteiden kulmakertoimet olivat 0,02:n yksikön päässä 1,0:sta ja vinouma oli hyvin vähäinen, kuten *taulukosta 11* käy ilmi.

Taulukko 11: Näytematriisin ekvivalenssi

Parametrivaatimus	ACD vs. K2EDTA		Tuore vs. pakastettu	
	Tuore	Pakastettu	ACD	EDTA
Kulmakerroin [0,9–1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Leikkauspiste [$<0.5 \log_{10}$ IU/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
<i>p</i> -arvo > 0,05	0,848	0,644	0,895	0,631

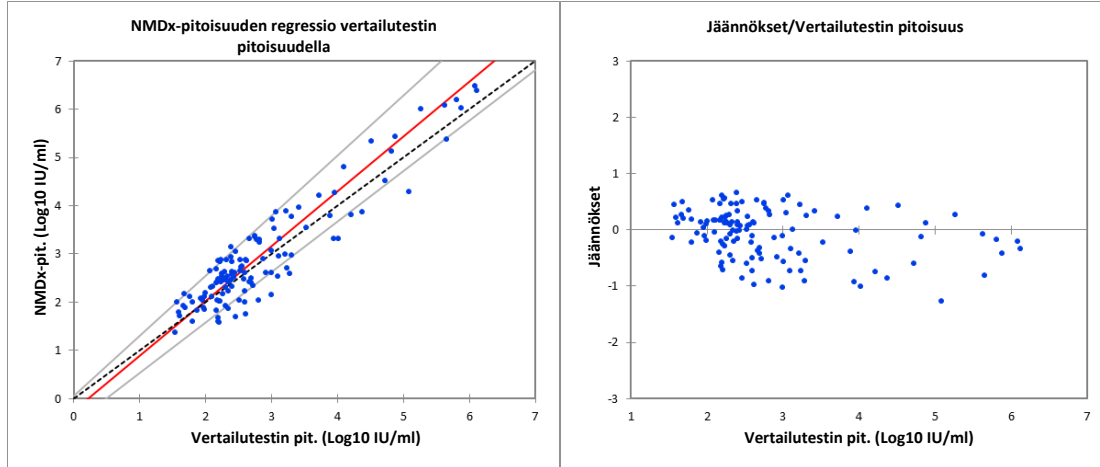
Kliinisen menetelmän vertailu

NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen kvantitatiivinen suorituskyky arvioitiin vertaamalla sitä FDA:n hyväksymään / CE-hyväksytyyn vertailumääritykseen testaamalla laimentamattomia kliinisiä näytteitä CMV-infektoituneilta potilailta. Testaus tehtiin sisäisesti NeuMoDx-yhtiön tiloissa yksöissokkotutkimuksella, jossa käytettiin neljästä erillisestä vertailulaboratoriosta saatuja anonymisoituja kliinisiä jäännösnäytteitä. Yhteensä 284 plasmanäytettä käsiteltiin NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksellä (yksöis)sokkoutetusti useilla NeuMoDx Molecular System -järjestelmillä.

NeuMoDx Molecular System -järjestelmillä saadut käsittely- ja järjestelmävirheet olivat minimaalisia ja täyttivät kriteerit. Näytteistä saatiin yhteensä kolme IND- eli epäselvää tulosta, mikä tuotti IND-asteeksi yhteensä 1 % (95 %:n CI 0,27–3,32 %). Näytteiden määrä ei riittänyt näiden kolmen näytteen uuteen käsittelyyn normaalissa työnkulussa. Aluksi saatiin yhteensä 10 Unresolved (UNR, Ratkaisematon) -tulosta, mutta näille näytteille tehdyn CMV Quant Assay -määrityksessä suositellun menettelyn jälkeen (1:10 laimennus Basematrixilla) toistotestissä saatiin validit tulokset näille 10 asianmukaisesti laimennetulle näytteelle. Käsittelyn virheaste (Total Processing Error Rate) oli siten 1,06 % (95 %:n CI 0,27 %–3,3 %), koska testiä ei voitu toistaa epäselville (IND)-tuloksille näytteen riittämättömän määrän vuoksi.

