

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

**R only**

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

**IVD** За *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular System

 За актуализации на листовката посетете: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System; ном. № 40600317

### ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx CMV Quant Assay представлява автоматизиран, *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на ДНК на цитомегаловирус (Cytomegalovirus, CMV) в проби от човешка плазма за генотипове на CMV от gB1 до gB4 на заразени с CMV лица. NeuMoDx CMV Quant Assay се изпълнява на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System (система(и) NeuMoDx System) и включва автоматизирано извличане на ДНК за изолиране на прицелната нуклеинова киселина от пробата и полимеразна верижна реакция в реално време (Polymerase Chain Reaction, PCR) с прицелване към силно консервираните секвенции в генома на цитомегаловирус.

NeuMoDx CMV Quant Assay е предвиден за *инвитро* количествено определяне на ДНК на цитомегаловирус (Cytomegalovirus, CMV) в пресни и замразени проби от човешка плазма със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular System. Този анализ е предвиден за употреба заедно с клиничната картина и други лабораторни показатели за хода на заболяването при клиничния контрол и следене на CMV инфекция. Анализът не е предвиден за употреба като тест за скрининг за наличието на CMV в кръв или кръвни продукти.

### РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, които съдържат EDTA или ACD като антикоагулант, може да се използва за подготовката на плазма. При подготовката за тестването плазма в епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System, се зарежда на NeuMoDx System на определения носач за епруветки с проби, за да започне обработката. За всяка проба 550 µL аликвотна част от пробата от плазма се смесва с NeuMoDx Lysis Buffer 1 и NeuMoDx System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията (участъци от прицелната нуклеинова киселина в генома на CMV в силно консервирани региони). NeuMoDx CMV Quant Assay включва контрола за обработка на ДНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), който помага при следенето за наличието на потенциално инхибиторни вещества и проблеми в NeuMoDx System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурите за извличане и амплификация.

CMV представлява често срещан двувърижен ДНК вирус от семейството на човешкия вирус херпес, който заразява хора от всички възрасти. Счита се, че до 40-годишна възраст повече от половината от населението се заразява с CMV.<sup>1</sup> CMV се предава чрез телесни течности като слюнка, урина, кръв, слъзи, сперма и кърма. Имунокомпетентните лица, заразени с CMV, обикновено са асимптоматични, но инфекцията с вируса може да бъде сериозна при новородени и хора с отслабени имунни системи. Бременни жени могат да предадат CMV на своите неродени деца и да причинят вродено заболяване с CMV, което може да доведе до загуба на слуха и други забавяния на растежа и двигателната способност. CMV е основен патоген за имунокомпрометирани пациенти, включително такива с трансплантирани пълтни органи, трансплантирани хемопоеитични клетки, заразени с HIV и лекувани с имуномодулиращи лекарства.<sup>2</sup> Следенето на количеството вируси CMV в кръвта се използва предимно в тези имунокомпрометирани контингенти, при които те предизвикват много заболявания, включително пневмония, болести на стомашно-чревния тракт, хепатит и енцефалит, както и повишен риск от отхвърляне на орган и други опортюнистични инфекции.

Диагнозата на CMV инфекция не се основава единствено на тестването за нуклеинови киселини (Nucleic Acid Testing, NAT); тестването NAT се използва в допълнение към тестването за антигени, което включва оцветяването на полиморфонуклеарни левкоцити (Polymorphonuclear Leukocytes, PMN) за ранен структурен нисък протеин на CMV в матрикса, както и други евентуални симптоми на пациента. Тестването за количеството вируси CMV в кръвта се използва рутинно за определяне на необходимостта от антивирусна терапия и за следене на ефективността на такива терапии.<sup>3</sup> Въпреки че текущите указания за контрола и лечението на CMV инфекции при имунокомпрометирани лица не са категорични по отношение на това *кога* трябва да започне антивирусната терапия, те всички изискват постоянно следене на количеството вируси в кръвта след започването на антивирусната терапия, за да се овладяват тежките странични ефекти от лекарствата в такива контингенти.

### ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

За извършване на анализ NeuMoDx CMV Quant Assay на NeuMoDx System използва NeuMoDx CMV Quant Test Strip, калибратори NeuMoDx CMV Calibrator, външни контроли NeuMoDx CMV External Control, NeuMoDx Lysis Buffer 1 и реактиви NeuMoDx с общо предназначение. Анализът NeuMoDx CMV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA или ACD за подготовката на плазма. Пробата от плазма в съвместима с NeuMoDx System епруветка за проби се поставя в носач за епруветки с проби, който след това се зарежда на NeuMoDx System за обработка. Друга намеса на оператора не е необходима.

Системите NeuMoDx System използват комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършват автоматично лизиране на клетки, извличане на ДНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаните нуклеинови киселини се зареждат в NeuMoDx Cartridge, където несвързаните, несъдържащи ДНК компоненти допълнително се отмиват с NeuMoDx Wash Reagent, а свързаната ДНК се елимира с NeuMoDx Release Reagent. Системите NeuMoDx System след това използват елуираната ДНК, за да рехидратират патентовани реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация с PCR на прицелните специфични за CMV нуклеинови киселини и тези за SPC1. След разтварянето на реактивите NeuDry за PCR NeuMoDx System накапва подготвената смес за PCR в NeuMoDx Cartridge. Амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенция от ДНК (ако има) се извършват в камерата за PCR на NeuMoDx Cartridge. NeuMoDx Cartridge е също така конструирана да задържа ампликона след PCR в реално време и на практика елиминира риска от замърсяване след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се определят в реално време с прилагане на химичен метод с хидролизна сонда (известен като TaqMan®), с използване на флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните за съответните цели.

Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, при което молекулата на гасителя гаси флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan са конструирани, така че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Taq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Taq ДНК полимеразата разгражда хибридизираната към образеца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасещото действие поради FRET и се създава възможност за откриване на флуоресценцията на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx System при количествената PCR чрез апарата за циклична топлинна обработка (Thermal Cycler), е право пропорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна ДНК.

Сонда TaqMan, обозначена с флуорофор (възбуждане: 490 nm и излъчване: 521 nm) в край 5' и гасител в край 3', се използва за откриване на ДНК на CMV. За откриването на SPC1 сондата TaqMan е белязана с друг флуоресцентен оцветител (възбуждане: 535 nm и излъчване: 556 nm) в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато амплификацията приключи, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава окончателен резултат (POSITIVE/NEGATIVE/INDETERMINATE /UNRESOLVED (ПОЛОЖИТЕЛЕН/ОТРИЦАТЕЛЕН/НЕОПРЕДЕЛЕН/НЕПОЛУЧЕН)). Ако резултатът е ПОЛОЖИТЕЛЕН, софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част или съобщава дали изчислената концентрация е в границите на количественото определяне.

### РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

#### Доставени материали

№	Съдържание	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> <i>Суши реактиви за PCR, съдържащи специфични за CMV сонди TaqMan и праймери и специфични за SPC1 сонда TaqMan и праймери.</i>	16	96

#### Необходими, но непредоставени реактиви и консумативи (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Суши парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800400	<b>Калибратори NeuMoDx CMV Calibrator</b> <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за CMV за установяване на валидността на стандартната крива</i>
900401	<b>Външни контроли NeuMoDx CMV External Control</b> <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни за CMV контроли за всекидневно установяване на валидността на NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
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 връхчета (300 µL) с филтри</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (1000 µL) с филтри</b>

### Необходима апаратура

NeuMoDx 288 Molecular System [№ 500100] NeuMoDx 96 Molecular System [№ 500200]

### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip е само за *invitro* диагностика със системи NeuMoDx System.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Трябва да има валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори от калибратори NeuMoDx CMV Calibrator [№ 800400]), преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликуотни части.
- Външните контроли NeuMoDx CMV External Control [№ 900401] трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx CMV Quant Assay.
- Минималният обем от пробата е 1 mL плазма с EDTA/ACD при използване на носача за 32 епруветки; по-малък обем от 1 mL може да доведе до грешка в NeuMoDx System.
- Извършването на тест за CMV на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати при използване на NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Замърсяване с микроорганизми и дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява във всеки един момент. Препоръчва се използването на несъдържащи ДНКаза стерилни преносни пипети за еднократна употреба. За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касетите NeuMoDx Cartridge от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx CMV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се замърсяват.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се внимава да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx CMV Quant Test Strip или NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на NeuMoDx Lysis Buffer 1; при боравенето с консумативите и реактивите могат да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) се предлагат по заявка.
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- С пробите винаги трябва да се борави като с инфекциозни и в съответствие с процедурите за безопасност в лабораторията като описаните в *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> и в документ M29-A4 на CLSI.<sup>5</sup>
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните разпоредби.

### СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

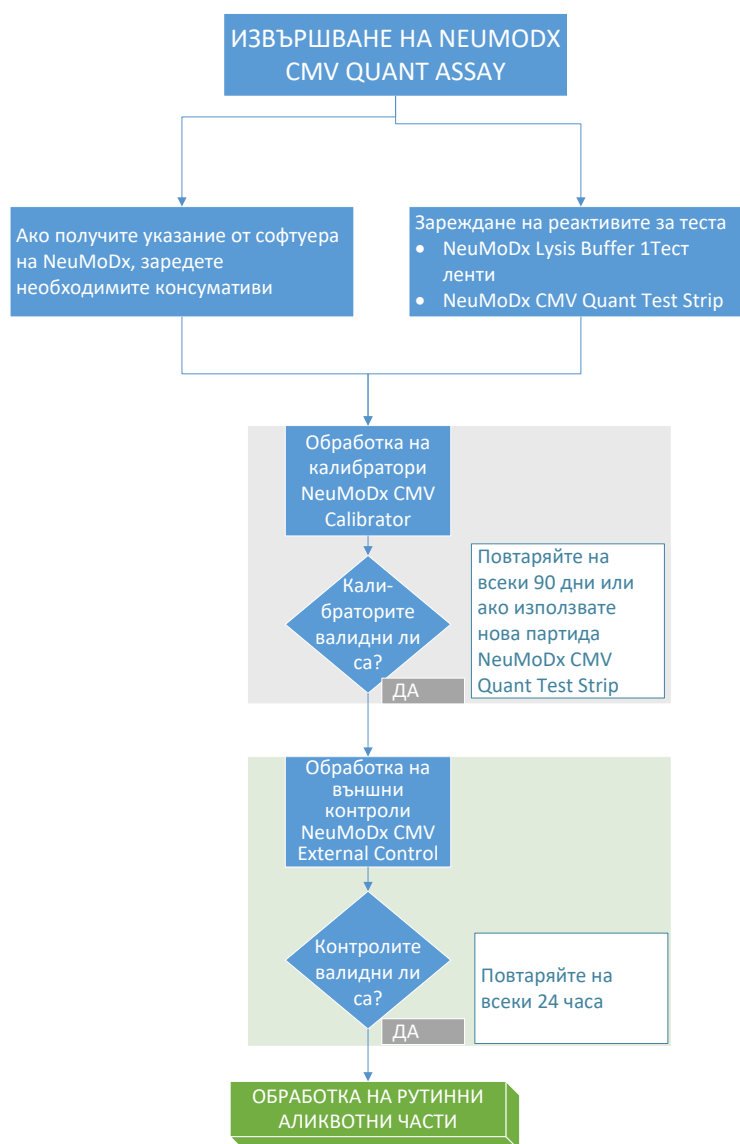
- Всички реактиви и консумативи за NeuMoDx (с изключение на външните контроли и калибратори) са стабилни в първичната опаковка при 18 до 23 °C до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта.
- Една NeuMoDx CMV Quant Test Strip, заредена в NeuMoDx System, е стабилна за 14 дни; софтуерът на NeuMoDx System ще предупреди, че тест-лентите, останали заредени в NeuMoDx System повече от 14 дни, трябва да се извадят и нови тест-ленти NeuMoDx CMV Quant Test Strip трябва да се отворят и заредят в NeuMoDx System.
- Калибраторите и контролите NeuMoDx са неинфекциозни, но трябва да се изхвърлят при лабораторните биорискови отпадъци след употреба, защото ще съдържат прицелния материал след обработка на системата, което може да предизвика замърсяване при неправилно боравене.

### ВЗИМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

1. С всички проби трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.
2. Не замразявайте цяла кръв или проби, съхранявани в първични епруветки.
3. За да се подготвят проби от плазма, цяла кръв трябва да се взема в стерилни епруветки с EDTA или ACD като антикоагуланти. Спазвайте инструкциите на производителя на епруветките за взимане на проби.
4. Цяла кръв, взета в изброените по-горе изделия, може да се съхранява и/или пренася до 24 часа при 2 °C до 25 °C преди подготовката на плазмата. Подготовката на плазмата трябва да се извършва по инструкциите на производителя.

5. Подготвените проби от плазма могат да се оставят в NeuMoDx System до 8 часа преди обработка. Ако е необходимо повече време за съхранение, се препоръчва пробите да се поставят в хладилник или фризер.
6. Подготвените проби от плазма трябва да се съхраняват при температури 2 – 8 °С не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа при стайна температура.
7. Подготвените проби могат да се съхраняват при  $\leq -20$  °С до 26 седмици за плазма преди обработката; алиquotни части от плазма не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване преди употреба.
  - a. Ако алиquotните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 – 30 °С); развъртете алиquotната част, за да се разпредели равномерно.
  - b. След като замразените алиquotни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 8 часа.
8. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
9. Поставяйте ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за CMV.
10. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

Общата процедура за извършването на NeuMoDx CMV Quant Assay е резюмирана по-долу на *Фигура 1*.



**Фигура 1:** Процедура за извършване на NeuMoDx CMV Quant Assay

### ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

#### Подготовка на теста

1. Поставете етикета с баркода за пробата на епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System.
2. С преносна пипета прехвърлете  $\geq 1$  mL плазма в епруветката (вторична) за проба с поставен баркод, ако използвате носача за 32 епруветки, или  $> 2$  mL, ако използвате носача за 24 епруветки. Трябва да се внимава да не се прехвърлят съсиреци от аликвотна част от плазма в епруветката за проба. Използвайте различна преносна пипета за всяка проба.
3. Вторичната епруветка трябва да отговаря на изброените по-долу изисквания за епруветките, съвместими с NeuMoDx System, според използвания за обработката носач за епруветки с проби.
  - Носач за 32 епруветки: диаметър от 11 mm до 14 mm и височина от 60 mm до 120 mm
  - Носач за 24 епруветки: диаметър от 14,5 mm до 18 mm и височина от 60 mm до 120 mm

#### Работа с NeuMoDx™ System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx 288 и 96 Molecular System (ном. № 40600108 и 40600317)

1. Заредете един или повече носачи на NeuMoDx System Test Strip с NeuMoDx CMV Quant Test Strip и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
2. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
3. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent и изпразнете съда за отпадъци от запълването и биорискови отпадъци, ако е необходимо.
4. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете калибратори [№ 800400] и/или външни контроли [№ 900401] ако е необходимо. Допълнителна информация за калибраторите и контролите може да намерите в раздела *Обработка на резултатите*.
5. Заредете епруветките с проби/калибратори/контроли в стандартен носач за 32 епруветки и извадете запушалките от всички епруветки с проби.
6. Поставете носача за епруветки с проби в някое от свободните места на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочените тестове.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip може да се използва само на системи NeuMoDx System.
- Работните характеристики на NeuMoDx CMV Quant Test Strip са установени за проби от плазма, подготвени от цяла кръв, взета с EDTA/ACD като антикоагулант; употребата на NeuMoDx CMV Quant Test Strip с други видове клинични проби не е проверена и работните характеристики на теста не са известни за други видове проби.
- Тъй като откриването на CMV зависи от броя на организмите в аликвотната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
- Калибраторите и външните контроли трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките и ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System преди обработката на рутинни клинични аликвотни части.
- Грешни резултати от тестовете могат да се получат при неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати могат да се получат, защото броят на вирусните частици в аликвотната част е под границата на откриването на NeuMoDx CMV Quant Assay.
- С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
- Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за CMV, така и за SPC1, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
- Ако резултатът от NeuMoDx CMV Quant Assay е Positive (положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx System ще съобщи дали откритият CMV е под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- В случай че откритият CMV е под LLoQ, NeuMoDx CMV Quant Assay може да се повтори (ако е желателно) с друга аликвотна част от пробата.
- В случай че откритият CMV е над ULoQ, NeuMoDx CMV Quant Assay трябва да се повтори с разрежена аликвотна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:100 или 1:1000 в CMV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба може да се изчисли по следния начин:

*Концентрация на първоначалната проба =  $\text{Log}_{10}$  (фактор на разреждане) + съобщена концентрация на разредената аликвотна част.*

- Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазма може да доведе до грешка в количественото определяне на системата; в този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разредена в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
- Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособни организми. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на ДНК на цитомегаловирус.
- Делеция или мутации в прицелните консервирани региони за NeuMoDx CMV Quant Assay могат да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Резултатите от NeuMoDx CMV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
- За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрата лабораторна практика, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

### ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Достъпните резултати може да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца „Results“ (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx System.

Резултатите от NeuMoDx CMV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени в NeuMoDx CMV Assay Definition File (CMV ADF). Един резултат от NeuMoDx CMV Quant Assay може да бъде съобщен като Negative (отрицателен), Positive (положителен) със съобщена концентрация на CMV, Positive above ULoQ (положителен над ULoQ), Positive below LLoQ (положителен под LLoQ), Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части. Резултатите се съобщават според алгоритъма за взимане на решение в Таблица 1.

Таблица 1: Алгоритъм за взимане на решение на NeuMoDx CMV Quant Assay

Резултат	CMV	Контрол за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Положителен)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (И) } EPR > 2 \text{ AND (И) } EP \geq 1500]$ OR (ИЛИ) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (И) } EP \geq 1500]$	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), над горната граница на количествено определяне [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] ( $\text{Log}_{10}$ IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] > 8,0 $\text{Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Positive (Положителен), под долната граница на количествено определяне [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] ( $\text{Log}_{10}$ IU/mL)	[CONC (КОНЦЕНТР.)] < 1,3 $\text{Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (НЯМА КОЛИЧЕСТВ. ОПР.)	N/A (Не е приложимо)
Negative (Отрицателен)	N/A (НЯМА) OR (ИЛИ) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (И) } EPR \leq 2]$ OR (ИЛИ) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (И) } EP < 1500]$ OR (ИЛИ) Ct > 41	AMPLIFIED (ИМА АМПЛИФИКАЦИЯ) ( $28 \leq Ct \leq 34$ ) and (и) EP $\geq 2000$
Indeterminate (Неопределен)	NOT AMPLIFIED / System Errors Noted (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ/има отбелязани грешки в системата)	
Unresolved (Неполучен)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (НЯМА АМПЛИФИКАЦИЯ/няма отбелязани грешки в системата)	

EP = End Point Fluorescence (флуоресценцията в крайната точка) (след начална корекция); EPR = End Point Fluorescence Ratio (съотношението на флуоресценцията в крайната точка); Ct = Cycle Threshold (прага на цикъла); Quant = изчислено количество наличен CMV, изразено в  $\text{Log}_{10}$  IU/mL. Вижте „Изчисляване на теста“ по-долу.

#### Изчисляване на теста

1. За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx CMV Quant Assay концентрацията на ДНК на CMV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация.
  - a. „Коефициент на калибрация“ се изчислява според резултатите от обработката на калибратори NeuMoDx CMV Calibrator, за да се установи валидността на стандартната крива за конкретна партида NeuMoDx CMV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx System.
  - b. Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на CMV.

2. Резултатите от NeuMoDx CMV Quant Assay се съобщават в Log<sub>10</sub> IU/mL.
3. Полученото количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по 1<sup>-вия</sup> Международен стандарт за CMV на Световната здравна организация (СЗО).

### Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на ДНК на CMV в пробите. За генерирането на валидни резултати калибрация на теста трябва да се извърши с калибраторите, предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc.

### Външни калибратори

1. Калибраторите NeuMoDx CMV Calibrator се доставят в комплект [№ 800400] и съдържат неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на CMV, подготвена в Basematrix.
2. Набор CMV калибратори трябва да се обработят с всяка нова партида тест-ленти NeuMoDx CMV Quant Test Strip, при зареждане на нов файл с дефиниция за анализа на CMV в NeuMoDx System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (за момента – 90 дни) или ако софтуерът на NeuMoDx System бъде променен.
3. Софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя кога трябва да се обработят калибраторите; нова партида тест-ленти не може да се използва за тестването, докато калибраторите не бъдат успешно обработени.
4. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
  - а) Набор от два калибратора – висок и нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
  - б) За генерирането на валидни резултати поне 2 от 3-те репликата трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е 3 Log<sub>10</sub> IU/mL, а тази на висок калибратор – 5 Log<sub>10</sub> IU/mL.
  - в) Коефициент на калибрация се изчислява за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти; този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на CMV.
5. Ако единият или двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържалият калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
6. Ако калибраторите не издържат проверката за валидност за втори пореден път, се обърнете към NeuMoDx Molecular, Inc.

### Контрол на качеството

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

### Външни контроли

1. Външни контролни материали, съдържащи неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на CMV в Basematrix за положителни контроли, са предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc. в комплект, съдържащ външни контроли NeuMoDx CMV External Control [№ 900401].
2. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват веднъж на всеки 24 часа. Ако няма набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че тези контроли трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
3. Ако са необходими външни контроли, вземете набора външни контроли от фризера и оставете шишетата да се темперират при стайна температура (15 – 30 °C), докато се размразят напълно. Развъртете внимателно, за да осигурите хомогенност.
4. Като използвате сензорния екран и носача за епруветки с проби, поставен на полицата на автоматичното зареждащо устройство, заредете шишетата с положителните и отрицателните контроли в NeuMoDx System. NeuMoDx System ще разпознае баркода и ще започне обработката на епруветките за проби, освен ако липсва съответното количество реактиви или консумативи, необходимо за тестването.
5. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очаквания резултат. Положителната контрола трябва да даде положителен резултат за CMV, а отрицателната трябва да даде отрицателен резултат за CMV.
6. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
  - а) Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с отрицателна контрола, означава проблем с контаминация на пробата.
  - б) Negative (Отрицателен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с положителна контрола, може да означава проблем с реактив или апарата.
  - в) И в двата случая, описани по-горе, трябва да повторите обработката на неиздържалите проверката контроли NeuMoDx CMV External Control с прясно размразено шише от същата контрола.

- d) Ако положителна външна контрола NeuMoDx CMV External Control продължава да дава Negative (отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx.
- e) Ако отрицателна NeuMoDx CMV external control продължава да дава положителен резултат, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на замърсяване, включително като смените ВСИЧКИ реактиви, преди да се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx.

### Контроли (вътрешни) за обработката на аликвотните части

Екзогенен контрол за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC1) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с PCR в реално време с всяка аликвотна част. Праймери и сонда, специфични за SPC1, също са включени във всяка NeuMoDx CMV Quant Test Strip и позволяват откриване на наличие на SPC1 заедно с прицелната ДНК на CMV (ако има) чрез мултиплексна PCR в реално време. Откриването на амплификация на SPC1 позволява на софтуера на NeuMoDx System да следи ефективността на процедурите за извличане и амплификация с PCR на ДНК.

### Невалидни резултати

Ако NeuMoDx CMV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат, той ще се съобщи като Indeterminate (IND) (неопределен) или Unresolved (UNR) (неполучен) според вида на възникналата грешка.

Резултат IND ще се съобщи, ако бъде установена грешка в NeuMoDx System по време на обработката на аликвотната част. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Резултат UNR ще се съобщи, ако не бъде открита валидна амплификация на ДНК на CMV или SPC1, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат UNR, повторно тестване може да се извърши като първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разреждана проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликвотната част.

### РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

#### Аналитична чувствителност – граница на откриването по стандарта на СЗО

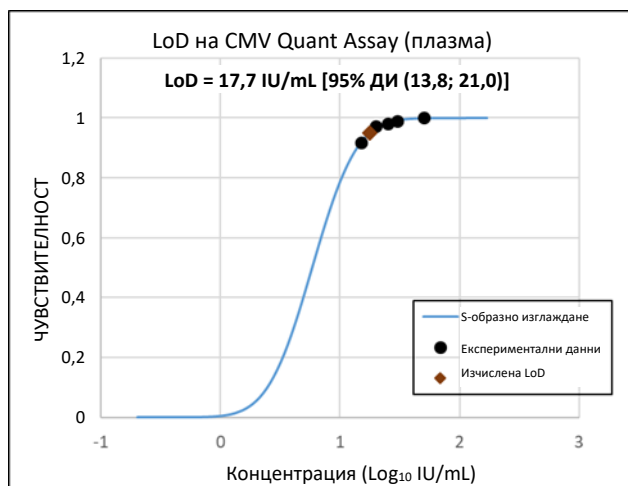
Аналитичната чувствителност на NeuMoDx CMV Quant Assay е характеризирана с тестване на отрицателни проби и серия разреждания по 1<sup>-вня</sup> Международен стандарт на СЗО в подобрена отрицателна човешка плазма за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на системи NeuMoDx System. LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в 95% от случаите по анализ тип Probit. Проучването е извършено в продължение на 3 дни с различни системи с различни партиди реактиви NeuMoDx. Всяка система обработва по 18 репликата на ден при всяко ниво на разреждане. Процентите на откриване са представени в Таблица 2.

**Таблица 2:** Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx CMV Quant Assay

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log <sub>10</sub> IU/mL]	ПЛАЗМА		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
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 (Отр.)	---	108	0	0,0%

LoD на NeuMoDx CMV Quant Assay в плазма за варианта gB1 е определена като 17,7 IU/mL (1,25 Log<sub>10</sub> IU/mL) с 95% доверителен интервал (ДИ) 13,8 – 21,0 IU/mL, (1,14 – 1,32 Log<sub>10</sub> IU/mL) [Фигура 2]. LoD по всички генотипове е 20,0 IU/mL (1,30 Log<sub>10</sub> IU/mL), определена с анализ на процент на съпаденията.





**Фигура 2:** Анализ тип Probit, използван за определяне на LoD на NeuMoDx CMV Quant Assay в аликвотни части от плазма

### Аналитична чувствителност – граница на количествено определяне – долна граница на количествено определяне (LLOQ)

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) се дефинира като най-ниското прицелно ниво, при което се постига > 95% откриване и TAE ≤ 1,0. За да се определи LLOQ, общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е изчислена за всяко прицелно ниво на CMV, при което се съобщава > 95% откриване като част от изчислението за LoD. TAE се дефинира по следния начин:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \quad (\text{статистика на Westgard})$$

Отклонението е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация. SD е стандартното отклонение на количествено определената стойност на аликвотната част.

Съвкупните резултати за 5 нива на проби от плазма с CMV (вариант gB1), използвани в проучването за LLOQ, са дадени в Таблица 3. Въз основа на този набор от данни и определената преди това LoD, LLOQ е определена като 20,0 IU/mL (1,30 Log<sub>10</sub> IU/mL) и потвърдена по всички генотипове.

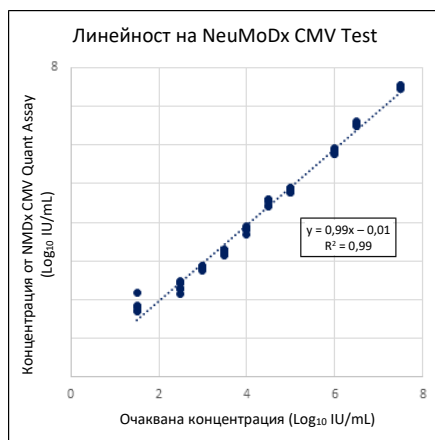
**Таблица 3:** LLOQ на NeuMoDx CMV Quant Assay, с отклонението и TAE

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Плазма				
		Средна концентрация [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	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

Според резултатите от тези изследвания както LoD, така и LLOQ на NeuMoDx CMV Quant Assay са определени като 20,0 IU/mL [1,30 Log<sub>10</sub> IU/mL].

### Линейност и определяне на горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Линейността и горната граница на количествено определяне (ULoQ) на NeuMoDx CMV Quant Assay са установени в плазма с подготовка на серия разреждания с капсулираната прицелна нуклеинова киселина на CMV от NeuMoDx и Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) с установена проследимост по 1-вия Международен стандарт на СЗО. Панел от 9 елемента е подготвен в групирана CMV-отрицателна плазма, за да се обхване диапазон на концентрацията 8 – 1,7 Log<sub>10</sub> IU/mL. ULoQ на NeuMoDx CMV Quant Assay е определена като 8,0 Log<sub>10</sub> IU/mL. Концентрациите от анализа за CMV, съобщени от NeuMoDx System, в сравнение с очакваните стойности са представени на Фигура 3.



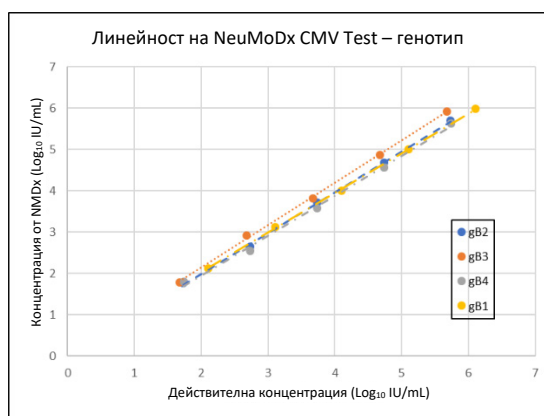
**Фигура 3:** Линеиност на NeuMoDx CMV Quant Assay

**Линеиност по всички генотипове**

Линеиността на NeuMoDx CMV Quant Assay по четирите генотипа на CMV (gB1, gB2, gB3 и gB4) е характеризирана с тестване на пет различни концентрации от всеки генотип на CMV, подготвени в групирана отрицателна за CMV плазма. Тестваните в това проучване нива на прицелната нуклеинова киселина на CMV зависят от концентрацията на изходната проба и затова се различават при различните генотипове. Изследването е извършено с тестване на 6 репликата на всеки от 4-те генотипа при 5 концентрации. Линеиността по четири генотипове на CMV е представена в Таблица 4 и Фигура 4.

**Таблица 4:** Линеиност на NeuMoDx CMV Quant Assay по всички генотипове

Генотип	Уравнение за линеиност y = количественото определяне от NeuMoDx CMV Assay x = очакваното количествено определяне	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



**Фигура 4:** Линеиност на NeuMoDx CMV Quant Assay по всички генотипове

**Аналитична специфичност – кръстосана реактивност**

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 35 организма, често срещани в проби от кръв/плазма, както и видове, филогенетично сходни с CMV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 5 – 6 организма и са тествани при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в Таблица 5. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx CMV Quant Assay.

Таблица 5: Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

Неприцелни организми					
ВК полиомавирус	Аденовирус тип 5	Вирус херпес симплекс тип 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Вирус на Epstein-Barr	Вирус на хепатит С	Вирус херпес симплекс тип 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Човешки вирус херпес тип 6	Парвовирус В19	Вирус на варицела зостер	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Човешки вирус херпес тип 7	JC вирус	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Човешки вирус херпес тип 8	Човешки папиломавирус 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Вирус на хепатит В	Човешки папиломавирус 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

### Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми

NeuMoDx CMV Quant Assay е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в Таблица 5. В отрицателна за CMV- плазма са добавени организмите, групирани по 4 – 7, и също така е добавена прицелна нуклеинова киселина на CMV при концентрация 3 Log<sub>10</sub> IU/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези коменсални организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

### Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендегенни и екзогенни вещества

NeuMoDx CMV Quant Assay е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендегенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма с CMV. Те включват абнормно високи нива на кръвни компоненти, както и обичайни антивирусни лекарства, класифицирани в Таблица 6. Всяко вещество е добавено към подобрена отрицателна за CMV човешка плазма с добавени 3 Log<sub>10</sub> IU/mL CMV и аликвотните части са анализирани за интерференция. Освен това плазма от обичайно болестно състояние, свързано с CMV инфекция, също е тествана за потенциална интерференция. Средната концентрация и отклонението на всички тествани вещества в сравнение с контролните аликвотни части с добавено същото ниво на CMV са дадени в Таблица 7. Нито едно от екзогенните и ендегенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx CMV Quant Assay.

Таблица 6: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

Група	Име на лекарството	Класифициране	Група	Име на лекарството	Класифициране
Група 1	Азатиоприн	Имуносупресивно лекарство	Група 4	Триметоприм	Антибиотик
	Циклоспорин	Имуносупресивно лекарство		Ванкомицин	Антибиотик
	Фоскарнет	Антивирусно лекарство (Herpesviridae)		Такролимус	Имуносупресивно лекарство
	Ганцикловир	Антивирусно лекарство (CMV)		Еверолимус	Имуносупресивно лекарство
	Валганцикловир хидрохлорид	Антивирусно лекарство (CMV)		Калиев клавуланат	Антибиотик
Група 2	Преднизон	Кортикостероид/ имуносупресивно лекарство	Група 5	Фамотидин	Антагонист на хистаминовия рецептор
	Цидофовир	Антивирусно лекарство (CMV)		Сулфаметоксазол	Антибиотик
	Цефотетан	Антибиотик (широкоспектърен)		Валацикловир	Антивирусно лекарство (Herpesviridae)
	Цефотаксим	Антибиотик (широкоспектърен)		Летермовир	Антивирусно лекарство (CMV)
	Флуконазол	Антимикотично лекарство		Динатриев тикарцилин	Антибиотик
Група 3	Микофенолат мофетил	Имуносупресивно лекарство		Лефлуномид	Имуносупресивно лекарство
	Натриев микофенолат	Имуносупресивно лекарство			
	Пиперацилин	Антибиотик			
	Сиролимус/рапа мицин	Имуносупресивно лекарство			
	Тазобактам	Модифициран антибиотик			

**Таблица 7:** Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенни	Средна концентрация	Отклонение
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Хемоглобин	2,97	0,07
Триглицериди	3,03	0,13
Билирубин	3,01	0,11
Албумин	2,88	-0,02
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация	Отклонение
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Група 1: Азатиоприн, циклоспорин, фоскарнет, ганцикловир, валганцикловир хидрохлорид	2,88	-0,02
Група 2: Преднизон, цидофовир, цефотетан, цефотаксим, флуконазол	2,91	0,01
Група 3: Микофенолат мофетил, натриев микофенолат, пиперацилин, сиролimus/рапамицин, тазобактам	2,98	0,08
Група 4: Триметоприм, ванкомицин, такролимус, еверолимус, калиев клавуланат	3,05	0,15
Група 5: Фамотидин, сулфаметоксазол, летермовир, валацикловир, динатриев тикарцилин, лефлуномид	2,87	-0,03
Болестно състояние	Средна концентрация	Отклонение
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Антинуклеарно антияло (Antinuclear Antibody, ANA)	2,90	0,00
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,04	0,14
Ревматоиден артрит	2,99	0,09

### Вътрешнолабораторна прецизност

Прецизността на NeuMoDx CMV Quant Assay е определена с тестване на 3 репликата на панел от 4 проби с CMV, подготвени с Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX), два пъти на ден, с два апарата NeuMoDx 288 System и един NeuMoDx 96 System в продължение на 12 дни. Характеризирани са прецизността в рамките на обработката, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като  $\leq 0,15 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . Отлична прецизност е демонстрирана в различните системи, дни или обработки, както се вижда от Таблица 8. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx System.

**Таблица 8:** Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx CMV Quant Assay на NeuMoDx Systems

Прицелна концентрация на CMV [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Средна концентрация на CMV [Log <sub>10</sub> IU/mL]	SD в рамките на системата	SD в рамките на деня	SD в рамките на обработката	Общо SD (вътрешнолабораторно)
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

### Възпроизводимост на резултатите от различни партии

Възпроизводимостта на резултатите от различни партии NeuMoDx CMV Quant Assay е определена с три различни партии основни реактиви – NeuMoDx Lysis Buffer 1, пластини за извличане NeuMoDx Extraction Plate и тест-ленти NeuMoDx CMV Quant Test Strip. Панел от 4 проби CMV, подготвени с Exact CMV Control, е използван за оценка на работните характеристики. Тестването е извършено с три партии реактиви на три системи в продължение на 6 дни. Вариацията в рамките на една партида и между различните партии е анализирана и резултатите са представени в Таблица 9. Максималното общо отклонение е  $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ , а максималното общо SD е  $0,39 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . Равностойността на работните характеристики между различните партии е демонстрирана, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

**Таблица 9:** Възпроизводимост на резултатите от различни партиди – NeuMoDx CMV Quant Assay

Прицелна концентрация на CMV [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Средна концентрация на CMV [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Брой (Валидни резултати на една партида)	Отклонение	SD между партидите	SD в рамките на партидата	Общо 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

### Ефективност на контролата

SPC1 е включен в NeuMoDx CMV Quant Assay за съобщаване на проблеми при технологичните стъпки или инхибиране, влошаващо работните характеристики на анализа. Ефективността е тествана при представителни условия за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на аликвотната част и които *може да не бъдат засечени* от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Положителни (при 3 Log<sub>10</sub> IU/mL) и отрицателни проби са проверени в присъствието на контрола при следните условия: наличие на инхибитор, няма на капан разтвор за промивка и няма издухване на промивката. Неефективна обработка с отрицателно отражение върху откриването/количественото определяне на CMV се следи паралелно с работните характеристики на прицелната нуклеинова киселина на SPC1, както е показано в *Таблица 10*. Във всички тествани случаи е демонстрирано, че контролата за обработка на аликвотните части е проследила правилно неефективността на обработката и наличието на инхибитори или очакваната неефективност на обработката няма съществено отрицателно отражение върху откриването и количественото определяне както на SPC1, така и на CMV. Следователно SPC1 демонстрира успешно и ефективно следене на работните характеристики на анализа на NeuMoDx System.

**Таблица 10:** Ефективност на контролата за обработка на аликвотните части

Тестван проблем при технологичните стъпки	Състояние на амплификацията на контролата за обработка на аликвотните части 1	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина на CMV	Резултат от анализа
Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Delivered (Няма на капана промивка)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Blowout (Няма издухване на промивката)	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive (Положителен) с количествено определяне в рамките на 0,3 Log <sub>10</sub> IU/mL от контролата

### Процент валидни резултати

Ретроспективен анализ на данните, получени по време на проверката на работните характеристики на NeuMoDx CMV Assay на NeuMoDx Systems, е използван за определяне на процента на валидните резултати. Валидните резултати от тестовете се съобщават като Positive (положителен) или Negative (отрицателен); невалидните резултати от тестовете могат да бъдат съобщени като Indeterminate (IND) (неопределени) или Unresolved (UNR) (неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части. Обявяване на резултат IND обикновено се дължи на грешка в прибора, предизвикваща неуспешна амплификация на прицелната нуклеинова киселина и/или вътрешната контрола за обработка. Резултат UNR се обявява за аликвотните части, когато както прицелната нуклеинова киселина, така и вътрешната контрола за обработка не се амплифицират при отсъствие на засечен проблем в апарата. В ретроспективния анализ са включени 1100 отделни резултата от NeuMoDx CMV Quant Assay, включително данни, получени на двата апарата – NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 System. Процентът UNR е определен като 0,91% (10/1100), а процентът IND е определен като 0,36% (4/1100), което отговаря на критериите за приемане на анализа. Съответно процентът валидни резултати от NeuMoDx CMV Assay в различните апарати NeuMoDx Systems е окончателно определен като 98,7% с 95% ДИ (97,9 – 99,2).

### Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация за NeuMoDx CMV Quant Assay е определен с тестване на три набора от проби с CMV с редуващи се високи положителни и отрицателни проби. Като цяло, това включва тестване на 108 реплика на CMV-отрицателна плазма и 108 реплика на плазма с добавен CMV при 6,0 Log<sub>10</sub> IU/mL. Всичките 108 реплика на отрицателната проба са съобщени като отрицателни, което демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части на NeuMoDx System.

### Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Тестването е извършено за демонстриране на равностойността на резултатите от проби в различни матрикси между цяла кръв, взета в епруветки с етилендиаминтетраоцетна киселина (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) и епруветки с цитрат-декстроза (Acid Citrate Dextrose, ACD) за подготовката на плазма. Извършено е допълнително тестване за определяне на равностойността на резултатите от пресни и замразени проби от плазма (взети в двата вида епруветки). Пресните проби са съхранявани при 4 °С, преди в тях да бъдат добавени три нива на CMV и да бъдат тествани за равностойност. След това алиquotните части са замразени за минимум 24 часа при – 20°С. След този период на съхранение в замразено състояние пробите са размразени и тествани отново. Резултатите от пресните спрямо замразените проби от плазма и пробите от плазма с EDTA спрямо тези с ACD са сравнени за равностойност посредством регресионен анализ. Данните демонстрират отлична равностойност на резултатите от пробите от плазма с EDTA и ACD и от пресните и замразените проби от плазма със слоуп в рамките на 0,02 до 1,0 и много малко отклонение (интерсепт), като се вижда от Таблица 11 по-долу.

**Таблица 11:** Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Изисквани параметри	ACD спрямо K2EDTA		Пресни спрямо замразени	
	Пресни	Замразени	ACD	EDTA
Слоуп [0,9 – 1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Интерсепт [ $<0,5 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
Стойност на $p > 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

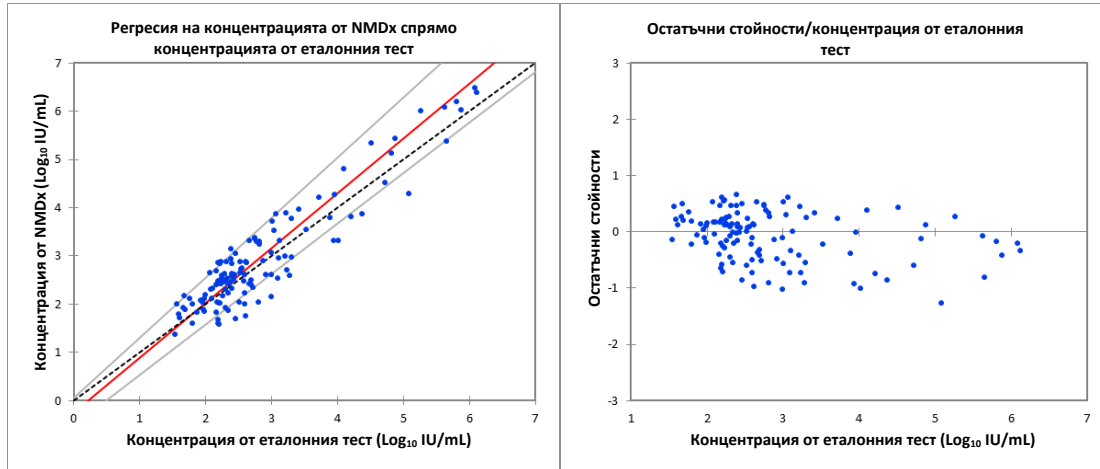
### Сравнение на клиничните методи

Количествените работни характеристики на NeuMoDx CMV Quant Assay са оценени спрямо одобрени от FDA/CE анализи за сравнение с тестване на неразредени клинични проби от заразени с CMV пациенти. Тестването е извършено вътрешно в NeuMoDx чрез „едностранно заслепено“ проучване на анонимизирани, остатъчни, клинични проби, получени от четири външни референтни лаборатории. Общо 284 проби от плазма са обработени с NeuMoDx CMV Quant Assay по (едностранно) „заслепено“ принцип в различни системи NeuMoDx Molecular System.

Грешките в обработката и системата, получени в различните системи NeuMoDx Molecular System, са минимални и изпълняват критериите. Общо 3 Indeterminate (IND) (неопределен) резултата са получени за алиquotните части, което дава общ първоначален процент IND 1% с 95% ДИ (0,27 – 3,32%). Не е имало достатъчен обем за повторна обработка на тези 3 проби по нормалната процедура. Първоначално 10 резултата са съобщени като Unresolved (UNR) (неполучен), но след препоръчителната за CMV Quant Assay процедура за разреждане в съотношение 1:10 в Basematrix за резултатите UNR са получени валидни резултати при повторното тестване на всичките 10 алиquotни части с UNR, разредени по съответния начин. Следователно общият процент грешки при обработката е 1,06% с 95% ДИ (0,27% – 3,3%) поради неопределените резултати, чиито проби не са могли да бъдат тествани повторно поради недостатъчен обем.

4 алиquotни части са генерирани флаг за грешка в количественото определяне, като 3 от 4-те са могли да бъдат тествани повторно по препоръчителната процедура за разреждане на алиquotната част в съотношение 1:10 в Basematrix, за да се получи валиден количествен резултат. От получените в проучването 283 валидни резултата 129 алиquotни части са съобщени като положителни от NeuMoDx CMV Assay със съответните стойности на концентрацията, зададени от еталонните тестове. За пет от тези шест алиquotни части са съобщени резултати под LLoQ, а за една – над ULoQ от еталонния тест и следователно общо 123 алиquotни части имат съответните стойности на концентрацията, както от NeuMoDx CMV Quant Assay, така и от еталонните тестове на CE за инвитро диагностика и са използвани за количествен корелационен анализ. Регресионни анализи по Деминг и Пасинг-Баблок са използвани за определяне на корелацията между стойностите на концентрацията от NeuMoDx CMV Assay и съобщените стойности от еталонните тестове.

Графики на равностойността са генерирани за представяне на корелацията между концентрациите от NeuMoDx CMV Quant Assay и стойностите на концентрацията от еталонните тестове за всички тествани алиquotни части с регресионно изглаждане по Деминг и Пасинг-Баблок и са представени на Фигура 5.



**Фигура 5:** Графики на равностойността (*вляво*) и остатъчните стойности (*вдясно*) – кумулативен анализ (в двете NeuMoDx Systems) на резултатите от NeuMoDx CMV Quant Assay в сравнение с резултатите от еталонните тестове за ВСИЧКИ аликвотни части с регресионен анализ по Пасинг-Баблок.

Качеството на регресионното изглаждане по Деминг е илюстрирано с коефициент на слоуп 1,1 с 95% ДИ (1,0 – 1,2) и интерсепт (отклонение) -0,18 с 95% ДИ (-0,39 – 0,03), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx CMV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение. Качеството на линейното изглаждане по Пасинг-Баблок е илюстрирано с коефициент на слоуп 1,1 с 95% ДИ (1,0 – 1,2) и интерсепт (отклонение) -0,24 с 95% ДИ (-0,51 – 0,06), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx CMV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение, както се вижда от Таблица 12.

**Таблица 12:** Резюме на линейния регресионен анализ по Деминг и Пасинг-Баблок

Анализ по Deming		Анализ по Passing-Bablok	
Интерсепт	Коефициент на слоуп	Интерсепт	Коефициент на слоуп
-0,18 95% ДИ (-0,39, 0,03)	1,1 95% ДИ (1,0, 1,2)	-0,24 95% ДИ (-0,51, 0,06)	1,1 95% ДИ (1,0, 1,2)

### ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ











- 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 Voppana, 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.

### ТЪРГОВСКИ МАРКИ

NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.  
 NeuDry™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.  
 TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

### СИМВОЛИ

СИМВОЛ	ЗНАЧЕНИЕ
<b>R only</b>	За употреба само по лекарско предписание
	Производител
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">EC REP</span>	Упълномощен представител в Европейската общност
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	Каталожен номер
<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">LOT</span>	Код на партида
	Срок на годност
	Ограничение за температура
	Ограничение за влажност
	Само за еднократна употреба
	Съдържанието е достатъчно за <n> теста
	Вижте инструкциите за употреба
	Внимание
	Биологични рискове
	Маркировка CE

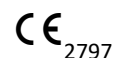


NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108, USA

Възложител (АВСТРАЛИЯ):  
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



Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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