Neljästä näytteestä aiheutui kvantifiointia koskeva virheilmoitus (Quantitation Error), ja niistä kolmelle testi pystyttiin toistamaan suositellulla menetelmällä eli laimentamalla näyte 1:10-suhteessa Basematrixilla validin kvantitatiivisen tuloksen saamiseksi. Testin kaikkiaan 283:sta validista tuloksesta NeuMoDx CMV Assay -määritys tulkitsi positiivisiksi 129 näytettä, ja vertailutesteistä saatiin vastaavat pitoisuusarvot. Kuusi positiivisista näytteistä viisi jäi LLoQ-arvon alle ja yksi ylitti vertailutestissä ULoQ-arvon. Yhteensä siis 123 näytettä sai vastaavat pitoisuusarvot sekä NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksessä että vertailutesteinä käytettyjen CE-IVD-testeissä, ja ne olivat mukana kvantitatiivisissa korrelaatioanalyysissä. Demming Regression- ja Passing-Bablok Regression -analyysillä korreloitiin NeuMoDx CMV Assay -määrityksen pitoisuusarvot ja vertailutestien ilmoittamat arvot.

Ekvivalenssikäyrät generoitiin esittämään korrelaatiota NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen pitoisuuksien ja vertailutestien pitoisuusarvojen välillä kaikkien testattujen näytteiden osalta käyttämällä Deming-regressiosovitusta ja Passing-Bablok-sovitusta. Ne on esitetty *kuvassa 5*.



Kuva 5: Ekvivalenssikaavio (*vasen*) ja jäännöskäavio (*oikea*) – kumulatiivinen analyysi NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksen tuloksista (molemmilla NeuMoDx System -järjestelmillä) verrattuna vertailutestin tuloksiin KAIKISTA näytteistä Passing-Bablokin regressioanalyysin perusteella.

Deming-regressiosovituksen laatu on esitetty kulmakertoimella 1,1 ja 95 %:n CI:llä (1,0; 1,2) ja poikkileikkauksella (vinoumalla) -0,18 95 %:n CI:llä (-0,39; 0,03), mikä osoittaa, että NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksellä ja vertailutesteillä saadut pitoisuustulokset ovat erittäin korreloivia ja hyväksyttävän vinouman sisällä. Passing-Bablok -linearisovituksen laatu on esitetty kulmakertoimella 1,1 ja 95 %:n CI:llä (1,0; 1,2) ja poikkileikkauksella (vinoumalla) -0,24 95 %:n CI:llä (-0,51; 0,06), mikä osoittaa, että NeuMoDx CMV Quant Assay -määrityksellä ja vertailutesteillä saadut pitoisuustulokset ovat erittäin korreloivia ja hyväksyttävän vinouman sisällä, kuten *taulukossa 12on esitetty*.

Taulukko 12: Demingin ja Passing-Bablokin lineaarisen regressioanalyysin yhteenveto

Deming-analyysi		Passing-Bablok-analyysi	
Leikkaus	Kulmakerroin	Leikkaus	Kulmakerroin
-0,18	1,1	-0,24	1,1
95 %:n CI (-0,39;0,03)	95 %:n CI (1,0;1,2)	95 %:n CI (-0,51;0,06)	95 %:n CI (1,0;1,2)

LÄHDEVIITTEET



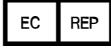











- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cm/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory 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, 5th 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.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
 NeuDry™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
 TaqMan® on Roche Molecular Systems, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.

Kaikki muut tuotenimet, tavaramerkit ja rekisteröidyt tavaramerkit, joita mahdollisesti tässä asiakirjassa mainitaan, ovat omien omistajiensa omaisuutta.

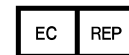
SYMBOLIT

SYMBOLI	MERKITYS
R only	Vain lääkärin määräyksestä
	Valmistaja
	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinnällinen laite
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
	Luettelonumero
	Eräkoodi
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Lämpötilarajoitus
	Ilmankosteuden rajoitus
	Ei saa käyttää uudelleen
	Sisältö riittää <n> testiin
	Lue käyttöohjeet
	Huomio
	Biologiset vaarat
	CE-merkki

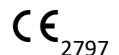


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Toimeksiantaja (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



Tekninen tuki / häirtatapahtumaraportointi: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents